

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

# **Co-digestão anaeróbia de resíduos sólidos de curtumes**

TESE DE DOUTORADO

**Caroline Borges Agustini**

Porto Alegre

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

## **Co-digestão anaeróbia de resíduos sólidos de curtumes**

**Caroline Borges Agustini**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Orientadora: Mariliz Gutterres Soares, Dr.<sup>a</sup>

Co-Orientadora: Marisa da Costa, Dr.<sup>a</sup>

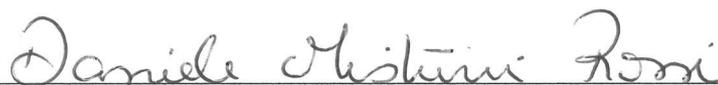
Porto Alegre

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

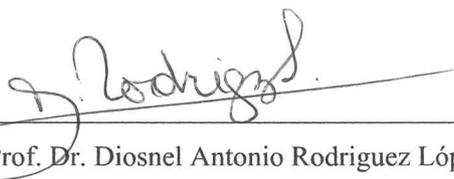
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado *Co-digestão anaeróbia de resíduos de curtumes*, elaborado por Caroline Borges Agustini, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora em Engenharia Química.

Comissão Examinadora:



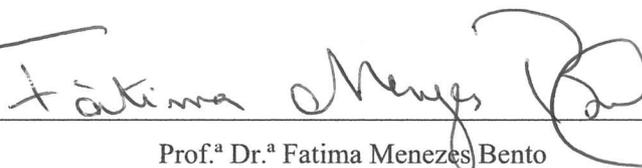
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniele Misturini Rossi

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Departamento de Engenharia Química



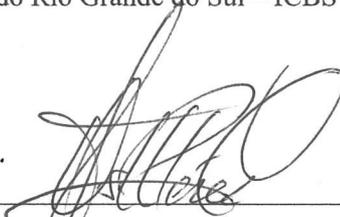
Prof. Dr. Diosnel Antonio Rodriguez López

Universidade de Santa Cruz do Sul – Departamento de Engenharia Arquitetura e Ciências Agrárias



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fatima Menezes Bento

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – ICBS – Departamento de Microbiologia



Prof. Dr. Oscar William Perez Lopez

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Departamento de Engenharia Química

# Agradecimentos

À UFRGS e ao Departamento de Engenharia Química, pela estrutura oferecida. Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos. À FINEP Edital MCTI/FINEP CT-HIDRO 01/2013 pelo auxílio financeiro.

À minha orientadora, professora Mariliz Gutterres, e à minha co-orientadora, professora Marisa da Costa, pelos ensinamentos, apoio, confiança e amizade.

À toda a minha família, por todo amor, suporte e incentivo, desde sempre.

A todos os meus amigos, em especial aos amigos do LACOURO, pelo companheirismo, ajuda e carinho.

Ao Jader, simplesmente por existir.

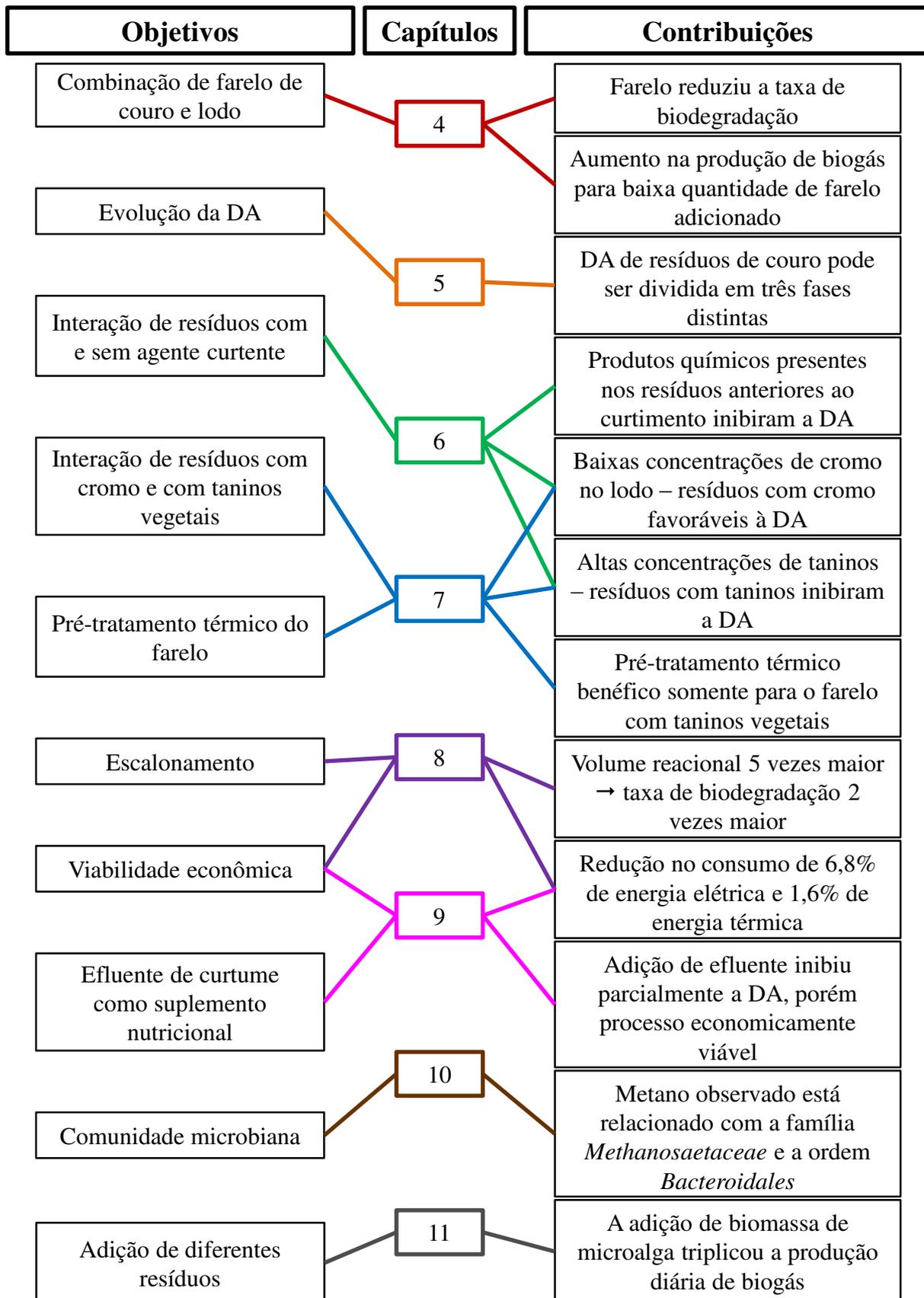
# Resumo

A grande quantidade, alta carga orgânica e toxicidade dos resíduos do processo de curtimento, junto com a crescente importância da geração de energia a partir de fontes renováveis, fazem com que seja necessário estudar formas de biodegradação dos resíduos sólidos produzidos pela indústria coureira e gerar energia a partir desse processo. Os principais resíduos sólidos produzidos pelos curtumes são farelo de couro da etapa de rebaixamento e lodos provenientes das estações de tratamento de efluentes. Esses resíduos, quando contêm o agente curtente, frequentemente sal de cromo, costumam ser dispostos em aterros de resíduos industriais perigosos. O biogás com alto teor de metano é o produto da decomposição, através de digestão anaeróbia, de matéria orgânica e inorgânica. O estudo propõe avaliar a produção de biogás e de metano e a variação de matéria orgânica e inorgânica em ensaios controlados de co-digestão anaeróbia dos dois principais resíduos sólidos da indústria coureira, farelo de couro do rebaixamento da espessura do couro e lodo de estações de tratamento de efluentes. Esse estudo foi realizado através do monitoramento do processo, da comparação e análise da interação entre resíduos sem agente curtente e com os dois principais agentes curtentes, sal de cromo e taninos vegetais, da análise da influência do pré-tratamento térmico do farelo, do escalonamento e análise de custos do processo, da adição de efluente bruto de curtume como suplemento nutricional, da análise da população microbiana e da adição de diferentes co-substratos. Os resultados mostraram que a quantidade de cromo presente nos resíduos não é inibitória para os microrganismos e que a alta afinidade do cromo nos resíduos não deixa o cromo ser metabolizado pelos microrganismos, diferente dos resíduos com taninos vegetais e provenientes de etapas anteriores ao curtimento, que não se mostraram favoráveis ao processo de biodegradação. O escalonamento do processo mostrou que em escalas maiores o processo ocorre de forma mais rápida. A adição de biomassa de microalga triplicou a produção de biogás, enquanto a adição de efluente de curtume reduziu drasticamente a produção, entretanto, é economicamente viável uma vez que se economiza no tratamento e disposição dos efluentes. A caracterização da população microbiana mostrou que a família *Methanosaetaceae* é a principal responsável pela produção de metano.

# Abstract

The large amount, high organic load and toxicity of the tanning waste, besides the growing importance of the generation of energy from renewable sources, make the study of ways of biodegradation of solid waste produced by the tannery industry and generation of energy from this process necessary. The main solid waste produced by tanneries is leather shavings from thickness adjustment step and sludge from wastewater treatment plants. Such residues, when containing the tanning agent, often chromium salt, are often disposed of in hazardous industrial waste landfills. Biogas with high methane content is the product of decomposition, through anaerobic digestion, of organic and inorganic matter. The study proposes to evaluate the production of biogas and methane and the variation of organic and inorganic matter in controlled anaerobic co-digestion tests of the two main solid wastes of the tannery industry, leather shavings from thickness adjustment step and sludge from wastewater treatment plants. This study was realized by monitoring the process, comparing and analyzing the interaction between residues without tanning agent and with the two main tanning agents, chromium salt and vegetable tannins, the analysis of the influence of the heating pre-treatment of the shavings, cost analysis, addition of raw tannery effluent as nutrient supply, analysis of microbial population and addition of different co-substrates. The results showed that the amount of chromium present in the wastes is not inhibitory for the microorganisms and that the high affinity of the chromium in the residues does not allow the chromium to be metabolized by the microorganisms, different from the residues with vegetal tannins and from the stages previous to the tanning, that did not show favorable to the biodegradation process. The process scale-up showed that in larger scales the process occurs more quickly. The addition of microalgae biomass has tripled biogas production, while the addition of tanning effluent has drastically reduced production, however, it is economically feasible as it saves on the treatment and disposal of wastewaters. The characterization of the microbial population showed that the *Methanosaetaceae* family is the main one responsible for the production of methane.

# Esquematização



# Sumário

<b>Capítulo 1 – Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivos do trabalho .....	4
1.2. Estrutura do trabalho .....	4
<b>Capítulo 2 – Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>7</b>
2.1. Biogas production from solid tannery wastes .....	8
2.2. The Range of Organic Solid Wastes from Anaerobically Digested Tanneries .....	9
2.3. Acting Microbiota on Solid Wastes in Biogas Production.....	10
2.4. Comentários adicionais .....	10
<b>Capítulo 3 – Materiais e Métodos.....</b>	<b>11</b>
3.1. Resíduos .....	11
3.2. Biorreatores .....	14
3.3. Análise das misturas antes da biodegradação.....	15
3.4. Monitoramento do volume de biogás .....	15
3.5. Composição do biogás .....	16
3.6. Umidade, sólidos totais, fixos e voláteis .....	17
3.7. Densidade .....	18
3.8. Carbono e Nitrogênio .....	18
3.9. Demanda bioquímica de oxigênio – DBO .....	18
3.10. Demanda química de oxigênio – DQO .....	19
3.11. Cromo.....	20
3.12. Taninos .....	21
3.13. Fenóis .....	21
3.14. pH.....	21
3.15. Sequenciamento de alto rendimento.....	22
3.16. Análise estatística .....	22
Referências .....	23
<b>Capítulo 4 – Biogas production from tannery sludge in batch bioreactors: The role of chromed leather shavings as a co-substrate .....</b>	<b>25</b>
<b>Capítulo 5 – Monitoring of biogas production from tannery solid waste in laboratory- scale batch anaerobic digesters.....</b>	<b>27</b>

<b>Capítulo 6 – Biogas production for anaerobic co-digestion of tannery solid wastes under presence and absence of the tanning agent .....</b>	<b>29</b>
<b>Capítulo 7 – Biogas from anaerobic co-digestion of chrome and vegetable tannery solid waste mixture: influence of the tanning agent and thermal pretreatment .....</b>	<b>31</b>
<b>Capítulo 8 – Biogas production from tannery solid wastes – Scale-up and cost saving analysis.....</b>	<b>33</b>
<b>Capítulo 9 – Tannery wastewater as nutrient supply in production of biogas from solid tannery wastes mixed through anaerobic co-digestion .....</b>	<b>35</b>
<b>Capítulo 10 – Biogas from tannery solid waste anaerobic digestion is driven by the bacterial order <i>Bacteroidales</i> and archaeal family <i>Methanosaetaceae</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>Capítulo 11 – Evaluating co-substrates to supplement biogas production from tannery solid waste treatment – cattle hair, microalgae biomass and silicone .....</b>	<b>39</b>
<b>Capítulo 12 – Considerações finais .....</b>	<b>41</b>
12.1. Conclusões .....	42
12.2. Sugestões para trabalhos futuros.....	44

# Lista de Figuras

Figura 3.1. Resíduos utilizados.....	13
Figura 3.2. (a) Frascos de 50 mL, (b) biorreatores de bancada de 300 mL e (c) biorreatores em escala semi-piloto de 3 L utilizados.....	15
Figura 3.3. Dispositivo para medição volumétrica de biogás.....	16

# Lista de Tabelas

Tabela 3.1. Composição das soluções para as análises de DBO. ....	19
Tabela 3.2. Composição das soluções para as análises de DQO. ....	20
Tabela 3.3. Composição das soluções para as análises de óxido de cromo (III). ....	20
Tabela 3.4. Composição das análises de fenóis totais. ....	21



# Capítulo 1

## Introdução

A geração de resíduos sólidos industriais tornou-se um problema ambiental devido ao aumento da preocupação com a saúde pública e da consciência ambiental. A alta produção, disposição em aterros e a conseqüente decomposição descontrolada de resíduos geram poluição ambiental em larga escala. A reutilização e a reciclagem desses resíduos têm atraído atenção e preocupação social e vai de encontro ao conceito de economia circular, uma vez que a sua fração orgânica tem sido reconhecida como um recurso valioso que ainda pode ser convertido em produtos úteis, através de transformações microbiológicas.

O biogás é o produto formado pelo processo de digestão anaeróbia (DA) e é considerado uma fonte de energia renovável. Ele é composto principalmente por 50-70% de metano ( $\text{CH}_4$ ) e 30-40% de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), onde o metano é o principal responsável pelo seu alto poder calorífico. No setor energético, o biogás é reconhecido como uma fonte limpa e pode ser utilizado na produção de calor e vapor, na geração/co-geração de eletricidade, como combustível automotivo e na produção de produtos químicos.

A DA consiste na decomposição de compostos orgânicos e inorgânicos por diferentes grupos de microrganismos que mineralizam os substratos com formação de biogás, através de um caminho complexo de reação, na ausência de oxigênio. Essa tecnologia tornou-se estabelecida e comprovada para o tratamento de resíduos orgânicos. A sua principal vantagem é o biogás produzido poder ser utilizado como fonte de energia e o produto residual poder ser utilizado como biofertilizante no setor agrícola. O processo segue as etapas de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese de forma sequencial e paralela. Essas etapas estão associadas devido às diferentes comunidades microbianas envolvidas trabalharem em

sequência, com os produtos de uma etapa sendo utilizados como substrato para a etapa seguinte.

Os principais fatores que influenciam a DA são as características do substrato e do inóculo utilizados, o modo de operação do processo, a interferência de componentes inibitórios, os parâmetros físico-químicos como temperatura, pH e umidade, além da presença de mais de um substrato, processo conhecido como co-digestão, bem como o pré-tratamento dos substratos, tornando-os mais biodisponíveis.

O conhecimento dos aspectos microbiológicos dessa tecnologia ganhou interesse, visto que o conhecimento da ecologia e da função da comunidade microbiana em processos biológicos é necessário para melhor controlá-los. Avanços importantes estão sendo alcançados para entender a estrutura da comunidade microbiana usando abordagens moleculares dependentes e independentes da cultura.

O permanente interesse no mercado de couros atrai atenção nas técnicas de gestão dos resíduos produzidos. O processo realizado em curtumes consiste em transformar a pele animal em couro. O curtimento é a operação unitária principal onde os agentes de curtimento reagem com a matriz da pele, estabilizando-a química e fisicamente. Os processos de curtimento são classificados de acordo com o tipo de agente curtente utilizado para ligar as fibras de colágeno, sendo o curtimento com sulfato básico de cromo o mais utilizado, seguido pelo curtimento com compostos de taninos vegetais.

O processamento de couros produz grandes quantidades de poluentes orgânicos e inorgânicos, que representam um grande desafio. O farelo de couro da etapa de rebaixamento é um dos principais resíduos sólidos gerados após o processo de curtimento. Além disso, grandes quantidades de água e produtos químicos são necessárias para a produção de couros, gerando efluentes. Esses efluentes são tratados em estações de tratamento de efluentes (ETEs) que, por sua vez, geram grandes quantidades de lodos residuais dos decantadores, outro dos principais resíduos sólidos gerados pela indústria coureira.

A eliminação de resíduos sólidos gerados na produção de couro é um problema grave e a importância das medidas tecnológicas para combater os desafios ambientais decorrentes das atividades de processamento de couro é cada vez mais reconhecida. O elevado teor de cromo nos resíduos sólidos de curtumes provenientes das etapas após o curtimento impede a sua utilização direta como fertilizante. Já nos resíduos provenientes das etapas após o

curtimento com taninos vegetais, pode ocorrer a sua destinação direta para uso como fertilizante agrícola, porém em uso conjunto com outros fertilizantes comerciais. Na disposição desses resíduos em aterros, ocorre a sua degradação natural e descontrolada, levando a emissões de  $\text{CH}_4$ , o que é indesejável devido aos efeitos de aquecimento global resultantes da liberação de gases de efeito estufa. No entanto, utilizando a DA controlada desses resíduos, onde o biogás é capturado, as emissões de  $\text{CH}_4$  podem ser reduzidas e a energia obtida pode ser utilizada como um substituto para os combustíveis fósseis, servindo assim como uma energia neutra de  $\text{CO}_2$ .

Os trabalhos do grupo de pesquisa do Laboratório de Estudos em Couro e Meio Ambiente (LACOURO) têm se preocupado com as questões ambientais relacionadas aos curtumes tendo como principais objetivos o desenvolvimento de tecnologias limpas, reuso de água e efluentes e obtenção de subprodutos e energia a partir de resíduos sólidos. Na área de DA de resíduos sólidos de curtumes, os pesquisadores do grupo avaliaram principalmente: a produção de biogás por esses resíduos e o efeito do tratamento enzimático do farelo de couro para acelerar sua decomposição; a produção de biogás por diferentes substratos contendo colágeno, incluindo resíduos de curtumes, através do teste de diferentes lodos, provenientes de esgoto doméstico, curtumes e frigoríficos; e a coleta, isolamento e identificação dos microrganismos com potencial de produzir biogás com alto teor de metano a partir de ensaios de biodegradação de lodo proveniente de aterros de curtumes com farelo de couro contendo cromo.

A principal motivação desse estudo é o tratamento de diferentes resíduos sólidos de curtumes, tais como farelo da etapa de rebaixamento e lodo das estações de tratamento de efluente, que são atualmente dispostos em aterros e, por isso, não são energeticamente aproveitados, através da DA controlada da combinação desses resíduos para a produção de energia renovável e um produto residual com massa e carga orgânica reduzidos que pode ser aplicado na agricultura.

## 1.1. Objetivos do trabalho

O objetivo geral desse estudo é o tratamento de diferentes resíduos sólidos industriais, principalmente de curtumes, por meio da co-digestão anaeróbia destes, avaliando a geração de biogás.

Os objetivos específicos desse estudo de co-digestão anaeróbia de resíduos são:

- Verificar a combinação de farelo de couro e lodo de ETEs como substratos, provenientes de etapas anteriores e posteriores ao curtimento;
- Analisar a evolução das fases de adaptação, logarítmica e estacionária do processo de DA;
- Utilizar como substrato o lodo de ETEs de curtumes e a sua mistura com farelo de couro provenientes de processos com uso de diferentes agentes curtentes: sais de cromo e taninos vegetais e verificar a interação entre eles;
- Avaliar o efeito do pré-tratamento térmico do farelo de couro;
- Verificar a eficiência do tratamento dos resíduos através da redução de carga orgânica e geração de biogás e de metano;
- Verificar o escalonamento do processo para uma escala semi-piloto;
- Analisar a viabilidade econômica do processo, através do levantamento de custos;
- Adicionar o efluente líquido de curtume gerado no processo a partir da etapa de curtimento como suplemento nutricional;
- Analisar a comunidade microbiana antes e após o processamento dos resíduos.
- Adicionar diferentes resíduos industriais no substrato: pelo bovino, biomassa de microalga e silicone, visando a suplementação nutricional e o tratamento simultâneo de mais resíduos.

## 1.2. Estrutura do trabalho

O presente trabalho está estruturado em 12 capítulos.

No capítulo 1 é apresentada uma introdução sobre o aproveitamento energético dos resíduos de curtume, assim como os objetivos e a estrutura do trabalho.

No capítulo 2 é apresentada uma revisão teórica publicada em três capítulos do livro *Biogas: Production, Applications and Global Developments* da editora Nova Science

Publishers. O primeiro capítulo *Biogas Production from Solid Tannery Wastes* trata sobre a geração de biogás a partir de resíduos sólidos de curtumes, assim como os aspectos do processamento realizado em curtumes, os resíduos gerados em cada etapa, o tratamento desses resíduos, sua destinação para aterros, sua qualidade e importância na matriz energética brasileira. O segundo capítulo *The Range of Organic Solid Wastes from Anaerobically Digested Tanneries* trata sobre as principais características e fatores que influenciam a digestão anaeróbia. O terceiro capítulo *Acting Microbiota on Solid Wastes in Biogas Production* trata da importância do conhecimento e da identificação dos microrganismos atuantes no processo. Ainda são apresentados comentários adicionais e atualizações da literatura.

No capítulo 3 são apresentados os materiais e métodos detalhados utilizados para elaboração e análise dos ensaios de biodegradação.

No capítulo 4 é apresentado o artigo *Biogas production from tannery sludge in batch bioreactors: The role of chromed leather shavings as a co-substrate*, o qual está em processo de submissão para periódico, onde se avaliou a influência da adição de farelo de couro como co-substrato na DA do lodo de ETEs na produção de biogás e de metano e na eficiência do tratamento dos resíduos.

No capítulo 5 é apresentado o artigo *Monitoring of biogas production from tannery solid waste in laboratory-scale batch anaerobic digesters*, o qual está em processo de submissão para periódico, onde a eficiência energética, em termos da produção e qualidade do biogás, a eficiência do tratamento dos resíduos, em termos da redução da carga orgânica e inorgânica entre outros, foram monitoradas periodicamente ao longo da co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes.

No capítulo 6 é apresentado o artigo *Biogas production for anaerobic co-digestion of tannery solid wastes under presence and absence of the tanning agent*, publicado no periódico *Resources, Conservation & Recycling*, onde se avaliou a co-digestão de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes antes e após o seu curtimento. A produção de biogás e de metano e a variação da carga orgânica e inorgânica foram utilizadas como variáveis de resposta.

No capítulo 7 é apresentado o artigo *Biogas from anaerobic co-digestion of chrome and vegetable tannery solid waste mixture: influence of tanning agent and thermal pretreatment*, publicado no periódico *Process Safety and Environmental Protection*, onde se

avaliou a geração de biogás e de metano e a variação da carga orgânica e inorgânica em ensaios controlados de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs, curtidos com os dois principais curtentes utilizados na indústria, sal de cromo e tanino vegetal, analisando-se a interação entre esses agentes curtentes e a influência do pré-tratamento térmico do farelo.

No capítulo 8 é apresentado o artigo *Biogas production from tannery solid wastes – Scale-up and cost saving analysis*, publicado no periódico *Journal of Cleaner Production*, onde se avaliou o escalonamento dos ensaios de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs para uma escala semi-piloto através de um modelo teórico para a taxa de desintegração dos resíduos, assim como a economia energética de um curtume para o caso dos resíduos sólidos serem destinados para produção de biogás.

No capítulo 9 é apresentado o artigo *Tannery wastewater as nutrient supply in production of biogas from solid tannery wastes mixed through anaerobic co-digestion*, o qual está em processo de submissão para periódico, onde se avaliou a possibilidade de se utilizar efluente bruto do processo de curtimento como suplementação nutricional na co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs, avaliando-se as eficiências energética, econômica e do tratamento dos resíduos.

No capítulo 10 é apresentado o artigo *Biogas from tannery solid waste anaerobic digestion is driven by the bacterial order Bacteroidales and archaeal family Methanosaetaceae*, o qual está em processo de submissão para periódico, onde se caracterizou a composição microbiológica antes e após os ensaios de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes.

No capítulo 11 é apresentado o artigo *Evaluating co-substrates to supplement biogas production from tannery solid waste treatment – cattle hair, microalgae biomass and silicone*, aceito para publicação no periódico *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, onde se avaliou a influência da adição de pelo bovino, biomassa de microalga ou silicone comercial como terceiro co-substrato na co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs.

No capítulo 12 são apresentadas as conclusões deste trabalho e sugestões para trabalhos futuros.

## Capítulo 2

# Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

Autores: Caroline Borges Agustini, Mariliz Gutterres

Neste capítulo é apresentada uma revisão teórica que se divide em três partes que tratam sobre: i) a geração de biogás a partir de resíduos sólidos industriais, dando enfoque nos subprodutos negativos da industrialização atual, que podem ser aproveitados energeticamente para a produção de biogás, fonte de energia renovável reconhecida e importante na matriz energética brasileira, assim como os principais resíduos sólidos gerados no processamento de couros e o seu tratamento e destinação, mostrando a DA destes uma alternativa viável para o seu tratamento aliado à produção de energia; ii) as principais características e os fatores que influenciam o processo de digestão anaeróbia; e, por fim, iii) as fases em que o processo se divide, assim como métodos de identificação dos microrganismos atuantes.

Esta revisão está publicada nos capítulos de livro *Biogas Production from Solid Tannery Wastes, The Range of Organic Solid Wastes from Anaerobically Digested Tanneries* e *Acting Microbiota on Solid Wastes in Biogas Production* do livro *Biogas: Production, Applications and Global Developments*, ISBN: 978-1-53612-787-4, da editora Nova Science Publishers, editado por Agostino Vico e Nicolò Artemio, da série *Energy Science, Engineering and Technology*, disponível na Biblioteca da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## 2.1. Biogas production from solid tannery wastes

### Abstract

The energy utilization of solid waste through biogas has become an increasingly urgent issue due to the problem of solid waste treatment and disposal, as well as the recognition of the importance of generating biogas from biomass. Recently, the tannery industry has attracted attention because of its waste management techniques. The most common way to manage solid tannery wastes is by disposing of them at landfill sites. However, this technique has become more difficult because of the introduction of stringent environmental pollution control standards. Moreover the high organic fraction of this waste has been recognized as a valuable resource that can be converted into useful products via microbial transformations. Its removal has become an ecological problem that has been brought to light as a result of an increase in public health concerns and environmental awareness. The residues generated by tannery processing can be divided into untanned collagen residues, tanned collagen residues, and non-protein residues. The residues that are generated are highly concentrated—mainly in chromium, vegetal tannins, chlorides, and calcium—and they are, therefore, toxic. The main solid wastes produced by the tanneries are wet-blue leather shavings, vegetable tanned shavings, and finished and semi-finished leathers. During the treatment of tannery effluents, for 1 ton of skin approximately 200 kg of primary and secondary sludge are generated. Disposal of this sludge is a major concern in terms of environmental protection. However, this quantity of sludge can be converted into approximately 40 m<sup>3</sup> of biogas. Approximately 20% of the initial volume of the residue remains non-biodegraded and can be used as biofertilizer. Natural waste degradation, leading to CH<sub>4</sub> emissions, is undesirable due to the effects of global warming, which results from the release of greenhouse gases. However, the controlled anaerobic digestion of this waste allows the biogas to be captured, CH<sub>4</sub> emissions during storage and disposal can be reduced, and the energy that is obtained can be used as a substitute for fossil fuels, thus serving as a neutral CO<sub>2</sub> energy. Consequently, re-use of tannery solid waste in biogas production is being developed. This chapter will present a review of biogas importance and applications and the main tannery wastes that are applied in biogas production, including a description of their characteristics, handling problems, worldwide.

---

## **2.2. The Range of Organic Solid Wastes from Anaerobically Digested Tanneries**

### **Abstract**

Tannery processing technology produces large amounts of solid wastes, which are a major challenge to the environment. To produce 1 ton of raw hides/skins into finished leather, around 500 kg of processed solid waste is generated. Large amounts of toxic components are used in leather processing, such as chromium, chlorides, and tannins. The solid residues are highly organic because they are produced from animal skin. Therefore, their disposal in the environment causes uncontrolled biodegradation, generating emissions and eutrophication. The anaerobic digestion of these residues generates biogas and removes a large amount of carbon from the waste, in the form of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>, which reduces its organic load. This chapter will present a review of anaerobic process characteristics and the efficiency of anaerobic digestion with regard to the reduction of the organic load of solid wastes.

## **2.3. Acting Microbiota on Solid Wastes in Biogas Production**

### **Abstract**

Anaerobic digestion (AD) technology for biogas production has become very popular in recent decades and knowledge of the microbiological aspects of this technology has gained considerable interest. Important advances have been made in understanding the diversity of microorganisms, which is of great interest in obtaining the function of these organisms. Knowledge of the ecology and function of the microbial community in biological processes is necessary to better control them. A considerable effort has been made to understand the structure of the microbial community using molecular approaches, both dependent and independent of culture. The recent spread of high throughput sequencing techniques—which are also known as second generation sequencing, deep sequencing or mass parallel sequencing—has made sequencing with significantly greater coverage possible. The advantages of this approach include reducing the time of the analysis and identifying any microorganisms that are difficult to grow. For example, the methanogenic microorganisms that are responsible for the production of methane in biogas, and therefore for its high calorific value, are strict anaerobes and consequently their traditional cultivation is very expensive and laborious. This chapter will present a review of the state-of-the-art in identifying the microorganisms that are applied in AD of industrial residue and crop optimization techniques for the production of biogas with higher methane content.

## Capítulo 3

### Materiais e Métodos

Neste capítulo é apresentado o detalhamento dos materiais e métodos utilizados na realização desse estudo: os resíduos utilizados nos ensaios de biodegradação e onde foram coletados; a montagem e os parâmetros dos ensaios de biodegradação; e o detalhamento das técnicas utilizadas para acompanhar a eficiência da biodegradação nos resíduos. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Estudos em Couro e Meio Ambiente (LACOURO) do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia da UFRGS.

#### 3.1. Resíduos

Os resíduos de curtumes utilizados foram:

- Farelo obtido após a etapa de rebaixamento de pele piquelada (Figura 3.1a), coletado no curtume Krumenauer (Portão, RS/Brasil), que realiza as etapas a partir do curtimento com sais de cromo e taninos vegetais; farelos de couro *wet-blue* (Figura 3.1b), coletado no curtume Nimo (Montenegro, RS/Brasil), que realiza o processamento completo do couro; e farelo de couro curtido com taninos vegetais (Tanino condensado Acácia) (Figura 3.1c), coletado no curtume Krumenauer (Portão, RS/Brasil);
- Lodo da estação de tratamento de efluentes (ETE) do curtume Nimo (Montenegro, RS/Brasil) coletado após o processamento do efluente somente das etapas iniciais do processo (ribeira) (Figura 3.1g); lodo da ETE do curtume Bender (Estância Velha, RS/Brasil), que realiza o processamento completo do couro com sal de cromo, após o

processamento do efluente do processo completo (Figura 3.1h); e lodo da ETE do curtume Krumenauer (Portão, RS/Brasil) coletado após o processamento do efluente do processo completo onde foram utilizados taninos vegetais na etapa de curtimento (Figura 3.1i);

- Efluente das etapas de acabamento (Figura 3.1f), coletado no curtume JBS (Montenegro, RS/Brasil), que realiza as etapas de acabamento a partir de couro *wet-blue*;
- Outros materiais: (i) pelo da etapa de depilação pelo processo *hair saving* (Figura 3.1j), coletado no curtume Ritter (Picada Café, RS/Brasil), que realiza o processamento completo do couro; (ii) biomassa de microalga cultivada em efluente de ribeira (Figura 3.1k), produzidas e coletadas em estudos não correlacionados do LACOURO; e (iii) silicone comercial para simular o resíduo da indústria de silicone (Figura 3.1l), por ser uma matriz polimérica.

Os resíduos foram mantidos em temperatura ambiente antes da sua utilização nos ensaios de biodegradação. O tratamento térmico do farelo foi realizado em alguns ensaios para facilitar a sua disponibilidade para a biodegradação (Figura 3.1d e 3.1e), através da autoclavagem a 121 °C (1 atm) por 5 minutos.



a. Farelo de pele piquelada

b. Farelo de couro *wet-blue*

c. Farelo de couro curtido com taninos vegetais

d. Farelo de couro *wet-blue* após tratamento térmico

e. Farelo de couro curtido com taninos vegetais após tratamento térmico



f. Efluente das etapas de acabamento de um curtume.



g. Lodo de ETE de um curtume de ribeira



h. Lodo de ETE de um curtume que utiliza sais de cromo na etapa de curtimento



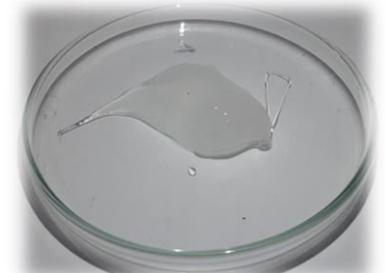
i. Lodo de ETE de um curtume que utiliza taninos vegetais na etapa de curtimento



j. Pelo da etapa de depilação



k. Biomassa de microalga das etapas de tratamento do efluente de ribeira



l. Silicone

**Figura 3.1.** Resíduos utilizados.

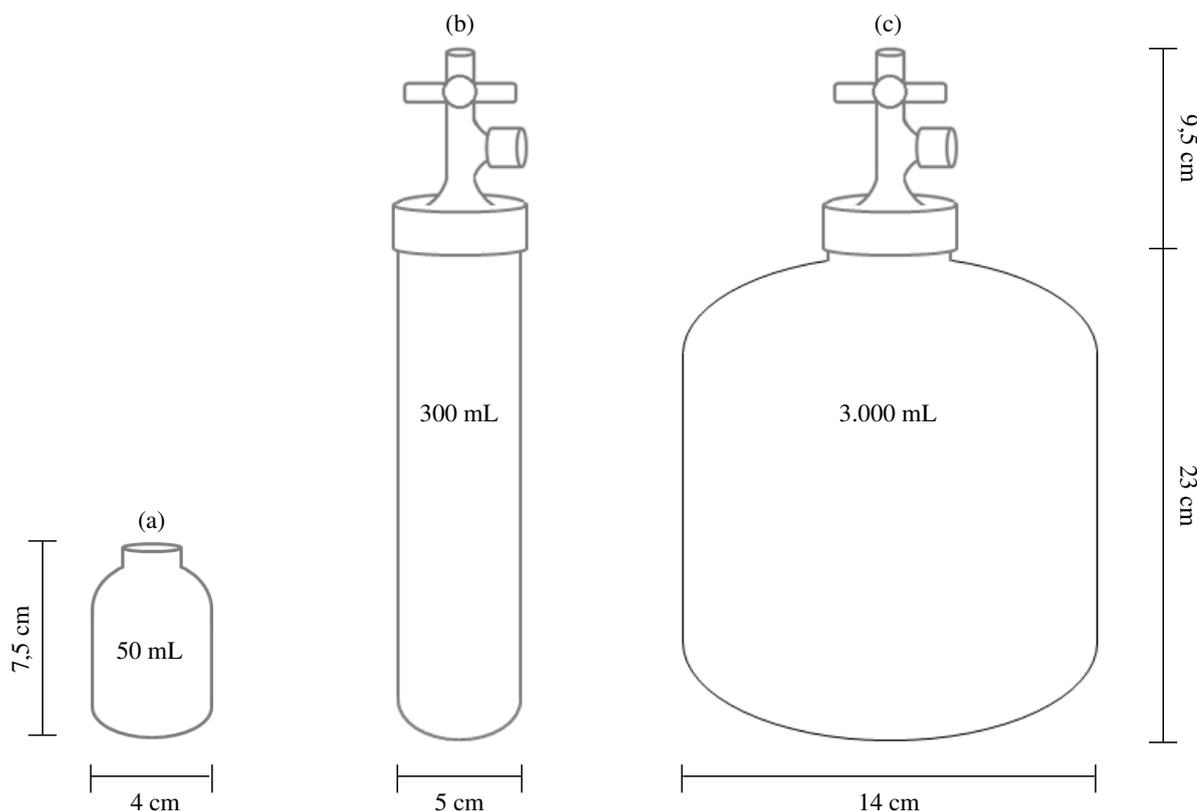
## 3.2. Biorreatores

Os ensaios de biodegradação foram realizados em frascos de 50 mL (Figura 3.2a), em biorreatores de bancada de 300 mL (Figura 3.2b) e em biorreatores de escala semi-piloto de 3 L (Figura 3.2c). Os biorreatores foram feitos de vidro, hermeticamente fechados e continham dois pontos de coleta interna de amostra: (i) uma válvula superior, para medição do volume de biogás produzido e concomitante alívio da pressão interna e (ii) uma válvula rosca lateral com septo, para coleta de amostras para análise cromatográfica da composição do biogás. Os biorreatores foram incubados em uma estufa para cultura bacteriológica modelo DL-CBE18L da marca DeLeo a 35 °C até a produção diária de biogás ser inferior a 0,5 mL.

A razão entre as quantidades de lodo e farelo de 25 mL de lodo/1 g de farelo foi estipulada através de pesquisa local com os curtumes da região de acordo com as quantidades proporcionais produzidas desses resíduos. Para os demais resíduos analisados também se estipulou a quantidade de 1 g. Devido às suas características e origem, o lodo continha uma alta carga de microrganismos, de forma que ele também atuava como inóculo dos ensaios.

Para garantir condições favoráveis para o crescimento e metabolismo dos microrganismos, 200 mL de uma solução de nutrientes foi adicionada aos ensaios para cada 1 g de farelo. O efluente de curtume que substituiu a solução de nutrientes em alguns ensaios também foi utilizado na quantidade de 200 mL para cada 1 g de farelo.

Após a incubação, os biorreatores foram abertos e as suas amostras precipitadas e dissolvidas foram coletadas, separadas através de filtração e armazenadas a 4 °C.



**Figura 3.2.** (a) Frascos de 50 mL, (b) biorreatores de bancada de 300 mL e (c) biorreatores em escala semi-piloto de 3 L utilizados.

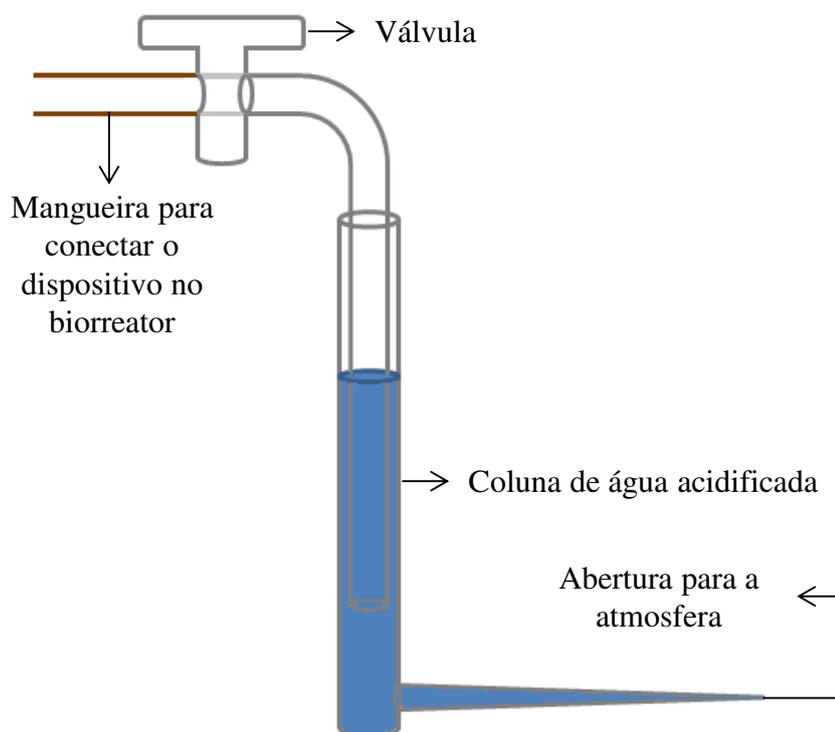
### 3.3. Análise das misturas antes da biodegradação

Para se realizar as análises nos resíduos antes da biodegradação, os ensaios análogos aos realizados nos biorreatores foram montados em frascos reagentes graduados de 500 mL, agitados por 1 h em temperatura ambiente em um agitador de Wagner da marca ACB Labor e armazenados por 24 h a 4 °C para sedimentação. Após, os frascos foram abertos e as suas amostras precipitada e dissolvida foram coletadas, separadas através de filtração e armazenadas novamente a 4 °C.

### 3.4. Monitoramento do volume de biogás

O monitoramento da produção volumétrica de biogás nos biorreatores foi realizado com o auxílio de um dispositivo que utilizava o princípio de Mariotte (Figura 3.3). Para a realização da medida (i) uma mangueira era conectada entre o dispositivo e o biorreator, (ii) a válvula do dispositivo era aberta (iii) e a válvula do biorreator era aberta, o que resultava na

saída de um volume de água do dispositivo equivalente ao volume de biogás gerado no biorreator acima da pressão atmosférica. Essa quantidade de água era pesada e convertida em volume através da massa específica na temperatura ambiente no momento da medida. O pH da solução aquosa era mantido abaixo de 3,0 para evitar a solubilização de componentes do biogás ( $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{S}$ ). A medida era realizada quatro vezes por semana, para a pressão dentro do biorreator se manter próxima da pressão atmosférica e, assim, evitar a inibição por pressão. A condição de parada adotada foi produção de 0,5 mL/dia ou menos. O monitoramento nos frascos de 50 mL foi realizado com seringa graduada.



**Figura 3.3.** Dispositivo para medição volumétrica de biogás.

### 3.5. Composição do biogás

Um cromatógrafo gasoso modelo GC-2014 da marca Shimadzu equipado com um detector de condutividade térmica (TCD) e uma coluna empacotada ShinCarbon (ST 100/120 2 m 1 mmID 1/16" OD Silco) foi utilizado para a determinação das frações de ar ( $\text{O}_2$  e  $\text{N}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) do biogás produzido nos biorreatores. O gás de arraste utilizado foi Hélio 5.0 Analítico (White Martins) a uma vazão de 10 mL/min. As temperaturas do injetor, do pré-detector e do detector foram mantidas a 200, 240 e 250 °C, respectivamente. O programa de temperaturas do forno era: 40° C por 3 min, rampa a 15

°C/min até 150 °C, e 150 °C por 0,67 min, totalizando 11 min de análise. Os resultados foram expressos em percentuais de O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. O volume dos gases foi obtido assumindo percentuais volumétricos.

### 3.6. Umidade, sólidos totais, fixos e voláteis

Para a determinação da umidade e do teor de sólidos totais, fixos e voláteis das amostras, utilizou-se o método gravimétrico (NBR ISSO 4684:2014) com o auxílio de uma balança analítica digital modelo EEQ9003F-B da marca Edutec, uma estufa de secagem da marca de Leo, um forno mufla modelo Q318M da marca Quimis e cadinhos de porcelana modelo B-47 marca Chiarotti. O procedimento consistiu em:

- i. Calcinar o cadinho durante 1 h a 600 °C no forno mufla (M<sub>1</sub>);
- ii. Adicionar a amostra (precipitada ou dissolvida filtrada) no cadinho (M<sub>2</sub>);
- iii. Secar o cadinho com a amostra a 100 °C na estufa de secagem até peso constante (M<sub>3</sub>);
- iv. Calcinar o cadinho com a amostra seca a 600° C no forno mufla por 1 h (M<sub>4</sub>).

Os cálculos para o teor umidade, sólidos totais, fixos e voláteis são mostrados nas Equações 3.1 a 3.5:

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Sólidos totais (g)} = M_3 - M_1 \quad (3.2)$$

$$\text{Sólidos fixos (\%)} = \frac{M_4 - M_1}{M_3 - M_1} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{Sólidos voláteis (\%)} = \left(1 - \frac{M_4 - M_1}{M_3 - M_1}\right) \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.7. Densidade

Para a determinação de densidade, a amostra era disposta em um picnômetro de vidro de 10 mL modelo PL426A da marca Plena Lab e pesada em uma balança analítica digital modelo EEQ9003F-B da marca Edutec em temperatura ambiente.

### 3.8. Carbono e Nitrogênio

As determinações de carbono orgânico total (COT), carbono total (CT), carbono inorgânico (CI) e nitrogênio total (NT) foram realizadas em um analisador de carbono modelo TOC-L da marca Shimadzu equipado com um acessório para determinação de nitrogênio total (TNM-L) e um amostrador automático (OCT-L).

A oxidação da amostra ocorre através da sua combustão catalítica a 680 °C e a detecção é realizada por infravermelho não dispersivo (NDIR). Ar sintético 4.7 (marca White Martins) a 150 mL/min foi utilizado como gás de arraste. Uma diluição 1:20 foi utilizada para todas as amostras.

A conversão de carbono pela digestão anaeróbia foi calculada através do balanço de massa molar em termos de carbono, levando-se em consideração o carbono total inicial e o carbono que saiu do sistema na forma de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>.

### 3.9. Demanda bioquímica de oxigênio – DBO

Os microrganismos presentes e/ou adicionados em uma amostra líquida contendo matéria orgânica biodegradável consomem oxigênio para sua atividade metabólica e produzem uma quantidade equivalente de dióxido de carbono. Se o processo ocorrer em um sistema fechado e o dióxido de carbono for absorvido por um álcali forte, uma redução progressiva da pressão interna pode ser observada.

As medidas da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) foram realizadas com um sensor de pressão (BOD Sensor) da marca VELP Scientifica equipado com um sistema de agitação (System 6). A composição de materiais e reagentes para as análises é mostrada na Tabela 3.1. Após montagem, os frascos foram incubados a 20 °C por 5 dias. Uma amostra

apenas com água (branco) sempre era realizada para se obter o valor de DBO relativo somente à semente.

**Tabela 3.1.** Composição das soluções para as análises de DBO.

<b>Solução</b>	<b>Quantidade</b>
<i>Amostra (diluição 1:20)</i>	
Água	237,5 mL
Amostra	12,5 mL
<i>Pré-tratamento da amostra</i>	
Sulfato de sódio 1,58 g/L – remoção de cloretos	1 mL
2-Cloro-6(triclorometil) piridina 350 g/L – inibição de nitrificantes	1 mL
<i>Semente</i>	
Lodo de estação de tratamento de efluente de curtume que utilizou sais de cromo e taninos vegetais no processo de curtimento	2 mL
<i>Solução de nutrientes</i>	
FeCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O 0,25 g/L	0,25 mL
CaCl <sub>2</sub> 27,5 g/L	0,25 mL
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 22,5 g/L	0,25 mL
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 8,5 g/L	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 33,4 g/L	0,25 mL
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1,7 g/L	

### 3.10. Demanda química de oxigênio – DQO

As medidas de demanda química de oxigênio (DQO) foram realizadas através do método colorimétrico de refluxo fechado (5220 – *Standard Methods*) onde as matérias orgânica e inorgânica presentes na amostra são oxidadas por meio do agente oxidante dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). A DQO é quantificada por ser linearmente proporcional à mudança de cor do meio, conforme o cromo é reduzido (Cr<sup>6+</sup> a Cr<sup>3+</sup>).

A composição de materiais e reagentes para as análises é mostrada na Tabela 3.2. Após a adição das soluções em tubos de vidro com rosca para digestão, os tubos foram fechados e dispostos em uma chapa para aquecimento modelo ECO25 da marca VELP Científica por 2 h a 150 °C. Após resfriamento, a absorbância da amostra era lida em um espectrofotômetro modelo T80 + UVVis Spectrometer da marca PG Instruments em 600 nm. Uma amostra apenas com água (branco) sempre era realizada. O cálculo da concentração de DQO era realizado utilizando-se a equação da reta obtida da curva de calibração padrão com biftalato de potássio (KHP) (1000 ppm = DQO teórica de 1000 ppm de O<sub>2</sub>).

**Tabela 3.2.** Composição das soluções para as análises de DQO.

<b>Solução</b>	<b>Quantidade</b>
<i>Amostra (diluição 1:2)</i>	
Água	1 mL
Amostra	1 mL
<i>Solução digestora</i>	
Dicromato de potássio (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) 10,216 g em 500 mL de água destilada	
Ácido sulfúrico (P.A.) 167 mL	1,2 mL
Sulfato de mercúrio II (HgSO <sub>4</sub> ) 33,3 g	
Avolumar em 1000 mL de água destilada	
<i>Solução catalítica</i>	
Sulfato de prata (Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) 10,12 g/L de ácido sulfúrico (P.A.)	2,8 mL

### 3.11. Cromo

A concentração de óxido de cromo (III) foi determinada através da ABNT NBR 13341:2010 – Banho Residual de Curtimento e Recurtimento – Determinação do Teor de Óxido de Cromo III. A composição de materiais e reagentes para as análises é mostrada na Tabela 3.3. Após, as amostras foram tituladas em um titulador automático modelo 702 SM Titrimo da marca Metrohm com tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0,1 N como titulante. A concentração de óxido de cromo (III) foi então obtida através da Equação 3.5.

**Tabela 3.3.** Composição das soluções para as análises de óxido de cromo (III).

<b>Solução</b>	<b>Quantidade</b>
<i>Amostra (diluição 1:10)</i>	
Água	9 mL
Amostra	1 mL
<i>Solução 1 – ferver por 10 min</i>	
Hidróxido de sódio (NaOH) 4%	25 mL
Peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) 6%	15 mL
<i>Solução 2 – ferver por 5 min</i>	
Sulfato de níquel (NiSO <sub>4</sub> ) 5%;	5 mL
<i>Solução 3 – titular</i>	
Ácido clorídrico (HCl) 50%	15 mL
Iodeto de potássio (KI) 10%	20 mL

$$\text{Concentração de óxido de cromo III (g/L)} = \frac{\text{Volume de tiosulfato (mL)} \times 2,533}{\text{Volume de amostra (mL)}} \quad (3.5)$$

### 3.12. Taninos

A concentração de taninos vegetais pode ser quantificada por ser linearmente proporcional à mudança de absorvância no meio (AUAD, 2018). O cálculo da concentração de taninos foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida da curva de calibração padrão com tanino de Acacia (Tanfood da marca Tanac). A absorvância das amostras era lida em um espectrofotômetro modelo T80 + UVVis Spectrometer da marca PG Instruments em 278 nm, comprimento de máxima absorção obtido por varredura e característico para taninos.

### 3.13. Fenóis

A concentração de fenóis totais foi estimada como equivalentes de ácido tânico, de acordo com o ensaio de Folin-Ciocalteu (MIRON et al., 2011). A composição de materiais e reagentes das análises é mostrada na Tabela 3.4. Após 30 min de repouso no escuro, a absorvância das amostras era lida em um espectrofotômetro modelo T80 + UVVis Spectrometer da marca PG Instruments em 760 nm. O cálculo da concentração de fenóis totais foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida da curva de calibração padrão com ácido tânico com diluições sucessivas em etanol.

**Tabela 3.4.** Composição das análises de fenóis totais.

<b>Solução</b>	<b>Quantidade</b>
Amostra	0,5 mL
Folin-Ciocalteu 10% (v/v)	2,5 mL
Carbonato de sódio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) 4%	2 mL

### 3.14. pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico com um pHmetro modelo DM-22 da marca Digimed equipado com sensor de temperatura. Para calibração, utilizaram-se

soluções padrão tampão de pH 6,86 (DM-S1A) e pH 4,01 (DM-S1B) e compensação de temperatura para 25 °C.

### 3.15. Sequenciamento de alto rendimento

O estudo microbiológico foi realizado com técnicas de biologia molecular utilizando-se a análise de sequenciamento de DNA de alto rendimento. O DNA das amostras do ensaio do Capítulo 10 foi extraído usando o kit PureLink™ Microbiome DNA Purification (Invitrogen). Utilizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificar um segmento parcial do gene 16S rRNA utilizando os iniciadores F515 e R806; As condições de PCR foram: um ciclo inicial a 94 °C por 5 min, 35 ciclos a 94 °C por 15 s, 55 °C por 45 s e 72 °C por 90 s e um ciclo de extensão final de 72 °C por 6 min. Esses ensaios foram realizados no Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da UFRGS. Os fragmentos de gene de rRNA 16S ~ 250 pb obtidos foram submetidos a sequenciamento de alto rendimento num sequenciador Ion PGM (Thermo Fisher), seguindo o protocolo do fabricante, disponível no Instituto do Petróleo e dos Recursos Naturais (IPR) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

As leituras de 16S rRNA foram submetidas a um controle de qualidade que retinha sequências com comprimento mínimo de 100 pb e removia as bases de baixa qualidade para o escore mínimo de Phred de 30 usando PRINSEQ. As sequências restantes foram desreplicadas e classificadas pela redução da abundância de leitura e depois filtradas para excluir sequências únicas usando USEARCH v7.0.1090. As quimeras foram removidas usando o banco de dados de referência do RDP. A atribuição taxonômica foi obtida usando o QIIME v1.7. As OTUs (*operational taxonomic unit*) foram selecionadas com base em 97% de similaridade de sequência, e dados taxonômicos foram coletados através do algoritmo de classificação usando a versão de 92% de OTUs do GreenGenes 13,8.

### 3.16. Análise estatística

As análises e os planejamentos estatísticos para os ensaios de biodegradação foram realizados utilizando-se o software Microsoft Excel (versão 2010) para Windows. A significância estatística foi avaliada usando a análise de variância de médias ANOVA (Análise de dados – Ferramentas de análise – Anova fator único) e o teste T (Análise de dados – Ferramentas de análise – Test-T: duas amostras em par para médias). Diferenças foram

aceitas como significativas quando o valor- $p < 0,01$ .

As análises e os planejamentos estatísticos para os análises microbiológicas foram realizados utilizando-se o software Past 3. A significância estatística foi avaliada usando a análise de variância ANOSIN, SIMPER e análise de correspondência canônica.

## Referências

AUAD, P. **Composição química de taninos vegetais, curtimento e propriedades nos couros** [s.l.] Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

MIRON, T. L. et al. Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. **Journal of Chromatography**, v. 1218, p. 4918–4927, 2011.



## Capítulo 4

# **Biogas production from tannery sludge in batch bioreactors: The role of chromed leather shavings as a co-substrate**

Autores: Caroline Borges Agustini, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic mono-digestion treatment of tannery chromed sludge for biogas production.
- Influence of tannery chromed shavings as a co-substrate.
- Shavings increase the time of biodegradation for the same biogas productivity.
- Shavings greatly increase the production of biogas for the same volume of waste.

Neste artigo avaliou-se a influência da adição de farelo de couro como co-substrato na DA do lodo de ETEs na produção de biogás e de metano e na eficiência do tratamento dos resíduos. Este artigo está em processo de submissão (consulta em <http://lattes.cnpq.br/2414371694047347>).

**Abstract**

In this paper, biogas was produced by anaerobic digestion (AD) of tannery waste. This study aimed to verify the influence of the addition of tannery shavings as a co-substrate in AD of tannery sludge with regard to biogas production and waste treatment efficiency. Batch bioreactor experiments were carried out in two configurations: mono-digestion (only sludge) and co-digestion (sludge + shavings). In both sets, a nutrient solution was added to ensure initial growth. Biogas volume was monitored by water displacement and biogas composition was monitored with a gas chromatograph. Waste biodegradation was monitored in terms of chromium concentration, BOD<sub>5</sub>, TOC, TC and TN. The results showed that the addition of tannery shavings decreased AD efficiency and increased the process time for the same biogas production per unit of organic load. It also increased the organic load per unit of volume of waste, producing more biogas volume for virtually the same volume of waste.

Keywords: biogas, biosolids, digestion, microbial degradation, renewable energy.

## Capítulo 5

# Monitoring of biogas production from tannery solid waste in laboratory-scale batch anaerobic digesters

Autores: Caroline Borges Agustini, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic digestion of sludge and shavings from tannery.
- Evolution of the energy and treatment efficiency of the anaerobic digestion.
- Long microorganisms adaptation.
- Metabolic rate of 15 mL of biogas/day in log phase.
- Shavings completely destroyed at the end.

Neste artigo, a eficiência energética, em termos da produção e qualidade do biogás, a eficiência do tratamento dos resíduos, em termos da redução da carga orgânica e inorgânica entre outros, foram monitoradas periodicamente ao longo da co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes. Este artigo está em processo de submissão (consulta em <http://lattes.cnpq.br/2414371694047347>).

**Abstract**

The understanding of how chemical, physical and environmental parameters function during anaerobic digestion production and waste treatment is an important step in improving the efficiency and process stability. This paper provides the evolution of the energy efficiency (biogas and methane production) and the efficiency of the treatment of the waste (BOD, TOC, IC, TN, C/N, VDS, VSS, pH and chromium concentration) of the anaerobic digestion of the solid waste of tanneries periodically monitored in batch laboratory-scale bioreactors. Leather shavings and sludge from wastewater treatment plants substrates were considered in the study. The findings suggest that AD of the tannery solid waste can be separated into three phases: (i) a long lag phase, where the microorganisms slowly adapt to the waste, approximately 40 days; (ii) a log phase with a low metabolic rate of 15 mL of biogas/day, due to the complexity of the waste, where much of the chromium present is bound or adsorbed to the shavings, not inhibiting the process and (iii) the final phase where all the shavings were metabolized and all the chromium dissolved in the reaction medium.

**Keywords:** anaerobic digestion phases; biogas; sludge; shavings.

## Capítulo 6

# Biogas production for anaerobic co-digestion of tannery solid wastes under presence and absence of the tanning agent

Autores: Caroline Borges Agustini, Franciela Spier, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Co-digestion of leather shavings mixed with sludge before and after the tanning.
- Wastes anaerobically biodegradable with a methane potential of 4.1–11.3 mL/g.
- Low concentrations of chromium produced 3 times more biogas than its absence.
- Inhibitory effect of vegetable tannin where the residue underwent only hydrolysis.

Neste artigo, avaliou-se a co-digestão de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes antes e após o seu curtimento. A produção de biogás e de metano e a variação da carga orgânica e inorgânica foram utilizadas como variáveis de resposta. Este artigo está publicado no periódico *Resources, Conservation & Recycling*, ISSN: 0921-3449, fator de impacto: 3,313, DOI: 10.1016/j.resconrec.2017.11.018.

**Abstract**

The influence of the presence of the tanning agent in co-digestion of leather shavings mixed with sludge before and after the tanning stage was examined. Chromium and vegetable tannin are the main tanning agents used and the presence of both was evaluated in two orthogonal arrays. The energy efficiency was evaluated through biogas and methane production. The efficiency in waste treatment was evaluated through the variation of TOC, IC, TN and the concentration of the tanning agents. Sludge with chromium proved to be significantly more suitable for AD than sludge without it, producing 27.9 ml of biogas/g of VSS with 60% of methane; a reduction of 62.8% of TOC; and a 325.0% increase of IC, showing that the initial 7.6 mg/L of chromium in these tests was beneficial. Shavings with chromium also proved to be significantly more suitable for AD, even though with a higher initial 16.4 mg/L of chromium, producing 10.7 ml of methane/g of VSS and a 55.2% reduction of TOC, confirming that the concentrations of chromium in the residues were not inhibitory. Shavings with vegetable tannins were unfavorable to the mineralization of the wastes through anaerobic digestion, showing significantly poorer results than shavings without it. They produced 4.1 ml of methane/g of VSS, confirming the establishment of anaerobic digestion. However, they increased the TOC by 23.7%, showing that the initial hydrolytic activity occurred, but the waste was not mineralized by the other phases of the process due to the high initial concentration of 590 mg/L of tannins.

Keywords: anaerobic co-digestion, chromium, vegetable tannin, tannery solid waste, beamhouse waste

## Capítulo 7

# Biogas from anaerobic co-digestion of chrome and vegetable tannery solid waste mixture: influence of the tanning agent and thermal pretreatment

Autores: Caroline Borges Agustini, Michael Meyer, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic digestion of mixtures of solid wastes from tanneries for biogas production.
- Impact of sludge and shaving precedence and thermal pre-treatment on biogas production efficiency.
- Chromium sludge showed a greater mineralization of the residue.
- Presence of thermal pretreatment was beneficial only for essays with vegetable tannins.

Neste artigo, avaliou-se a geração de biogás e de metano e a variação da carga orgânica e inorgânica em ensaios controlados de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs, curtidos com os dois principais curtentes utilizados na indústria, sais de cromo e taninos vegetais, analisando-se a interação entre esses agentes curtentes e a influência do pré-tratamento térmico do farelo. Este artigo está publicado no periódico *Process Safety and Environmental Protection*, ISSN: 0957-5820, fator de impacto: 2,905, DOI: 10.1016/j.psep.2018.06.021.

## **Abstract**

Mesophilic anaerobic co-digestion of mixtures of solid wastes from tanneries containing chromium and vegetable tannins was investigated in an orthogonal array. The effect of thermal pretreatment on shavings was evaluated as well. The biogas and methane productivity in terms of VSS was assessed. The treatment efficiency was also evaluated in terms of variation of organic and inorganic load. All assays with chromium-containing sludge showed on average 19.6 ml of biogas/gVSS added, 8.15 ml of methane/gVSS added, 4.8% VSS reduction, 60.4% BOD<sub>5</sub> reduction, 55% TOC reduction, 67% IC increase and 54.6% TN increase, showing greater mineralization of the residue when compared to the assays with vegetable tannin sludge, which has proven to be toxic. The origin of shavings was not significant in any parameter due to the small proportion of this residue in assays. The thermal pre-treatment was beneficial only for assays with vegetable tannins, since there was evidence that the heating mechanism degraded part of the phenolic organic matter and consequently reduced its toxicity.

**Keywords:** anaerobic co-digestion, chromium, vegetable tannin, tannery solid waste, thermal pretreatment

## Capítulo 8

# Biogas production from tannery solid wastes – Scale-up and cost saving analysis

Autores: Caroline Borges Agustini, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic co-digestion of shavings and sludge from tanneries.
- Modeling and comparing digestion in two different scales.
- Cost saving analysis for biogas from tannery solid waste instead of their disposal.
- Linear consistency in biogas production in laboratory and semi-pilot scales.
- Two-fold biodegradation rate to a five-fold volume of digested waste.

Neste artigo, avaliou-se o escalonamento dos ensaios de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs para uma escala semi-piloto através de um modelo teórico para a taxa de desintegração dos resíduos, assim como a economia energética de um curtume onde os resíduos sólidos fossem destinados para produção de biogás. Este artigo está publicado no periódico *Journal of Cleaner Production*, ISSN: 0959-6526, fator de impacto: 5,715, DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.03.185.

**Abstract**

This work proposes a laboratory and semi-pilot scales procedure for the evaluation of biogas production potential and waste biodegradation efficiency from mixtures of solid wastes from tanneries as well as the evaluation of the energy saving. Leather shavings and sludge from wastewater treatment plants substrates were considered in the study. A theoretical model was employed for calculations of the disintegration kinetic constant ( $k_{dis}$ ). Biogas yields between 21 and 30 mL/kgVSS, maximum methane content of 59 % v/v, and a TOC reduction between 68 and 76% were obtained on both scales. A linear consistency was found in the assessed scale up and a two-fold biodegradation rate to a five-fold volume of treated waste. In the conditions studied in semi-pilot scale, a midsize tannery could reduce 6.8 % of electric and 1.6 % of thermal energy consumption besides the great cost saving of disposal of this waste.

Keywords: anaerobic digestion, semi-pilot scale, tannery sludge, tannery shavings.

## Capítulo 9

# Tannery wastewater as nutrient supply in production of biogas from solid tannery wastes mixed through anaerobic co-digestion

Autores: Caroline Borges Agustini, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic co-digestion of tannery solid and liquid waste simultaneously.
- Tannery wastewater as a nutrient supply.
- Low biogas production of  $1.9 \pm 0.3$  mL/g of VSS.
- Reduction in TOC of 66%, showing the high efficiency of waste treatment.
- Reduction in the cost of wastewater treatment and solid waste disposal.

Neste artigo, avaliou-se a possibilidade de se utilizar efluente bruto do processo de curtimento como suplementação nutricional na co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs, avaliando-se as eficiências energética, econômica e do tratamento dos resíduos. Este artigo está em processo de submissão (consulta em <http://lattes.cnpq.br/2414371694047347>).

**Abstract**

The possibility of using tannery raw wastewater as a substitute for the nutrient supply in the anaerobic co-digestion of two tannery solid waste was investigated with regard to energy efficiency, waste treatment efficiency and economic efficiency. The results showed that the use of tannery wastewater as a source of nutrients for the AD of solid tannery waste proved to be adequate from the point of view that the three residues are being treated simultaneously. There was a biogas production of only  $1.9 \pm 0.3$  mL/VSS, which was statistically equal to the assays without nutrient supply. However, the percentage of methane in the biogas reached 33% at the beginning of the process, proving that there was methanogenic activity and that, even with inhibition, AD established itself. The cost analysis showed that a reduction of 8% of electric or 2% of thermal energy consumption can be achieved if all the shavings and sludge and 20% of the wastewater produced can be co-digested. Besides this energy cost saving, there is a great reduction in the cost of wastewater treatment and solid waste disposal of 23% and 18%, respectively, in terms of electricity consumption and 11% and 8% respectively in terms of thermal consumption.

Keywords: tannery waste, anaerobic digestion, biogas, nutrient supply.

## Capítulo 10

# **Biogas from tannery solid waste anaerobic digestion is driven by the bacterial order *Bacteroidales* and archaeal family *Methanosaetaceae***

Autores: Caroline Borges Agustini, Marisa da Costa, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Anaerobic digestion of tannery solid waste result in a biogas of high calorific value.
- Biogas-producing microbiota change throughout the incubation period.
- Physicochemical parameters for biomass influence the composition of the microbial community.
- Bacterial order *Bacteroidales* and archaeal family *Methanosaetaceae* were related with biogas production.

Neste artigo, caracterizou-se a composição microbiológica antes e após os ensaios de co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs de curtumes. Este artigo está em processo de submissão (consulta em <http://lattes.cnpq.br/2414371694047347>).

**Abstract**

The search for new ecological energy sources is one of the mostly significant issues we face. The anaerobic digestion of alternative sources produces biogas of high calorific value, which is a promising source of alternative energy. Thus, this work aimed to evaluate the biogas production of solid waste originated from a tannery that use chromium salts as tanning agent, and to characterize the physicochemical properties and microbiological composition of the biogas-producing biomass. Wastes were collected and the parameters were evaluated at the beginning and after de anaerobic incubation process. At the end of 150 days, 223.6 mL of methane and 206.5 mL of other gases were produced. The high amount of biogas/methane observed was related to the family *Methanosaetaceae* and order *Bacteroidales*. Knowledge about changes in the microbial composition and their dominance can provide tools for manipulation, isolation, and inoculation of the microorganisms inside the bioreactors to maximize methane production.

Keywords: Tannery solid wastes; Anaerobic treatment; Biogas; Biomass characteristics; Microbial community.

## Capítulo 11

# **Evaluating co-substrates to supplement biogas production from tannery solid waste treatment – cattle hair, microalgae biomass and silicone**

Autores: Caroline Borges Agustini, Juliana Tolfo da Fontoura, Bianca Mella, Mariliz Gutterres

Highlights:

- Cattle hair, microalgae and silicone added to AD of leather shavings and sludge.
- Cattle hair waste increased the organic load of the medium by 16%.
- Microalgae biomass doubled the cumulative biogas production.
- Commercial silicone adsorbed 80% of the initial organic matter.

Neste artigo, avaliou-se a influência da adição de pelo bovino, biomassa de microalga ou silicone comercial como terceiro co-substrato na co-digestão anaeróbia de farelo de couro e lodo de ETEs. Este artigo está publicado no periódico *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, ISSN: 1932-1031, fator de impacto: 3,694, DOI 10.1002/bbb.1929.

**Abstract**

The sustainability of bioenergy production depends largely on the biomass resource and technology used, so that several types of organic wastes can be converted into biogas via anaerobic digestion. The purpose of this research was to evaluate the influence of the addition of cattle hair waste, microalgae biomass or commercial silicone as third co-substrate in the co-digestion of the two solid wastes of major concern to the leather industry: leather shavings and sludge from tannery wastewater treatment plants. The addition of cattle hair did not influence the total cumulative biogas production of 19.4 mL/g of volatile suspended solid added, adsorbed practically all the chromium present, and increased by 16 % the organic load of the medium, due to the hydrolysis of the hair, damaging the treatment of the residues. The addition of microalgae doubled the cumulative biogas production, tripled the maximum daily biogas production and adsorbed three times more chromium, showing its beneficial effect in the treatment and enhancement of treatment of tannery solid waste for biogas production. The addition of commercial silicone did not influence the total cumulative biogas production but showed a high adsorption capacity of both chromium and organic matter.

Keywords: leather shavings; tannery sludge; cattle hair; microalgae biomass; silicone.

## **Capítulo 12**

### **Considerações finais**

## 12.1. Conclusões

O tratamento dos dois principais resíduos sólidos de curtume, farelo de couro e lodo de ETEs, através da sua co-digestão anaeróbia se mostrou viável, acarretando altas remoções de matéria orgânica e produção de biogás com alto teor de metano nas diferentes condições estudadas.

A influência da adição de farelo de couro como co-substrato (co-digestão) na DA do lodo de ETEs (mono-digestão) foi avaliada no capítulo 4. Apesar da presença do farelo ter reduzido a taxa de biodegradação do processo, aumentando o tempo de biodegradação dos resíduos, houve um grande aumento na produção de biogás para um volume de resíduo praticamente igual, visto que a quantidade de farelo adicionado é muito pequena frente à quantidade de lodo, de forma que ambos os processos poderiam ser conduzidos num mesmo biorreator.

O monitoramento do processo foi avaliado no capítulo 5. A recalcitrância dos resíduos mostrou influenciar nas etapas do processo, que pode ser dividido em três fases distintas: uma longa fase inicial de adaptação dos microrganismos aos resíduos; uma fase exponencial com uma taxa de degradação moderada e o fim do processo quando todo o farelo é degradado e o cromo é liberado no meio reacional.

A interação entre os dois principais agentes curtentes utilizados na indústria coureira, sais de cromo e taninos vegetais, assim como a ausência deles, foi avaliada nos capítulos 6 e 7. Apesar da grande quantidade de cromo utilizada no processo de curtimento, a forte afinidade desse metal com a pele animal durante o curtimento resultou em baixas concentrações residuais de cromo no lodo de ETEs, e o fato de que os efluentes provêm de todas as etapas de processo, fazendo que com os ensaios de biodegradação com lodo de ETEs de um curtume que utilizou sais de cromo na etapa de curtimento apresentassem maior produção de biogás e tratamento mais eficiente dos resíduos. De outra parte, a ligação mais fraca dos taninos vegetais com a pele animal faz com que esses tenham que ser ofertados em maior quantidade no processo de curtimento para conferir estabilidade (química, hidrotérmica e microbiana) à pele e, subsequentemente, que fiquem em maiores quantidades residuais nos banhos de curtimento e, conseqüentemente, no lodo da ETEs. A alta carga fenólica e alta concentração dos taninos vegetais nos lodos de ETEs não se mostrou favorável para os

ensaios de digestão anaeróbia, onde não houve produção de biogás com quantidade considerável de metano. Entretanto, os ensaios combinando lodo de ETEs com cromo com farelo de couro curtido com taninos vegetais apresentaram bons resultados, mostrando que somente o lodo com taninos vegetais não é favorável à DA. Os resíduos provenientes de etapas anteriores ao curtimento não se mostraram mais favoráveis à DA do que os resíduos após o curtimento, diferentemente do esperado, devido aos demais tratamentos e produtos químicos empregados durante as etapas de ribeira do processamento do couro para a sua produção, o que é um ponto positivo, pois esses resíduos podem ter outras destinações já que não contêm nenhum agente curtente.

O pré-tratamento térmico do farelo de couro, avaliado no capítulo 7, mostrou-se benéfico somente no farelo de couro curtido com taninos vegetais, pois, além de deixar a matéria orgânica (substância dérmica) mais prontamente disponível (hidrolisada), ele reduziu a toxicidade, reduzindo a carga fenólica do resíduo. No farelo de couro curtido com cromo o efeito foi negativo devido ao mecanismo do pré-tratamento que causou também um efeito esterilizante no meio.

O estudo de escalonamento do processo de uma escala de laboratório para uma escala semi-piloto, avaliado no capítulo 8, mostrou uma consistência linear da produção total acumulada de biogás entre as duas escalas estudadas. A principal diferença entre os ensaios de biodegradação nas duas escalas estudadas foi na taxa de biodegradação, pois quando o volume reacional foi aumentado em cinco vezes, a velocidade de produção de biogás foi duas vezes mais rápida, mostrando que o processo em escala semi-piloto trataria os resíduos mais rapidamente.

A possibilidade de se utilizar efluente líquido bruto do processamento de couro como suplementação nutricional em substituição à solução de nutrientes na co-digestão anaeróbia dos resíduos foi avaliada no capítulo 9. Apesar de o processo ter sido fortemente inibido, com baixa produção de biogás e menor percentual de metano, a grande economia com a disposição dos resíduos sólidos e tratamento do efluente tornam o processo economicamente viável.

A caracterização da composição microbiológica antes e após os ensaios foi avaliada no capítulo 10. Os filos *Bacteroidetes* e *Synergistetes* foram os que mais aumentaram em número ao longo do processo, mostrando que esses foram os principais responsáveis pela digestão dos

resíduos. A alta quantidade de metano observada está relacionada com a família *Methanosaetaceae* e a ordem *Bacteroidales*.

Além da biodegradação do farelo de couro e do lodo de ETEs, a influência da adição de pelo bovino, biomassa de microalga ou silicone comercial como terceiro co-substrato nessa co-digestão anaeróbia foi avaliada no capítulo 11. As adições de pelo bovino e silicone comercial não influenciaram o processo, sendo que ambos apresentaram ainda alta característica adsorvente. A adição de biomassa de microalga, entretanto, triplicou a produção diária de biogás, devido ao aumento da relação C/N inicial, mostrando o seu efeito benéfico ao processo.

## 12.2. Sugestões para trabalhos futuros

Algumas sugestões para trabalhos futuros são apresentadas:

- Estudos de purificação do biogás produzido através de adsorção do CO<sub>2</sub> em resíduos da indústria coureira;
- Escalonamento do processo para escala piloto e industrial, em parceria com curtumes da região;
- Adição de co-substratos sólidos recalcitrantes, como resíduos da indústria calçadista, resíduos de mineração, resíduos agrícolas, entre outros;
- Utilização de efluentes industriais como suplemento nutricional, como efluentes de indústrias alimentícias.