

Capítulo II

PARÂMETROS DE IMPORTÂNCIA AO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBICA

*André Cestonaro do Amaral
Ricardo Luis Radis Steinmetz
Airton Kunz*

Introdução

O processo de digestão anaeróbia é mediado biologicamente e envolve diferentes tipos de microrganismos. Com isso, tem-se condições específicas que devem ser respeitadas e seguidas para o correto funcionamento dos biodigestores. Nesse capítulo, iremos discutir os principais parâmetros e como calculá-los.

Alcalinidade

Pode ser entendida como uma medida da capacidade de tamponamento de um sistema, ou seja, a capacidade de evitar alterações bruscas de pH. Em meios anaeróbios, muitas vezes é atribuída ao equilíbrio entre a dissolução do CO_2 e a formação de ácido carbônico (H_2CO_3).

A alcalinidade total é dada pela soma da concentração de íons hidroxila (OH^-), carbonato (CO_3^{2-}) e bicarbonato (HCO_3^-) e é expressa na forma de concentração de carbonato de cálcio (CaCO_3).

Pode ser determinada através da titulação da amostra com solução de ácido sulfúrico (ex.: $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), até pH 4,5 e aplicação da equação:

$$Alc = M \times E \times \frac{100.000}{D} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Alc = Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$)

M = Concentração de solução de ácido sulfúrico (mol.L)

D = Volume de amostra (mL)

E = Volume de titulante gasto (mL)

100.000 = Coeficiente de ajuste da unidade de medida

Determinação da relação AI/AP

Um dos parâmetros monitorados é a relação entre o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis e alcalinidade, conhecida pela relação AI/AP. O resultado é um valor simples dependente da relação destes dois parâmetros, sendo relativos aos ácidos orgânicos de cadeia curta (AI) e à alcalinidade (AP).

Podem ser calculados através da titulação da amostra com ácido sulfúrico, seguindo a equação:

$$AI/AP = \frac{\left((V_{pH4,4} - V_{pH5,0}) \cdot \frac{20}{V_{amostra}} \cdot \frac{M_{ácido}}{0,1} \cdot 1,66 - 0,5 \right) \cdot 500 \cdot V_{amostra}}{0,5 \cdot M_{ácido} \cdot V_{pH5,0} \cdot M_{CaCO_3} \cdot 1000} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

AI/AP = Relação alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial

$V_{pH4,4}$ = Volume de ácido titulado até pH = 4,40 (mL)

$V_{pH5,0}$ = Volume de ácido titulado até pH = 5,00 (mL)

V_{amostra} = Volume de amostra centrifugada (mL)

$M_{\text{ácido}}$ = Molaridade do ácido (Concentração molar do íon de hidrogênio (dissociado) no ácido) (mol.L⁻¹)

M_{CaCO_3} = Massa molar do carboneto de cálcio em 100 g.mol⁻¹

Tempo de retenção hidráulica

O tempo de retenção hidráulica (TRH) é o tempo médio em que o substrato permanece no interior do biodigestor, ou seja, é a razão entre o volume do biodigestor e a vazão de alimentação, podendo ser determinado por meio da Equação 3.

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

TRH = Tempo de retenção hidráulica (d)

V = Volume do biodigestor (m³)

Q = Vazão de alimentação (m³.d⁻¹)

Carga orgânica volumétrica

A carga orgânica volumétrica (COV) representa a quantidade de substrato adicionado ao biodigestor em um determinado intervalo de tempo. Sendo obtido através das Equações 4 ou 5.

$$COV = \frac{(Q \times S_V)}{V} \quad \text{Equação 4}$$

$$COV = \frac{S_V}{TRH} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

COV = Carga orgânica volumétrica (kg_{SV}.m⁻³.d⁻¹)

Q = Vazão (m³.d⁻¹)

S_v = Concentração de sólidos voláteis presentes no substrato ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)

V = Volume do reator (m^3)

TRH = Tempo de retenção hidráulica (d)

A COV influencia toda a dinâmica do processo de digestão anaeróbia. Uma ótima carga orgânica volumétrica proporciona condições adequadas para o crescimento dos microrganismos e conseqüentemente maior estabilidade do processo. Baixas COVs podem representar baixa relação alimento/microrganismo, o que resulta em baixa atividade biológica. Elevadas COVs podem apresentar elevada relação alimento/microrganismo, podendo levar ao acúmulo de ácidos orgânicos voláteis e falência do processo. A COV ideal é relacionada ao modelo de biodigestor, tecnologia aplicada e ao tipo de substrato.

Relação COV X Temperatura

Através de diferentes versões da relação de Van't Hoff-Arrhenius, Safley e Westerman (1990) apresentaram a Equação 6 para estimar o limite da carga orgânica volumétrica com relação a alterações na temperatura de biodigestão:

$$\frac{COV_2}{COV_1} = e^{p(T_2-T_1)} \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

COV_1 e COV_2 = Carga orgânica volumétrica ($\text{kg}_{\text{SV}}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$)

T_1 e T_2 = Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

p = Constante $0,1$ ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)

Exemplo 1

Tem-se um biodigestor do tipo UASB tratando dejetos suínos. Este é operado com carga orgânica volumétrica de $0,3 \text{ kg}_{\text{SV}}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, e temperatura média de 18°C . Qual a COV desse reator pode ser submetido caso se instale um sistema de aquecimento, elevando a temperatura do meio reacional a 35°C ?

R: Aplica-se a equação proposta por Safley e Westerman (1990).

Onde:

$$COV_1 = 0,3 \text{ kg}_{SV} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$$

$COV_2 =$ Variável desconhecida

$$T_1 = 18^\circ\text{C}$$

$$T_2 = 35^\circ\text{C}$$

$$\frac{COV_2}{0,3} = e^{0,1(35-18)}$$

$$COV_2 = 1,64 \text{ kg}_{SV} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$$

Métodos para avaliação da qualidade do lodo anaeróbio e a qualidade do substrato

Para avaliar a cinética da digestão anaeróbia (atividade de microrganismos, características de degradabilidade de substratos, etc.) existem ensaios laboratoriais executados em pequena escala e sob condições controladas ou monitoradas. A caracterização da composição química e física dos resíduos é uma etapa imprescindível, porém, também são de extrema importância os ensaios biocinéticos para visualizar a real interação entre microrganismos e substratos. Estes ensaios cinéticos consistem em testes respirométricos anaeróbios e geralmente envolvem a avaliação da produção de biogás ou de metano a partir da massa conhecida de biomassa (ou matéria orgânica definida como SV, DQO ou COT) do inóculo ou do substrato.

Diversos métodos, padronizados ou não, são encontrados na literatura para avaliação da cinética anaeróbia. Alguns têm foco na eficiência dos microrganismos, outros focam na degradabilidade do substrato em condições anaeróbias, outros têm por objetivo avaliar o potencial bioquímico de metano (ou potencial energético) do substrato. Há também aqueles que avaliam a toxicidade de substâncias inibidoras no processo anaeróbio. Porém, todos os métodos se baseiam na incubação de substrato(s) mesclado(s) com inóculo anaeróbio, em batelada e em condições controladas. A Tabela 1 descreve um resumo dos métodos usuais e padrão para estudo da cinética anaeróbia.

Tabela 1. Resumo dos métodos cinéticos anaeróbios.

Sigla	Propósito e/ou aplicação
AME	Mensura a atividade específica de produção de metano em lodos anaeróbicos. Utilizado para efetuar comparações entre inóculos ou avaliar eficiências em reatores anaeróbicos
ISO 13.641	Ensaio de toxicidade anaeróbica. Baseia-se na medida da inibição da produção de biogás após três dias de incubação. Utilizado para avaliar a influência de compostos químicos diversos na digestão anaeróbia
ISO 11.734	Estima a degradação de substâncias orgânicas diversas pela medida da produção de biogás
ASTM E2170-01	Estima a degradação de substâncias químicas pela medida da produção de biogás e por análises químicas da concentração residual. Método reconhecido nos EUA
DIN 38.414-8	Mensura a degradação de lodos e efluentes por meio da medida da produção de biogás
VDI 4.630	Método para mensurar o PBB e PBM. Aplicado a diversos tipos de substratos, inclusive resíduos agropecuários e culturas agrícolas. Método reconhecido na Alemanha e países europeus

Atividade metanogênica específica (AME)

Este ensaio é principalmente utilizado para avaliar o desempenho dos microrganismos metanogênicos (ou inóculos). Segundo Aquino et al., (2007), a AME pode ser utilizada como um parâmetro de monitoramento da “eficiência” da população metanogênica presente em um reator biológico. Os trabalhos de Valcke e Verstraete (1983), Zeeuw (1984) e Dolfing e Bloemen (1985) foram pioneiros no desenvolvimento e uso dos testes de AME como ferramenta de caracterização e avaliação de reatores anaeróbios em efluentes sanitários. Todos os ensaios para determinação de AME disponíveis na literatura são baseados na medida da taxa de produção de metano em função da concentração de inóculo. Porém, não há metodologia padronizada para esse fim e, dependendo da metodologia, é extremamente difícil estabelecer relação entre resultados de AME nos trabalhos disponíveis na literatura. Apesar da AME ser um parâmetro bastante importante, os métodos disponíveis não possuem padronização e dificilmente podem ser utilizados para efetuar comparação entre experimentos.

Aquino et al., (2007) efetuaram revisão bibliográfica sobre as possíveis metodologias disponíveis. As diferenças metodológicas vão desde utilização ou não de meio de cultura para acondicionamento de inóculo até formas de se medir os gases produzidos na digestão. As primeiras considerações sobre o teste foram feitas com base em ensaios em batelada por Zeeuw (1984), que mediu a taxa de produção de metano de lodos a partir de uma carga orgânica e concentração de SV conhecidas. No estudo de Zeeuw, o substrato aplicado variou de uma mistura de ácidos voláteis, normalmente acético, propiônico e butírico, até o uso de um só substrato, principalmente o acetato, além de adicionar soluções de metais à solução de nutrientes garantindo que não houvesse limitações nutricionais para a produção de metano. Este método mede a produção de gás via deslocamento de líquido, usando uma solução de soda cáustica, em que o gás carbônico é dissolvido no meio, garantindo que o líquido deslocado seja proveniente da quantidade de metano liberada pelo lodo.

Dolfing e Bloemen (1985) propuseram o método baseado na análise por cromatografia gasosa do metano, produzido no volume livre “headspace” de frascos de soro. Neste método, o gás é amostrado com uma seringa de trava, de modo a manter o gás na mesma pressão do frasco. No lodo, adiciona-se a mistura de ácidos ou ácidos em separado (por exemplo, só acetato, propionato, etc.) e uma solução tampão anaeróbia. O uso dos ácidos voláteis individualmente apresenta algumas vantagens, pois, através do conhecimento da degradação dos mesmos, pode-se estimar as taxas máximas de conversão de cada substrato, e com isso obter informações sobre inibição ou limitação do processo por concentrações elevadas ou insuficientes de algum tipo de ácido. Ainda, pode ser útil na identificação dos gêneros de bactérias presentes no lodo.

Normas ISO 13641

Normas ISO 13641 - Water quality - Determination of inhibition of gas production (Qualidade da água - Determinação de inibição na produção de gás): Esse procedimento estabelece protocolos para determinação da toxicidade de possíveis substâncias em sistemas anaeróbios. São divididas em duas normas: parte 1, que se refere ao procedimento geral do ensaio; e parte 2, que se refere a adaptações de metodologia para baixas concentrações de biomassa microbiana. Básica-

mente, os protocolos definem orientações metodológicas para estimar a concentração inibitória de 50% (CI50) da produção de biogás. Baseia-se na incubação de um inóculo anaeróbio juntamente com substrato padrão e mesclado a diferentes concentrações do agente inibidor ao qual se quer avaliar. Após incubação durante 3 dias a 35 °C, é efetuada a medição do volume do gás produzido e comparado com a produção de gás de testes sem adição do inibidor. Este procedimento dedica-se à avaliação da toxicidade aguda ao processo anaeróbio. Não existem procedimentos normatizados para ensaios de toxicidade crônica (ensaios de longa duração).

ISO 11734:1995

ISO 11734:1995 - Evaluation of “ultimate” anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - Method by measurement of the biogás production (Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia final de compostos orgânicos em lodo digerido – Método para medir a produção de biogás): Essa norma internacional apresenta a descrição de teste cinético padronizado para avaliação de compostos químicos orgânicos frente a microrganismos anaeróbios. O teste consiste na exposição do inóculo anaeróbio ao composto químico de interesse por um período superior a 60 dias. A avaliação da produção de biogás é efetuada através de medidas manométricas.

ASTM E2170-01 (2008)

ASTM E2170-01 (2008) - Determining anaerobic biodegradation potential of organic chemicals under methanogenic conditions (Determinação do potencial de biodegradação anaeróbia de compostos orgânicos em condições metanogênicas): Similar à norma ISO, essa norma elaborada pelo órgão de metrologia dos Estados Unidos também apresenta a descrição de teste cinético de degradação de compostos químicos orgânicos frente a condições anaeróbias. O teste consiste na exposição do inóculo anaeróbio ao composto químico de interesse por um período entre 25 a 30 dias. A avaliação da produção de biogás é efetuada através de medidas manométricas. Ambas normas ISO e ASTM são aplicadas principalmente na avaliação de substâncias usadas em medicamentos.

DIN 38414-8

DIN 38414-8 - Determination of the amenability to anaerobic digestion (Determinações de degradabilidade para digestão anaeróbia): Esta norma alemã estabelece condições básicas para execução de ensaios cinéticos em batelada para avaliação da degradação anaeróbia de substratos orgânicos através de testes volumétricos de produção de biogás.

VDI 4630

VDI 4630 - Fermentation of organic materials - Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data and fermentation tests (Fermentação de materiais orgânicos - Caracterização do substrato, amostragem, coleta de dados e testes de fermentação): Esta norma alemã é reconhecida na União Europeia e estabelece condições para execução de ensaios cinéticos em batelada, semicontínuos e contínuos para avaliação da degradação anaeróbia de substratos orgânicos. Trata-se de um aperfeiçoamento da norma DIN 38414-8 e amplamente utilizado pela comunidade europeia para avaliação de potencial bioquímico de metano - PBM (em inglês BMP - *Biochemical Methane Potential*) de diferentes substratos. Também é usada como referência para simulação de processos em escala de bancada para auxiliar a operação de plantas de produção de biogás em grande escala.

A norma VDI 4630 (2006) estabelece regras e necessidade de equipamentos para realização de testes de fermentação de materiais orgânicos. A realização de testes em batelada podem trazer informações sobre: a) possibilidade de produção de biogás e a degradabilidade biológica anaeróbia de determinado material ou mistura de materiais; b) avaliação qualitativa da velocidade de degradação do material em estudo; e c) avaliação do efeito inibitório do material investigado em um determinado intervalo de tempo.

Os testes em batelada não geram informações sobre: a) estabilidade do processo com reatores alimentados continuamente com o material investigado; b) produção de biogás em condições práticas diferentes das de realização do teste, devido a possíveis efeitos sinérgicos positivos ou

negativos; c) monofermentação do substrato sob condições do processo; e d) limites de carga orgânica volumétrica.

Os resultados dos testes de fermentação dependem primeiramente da atividade do lodo (inóculo anaeróbio) utilizado. O inóculo geralmente é coletado em uma planta de biogás, com intuito de fornecer a maior diversidade de microrganismos anaeróbios possíveis. O inóculo deve conter uma concentração de matéria orgânica seca (sólidos voláteis) maior que 50% dos sólidos totais.

A fim de determinar a quantidade de substrato e inóculo utilizado no teste, devem ser consideradas algumas restrições: a) para prever inibições no ensaio em batelada, a quantidade de substrato não deve superar a quantidade de inóculo ($SV_{\text{substrato}}/SV_{\text{inóculo}} \leq 0,5$); b) a produção de biogás a partir do substrato deve ser, no mínimo, 80% maior do que a contribuição do inóculo; e c) a concentração de sólidos no teste de batelada não deve exceder 10%, assegurando transferência de massa adequada durante o teste.

Para assegurar a atividade do inóculo anaeróbio, utilizam-se materiais com capacidade de produção de biogás conhecida. Um possível material de referência é a celulose cristalina, que produz entre $740 L_N \cdot kg_{SV_{\text{adic}}}^{-1}$ a $750 L_N \cdot kg_{SV_{\text{adic}}}^{-1}$. Esses valores devem ser recuperados em no mínimo 80% em um teste controle. Atingindo esse valor de recuperação, garante-se que o inóculo possui atividade biológica satisfatória e é adequado para realização de testes de PBM.

Normalização do volume de biogás

A produção de biogás deve ser sempre expressa de forma normalizada às condições padrões de temperatura e pressão (273 K e 1.013 hPa). A Equação 7 é usada para normalização:

$$V_N = \frac{V \cdot (p - p_w) \cdot T_0}{p_0 \cdot T} \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

V_N = Volume de biogás normalizado às condições normais de temperatura e pressão (mL, L ou m³)

V = Volume de biogás produzido (mL, L ou m³)

p = Pressão do biogás no momento da leitura (hPa)

p_w = Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente (hPa)

T_0 = Temperatura nas condições normalizadas (273 K)

p_0 = Pressão nas condições normalizadas (1.013 hPa)

T = Temperatura do biogás (K)

Expressão dos resultados

A Tabela 2 apresenta parâmetros importantes no acompanhamento de biorreatores e suas unidades de medida. O acompanhamento dessas variáveis colabora com o melhor controle do processo e conhecimento das condições de operação de biodigestor.

Tabela 2. Definições das variáveis importantes e unidades de medida para o controle de biodigestores.

Parâmetros	Expressão	Unidade
Temperatura	T	°C, K
Concentração do substrato	S_o	% (ex: $g_{ST} \cdot 100 g_{MF}^{-1}$), % (ex: $g_{SV} \cdot 100 g_{MF}^{-1}$), $g_{SV} \cdot L^{-1}$ ou $kg_{SV} \cdot m^{-3}$ $g_{SV} \cdot kg_{MF}^{-1}$
Ácidos orgânicos voláteis	AOV	$mg_{HAc} \cdot L^{-1}$
Relação alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial	AI/AP	mg_{HAc} / mg_{CaCO_3}
Tamanho de partícula	tp	mm
Carga orgânica volumétrica adicionada	CO_{Vadic}	$kg_{SVadic} \cdot m^{-3}_{reator} \cdot d^{-1}$
Carga orgânica volumétrica removida	CO_{Vrem}	$kg_{SVrem} \cdot m^{-3}_{reator} \cdot d^{-1}$
Tempo de retenção hidráulica	TRH	h ou d
Potencial redox	E_H	mV
Potencial bioquímico de metano	PBM	$L_{NCH_4} \cdot kg_{SVadic}^{-1}$, $L_{NCH_4} \cdot kg_{MFadic}^{-1}$
Produtividade de biogás	PdB	$Nm^3_{biogas} \cdot m^3_{reator}^{-1} \cdot d^{-1}$ $L_{N biogas} \cdot L_{reator}^{-1} \cdot d^{-1}$

Parâmetros	Expressão	Unidade
Produtividade de metano	PdM	$\frac{\text{Nm}^3_{\text{CH}_4} \cdot \text{m}^3_{\text{reator}}}{\text{L}_{\text{N CH}_4} \cdot \text{L}_{\text{reator}} \cdot \text{d}^{-1}}$
Produção de biogás	PrB	$\text{L}_{\text{N}} \cdot \text{d}^{-1}$
Rendimento de biogás	RB	$\text{L}_{\text{N biogás}} \cdot \text{kg}_{\text{SVadic}}^{-1}, \text{L}_{\text{N biogás}} \cdot \text{kg}_{\text{MFadic}}^{-1}$
Rendimento de metano	RM	$\text{L}_{\text{N CH}_4} \cdot \text{kg}_{\text{SVadic}}^{-1}, \text{L}_{\text{N CH}_4} \cdot \text{kg}_{\text{MFadic}}^{-1}$
Composição do biogás (v v ⁻¹)	cB	$\% \text{CH}_4 (\text{L}_{\text{N CH}_4} \cdot 100 \text{L}_{\text{N biogás}}^{-1}),$ $\% \text{CO}_2 (\text{L}_{\text{N CO}_2} \cdot 100 \text{L}_{\text{N biogás}}^{-1}),$ $\text{ppmV}_{\text{N}} \text{H}_2\text{S} (\text{mL}_{\text{N}} \cdot \text{m}^{-3})$
Composição do digestato	cD	$\% (\text{ex: } \text{g}_{\text{ST}} \cdot 100 \text{g}_{\text{MF}}^{-1}),$ $\% (\text{ex: } \text{g}_{\text{SV}} \cdot 100 \text{g}_{\text{MF}}^{-1}),$ $\text{g}_{\text{SV}} \cdot \text{L}^{-1}, \text{kg}_{\text{SV}} \cdot \text{m}^{-3}$

HAc = Ácido acético; MF = Matéria Fresca; ST = Sólidos Totais; SV = Sólidos Voláteis; adic = adicionado; rem = removido; N = Normal.

Fonte: Kunz et al., 2016.

Problemas, causas e soluções na operação de biodigestores

A Tabela 3 apresenta ações corretivas para os problemas operacionais mais frequentes que podem acontecer em um biodigestor.

Tabela 3. Possíveis problemas encontrados na operação de biodigestores, causas e medidas para solucionar.

Parâmetros	Expressão	Unidade
Potencial redox próximo a zero	Condição anóxica ou óxica	Medir OD Medir NOX Verificar a atividade do inóculo
Excesso de espuma e espuma	Sobrecarga no sistema	Diminuir a carga orgânica volumétrica
Arraste de sólidos	Vazão elevada	Diminuir a vazão do sistema
Lodo com coloração cinza claro	Potencial redox fora da condição de anaerobiose	Medir OD Medir potencial redox Verificar a atividade do inóculo
Biogás não queima	Baixa concentração de metano (inferior a 15%)	Verificar a atividade do inóculo Diminuir a vazão de alimentação
Acúmulo de ácidos orgânicos voláteis	Inibição da metanogênese	Diminuir a vazão de alimentação Verificar alterações no substrato possível presença de inibidor
Falta de alcalinidade	Qualidade do substrato	Suplementar alcalinidade

Parâmetros	Expressão	Unidade
pH baixo	Acúmulo de AOV	Diminuir vazão Ajustar alcalinidade
Temperatura abaixo da condição de operação recomendada	Falha no sistema de aquecimento	Inspecionar o sistema de aquecimento
Súbita redução na produção de biogás	Sobrecarga ou subcarga no sistema Presença de agentes inibidores	Verificar vazão Verificar a concentração de SV no substrato Avaliar se houve mudança na característica do substrato
Elevada concentração de sólido fixo no lodo (> 50%)	Característica do substrato	Descarte controlado de lodo Pré-tratamento do substrato para remoção de SF

OD= Oxigênio dissolvido; $\text{NO}_x = \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$; AOV= Ácidos orgânicos voláteis.

Referências

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 192–201, jun. 2007.

ASTM INTERNATIONAL. **ASTM E2170-01**: standard test method for determining anaerobic biodegradation potential of organic chemicals under methanogenic conditions. West Conshohocken, Pensilvânia, 2001. 5 p.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. DIN 384140-8 German standard method for the examination of water, waste water and sludge. Sludge and sediment (group S). Determination of amenability to anaerobic digestion (S8), 1985.

DOLFING, J.; BLOEMEN, G. B. M. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. **Journal of Microbiological Methods**, v. 4, p. 1-12, 1985.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 11734 - Water quality - Evaluation of ultimate anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - Method by measurement of biogas production, 1995.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 13641-1 Water quality - Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria. General test., 2003.

KUNZ, A.; AMARAL, A. C. do; STEINMETZ, R. L. R. **Padronização de uso das unidades de medida em processos de produção de biogás.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2016. 4 p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 537).

SAFLEY, L. M.; WESTERMAN, P. M. Psychrophilic anaerobic digestion of animal manure: proposed design methodology. **Biological Waste**, v. 34, p. 133-148, 1990.

VALCKE, D., VERSTRAETE, W. A Practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic reactors. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 55, p. 1191-1195, 1983.

VDI. VDI 4630 - Fermentation of organic materials characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE, 2006.

ZEEUW, W. **Acclimatization of anaerobic sludge for UASB-reactor start-up.** Ph.D. Thesis, Department of Water Pollution Control, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 1984, 156 p.