

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS**

**MICHAEL BARBOSA VIANA**

**Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**

**São Carlos, SP**

**2011**

**MICHAEL BARBOSA VIANA**

**Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**

**Dissertação apresentada à Escola  
de Engenharia de São Carlos da  
Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências**

**Área de concentração: Saneamento  
e Hidráulica**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sandra  
Tédde Santaella**

**São Carlos, SP**

**2011**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento  
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

V614p Viana, Michael Barbosa  
Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel / Michael Barbosa Viana ; orientadora Sandra Tédde Santaella. -- São Carlos, 2011.

Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2011.

1. Digestão anaeróbia. 2. Glicerina. 3. Reator UASB. 4. Biocombustíveis. I. Título.

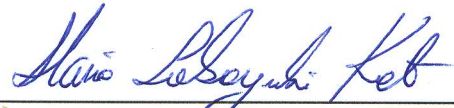
FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Tecnólogo **MICHAEL BARBOSA VIANA**.


Dissertação defendida e julgada em 29/04/2011 perante a Comissão Julgadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Associada **SANDRA TEDDE SANTAELLA** – (Orientadora)  
(Universidade Federal do Ceará/UFC)


Aprovado

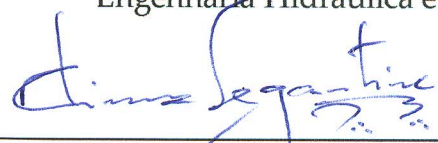
  
Prof. Dr. **MARIO TAKAYUKI KATO**  
(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

Aprovado

  
Prof. Dr. **EDSON LUIZ SILVA**  
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

  
Prof. Titular **EDSON CEZAR WENDLAND**  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Hidráulica e Saneamento.

  
Prof. Associado **PAULO CÉSAR LIMA SEGANTINE**  
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

RECEBUE  
Serviço de Pós-Graduação  
Instituto de Engenharia de São Carlos  
11/05/2011

## **Dedicatória**

à minha Mãe, pelo amor dedicado a mim,  
desde sempre;

à memória de meu Pai, eterno em minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela oportunidade de (re)viver.

À minha família, pelo simples fato de ela existir, e pelo apoio dado durante mais essa etapa da minha vida.

À Profa. Sandra Tédde Santaella pelo acolhimento, competência, orientação, apoio e compreensão durante o todo o mestrado.

Ao pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical Renato Carrhá Leitão por me fazer “pensar ciência”, pela confiança, respeito, incentivo e conhecimento repassado.

Ao professores Mário Takayuki Kato, da Universidade Federal de Pernambuco, e Edson Luiz Silva, da Universidade Federal de São Carlos, por aceitarem participar da banca examinadora, pela colaboração e pelas proveitosas sugestões.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e apoio financeiro a esta pesquisa através do Edital MCT/CNPq 14/2009-UNIVERSAL, processo nº 471861/2009-0.

À Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, e ao seu corpo de funcionários, em especial aos professores Eugênio Foresti, Marcelo Zaiat, Maria Bernadete Varesche e Marco Reali pelos ensinamentos e discussões. Não poderia deixar de exaltar também a competência indescritível de Sá, Pavi e Rose.

À Embrapa Agroindústria Tropical pela disponibilidade de pessoal, de estrutura física e de material durante a fase experimental do mestrado. Aos laboratórios de Água e Solos e Análise Instrumental, ambos localizados nas dependências da Embrapa Agroindústria Tropical, pela realização de parte da caracterização do glicerol residual.

Ao Laboratório de Qualidade de Água e Efluentes (Equal) do Instituto de Ciências do Mar (Labomar), da Universidade Federal do Ceará, que também foi responsável por parte da caracterização do glicerol residual. Ressalto a grande importância das pessoas que fazem parte desse laboratório no andamento do presente trabalho.

À Petrobrás, que por meio da Usina de Biodiesel de Quixadá (UBQ), forneceu o glicerol utilizado nessa pesquisa. Agradeço também aos técnicos laboratoristas Aline e Tássio, da UBQ, pelas análises de caracterização do glicerol residual.

Aos companheiros da República Rapadura: Chagas (Fran), grande pessoa, fundamental nesta conquista por me repassar conhecimento e positivismo; e Rérisson (Rerim), por administrar muito bem a Rep. Rapadura, e servir de fonte de inspiração para estudar e dar grandes risadas.

Aos meus grandes amigos de São Carlos: Daniel, pela amizade e companheirismo incomparáveis; Felipe, por levar a alegria inigualável do povo carioca à Sanca; e Álvaro, presente nos maus e bons momentos durante o mestrado.

Agradeço também a Aline e Eloá e a todos os outros companheiros da turma de 2009 do PPGSHS-USP, sempre e extremamente unida.

Aos pesquisadores da Embrapa Agroindústria Tropical Mén de Sá, pelo incentivo, e Morsyleide, Cléa, Gustavo Saavedra e Lindbergue pelo apoio prestado.

À todos os estagiários e bolsistas do Laboratório de Valorização de Resíduos e Biomassa (LVRB), em especial à Alex Viana, no qual sou muito grato por me acompanhar na pesquisa do início ao fim. Agradeço também a analista de laboratório Ana Cassales.

À técnica de laboratório Lilian Chayn pelas aulas de química básica, apoio moral durante as análises no cromatógrafo e pelos desabafos.

À Rayanne, pelos bons e maus momentos compartilhados, apoio e companheirismo. Você foi essencial nessa conquista.

Ao IFCE - Campus de Sobral, pelo seu preparo, disponibilidade e flexibilidade ao permitir que a parte final do mestrado fosse concluída sem transtornos a mim e à instituição da qual faço parte. Aproveito para agradecer ao apoio de todo o corpo docente e aos técnicos administrativos desta instituição.

Às figuras Wladson, Thiago e Júnior, essenciais nos momentos de descontração. À Vivian, bibliotecária inigualável, pelo auxílio na correção das referências bibliográficas. À Davi, pela disponibilidade e competência em imprimir as versões dessa dissertação..

Enfim, obrigado a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para que este momento se tornasse realidade.

## RESUMO

Viana, M. B. **Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. 113f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

Com o aumento da produção de biodiesel para atender à legislação brasileira, está ocorrendo um aumento considerável na geração de glicerol, um resíduo líquido contendo cerca de 46 gCl/L e com elevada concentração de matéria orgânica (DQO média de 1.260 g/L). Apesar de ser bastante utilizado na indústria química, o teor de impurezas do glicerol oriundo de biodiesel limita o seu processamento industrial. Buscando agregar valor à este resíduo, utilizou-se um reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), em escala de laboratório (14,85 L de volume útil), para produzir metano visando geração de energia, tendo o glicerol residual como única fonte de substrato. Este glicerol residual foi obtido a partir da transesterificação de uma mistura de óleos de algodão e soja (2:3, v/v) em uma usina de biodiesel pertencente à Petrobrás S.A. Durante a operação, a COV foi aumentada gradualmente de 2,0 a 10,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d e a diluição de glicerol residual no afluente foi reduzida de 1:1.500 até 1:5. O reator UASB foi capaz de remover, em média, 97,5% de matéria orgânica, apresentando 59% de CH<sub>4</sub> no biogás, e relação AGV/Alc<sub>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub> abaixo de 0,3, mesmo com 14 gCl/L no interior do sistema. No entanto, foi necessário adicionar nutrientes em concentrações adequadas para evitar que o sistema entrasse em colapso. Os ensaios de toxicidade mostraram que o glicerol residual não é tóxico ao lodo anaeróbio, mas apresenta uma limitação inicial da metanogênese. O teste de biodegradabilidade anaeróbia indicou que o glicerol residual foi 65,9% biodegradável e o potencial de produção de metano alcançou 0,220 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol.

Palavras chave: Digestão anaeróbia, glicerina, reator UASB, biocombustíveis.



## ABSTRACT

Viana, M. B. **Biogas production from glycerol generated on biodiesel industry**. 2011. 113f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

The Brazilian legislation demands the use of biodiesel mixed with diesel in an increasing rate. This raise on biodiesel production implies also on an increase on generation of glycerol, which is a liquid or semi-solid waste with high concentration of salts (approximately 46.1 gCl<sup>-</sup>/L) and organic matter (1260 gCOD/L in average). Despite being widely used in chemical industry, the residual glycerol contains impurities that limit its industrial processing. In order to add value to this residue, an upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) at laboratory scale (14.85 L of working volume), fed with glycerol generated on biodiesel industry, was used to produce biogas, which can be used for power generation via methane. This wasted glycerin was produced by the transesterification process of a mixture of the cottonseed oil and soybean oil (2:3, v:v) in a Petrobras S/A biodiesel plant. During operation, the organic loading rate (OLR) was gradually increased from 2.0 to 10.0 kgCOD/m<sup>3</sup>.d., and the dilution of residual glycerol in the influent was reduced from 1:1500 to 1:5. The UASB reactor was able to remove 97.5% of the organic matter, producing biogas with 59% of CH<sub>4</sub>, and VFA/AlkHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ratio below 0.3, even with a very high concentration of chloride in the bulk liquid (14 gCl<sup>-</sup>/L). However, it was necessary to add nutrients in adequate concentrations to prevent the system from collapsing. The toxicity tests showed that the residual glycerol used in the research was not toxic to the anaerobic sludge. The anaerobic biodegradability test indicated that the residual glycerol was 65.9% biodegradable and the biochemical methane production potential was 0.220 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlycerol.

Keywords: anaerobic digestion, glycerin, UASB reactor, biofuels.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura química do glicerol .....	5
<b>Figura 2</b> - Esquema simplificado da digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa para a obtenção de metano (adaptado de Lettinga <i>et al.</i> , 1999).....	15
<b>Figura 3</b> - Rotas metabólicas de fermentação de glicerol até compostos mais simples (adaptado de Silva <i>et al.</i> , 2009 e Biebl <i>et al.</i> , 1999). .....	17
<b>Figura 4</b> - Desenho esquemático do processo de produção de biodiesel e geração de glicerol. (esquema elaborado segundo informações fornecidas pela Petrobras)..	35
<b>Figura 5</b> - Glicerol residual utilizado nesta pesquisa. ....	36
<b>Figura 6</b> - Esquema e fotografia do aparato experimental dos testes de AME. ....	39
<b>Figura 7</b> - Esquema e fotografia do reator UASB em escala de laboratório.....	43
<b>Figura 8</b> - Superfície de resposta obtida a partir dos valores da AME em função das concentrações de glicose e glicerol residual nos frascos-reatores. Os valores dos eixos x e y estão apresentados na forma codificada conforme Tabela 6. ....	59
<b>Figura 9</b> - Teste de toxicidade anaeróbia permanente devido ao glicerol residual. GSE = Glicose; GOL = glicerol residual .....	60
<b>Figura 10</b> - Biodegradabilidade anaeróbia de glicerol residual oriundo de diversas matrizes vegetais, glicose e glicerina P.A. ....	61
<b>Figura 11</b> - PPM a partir da digestão de glicerol oriundo da transesterificação de diversas matrizes vegetais e glicerina P.A. GPA = Glicerina P.A.; GSA = soja+algodão; GSJ = 100% soja; GCN = canola; GMM = mamona. ....	63
<b>Figura 12</b> - Variação das concentrações de DQO afluente e efluente (b1 e b2), e da eficiência de remoção de matéria orgânica (c) de acordo com a COV aplicada (a) ao longo do tempo de operação. Obs: Gráficos b1 e b2 diferem na escala do eixo Y. ....	69
<b>Figura 13</b> - Variação dos parâmetros operacionais pH, alcalinidade total e AGV's e relação AGV/Alc de acordo com a COV aplicada ao longo do tempo de operação. ....	74
<b>Figura 14</b> - Produção de biogás e concentrações de metano de acordo com a COV aplicada ao longo do tempo de operação. ....	77
<b>Figura 15</b> - Valores de AME tendo glicose (b) e glicerol residual (c) como substrato de acordo com a COV aplicada (a) ao longo do tempo de operação.....	81

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Estequiometria e variação da energia livre ( $\Delta G_0$ ) das reações de acetogênese e metanogênese. ....	18
<b>Tabela 2</b> - Potencial de produção de metano e produção específica de metano obtida em diversos experimentos que utilizaram glicerol residual como única fonte de matéria orgânica para digestão anaeróbia. ....	22
<b>Tabela 3</b> - Concentração dos AGCL encontrados no glicerol residual. ....	28
<b>Tabela 4</b> - Concentrações de AGCL que foram necessárias para causar 50% de inibição bacteriana ( $CI_{50}$ ) em diversas pesquisas. ....	29
<b>Tabela 5</b> - Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada nos testes de AME. ...	38
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros estatísticos utilizados no teste de toxicidade anaeróbia. ....	42
<b>Tabela 7</b> - Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada até o 260º dia de operação (Solução de nutrientes 1). ....	45
<b>Tabela 8</b> - Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada após o 260º dia de operação (Solução de nutrientes 2) ....	46
<b>Tabela 9</b> - Programa de operação do reator UASB em escala de laboratório. ....	47
<b>Tabela 10</b> - Programa de monitoramento do reator ....	48
<b>Tabela 11</b> - Variável, número de determinações e métodos analíticos utilizados para a caracterização do glicerol residual. ....	50
<b>Tabela 12</b> - Elementos químicos determinados para caracterizar o glicerol residual. ....	50
<b>Tabela 13</b> - Concentração dos principais compostos encontrados no glicerol residual utilizado nesta e em outras pesquisas. ....	56
<b>Tabela 14</b> - Concentração dos principais elementos químicos que compõem o glicerol residual utilizado nesta e em outras pesquisas. ....	57
<b>Tabela 15</b> - Resultados da AME, em kgDQO/kgSV.d, de acordo com as concentrações de glicose e glicerol, em gDQO/L, aplicadas aos frascos. ....	58
<b>Tabela 16</b> - Estimativa dos efeitos para a variável AME ( $R^2=0,99473$ ). Planejamento experimental com 2 fatores, 1 Bloco, 11 experimentos, conforme Tabela 15. ....	59
<b>Tabela 17</b> - Caracterização de cada lodo componente do inóculo e da mistura entre eles. ....	64
<b>Tabela 18</b> - Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB. ....	66
<b>Tabela 19</b> - Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB. ....	67
<b>Tabela 20</b> - Valores médios das concentrações de metano e dióxido de carbono do biogás produzido por reatores anaeróbios degradando glicerol residual em diversas pesquisas. ....	78
<b>Tabela 21</b> - Balanço de massa realizado a partir de cada etapa de operação do reator UASB. ....	80

<b>Tabela 22</b> - Resumo das premissas e resultados da análise econômica das alternativas de uso da energia produzida a partir da digestão anaeróbia do glicerol. ....	84
<b>Tabela 23</b> - Análise econômica da Alternativa I - Sistema de geração de energia elétrica utilizando motor de ciclo Otto alimentado com biogás.....	111
<b>Tabela 24</b> - Análise econômica da Alternativa II - Sistema de co-geração de energia elétrica utilizando turbina com vapor supercrítico.....	112
<b>Tabela 25</b> - Análise econômica da Alternativa III - Sistema de geração de energia térmica (produção de vapor) .....	113

## LISTA DE SIGLAS

1,3-PDO	1,3-propanediol
AGCL	Ácidos graxos de cadeia longa
AGV	Ácidos graxos voláteis
AI	Alcalinidade intermediária
AME	Atividade metanogênica específica
AP	Alcalinidade parcial
BRS	Bactérias redutoras de sulfato
CAGECE	Companhia de água e esgoto do ceará
CNPE	Conselho nacional de política energética
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão
COL	Carga orgânica aplicada ao lodo
COV	Carga orgânica volumétrica
CSTR	Reator de mistura completa
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
EQUAL	Laboratório de efluentes e qualidade de água
ETE	Estação de tratamento de esgotos
FID	Detector de ionização de chama
LVRB	Laboratório de valorização de resíduos e biomassa
MONG	Matéria orgânica não-glicerídea
PC	Ponto central
PCI	Poder calorífico inferior
PEM	Produção específica de metano
PPM	Potencial de produção de metano
PT	Pré-tratamento
ST	Sólidos totais
STV	Sólidos totais voláteis
SV	Sólidos voláteis
TCD	Detector de condutividade térmica
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TIR	Taxa interna de retorno
TRC	Tempo de retenção celular

UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo
UBQ	Usina de biodiesel de Quixadá
VPL	Valor presente líquido

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
2.	<b>OBJETIVOS</b> .....	4
2.1.	Objetivo geral .....	4
2.2.	Objetivos específicos .....	4
3.	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
3.1.	Glicerol .....	5
3.2.	Tratamento anaeróbio de águas residuárias .....	6
3.3.	Desempenho de sistemas anaeróbios utilizados na digestão de glicerol .....	8
3.4.	Bioquímica da digestão anaeróbia de glicerol .....	14
3.5.	Testes de atividade metanogênica específica, biodegradabilidade e toxicidade anaeróbia.....	18
3.5.1.	Atividade metanogênica específica .....	18
3.5.2.	Teste de toxicidade e biodegradabilidade anaeróbia .....	20
3.6.	Fatores que afetam a digestão anaeróbia do glicerol residual .....	23
3.6.1.	Acúmulo de intermediários.....	24
3.6.2.	Inibição por Ácidos Graxos de Cadeia Longa (AGCL) .....	26
3.6.3.	Inibição por cloretos .....	30
3.6.4.	Inibição por sulfatos e sulfetos .....	32
3.6.5.	Escassez de nutrientes.....	33
4.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
4.1.	Origem e produção do glicerol residual.....	35
4.2.	Teste de atividade metanogênica específica .....	36
4.3.	Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano .....	40
4.4.	Teste de toxicidade anaeróbia.....	41
4.5.	Reator UASB .....	42
4.5.1.	Parâmetros de dimensionamento e equipamento .....	42
4.5.2.	Inóculo .....	44
4.5.3.	Partida e operação do reator UASB.....	45
4.5.4.	Monitoramento do reator UASB .....	48
4.5.5.	Determinações físicas, químicas e biológicas .....	49
4.5.6.	Parâmetros operacionais, hidráulicos e balanço de massa.....	52
5.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	55
5.1.	Caracterização do glicerol residual.....	55
5.2.	Toxicidade anaeróbia.....	58
5.3.	Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano.....	61
5.4.	Caracterização do inóculo.....	64
5.5.	Operação do reator UASB em escala de laboratório .....	65
5.5.1.	Carga orgânica aplicada ao lodo, carga orgânica volumétrica, e demanda química de oxigênio.....	68
5.5.2.	pH, ácidos graxos voláteis e alcalinidade .....	73
5.5.3.	Biogás .....	76
5.5.4.	Atividade metanogênica específica (AME).....	81
5.6.	Produção de energia.....	83

6.	<b>CONCLUSÕES</b> .....	85
7.	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES</b> .....	86
8.	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	87
9.	<b>ANEXO A – ANÁLISE ECONÔMICA DAS ALTERNATIVAS PARA USO DA ENERGIA PRODUZIDA PELO BIOGÁS GERADO</b> .....	106
9.1.	Alternativa I - Sistema de geração de energia elétrica utilizando motor de ciclo Otto alimentado com biogás .....	107
9.2.	Alternativa II - Sistema de co-geração de energia elétrica utilizando turbina com vapor supercrítico .....	108
9.3.	Alternativa III - Sistema de geração de energia térmica (produção de vapor) .....	109



## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, tem ocorrido um aumento significativo do uso e produção de biocombustíveis, tais como bioetanol, biodiesel e biogás. As tecnologias utilizadas para produção deste tipo de energia são alternativas renováveis, seguras, sustentáveis, e conseqüentemente ambientalmente menos danosas que o combustíveis fósseis (DHARMADI *et al.*, 2006).

Visando substituir o uso do óleo diesel, o Brasil vem incorporando o biodiesel na matriz energética nacional através do Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (Probiobiodiesel), criado pelo Ministério da Ciência e Tecnologia por meio da Portaria 702, em outubro de 2002 (BRASIL, 2002), e da Medida Provisória 214, de 13 de setembro de 2004, convertida na Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 (BRASIL, 2005). O Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) estabeleceu que, a partir de 2008, o óleo diesel seria comercializado com a adição de 3% de biodiesel (BRASIL, 2008), passando para 5%, depois de 2013 (BRASIL, 2005). No entanto, desde julho de 2008, o percentual mínimo obrigatório de biodiesel adicionado ao óleo diesel já passou a ser de 4% (BRASIL, 2009a), e aumentou para 5% a partir do início de 2010 (BRASIL, 2009b).

Para cada quilo de biodiesel produzido, aproximadamente 100 gramas de glicerol são gerados como subproduto da reação de transesterificação (YAZDANI & GONZALEZ, 2007). No ano de 2010, 250.000 toneladas de glicerol foram geradas pelas usinas brasileiras de biodiesel (SCARAMUZZO, 2011). Já no ano de 2011, estima-se que 300.000 toneladas desse subproduto serão geradas pelas usinas brasileiras de biodiesel. Este valor é teórico, mas se for confirmado pode representar cerca de 10 vezes a quantidade que as indústrias químicas consomem no país atualmente (MOTA *et al.*, 2009).

Em 2010, o Brasil consumiu aproximadamente 49.700.000 m<sup>3</sup> de óleo diesel. Com a entrada em vigor do Programa Nacional B5 (mistura obrigatória de 5% do biodiesel no óleo diesel), o Brasil consumiu aproximadamente 2.500.000 m<sup>3</sup> de biodiesel. Especula-se que haverá uma nova mudança na regulamentação da adição de biodiesel no diesel, aumentando para 10% em 2014 e para 20% em 2020 (SCARAMUZZO, 2011). Se essa previsão se confirmar, e o Brasil crescer em média 5% ao ano, estima-se que a produção de glicerol em 2014 e 2020 será 610.000 m<sup>3</sup> e 1.630.000 m<sup>3</sup>, respectivamente. Desta forma, não há demanda industrial prevista para o uso deste volume de glicerol.

Atualmente, a produção de glicerol proveniente do processamento do biodiesel é vendida, principalmente, para a indústria química. No entanto, a oferta de glicerol está se tornando bem maior que a demanda (SILES LÓPEZ *et al.*, 2009), além de ter um elevado teor de impurezas, em torno de 20%, que afeta e encarece seu processamento industrial.

O glicerol oriundo da produção de biodiesel, que neste trabalho foi chamado de glicerol residual, é um material líquido altamente poluente. Nesta mistura complexa, além do próprio glicerol, na sua constituição encontram-se outras substâncias (óleos, ácidos graxos de cadeia longa, metanol, sais e outros) que, se dispostas no meio ambiente sem tratamento adequado, podem causar problemas de intoxicação, formação de espumas, mau cheiro, e variações nas características naturais de um determinado ecossistema. Com tudo isto, é necessário encontrar usos alternativos para o glicerol residual para manter a sustentabilidade econômica e ambiental da produção de biodiesel.

Nos últimos anos, os usos de glicerol residual como substrato orgânico para síntese biológica de outros produtos tem se intensificado, sendo os principais: 1,3-propanediol (PAPANIKOLAOUA *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2007; BARBIRATO *et al.*, 1998 ; BIEBL *et al.*, 1998); formiato e etanol (JARVIS *et al.*, 1997); ácido propiônico (ZHANG & YANG, 2009; HIMMI *et al.*, 2000; BARBIRATO *et al.*, 1997; SCHAUDER & SCHINK, 1989); ácido butírico e acético (FORREST *et al.*, 2010); butanol (BIEBL, 2001); dihidroxiacetona (GÄTGENS *et al.*, 2007; WETHMAR DECKWER, 1999); ácido succínico (LEE *et al.*, 2001). Além disso, o número de pesquisas sobre a utilização de glicerol no tratamento anaeróbio de águas residuárias tem aumentado, em especial para produção de metano visando geração de energia (SILES LÓPEZ *et al.*, 2009; HUTŇAN *et al.*, 2009; CONTRIM, 2009; BODÍK *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2008). A produção de hidrogênio a partir da digestão anaeróbia de glicerol residual, ainda sem resultados em escala industrial, pode ser uma alternativa promissória de aplicação deste subproduto (ITO *et al.*, 2005).

Reatores anaeróbios podem ser utilizados para biodigestão de glicerol residual visando geração de energia (elétrica ou térmica) através do metano (principal constituinte do biogás). Essas práticas têm se tornado cada vez mais comuns em alguns países, especialmente os mais desenvolvidos, que têm uma política de subsídios para produção e uso de energias renováveis. O metano é uma fonte renovável de energia e com reduzido potencial poluidor, se comparado à combustíveis fósseis, principais responsáveis pela emissão de gases do efeito estufa. Entretanto, se liberado no meio ambiente, ele causa um efeito de aquecimento global 21 vezes maior que o gás carbônico (BAIRD, 2002).

No entanto, alguns problemas podem ocorrer durante a digestão anaeróbia de glicerol residual, como acúmulo de metabólitos por causa da elevada concentração da demanda química de oxigênio (DQO) deste subproduto e inibição do consórcio anaeróbio devido algumas das impurezas contidas no glicerol residual serem consideradas recalcitrantes a microrganismos, como os ácidos graxos de cadeia longa e os cloretos. Apesar disso, diversas estratégias podem ser abordadas para aumentar o potencial de produção de metano, como, por exemplo, a diluição do glicerol residual e a adaptação gradual do lodo anaeróbio. Além disso, outras estratégias mais onerosas e complexas podem ser adotadas como mecanismos de precipitação química, centrifugação, destilação, adição de solutos compatíveis, técnicas de “stripping” ou até a aplicação dois ou mais reatores biológicos em série.

A proposta deste trabalho foi utilizar o glicerol residual como substrato para um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) – visando geração de metano. A estratégia de operação consistiu em adaptar o lodo anaeróbio ao afluente contendo glicerol residual como única fonte de matéria orgânica à medida que a carga orgânica volumétrica (COV) de projeto era alcançada. Na parte final do trabalho, buscou-se fazer uma análise econômica de uso do biogás produzido pelo reator como fonte de energia elétrica e térmica. Os reatores UASB possuem a capacidade de suportar COV's elevadas e possuem baixa produção de lodo excedente, o que se reflete em baixíssimos custos de construção, operação e manutenção, quando comparados aos sistemas aeróbios convencionais (FORESTI, 2002).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Mostrar a viabilidade técnica da utilização de glicerol como biomassa para produção de biogás e de energia.

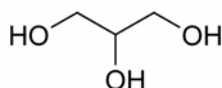
### **2.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar o glicerol oriundo da produção de biodiesel;
- Avaliar a biodegradabilidade e a toxicidade do glicerol residual no processo de degradação anaeróbia;
- Avaliar o potencial de produção de metano a partir do glicerol residual;
- Fazer análise de viabilidade econômica preliminar do uso do biogás para produção de energia.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Glicerol

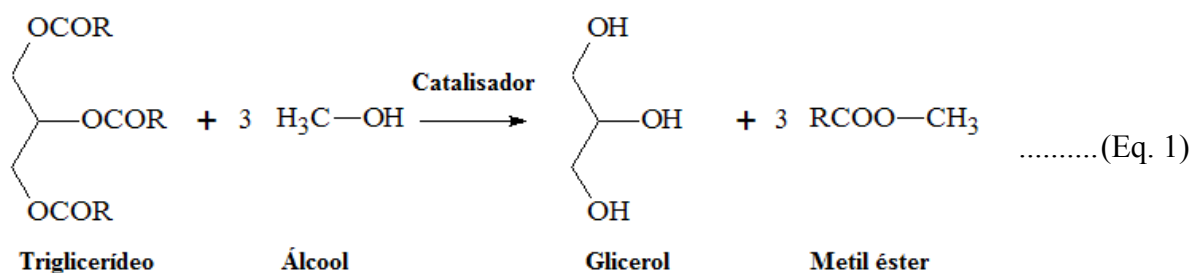
Glicerol (glicerina ou 1,2,3-propanetriol) é um álcool, sem cor e sem odor, viscoso, não tóxico, que se liquefaz em 17,8°C (PACHAURI & HE, 2006). A fórmula química do glicerol é: C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>(OH)<sub>3</sub> e a sua estrutura química está representada na Figura 1.



**Figura 1 -** Estrutura química do glicerol

O glicerol pode ser obtido a partir de fermentação biológica (TAHERZADEH *et al.*, 2002); por síntese química a partir de petroquímicos; recuperado como subproduto da fabricação de sabão (WANG *et al.*, 2001); por hidrogenação da sacarose na presença de um catalisador sob alta pressão e temperatura (LÓPES *et al.*, 1999), durante a produção de bioetanol (ALDIGUIER *et al.*, 2004); e como subproduto em processos de transesterificação de óleos vegetais e animais para a fabricação de biodiesel, já que é o componente estrutural de muitos lipídios (SILVA *et al.*, 2009).

A reação apresentada na Equação 1 (MA & HANNA, 1999) mostra a reação de transesterificação entre um óleo vegetal ou gordura animal (triglicerídeo) para obtenção de metil-ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e conseqüente liberação de glicerol, intermediada por um álcool (geralmente metanol), na presença de um catalisador químico (normalmente uma base forte, como NaOH ou KOH). A separação do biodiesel do glicerol é normalmente realizada por gravidade já que o biodiesel possui densidade inferior ao glicerol.



O glicerol puro (com mais de 95% de pureza), pode ser utilizado na indústria de cosméticos, de tintas, de automóveis, de alimentos, de tabaco, farmacêutica, de papel e celulose, têxtil e de couro (WANG *et al.*, 2001). No entanto, o glicerol oriundo da produção de biodiesel, possui impurezas que afetam e encarecem seu processamento industrial.

Dentre as impurezas contidas no glicerol residual, também chamado de glicerina, encontram-se ácidos graxos (SILES LÓPEZ *et al.*, 2009), metanol, catalisadores, sais de potássio e sódio, metais pesados, sabão (RYWINSKA *et al.*, 2009), água, lignina e outras impurezas orgânicas (PAPANIKOLAOUA *et al.*, 2008). A concentração destas impurezas no glicerol residual, bem como alguns parâmetros físico-químicos como pH, densidade, cor e concentração de matéria orgânica, varia em função da natureza do óleo vegetal ou animal e do processo de fabricação de biodiesel (LIANG *et al.*, 2010; MA *et al.*, 2008; THOMPSON & HE, 2006; YONG *et al.*, 2001).

Entre as impurezas contidas no glicerol oriundo de biodiesel, existem quatro que podem afetar significativamente o metabolismo microbiano, pois são consideradas compostos tóxicos ou recalcitrantes. São elas: ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) (SHIN *et al.*, 2003; HWU *et al.*, 1998; HWU *et al.*, 1996; ANGELIDAKI & AHRING, 1992; KOSTER & CRAMER, 1987), cloretos (RIFFAT & KRONGTHAMCHAT, 2006; VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999; KARGI & DINÇER, 1999), sulfatos e sulfetos (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; MAILLACHERUVU & PARKIN, 1996; McCARTNEY & OLESZKIEWICZ, 1993).

Os AGCL são oriundos de triglicerídeos que participam da reação de transesterificação e ficam dissolvidos no glicerol (THOMPSON & HE, 2006). Cloretos e sulfatos são formados durante a etapa de acidificação da mistura glicerol-biodiesel, devido ao emprego de ácido clorídrico ou ácido sulfúrico, respectivamente, para evitar formação de sabões (CHIU *et al.*, 2006; BOURNAY *et al.*, 2005). Os sulfetos são resultantes da redução anaeróbia de sulfatos (MIDDLETON & LAWRENCE, 1977) nos casos em que o ácido sulfúrico é utilizado na etapa de neutralização. A influência destas impurezas na digestão anaeróbia de glicerol residual será abordada com mais detalhes nos itens 3.6.2, 3.6.3 e 3.6.4 desta dissertação.

### **3.2. Tratamento anaeróbio de águas residuárias**

O tratamento biológico de efluentes reproduz os processos naturais que ocorrem em um corpo d'água após o lançamento de despejos (autodepuração). Em uma estação de

tratamento de esgotos, os mesmos fenômenos básicos ocorrem, mas a diferença é que há, em paralelo, a introdução de uma tecnologia, que tem o objetivo de fazer com que o processo de depuração se desenvolva em condições controladas e em taxas mais elevadas (SPERLING, VON, 1996), sob condições aeróbias ou anaeróbias.

De acordo com van Haandel & Lettinga (1994), o mecanismo mais importante para a remoção de compostos orgânicos em sistema de tratamento biológico é o metabolismo bacteriano. Esta denominação se refere à utilização pelas bactérias da fração orgânica, seja como fonte de energia (transformado em produtos estáveis por catabolismo) ou síntese de material celular (incorporado na célula por anabolismo), gerando sub-produtos reacionais de diversas naturezas.

A digestão anaeróbia é um processo biológico natural que ocorre na ausência de oxigênio molecular, no qual populações de bactérias e *archaeas* interagem estreitamente para promover a fermentação estável e auto-regulada da matéria orgânica, da qual resultam o metano e o gás carbônico, como principais produtos gasosos. O metano, além de ser um gás combustível é pouco solúvel em água e, portanto, facilmente liberado do meio líquido, o que torna evidente a remoção efetiva da matéria orgânica presente em um sistema anaeróbio, havendo possibilidade de geração de energia elétrica ou calorífica através de sua queima (McCARTY, 1964a).

As diversas características favoráveis da tecnologia anaeróbia como baixa produção de lodo (cerca de 2 a 8 vezes inferior à que ocorre nos processos aeróbios); baixo consumo de energia (este gasto com energia elétrica está usualmente associado a uma estação elevatória de esgotos); tolerância a cargas orgânicas elevadas; produção de metano (que pode ser utilizado como fonte renovável de combustível); e possibilidade de operação com elevados tempos de retenção de sólidos e baixos tempos de detenção hidráulica, conferem aos reatores anaeróbios um grande potencial de aplicabilidade no tratamento de águas residuárias concentradas e diluídas (LETTINGA *et al.*, 1980). No entanto, os reatores anaeróbios dificilmente produzem efluentes que atendem aos padrões estabelecidos pela legislação ambiental, tornando-se necessário a aplicação de um pós-tratamento desse efluente, visando complementar a remoção de matéria orgânica, bem como o de proporcionar a remoção de nutrientes eutrofizantes (nitrogênio e fósforo, principalmente) e organismos patogênicos (CHERNICHARO, 1997).

Apesar das controvérsias em relação à geração de odores, causada pela geração de alguns gases (principalmente gás sulfídrico), von Sperling (1996) explica que estes riscos podem ser bastante minimizados através de um projeto bem elaborado, tanto nos cálculos cinéticos, quanto nos aspectos hidráulicos. A completa vedação do reator, incluindo a saída

submersa do efluente, colabora sensivelmente para a diminuição destes riscos. A operação adequada do reator contribui também neste sentido. Sistema de lavagem do biogás reduz odores relativos ao gás sulfídrico, além de aumentar a concentração de metano, o que melhora o desempenho dos sistemas de produção de energia a partir do biogás.

Diversas tecnologias podem ser utilizadas para digestão anaeróbia de águas residuárias, dentre elas destacam-se os reatores anaeróbios de manta de lodo e fluxo ascendente, também conhecidos por UASB (do inglês, Upflow Anaerobic Sludge Blanket), desenvolvidos por Lettinga *et al.* (1980). Estes reatores consistem basicamente em fluxo ascensional que passa por um leito de lodo anaeróbio para que o efluente saia tratado pela parte superior do sistema. Internamente, o reator possui um separador trifásico (sólido – líquido – gás) que permite a coleta do biogás, além do retorno da biomassa, evitando a saída dos microrganismos junto com o efluente tratado (METCALF & EDDY, 2003; CHERNICHARO, 1997).

Então, o sucesso da aplicação de reatores de alta taxa do tipo UASB se dá principalmente pela retenção de altas concentrações de biomassa no reator e pela formação de agregados de lodo com boas características de sedimentação (HWU *et al.*, 1997), permitindo-se trabalhar em elevados tempos de retenção celular e reduzido tempo de detenção hidráulica (TDH).

A eficiência do uso de reatores UASB para digestão de efluentes é comprovada por diversas pesquisas, seja tratando esgoto doméstico (FORESTI, 2002) ou industrial (FRANKIN, 2001).

### **3.3. Desempenho de sistemas anaeróbios utilizados na digestão de glicerol**

Hutňan *et al.* (2009) utilizaram um reator anaeróbio do tipo UASB de 3,7 L de volume útil para degradar glicerol residual com alta salinidade (21,3 g/L de sais inorgânicos dissolvidos) para produzir biogás. O inóculo possuía características flocculentas e era proveniente de uma estação de tratamento de esgoto sanitário. Operando em COV igual a 3,45 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, o sistema conseguiu remover 65% da matéria orgânica e a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) não afetou o desempenho do sistema. Porém, quando a carga orgânica alcançou 4,32 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, a concentração de AGV foi igual a 860 mgAGV/L e a taxa de produção de biogás decresceu, bem como a eficiência na remoção de matéria orgânica (32%). O reator foi operado durante quase 90 dias e as causas mais prováveis para explicar o colapso foram o curto tempo de adaptação do lodo entre uma carga e outra mais elevada



(aproximadamente 30 dias) ou as altas concentrações de sais e AGCL presentes no glicerol residual (BODÍK *et al.*, 2008; MA *et al.*, 2008; HAZIMAH *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; YONG *et al.*, 2001).

Durante a operação com a COV mais elevada, Hutňan *et al.* (2009) constataram a ocorrência acentuada de flotação de lodo, provavelmente causada pela concentração elevada de AGCL presentes no glicerol utilizado. Estes AGCL podem aderir-se à parede celular bacteriana, impedindo que os nutrientes sejam transferidos para o interior da célula ou fazendo com que o agregado bacteriano flote por diferença de densidade (HWU *et al.*, 1998). Buscando solucionar o problema de flotação de lodo, os pesquisadores utilizaram uma mistura de lodo com característica granular oriundos de ETE's de indústrias de vinhaça e de papel como inóculo para outro reator UASB degradar o glicerol residual. Com esta nova estratégia de operação, o sistema foi capaz de remover cerca de 61% de matéria orgânica operando com COV de aproximadamente 6,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Considerando que o biogás era composto por 61,1% de CH<sub>4</sub>, a produção específica média de metano foi de 0,513 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg de glicerol durante os cerca de 75 dias de experimento, um pouco maior do que quando o sistema foi operado com lodo floculento (aproximadamente 0,420 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg de glicerol).

Buscando avaliar a melhor forma de tratamento de glicerol residual, Hutňan *et al.* (2009) também utilizaram um reator anaeróbico em batelada de 4 L de volume útil para obter metano. A COV foi aumentada gradativamente de 1,6 para 8,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, causando diminuição na remoção de matéria orgânica ao aplicar a máxima COV (caindo de 90 para 31%), refletindo em queda acentuada da produção diária de biogás. Ao mesmo tempo, a concentração de AGV's no meio aumentou mais de dez vezes, de 156 para 1.720 mg/L. Apesar de os autores terem atribuído a inibição da atividade metanogênica ao aumento da concentração de AGV's no meio, Aguilar *et al.* (1995) comprovaram que o tratamento pode ocorrer sem mais problemas sob essa concentração de AGV's, desde que haja alcalinidade suficiente para manter o pH próximo ao neutro. Além disso, o acúmulo de ácidos orgânicos tem que ser estudado caso a caso para se avaliar a real causa da inibição. Porém, com o reator ainda operando com COV de 5,6 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, a remoção de matéria orgânica chegou a 90% com 0,526 m<sup>3</sup> de CH<sub>4</sub> por kg de glicerol (3,1 m<sup>3</sup>biogás/m<sup>3</sup>reator). As causas do colapso provavelmente foram as mesmas citadas no parágrafo anterior, quando o reator utilizado para este fim era o UASB.

A digestão anaeróbia de glicerol residual, visando produção de metano, também foi avaliada por Contrim (2009). O autor utilizou um reator anaeróbico em bateladas sequenciais

em escala de bancada (5 L de volume útil), que foi inoculado com biomassa granular originada de um reator UASB usado no tratamento de água residuária da indústria de processamento de aves. Quando operado com uma COV de 2,4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d (DQO afluente em torno de 2.000 mg/L), o sistema conseguiu remover cerca de 80% da fração orgânica dissolvida, alcançando cerca de 116 L de CH<sub>4</sub>/kgDQO adicionada. Esta produção específica de metano é menor que a obtida por Hutňan *et al.* (2009) e Siles López *et al.* (2009), que chegaram a cerca de 337,5 e 356,0 L de CH<sub>4</sub>/kgDQO, respectivamente. Em outra etapa da pesquisa, Contrim (2009) submeteu o sistema à uma COV de 3,82 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Com isto a eficiência na remoção de matéria orgânica foi de apenas 52%, e a concentração de ácidos graxos aumentou de 207 para 336 mgHAc/L em 10 dias, mesmo com a devida suplementação de alcalinidade. Esta concentração de ácidos não é suficientemente alta para causar inibição da atividade bacteriana, mas os valores tendiam cada vez mais ao aumento. Provavelmente, o sistema foi prejudicado devido ao pequeno intervalo de tempo entre a mudança de operação, e talvez um tempo maior de adaptação do lodo evitaria que o reator tivesse seu desempenho comprometido. Além disso, as imagens apresentadas no trabalho de Contrim (2009) mostraram um glicerol residual de alta viscosidade, assemelhando-se a uma graxa, o que pode ter causado problemas de dissolução e transferência de massa entre o glicerol e o lodo anaeróbio.

Ao estudarem a produção de metano em reatores anaeróbios de leito fixo, operados de forma semi-contínua, e alimentados com efluente sintético contendo glicerol como única fonte de substrato, Yang *et al.* (2008) conseguiram remover cerca de 87% de matéria orgânica dissolvida, em condições termofílicas. Apesar disso, os pesquisadores não avaliaram o comportamento do reator diante de uma COV maior que 1 kgDQO/m<sup>3</sup>.d.. Esse aumento provavelmente não afetaria o desempenho do sistema, pois diversos pesquisadores operaram reatores alimentados com glicerol sob cargas mais elevadas sem que ocorresse maiores problemas (HUTŇAN *et al.*, 2009; SILES LÓPEZ *et al.*, 2009; CONTRIM, 2009; BODÍK *et al.*, 2008). Ainda assim, o sistema foi capaz de produzir 0,450 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg de glicerol adicionado ao reator, sob uma COV de 0,7 kgDQO/m<sup>3</sup>.d.

Siles López *et al.* (2009) avaliaram o desempenho e a estabilidade do processo de digestão anaeróbia na produção de biogás a partir da degradação de glicerol pré-tratado quimicamente para remoção de impurezas. Seis reatores em escala de bancada (volume útil de 1 L) foram alimentados em batelada, cada um com um tipo diferente de inóculo (granular e não-granular). Os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou lodo granular

digerindo glicerol destilado, podendo alcançar uma produção específica de metano de até  $0,411 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg}$  de glicerol, aplicando-se COV entre 0,92 e  $2,00 \text{ kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ .

Forrest *et al.* (2010) utilizaram microrganismos halófilos, oriundo de sedimentos marinhos, para converter glicerol em ácidos orgânicos, interrompendo a etapa de metanogênese através da adição de iodofórmio. Os autores conseguiram uma eficiência de até 56% de conversão utilizando um reator anaeróbio de mistura completa (CSTR), sendo 74% de ácido acético e 26% de ácido butírico, ou seja, caso a metanogênese não fosse interrompida, a produção à metano poderia ocorrer de forma acentuada devido ao alto teor de ácido acético no meio.

Nos últimos anos, o glicerol residual foi amplamente testado na co-digestão anaeróbia de diferentes substratos orgânicos. Fountoulakis *et al.* (2010), por exemplo, investigaram a contribuição deste subproduto na co-digestão de lodo de descarte (substrato) de uma estação de tratamento de esgoto doméstico. Testes em batelada determinaram que a suplementação de 3% (v/v) de glicerol ao reator (1 L de volume útil), equivalente a uma COV de aproximadamente  $38 \text{ kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ , causava inibição da atividade bacteriana, provavelmente ocasionada por sobrecarga orgânica, já que a partir do 20º dia de operação nessas condições, ocorreu acumulação de AGV's, possivelmente o ácido propiônico, com pH caindo de 6,5 para 5,3, diminuindo consideravelmente a eficiência na remoção de matéria orgânica, alcançando apenas 58%. Além disso, a concentração de compostos tóxicos, presentes no glicerol residual (ver itens 3.6.2, 3.6.3 e 3.6.4), podem ter influenciado no colapso do sistema.. No entanto, adicionando-se apenas 1% (v/v) de glicerol (COV  $\approx 12,5 \text{ kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ ), o sistema se mantinha sob condições estáveis, removendo cerca de 90% de matéria orgânica. Apesar de os autores não terem fornecido as concentrações de DQO afluente, esses valores foram calculados com base na concentração média do glicerol, que é aproximadamente de  $1250\text{gDQO}/\text{L}$  (MA *et al.*, 2008; BODÍK *et al.*, 2008; HUTŇAN *et al.*, 2009; SILES LÓPEZ *et al.*, 2009).

A partir dos resultados parciais obtidos por Fountoulakis *et al.* (2010), um novo teste foi realizado. Um reator anaeróbio de mistura completa, com 3 L de volume útil, degradando lodo de descarte, foi então suplementado com glicerol residual 1% (v/v) no 33º dia de operação. A soma do volume diário de metano equivalente à digestão de lodo de descarte ( $1,106 \text{ LCH}_4/\text{d}$ ) e à glicerol ( $0,751 \text{ LCH}_4/\text{d}$ ) foi de  $1,857 \text{ LCH}_4/\text{d}$ . Como a produção diária de metano ao final dos 80 dias de experimento, com suplementação de glicerol, foi igual a  $2,353 \text{ LCH}_4/\text{d}$ , conclui-se que  $0,496 \text{ LCH}_4/\text{d}$  foi produzido devido à ação do glicerol residual como

co-substrato, comprovando o aumento de 42% na produção diária de  $\text{CH}_4$ . Isto pode ter ocorrido devido a um aumento da biomassa ativa ocasionado pela digestão de um substrato de fácil degradação.

Em pesquisa semelhante, Fountoulakis & Manios (2009) testaram o glicerol residual como co-substrato na digestão anaeróbia de uma mistura de duas águas residuárias, uma proveniente do processamento de oliva e outra oriunda de abatedouro animal (em proporções de 1:4). Apesar de o volume de metano ter aumentado quando 1% (v/v) de glicerol foi adicionado ao reator contendo a água residuária (de 0,479 para 1,210  $\text{LCH}_4/\text{dia}$ ), esse aumento se deveu apenas à digestão do glicerol adicionado e não à co-digestão da água residuária, já que se considera que o glicerol é biodegradável anaerobiamente, sendo capaz de produzir cerca de 0,751  $\text{LCH}_4/\text{dia}$  nessas condições experimentais, valor bem próximo ao obtido pela diferença entre as operações com e sem suplementação de glicerol no afluente.

O uso de glicerol para co-digestão de esterco suíno, visando geração de metano, foi avaliado por Wohlgemut (2009). Este pesquisador realizou testes de alimentação semi-contínua e em batelada. No teste de alimentação semi-contínua, foi possível operar os reatores, de 3,5L de volume útil, sob relativa estabilidade operacional, com suplementação de até 2% (m/m) de glicerol puro (o equivalente a 1,4  $\text{kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ ), resultando em uma COV total de 2,5  $\text{kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$  no reator. Operando acima dessa carga de glicerol, os reatores entravam em colapso por causa do acúmulo imediato de AGV's, indicando sobrecarga orgânica. Para atuar como um eficiente co-substrato, os reatores contendo 1,6 mL (1% m/m) e 3,2mL (2% m/m) de glicerol deveriam produzir mais que 922  $\text{mLCH}_4/\text{d}$  e 1.283  $\text{mLCH}_4/\text{d}$ , respectivamente, considerando a densidade do glicerol igual a 1,26 $\text{kg}/\text{L}$  e que cada grama de glicerol removido produz 0,426L de  $\text{CH}_4$ , sob CNTP. Isto mostra que a adição de glicerol não aumentou a digestibilidade do esterco e que o aumento verificado se deu apenas pela digestão de glicerol.

Nos testes em batelada, Wohlgemut (2009) utilizaram glicerol oriundo de biodiesel para atuar como co-substrato e avaliar o potencial de produção de metano na digestão anaeróbia de esterco suíno. Cada reator possuía de 60 mL de volume útil. A atividade metanogênica foi inibida ao adicionar 2% ou mais de glicerol aos frascos, equivalente a 0,6  $\text{kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ , causando uma COV total igual a 2,1  $\text{kgDQO}/\text{m}^3.\text{d}$ . Assim como nos testes em fluxo semi-contínuo, não foi observado nenhum aumento relativo à co-digestão de esterco por causa do glicerol. Cada teste durou apenas 15 dias. No entanto, diversas pesquisas recomendam que o tempo de contato seja de 28 a 50 dias, tempo suficiente para que toda a

matéria orgânica biodegradável seja convertida à metano, em especial aquelas de difícil digestão (FERNANDES, 2010; PABÓN PEREIRA, 2009; GUNASEELAN, 2004).

Holm-Nielsen *et al.* (2008) avaliaram o desempenho um reator anaeróbio semi-contínuo de 4 L de volume útil tratando uma mistura de resíduos da indústria de alimentos e esterco, suplementado com glicerina pura. Para os autores, a adição de 5 a 7 g de glicerina ao sistema, o equivalente a 0,4 e 0,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. devido apenas à glicerina, respectivamente, foi suficiente para causar colapso no sistema. No entanto, a COV em que foram constatados acúmulo de AGV's, foi relativamente baixa. Possivelmente, o colapso foi causado pelo curto espaço de tempo entre o aumento de carga, tempo insuficiente para adaptação da biomassa e crescimento dos organismos metanogênicos.

O uso do glicerol como co-substrato foi bem sucedido em pesquisa realizada por Ma *et al.* (2008) quando compararam, em laboratório, o potencial de produção de metano entre dois reatores UASB (com 2,3 L cada) alimentados com água residuária proveniente de processamento de batata (controle), sendo um deles suplementado com três diferentes tipos de glicerol (puro, residual, e com de alta condutividade) para atuar como co-substrato. Após o período de partida e aclimatação, o reator suplementado com glicerol foi alimentado primeiramente com 2 mL de glicerol puro por litro de água residuária (equivalente a uma COV de 2,2 kgDQO/m<sup>3</sup>.d devido apenas à glicerol). Após 32 dias, o glicerol puro deu lugar ao glicerol residual. Por último, mantendo a mesma carga, os pesquisadores utilizaram o glicerol com alta condutividade, devido a concentração elevada de sais inorgânicos. Os melhores resultados obtidos ocorreram quando o afluente possuía glicerol puro ou residual em sua composição, alcançando média de remoção de matéria orgânica de 85%. Quando o glicerol utilizado era o de alta condutividade (com cerca de 29.000 µS/cm), essa eficiência caiu para 75%, valor ainda bem típico de processos anaeróbios, ainda mais se tratando de uma água residuária salina. Apesar de o glicerol ter sido responsável por exercer apenas 18% da carga orgânica afluente, a produção de CH<sub>4</sub> relativa à co-digestão da água residuária aumentou em média de 24%.

O glicerol residual também foi avaliado como co-substrato na digestão de silagem de milho por Hutňan *et al.* (2009). Para isso, os pesquisadores utilizaram um reator anaeróbio de 2.450 m<sup>3</sup> e concluíram que a produção específica de metano devida ao glicerol foi de aproximadamente 0,541 m<sup>3</sup>/kg glicerol. Esse valor é semelhante ao obtido em testes laboratoriais realizados pelos mesmos autores ao utilizar o glicerol como única fonte de matéria orgânica. A partir daí, conclui-se que o glicerol não teve grande influência na

biodigestão da silagem de milho, assim como em pesquisa realizada por Fountoulakis & Manios (2009), que ao adicionar 1% (v/v) de glicerol a um reator anaeróbio degradando resíduo sólido orgânico, não observaram aumento na geração de metano devido a co-digestão do substrato. O aumento da produção de CH<sub>4</sub> se deu quase que em sua totalidade por causa da digestão de glicerol.

Ao utilizarem o glicerol como co-substrato na fermentação de material lignocelulósico, visando produção de metano para geração de energia em reatores anaeróbios em batelada, Amon *et al.* (2006) conseguiram aumentar em até 22% o volume de metano produzido quando glicerol foi adicionado em quantidades equivalentes a 3% a 6% (v/v) ao alimento composto por uma mistura silagem de milho (31%), grão de milho (15%) e esterco suíno. No entanto, quando a suplementação de glicerol foi superior a 8% (v/v), o aumento na produção de metano deveu-se apenas à digestão do próprio glicerol e não à co-digestão da mistura. O acúmulo dos ácidos propiônico e butírico podem ter sido responsáveis pelo colapso do sistema (LYBERATOS & SKIADAS, 1999).

Daun *et al.* (2009) também compararam a produção de biogás produzido em dois reatores em batelada, um alimentado com água e esterco bovino (1:1), e outro utilizando uma proporção de 5% do volume total de glicerol, além da mistura de esterco e água. Os autores constaram que, ao final de 14 dias de tempo de reação, o reator contendo glicerol foi capaz de aumentar em aproximadamente 4 L a produção de metano. Apesar do aumento na produção de metano, a co-digestão do esterco não foi eficiente, já que apenas a digestão anaeróbia da quantidade de glicerol residual adicionado ao reator seria capaz de produzir 86 L de CH<sub>4</sub>.

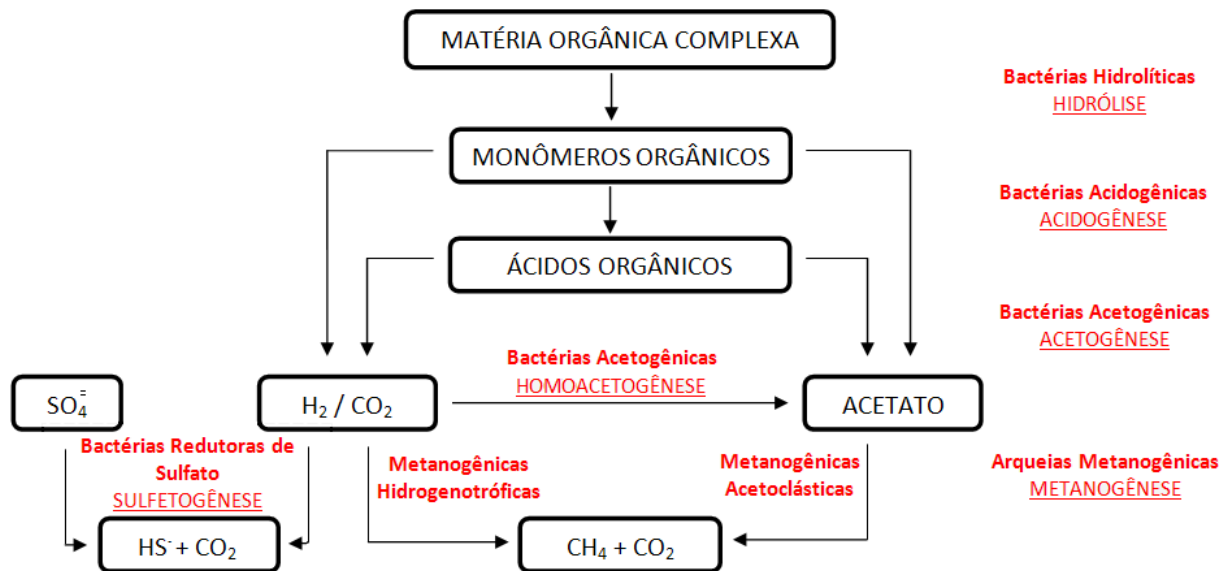
### **3.4. Bioquímica da digestão anaeróbia de glicerol**

Por meio de enzimas produzidas pelo consórcio de bactérias anaeróbias, a matéria orgânica sofre quatro tipos principais de reações: i) *hidrólise*, polímeros orgânicos complexos são decompostos em monômeros como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos por bactérias hidrolíticas; ii) *acidogênese*, monômeros orgânicos são convertidos em hidrogênio, bicarbonato, ácidos acético, propiônico e butírico e outros compostos orgânicos, tais como etanol e ácido láctico por bactérias acidogênicas; iii) *acetogênese*, oxidação de compostos orgânicos reduzidos gerando acetato ou hidrogênio e dióxido de carbono por ação de bactérias acetogênicas; iv) *metanogênese*, fermentação acetoclástica por *archaeas* metanogênicas acetoclásticas, produzindo metano.

Reações paralelas também ocorrem como, por exemplo, a oxidação de compostos orgânicos reduzidos a hidrogênio, e oxidação do hidrogênio, através da redução de bicarbonato ( $\text{CO}_2$ ) pelas *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas, formando metano (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994).

Em águas residuárias que contém compostos de enxofre em sua composição, o sulfato é reduzido a sulfeto, sendo liberado principalmente na forma de gás sulfídrico através do biogás (HULSHOFF POL *et al.*, 1998).

A Figura 2 apresenta o esquema simplificado da digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa para a obtenção de metano.



**Figura 2** - Esquema simplificado da digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa para a obtenção de metano (adaptado de Lettinga *et al.*, 1999)

Um grande número de microrganismos pode crescer em meio contendo glicerol e utilizá-lo como fonte de carbono e energia. Essa assimilação pode ocorrer por transporte passivo (VOEGELE *et al.*, 1993) ou transporte ativo (HOLST *et al.*, 2000), tanto em condições aeróbias (RYWINSKA *et al.*, 2009; SCHÜLLER, 2003), quanto em condições anaeróbias (YAZDANI & GONZALEZ, 2007; DHARMADI *et al.*, 2006).

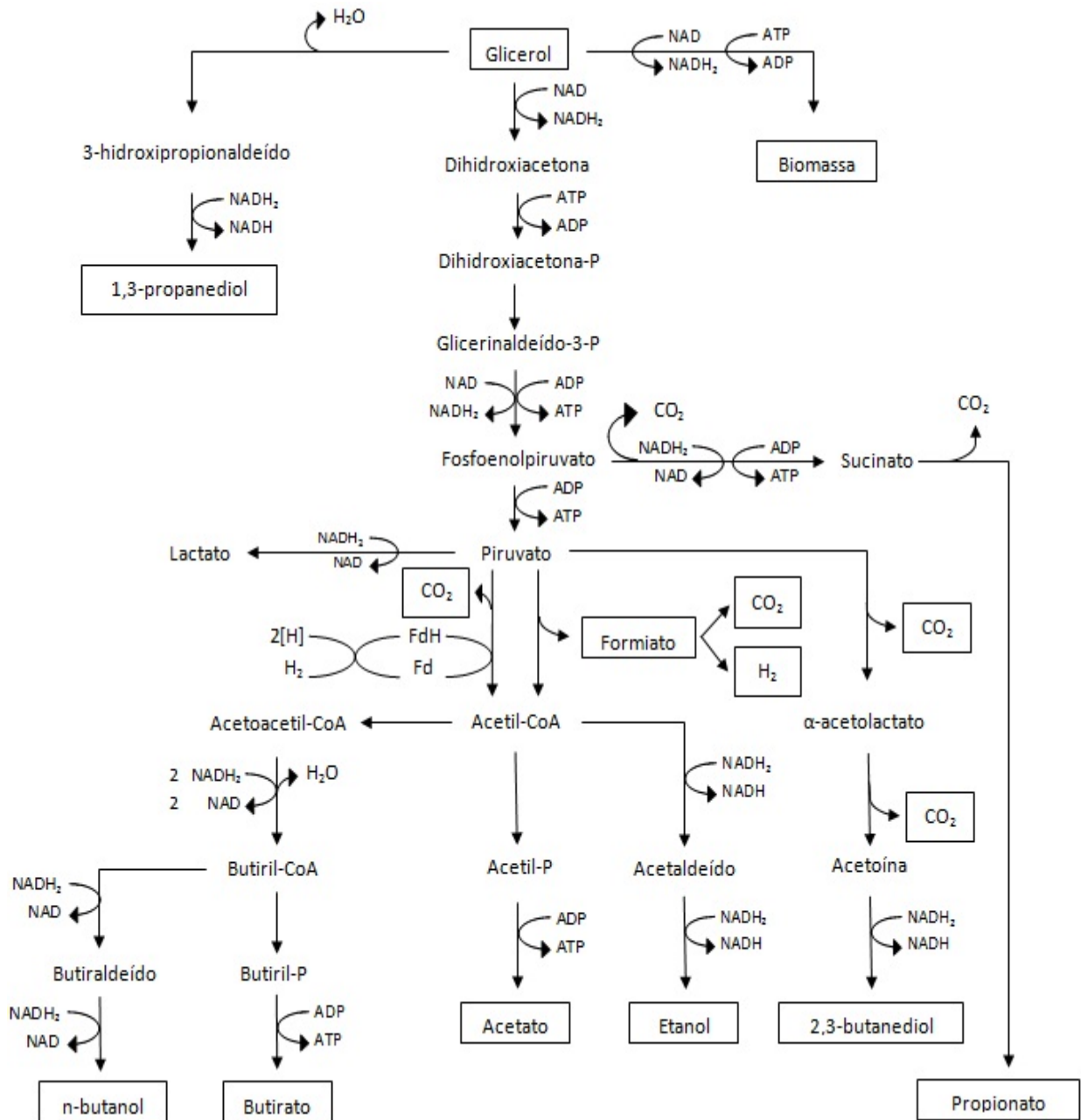
As rotas metabólicas fermentativas de glicerol já estão bem estabelecidas e, de acordo com Biebl *et al.* (1999), podem ocorrer por via redutora ou por via oxidativa. Pela via redutora o glicerol sofre um processo de desidratação, intermediado pela co-enzima *glicerol desidratase*, produzindo 3-hidroxi propionaldeído, que por sua vez é reduzido a 1,3-

propanediol (1,3-PDO), mediado pela enzima *1,3-propanediol dehidrogenase*. A rota oxidativa consiste em desidrogenar o glicerol, através da enzima *glicerol desidrogenase*, formando o composto dihidroxiacetona que, após sofrer fosforilação por intermédio da enzima *dihidroxiacetona quinase*, pode ser convertido a succinato, que é posteriormente convertido a propionato, ou a piruvato. As reações que levam à formação de compostos a partir de piruvato variam de acordo com as condições ambientais e com as enzimas que mediam a reação, ou seja, de organismo para organismo, podendo originar compostos mais simples, tais como 2,3-butanediol, lactato, butirato, etanol, formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (SILVA *et al.*, 2009; ADHIKARI *et al.*, 2009; PAPANIKOLAOUA *et al.*, 2008; REHMAN *et al.*, 2008; YAZDANI & GONZALEZ, 2007; DHARMADI *et al.*, 2006; BIEBL, 2001; BIEBL *et al.*, 1999; QATIBI *et al.*, 1991; MAGASANIK *et al.*, 1953). O esquema das rotas metabólicas de fermentação de glicerol até compostos mais simples está apresentado na Figura 3.

Quando o processo anaeróbico visa a geração de energia, devem estar presentes microrganismos formadores de formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (na forma de íon bicarbonato), uma vez que estes são os únicos compostos que podem ser convertidos diretamente a metano (CH<sub>4</sub>).

Contudo, nem todas as reações de acetogênese ocorrem espontaneamente sob condições ambientais padrões (pH neutro, 25°C e 1 atm), como é o caso do propionato, butirato e etanol, sendo necessário que haja um mecanismo de remoção de H<sub>2</sub> do meio, e assim ocorra o deslocamento da reação no sentido de formar acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (na forma de íon bicarbonato). O principal mecanismo de remoção de H<sub>2</sub> do meio é o seu consumo pelas *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas. Quando este consumo é suficiente para manter uma pressão de H<sub>2</sub> no meio entre 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-6</sup> atm, a degradação de propionato, butirato ou etanol se torna exergônica, liberando energia para as bactérias acetogênicas, tornando essas reações termodinamicamente favoráveis (LETTINGA *et al.*, 1999). Posteriormente, os subprodutos da acetogênese são assimilados por *archaeas* metanogênicas acetoclásticas e convertidos a CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. A Tabela 1 mostra a estequiometria e variação da energia livre de Gibbs das principais reações que ocorrem na digestão anaeróbia.





**Figura 3 -** Rotas metabólicas de fermentação de glicerol até compostos mais simples (adaptado de Silva *et al.*, 2009 e Biebl *et al.*, 1999).

As vias metabólicas anteriormente mencionadas podem ser inibidas caso algum fator externo interfira no processo de degradação. Além de fatores ambientais e operacionais (como pH, temperatura e alcalinidade), o acúmulo de intermediários e a presença de compostos considerados tóxicos podem inibir a digestão anaeróbia de glicerol residual. Os principais compostos tóxicos encontrados neste resíduo são AGCL (HAZIMAH *et al.*, 2003; YONG *et al.*, 2001), sais inorgânicos de cloretos (CARMONA *et al.*, 2009), sulfatos (MA *et al.*, 2008), e sulfetos (HULSHOFF POL *et al.*, 1998), formados a partir de compostos sulfurosos,

causando inibição da atividade bacteriana, em especial as do domínio *archaeas* metanogênicas.

**Tabela 1** - Estequiometria e variação da energia livre ( $\Delta G_0$ ) das reações de acetogênese e metanogênese.

Acetogênese	Reação	$\Delta G_0$ (kJ/mol)
Propionato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2$	+76,1
Butirato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48,1
Etanol → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9,6
Lactato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-4,2
Bicarbonato → Acetato	$2\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-70,3
Metanogênese	Reação	$\Delta G_0$ (kJ/mol)
Acetato → Metano	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2 \text{HCO}_3^-$	-31,0
Hidrogênio e gás carbônico → Metano	$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-135,6
Formiato → Metano	$4\text{HCOO}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-32,6

Fonte: Adaptado de Lettinga *et al.* (1999) e Foresti (1994).

### 3.5. Testes de atividade metanogênica específica, biodegradabilidade e toxicidade anaeróbia

#### 3.5.1. Atividade metanogênica específica

De acordo com Jawed & Tare (1999), o desenvolvimento do teste de atividade metanogênica específica (AME) foi baseado na necessidade de uma técnica simplificada que avaliasse a capacidade do consórcio anaeróbio de sistemas de tratamento de efluentes em converter matéria orgânica em metano. A AME avalia o potencial máximo da biomassa contida em um reator em produzir  $\text{CH}_4$ , além de indicar a variação da qualidade do lodo ao longo da extensão do sistema e do tempo de operação (SEGHEZZO *et al.*, 2002). O teste consiste basicamente em inocular uma concentração conhecida de biomassa anaeróbia e de substrato, em condições controladas de laboratório para promover a máxima atividade das *archaeas* metanogênicas em função do tempo.

Diversas metodologias podem ser adotadas para determinação da AME. Aquino *et al.* (2007) esclarecem que a falta de uma padronização internacionalmente aceita para o teste de AME dificulta, de certa forma, a comparação dos resultados absolutos obtidos a partir de cada metodologia atualmente disponível. Nesse sentido, entende-se que os resultados obtidos a partir de cada um dos métodos ora descritos devam ser utilizados muito mais como base relativa de comparação em cada local em que vier a ser aplicado e levando-se em conta ainda o objetivo principal de aplicação do resultado. Em outras palavras, uma vez escolhido um determinado método para o teste de AME, os resultados obtidos através do mesmo serão muito mais úteis em termos comparativos, por exemplo, entre determinadas condições e fases operacionais de reatores anaeróbios.

Para que se alcance a máxima atividade metanogênica do lodo, são necessárias algumas exigências como permanência do ambiente anaeróbio, condições ótimas de pH, temperatura, concentração de alimento, além de suplementação nutricional suficiente para que não ocorra deficiência durante o tempo de execução do experimento.

A atividade metanogênica do lodo digerindo glicerol residual deverá ser menor do que digerindo um substrato como a glicose, por exemplo, já que a estrutura química do glicerol é mais complexa e a presença de outros compostos junto ao glicerol residual, como sais e AGCL, podem inibir a metanogênese.

O uso de uma mistura de lodos anaeróbios, oriundos de sistemas de tratamento distintos, pode resultar em uma AME mais elevada devido ao aumento da biodiversidade. Além disto, isto torna possível selecionar organismos mais adaptados à um determinado ambiente, como detectado nos experimentos de Leclerc *et al.* (2001), que utilizou uma mistura de lodos de três reatores distintos para degradar efluente sintético composto por glicose e nutrientes. Estes autores verificaram que a espécie de *archaeas Methanobacterium formicium* predominou no reator anaeróbio após 107 dias de operação, mesmo estando quase inexistente no sistema no início da operação. Por outro lado, a densidade populacional de *Methanosaeta concilli* reduziu drasticamente no fim da operação, mesmo sendo a espécie que predominava no período de “*start-up*”.

Além de avaliar a atividade metanogênica específica, Chernicharo (1997) sugere o uso deste experimento para analisar o comportamento da biomassa anaeróbia em contato com resíduos supostamente tóxicos, como é o caso dos testes de toxicidade e de biodegradabilidade anaeróbia.

### 3.5.2. Teste de toxicidade e biodegradabilidade anaeróbia

A partir dos procedimentos de obtenção da AME, podem ser realizados experimentos que avaliam se o resíduo é tóxico ou não ao consórcio anaeróbio. O teste de toxicidade é realizado principalmente ao operar reatores que tratam efluentes industriais, devido às suas características físico-químicas específicas.

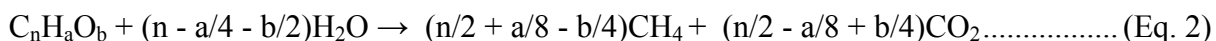
No teste, varia-se a concentração do suposto tóxico em substituição à glicose (substrato primário), em termos de DQO, e diversas proporções, para avaliar se a AME diminui à medida que a concentração do resíduo aumenta nos frascos. Entretanto, deve-se haver uma cautela quanto à interpretação dos resultados obtidos no experimento, pois uma diminuição nos valores de AME pode indicar apenas uma inibição temporária da atividade bacteriana e não um efeito tóxico permanente.

Além do experimento de toxicidade, testes de biodegradabilidade anaeróbia podem ser conduzidos com o objetivo de avaliar o quanto um determinado composto pode ser convertido em biogás (metano e dióxido de carbono) sob condições controladas (GUWY, 2004). Um material é considerado 100% biodegradável quando toda a matéria orgânica adicionada ao frasco-reator é convertida em metano, sub-produto da reação de metanogênese.

Testes de biodegradabilidade anaeróbia de glicerol residual foram realizados por Siles López *et al.* (2009) em reatores em batelada de 1 L sob condições mesofílicas. Os autores verificaram que o glicerol foi 100% biodegradado anaerobiamente ao utilizar carga aplicada ao lodo (COL) variando entre 0,21 e 0,38 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. O mesmo resultado foi obtido por Siles *et al.* (2010) ao estudarem a digestão de glicerol residual com COV máxima de 1,60 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Os elevados níveis de biodegradabilidade do glicerol alcançados nestas pesquisas podem ter sido obtidos porque os sais inorgânicos contidos nele, que poderiam causar inibição da atividade bacteriana (ver item 3.6), foram previamente removidos por acidificação com ácido fosfórico seguida de centrifugação.

Na realidade, espera-se que a biodegradabilidade anaeróbia de glicerol residual não alcance valores de 100%, já que algumas substâncias presentes nele podem inibir a atividade metanogênica ou serem recalitrantes.

A massa teórica de metano produzida por cada mol de glicerol degradado anaerobiamente pode ser calculada pela equação empírica desenvolvida por Buswell & Muellepi (1952) (Equação 2), resultando na Equação 3:



Considerando a estequiometria da reação expressa pela equação 3, o potencial teórico de produção de metano é de 0,426 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg de glicerol degradado anaerobiamente, sob condições normais de temperatura e pressão (CNTP). No entanto, na prática, as condições ambientais, operacionais e a presença de compostos tóxicos podem interferir neste resultado.

A partir dos resultados de biodegradabilidade anaeróbia, pode-se calcular o potencial de produção de metano (PPM) baseando-se na produção acumulada de metano após 30 dias e na massa de substrato utilizada nos testes. Outra possibilidade de avaliar o volume de metano produzido por massa de glicerol adicionada ao sistema é calculando a produção específica de metano (PEM) através do volume médio de metano produzido por massa de substrato que afluiu no sistema durante um determinado período de operação de um sistema.

A Tabela 2 mostra valores de PPM e PEM (volume de CH<sub>4</sub> produzido por massa de material adicionado) obtidos em diversos experimentos que utilizaram glicerol residual como única fonte de matéria orgânica para digestão anaeróbia. Com base nesta Tabela, nota-se que, quando o lodo granular é utilizado como inóculo, o PPM é mais elevado que nos experimentos que empregaram lodo floculento. Isto pode ser consequência do aumento no desempenho de lodo granular degradando AGCL (HWU *et al.*, 1996), presente no glicerol residual. Além disso, os testes Siles López *et al.* (2009) mostraram que quanto mais minucioso for o processo de pré-tratamento do glicerol residual, maior será o PPM, pois haverá remoção de impurezas inibitórias à digestão anaeróbia, como os AGCL, sais. A remoção de metanol também pode elevar o PPM, já que, estequiometricamente, metanol resulta em menos metano que a da molécula de glicerol, de acordo com a Equação 2 de Buswell & Muellepi (1952).

O elevado valor de PEM obtido por Yang *et al.* (2008) explica o que foi relatado anteriormente, já que o glicerol na sua forma pura foi escolhido para a realização dos testes. Os reduzidos valores encontrados por Contrim (2009) podem ter sido consequência do tipo de glicerol residual utilizado, pois as imagens apresentadas no trabalho deste pesquisador mostraram um glicerol residual de elevada viscosidade, assemelhando-se a uma graxa, o que pode ter causado problemas de dissolução e transferência de massa entre o glicerol residual e o lodo anaeróbio.

**Tabela 2** - Potencial de produção de metano e produção específica de metano obtida em diversos experimentos que utilizaram glicerol residual como única fonte de matéria orgânica para digestão anaeróbia.

PPM/ PEM <sup>a</sup>	Condições experimentais	Tipo de reator / regime de alimentação	Tipo de glicerol	COV <sup>b</sup>	Ref.
0,291 <sup>c</sup>	- Inóculo Floc. - 35°C	Batelada / Teste de biodegradabilidade	Com PT – acidificação com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	-	Siles López <i>et al.</i> (2009)
0,295 <sup>c</sup>	- Inóculo Gran. - 35°C	Batelada / Teste de biodegradabilidade	Com PT – acidificação com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	-	Siles López <i>et al.</i> (2009)
0,411 <sup>c</sup>	- Inóculo Gran. - 35°C	Batelada / Teste de biodegradabilidade	Com PT – acidificação com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + destilação	-	Siles López <i>et al.</i> (2009)
0,420	- Inóculo Floc. - 37°C	UASB / semi contínuo	Sem PT	3,5	Hutňan <i>et al.</i> (2009)
0,513	- Inóculo Gran. - 37°C	UASB/ semi contínuo	Sem PT	6,5	Hutňan <i>et al.</i> (2009)
0,526	- Inóculo ETE doméstico - C <sub>x reator</sub> <sup>6</sup> = 10	Batelada alimentada	Sem PT	-	Hutňan <i>et al.</i> (2009)
0,370 <sup>d</sup>	- 35°C	Leito fixo / Semi- contínuo	Puro	0,7	Yang <i>et al.</i> (2008)
0,446 <sup>d</sup>	- 55°C	Leito fixo / Semi- contínuo	Puro	1	Yang <i>et al.</i> (2008)
0,078 <sup>e</sup> – 0,096 <sup>e</sup>	- Inóculo Gran. - DQO <sub>afl</sub> <sup>g</sup> = 0,5 a 2,0 - 30°C	Batelada Seqüencial	Sem PT	-	Contrim (2009)

Nota: (a) m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg glicerol residual; (b) kgDQO/m<sup>3</sup>.d; (c) Valor fornecido sob condições normais de temperatura e pressão (CNTP); (d) Valor convertido a partir dos valores de densidade e concentração de DQO do glicerol puro obtidos por Ma *et al.* (2008); (e) Valores fornecidos em m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>-CNTP/kgDQO; (f) Concentração de lodo no reator, em gSV/L; (g) gDQO/L; PT = pré-tratamento.

A partir da Tabela 2 percebe-se também que os valores de PEM encontrados por alguns autores foram superiores ao valor teórico. Esse aumento se deve, principalmente, a fatores como: (i) temperatura do ambiente, já que em temperaturas elevadas ocorre uma expansão no volume de metano, salvo as aqueles resultados fornecidos sob CNTP; (ii) nível de pureza do glicerol residual, pois outras substâncias presentes podem elevar o PPM devido à sua estrutura molecular, como o ácido palmítico (C<sub>16:1</sub>), um AGCL presente no glicerol residual em concentração entre 1,5 e 3,0 g/L (HAZIMAH *et al.*, 2003; YONG *et al.*, 2001) com cadeia carbônica suficiente para produzir quase sete vezes mais CH<sub>4</sub> do que o glicerol puro (Equação 4, obtida a partir da Equação 2 de Buswell & Muellepi, 1952).



### 3.6. Fatores que afetam a digestão anaeróbia do glicerol residual

A atividade de microrganismos anaeróbios pode sofrer influência de diversas formas ao entrarem em contato com glicerol residual, são elas: i) pelo acúmulo de intermediários (LYBERATOS & SKIADAS, 1999; HICKEY & SWITZENBAUM, 1991); ii) pela inibição de substâncias como: ácidos graxos de cadeia longa (HANAKI *et al.*, 1981), cloretos (VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999), sulfatos e sulfetos (HULSHOFF POL *et al.*, 1998); iii) escassez de nutrientes.

Além dos fatores anteriormente mencionados, alguns parâmetros operacionais e de dimensionamento podem influenciar na digestão de glicerol residual, sendo os principais a COV, o TDH e o tempo de retenção celular (TRC ou idade do lodo).

De acordo com Chernicharo (1997), a COV é o principal parâmetro de dimensionamento de reatores anaeróbios quando este tipo de sistema é utilizado no tratamento de efluentes concentrados, já que as taxas de conversão do substrato passam a ser o fator limitante do processo e não o TDH.

O TDH é mais utilizado no dimensionamento de reatores utilizados para tratamento de efluentes diluídos devido à necessidade de se estabelecer um tempo de contato mínimo entre o substrato e os microrganismos, sem que haja perda excessiva de biomassa por “lavagem” (CHERNICHARO, 1997). O TDH é muitas vezes utilizado como parâmetro construtivo visando obter o volume do reator necessário para tratar um determinado efluente.

Segundo Chernicharo (1997), em reatores anaeróbios de alta taxa com crescimento suspenso, deve-se controlar a expulsão de lodo, de forma que o TRC seja mais longo que o TDH. Em reatores com fluxo ascendente, como o UASB, o processo de floculação ou granulação, bem como o separador de fases, retém o lodo devido à alta sedimentabilidade do floco ou grânulo. Este mesmo autor demonstra ainda que se deva estabelecer um TRC mínimo para que as células possam se desenvolver, aumentando a capacidade do sistema em remover matéria orgânica.

### 3.6.1. Acúmulo de intermediários

A etapa limitante da digestão de resíduos é definida por Lawrence (1971) como “aquela etapa em que ocorrerá falha no processo quando o mesmo ocorre sob condições de estresse cinético”. Considerando que o glicerol é um composto que está prontamente disponível para ser utilizado por bactérias acidogênicas, sem que haja limitação por hidrólise (quebra de moléculas mais complexas, como de materiais lignocelulósicos, por bactérias hidrolíticas), admite-se a metanogênese como uma possível etapa limitante da digestão anaeróbia desse material.

Durante a fermentação de glicerol, alguns ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, valérico e outros), formados por bactérias fermentativas acidogênicas, podem não ser consumidos pelas *archaeas* metanogênicas, na mesma taxa em que são produzidos. Isso porque o coeficiente de produção celular ( $Y_{x/s}$ ) das primeiras é bem superior ao das segundas, tratando material orgânico solúvel (GAVALA *et al.*, 2003; METCALF & EDDY, 2003). A produção destes ácidos deve estar contrabalançada com a alcalinidade presente no meio, caso contrário, poderá ocorrer inibição da atividade metanogênica por acumulação desses metabólitos, provocando inibição do metabolismo metanogênico ocasionando um colapso do sistema, independentemente do valor de pH (LYBERATOS & SKIADAS, 1999).

Nos casos em que a taxa de crescimento das *archaeas* metanogênicas não é o fator limitante, a presença de AGV's no meio pode inibir a atividade metanogênica devido aos reduzidos valores de pH, prejudicial à microrganismos metanogênicos (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994 & VAN HAANDEL, 1994). Para que o valor do pH do meio não sofra grandes variações é necessário que haja alcalinidade suficiente para que ocorra a neutralização desses ácidos a fim de manter o pH do meio próximo ao ideal, entre 7,0 a 7,2 (McCARTY, 1964b).



A queda de pH pode ser controlada, entre outras formas, através da adição de uma fonte externa de alcalinidade (DAMASCENO *et al.*, 2007), como por exemplo o bicarbonato de sódio, buscando manter uma relação AI/AP próximo à faixa ideal, onde AI é a alcalinidade intermediária, relativa à ácidos voláteis em sua forma ionizada, e AP é a alcalinidade parcial, devida principalmente à bicarbonatos (FORESTI, 1994). Ripley *et al.* (1986) estabelecem a relação AI/AP como um importante parâmetro de monitoramento, já que quanto maior for o valor dessa razão, maior o desbalanceamento ocasionado pela elevada produção de ácidos graxos voláteis. Eles relatam também que o valor de AI/AP, quando se encontram próximo a 0,3, é um indicador de estabilidade do processo, embora Foresti (1994) relate que é possível que a estabilidade do processo ocorra em valores de AI/AP diferentes de 0,3, sendo aconselhável a verificação caso a caso.

Em um sistema anaeróbio, geralmente, valores de AI/AP maiores que 0,3 pode ser resultado de eventual sobrecarga orgânica, ou seja, quando a quantidade de glicerol aplicada a um reator é superior àquela tolerada pela massa de microrganismos presente no sistema, como ocorrido nos experimentos de Fountoulakis *et al.* (2010) e Holm-Nielsen *et al.* (2008), ao utilizarem glicerol como co-substrato para digestão de resíduos. Para evitar problemas desse tipo, testes de atividade metanogênica específica (AME) podem ser realizados para determinar a carga máxima tolerada por uma determinada massa de lodo (AQUINO *et al.*, 2007; JAWED & TARE, 1999; INCE, 1995).

Considerando um reator anaeróbio de mistura perfeita alimentado com glicerol residual residual sem diluição, resultando em uma DQO afluente igual a 1.260 g/L (MA *et al.*, 2008; BODÍK *et al.*, 2008; HUTŇAN *et al.*, 2009; SILES LÓPEZ *et al.*, 2009), capaz de remover 90% da DQO afluente, a concentração de DQO no interior do sistema passará a ser aproximadamente 126 gDQO/L após o tempo de detenção hidráulica ser atingido, e todo o reator ser “lavado” com o novo afluente. A concentração de DQO dentro do reator ficaria tão elevada que a atividade metanogênica seria inibida por excesso de substrato, causando acúmulo de intermediários, o que faz crer que seria inevitável operar um sistema anaeróbio livre de diluição.

Para evitar sobrecarga orgânica, Contrim (2009) e Siles López *et al.* (2009) diluíram glicerol em água bruta para realização de seus testes em batelada, devido à elevada concentração de DQO deste material, que pode variar entre 925 e 1.600 gDQO/L (MA *et al.*, 2008; BODÍK *et al.*, 2008; HUTŇAN *et al.*, 2009; SILES LÓPEZ *et al.*, 2009). Com o mesmo propósito, Siles *et al.* (2010) propuseram a utilização de água residuária de lavagem de biodiesel pré-tratada para remoção de óleo, em proporção de 1:5,6 (em termos de DQO).O

acúmulo de metabólitos durante a digestão de glicerol também pode ser reduzido empregando-se um sistema anaeróbio em dois estágios, no qual um reator acidogênico precede um metanogênico, para controlar separadamente ambas as etapas (McCARTY, 1964a). Ince (1998) obteve êxito ao utilizar esta tecnologia para degradar água residuária de alta carga, oriunda de indústria de laticínios. Estes autores conseguiram uma conversão de 60% da DQO afluente em AGV's no reator acidogênico, o essencial para que o reator metanogênico conseguisse remover entre 90 e 95% de matéria orgânica do sistema.

### 3.6.2. Inibição por Ácidos Graxos de Cadeia Longa (AGCL)

O triglicerídeo que também pode ser chamado de óleo ou gordura, dependendo do seu estado físico que é influenciado pela temperatura ambiente (PASSWATER, 1987), é uma substância composta por três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol. Geralmente, estes ácidos graxos possuem cadeias longas, que, durante o processo de transesterificação de óleos, são liberados junto ao glicerol, efluente da fabricação de biodiesel (ZHANG *et al.*, 2003). A presença de AGCL na composição do glicerol gerado durante a produção de biodiesel é comprovada por Thompson & He (2006), Ooi *et al.* (2004), Hazimah *et al.* (2003), e Yong *et al.* (2001).

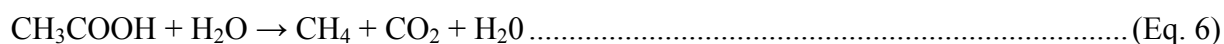
Os ácidos graxos variam no tamanho da cadeia carbônica e em níveis de saturação. Normalmente, ácidos graxos com até 6 átomos de carbono em sua molécula são denominados ácidos graxos de cadeia curta, acima desse valor são considerados de cadeia longa. Ácidos graxos que apresentam apenas ligações simples entre os átomos de carbono são os saturados, já os que possuem uma ou mais ligações duplas são denominados insaturados. Dentre os AGCL, os mais comumente encontrados em águas residuárias oriundas de processamento de óleos vegetais e animais são os ácidos linoléico (C18:2), oleico (C18:1) e esteárico (C18:0) (SAATCI *et al.*, 2003; LALMAN & BAGLEY, 2000). Além destes, outros ácidos podem ser detectados, tais como o palmítico (C16:0), mirístico (C14:0), láurico (C12:0), cáprico (C10:0) e o caprílico (C8:0).

Os AGCL, apesar de biodegradáveis, são prejudiciais à sistemas anaeróbios (LALMAN & BAGLEY, 2000). Hanaki *et al.* (1981) estudaram a toxicidade potencial que diversos AGCL podem causar em sistemas anaeróbios de bancada alimentados em batelada e concluíram que as bactérias acidogênicas são tolerantes à AGCL, pois a taxa de produção de AGV's era elevada e seu consumo relativamente reduzido. Além disso, diversas pesquisas comprovaram o potencial inibitório desses ácidos graxos para bactérias acetogênicas

(RINZEMA *et al.*, 1994), *archeas* metanogênicas acetoclásticas (LALMAN & BAGLEY, 2001); LALMAN & BAGLEY, 2000; KOSTER & CRAMER, 1987; RINZEMA *et al.*, 1994; HWU *et al.*, 1997) e metanogênicas hidrogenotróficas (LALMAN & BAGLEY, 2001; LALMAN & BAGLEY, 2000; HANAKI *et al.*, 1981). Como explicado anteriormente, essa inibição aos organismos anaeróbios é causada, principalmente, porque os AGCL aderem-se à parede celular desses microrganismos, acarretando em duas conseqüências: i) a camada de AGCL formada na parede celular impede a passagem de nutrientes através da membrana causando morte do microrganismo; ii) os AGCL, compostos de baixa densidade relativa, quando presos à parede celular bacteriana, podem tornar a biomassa flutuante e sujeita à eliminação por arraste (“*wash-out*”) por diferença de densidade (HWU *et al.*, 1998), ou seja, quando a massa específica do agregado microbiano não é suficientemente alta para evitar que seja levado para parte superior do reator.

O principal mecanismo de degradação anaeróbia de AGCL é via oxidação- $\beta$ , realizada por bactérias acetogênicas, na qual a cada molécula de AGCL degradada, forma um ácido carboxílico com menos dois átomos de carbono, até que haja conversão completa em ácido acético (WENG & JERIS, 1976; JERIS & McCARTY, 1965), conforme mostrado na Equação 5.

Admitindo-se que os microrganismos envolvidos não serão inibidos pelos AGCL, o processo de degradação é complementado por *archeas* metanogênicas acetoclásticas, responsáveis por consumir as moléculas de ácido acético formadas durante a oxidação- $\beta$  (Equação 6), da mesma forma que as moléculas de hidrogênio, formadas durante a degradação de AGCL são consumidas por organismos metanogênicos hidrogenotróficos (Equação 7), ambas formadoras de metano e dióxido de carbono, principais produtos gasosos do processo anaeróbio (LALMAN & BAGLEY, 2000; RINZEMA *et al.*, 1994).



Os AGCL encontram-se em altas concentrações na borra flutuante que se forma após a separação da mistura glicerol-biodiesel. A remoção dessa borra não elimina completamente os AGCL do glicerol afluente ao sistema de tratamento, mas diminui consideravelmente sua

concentração. A Tabela 3 apresenta a concentração de diversos AGCL encontrados no glicerol residual oriundo da transesterificação de óleo de palma, considerando sua densidade média igual a 1,25 kg/L (FOUNTOULAKIS & MANIOS, 2009; MA *et al.*, 2008). Como as características físico-químicas do glicerol residual variam de acordo com o triglicerídeo utilizado e com o processo de fabricação de biodiesel, o mesmo acontece com as concentrações de AGCL presentes no glicerol residual.

**Tabela 3 -** Concentração dos AGCL encontrados no glicerol residual.

Concentração do Ácido Graxo de Cadeia Longa (gAGCL/L de glicerol)								
C <sub>8:0</sub>	C <sub>10:0</sub>	C <sub>12:0</sub>	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	Ref.
0,6 – 33,1	0,6 – 1,5	0,6 – 2,5	1,5 – 1,9	1,5 – 2,5	0,6 – 15	25 – 30	n.c	1
37,9	11,8	51,0	7,9	3,0	0,9	6,1	0,8	2

Nota: (1) Hazimah *et al.* (2003); (2) Yong *et al.* (2001); C<sub>x:y</sub>, onde “x” é o número de carbonos; e “y” o número de duplas ligações; n.c.: não citado pelo autor

A Tabela 4 mostra as concentrações de cada AGCL necessárias para causar 50% de inibição bacteriana (CI<sub>50</sub>) baseando-se em valores obtidos em diversos experimentos (LALMAN & KOMJAROVA, 2004; SHIN *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2002a; PEREIRA *et al.*, 2002b; ALVES *et al.*, 2001; PEREIRA, 1998; RINZEMA *et al.*, 1994; ANGELIDAKI & AHRING, 1992; KOSTER & CRAMER, 1987). A partir dos dados apresentados nas Tabelas 3 e 4, nota-se que as concentrações da maioria dos AGCL presentes no glicerol residual são superiores à CI<sub>50</sub>, que permite concluir que a digestão anaeróbia deste resíduo pode ser inibido por AGCL.

A exposição da biomassa a elevadas concentrações de AGCL pode levar o sistema ao colapso (ALVES *et al.* 2001). Para solucionar este problema, Rinzema *et al.* (1993) operaram um sistema alimentado com efluente sintético composto de caprato de sódio (C<sub>10:0</sub>) e laurato de sódio (C<sub>12:0</sub>), adaptando gradativamente os microrganismos e elevando a capacidade do lodo anaeróbio em degradar estes sais de AGCL. O uso de inóculo já adaptado a uma água residuária rica em lipídeos e/ou AGCL, pode contribuir para maior tolerância da biomassa à este tóxico (ALVES *et al.*, 2001; PEREIRA *et al.*, 2001a). Além disso, a diluição do glicerol residual para diminuir a concentração de AGCL no afluente de reatores anaeróbios pode diminuir problemas de toxicidade.

**Tabela 4 -** Concentrações de AGCL que foram necessárias para causar 50% de inibição bacteriana (CI<sub>50</sub>) em diversas pesquisas.

AGCL	CI <sub>50</sub> (g/L)	AGCL	CI <sub>50</sub> (g/L)
C <sub>8:0</sub>	1,44 <sup>a</sup>	C <sub>16:0</sub>	4,15 <sup>c</sup>
C <sub>10:0</sub>	1,02 <sup>a</sup> - 1,41 <sup>b</sup>	C <sub>18:0</sub>	0,50 <sup>d</sup> - 4,14 <sup>c</sup>
C <sub>12:0</sub>	0,86 <sup>a</sup>	C <sub>18:1</sub>	0,08 <sup>e</sup> - 2,78 <sup>c</sup>
C <sub>14:0</sub>	1,20 <sup>a</sup>	C <sub>18:2</sub>	0,35 <sup>f</sup> - 0,59 <sup>c</sup>

Nota: C<sub>x,y</sub>, onde “x” é o número de carbonos; e “y” o número de duplas ligações; (a) Koster & Cramer (1987); (b) Rinzema *et al.* (1994); (c) Shin *et al.* (2003); (d) Angelidaki & Ahring (1992); (e) Alves *et al.* (2001); (f) Lalman & Komjarova (2004).

Considerando que a principal consequência da exposição da biomassa ao AGCL é a sua flotação e eliminação do sistema por arraste, possivelmente o aumento da sedimentabilidade do lodo pode elevar sua resistência à flotação e melhorar o desempenho do sistema na degradação desse material (HWU *et al.*, 1996). Apesar disso, os resultados apresentados por Pereira *et al.* (2002a) e Pereira *et al.* (2001b) mostraram que lodo floculento degradando esse tipo de composto pode se sobressair em relação ao lodo granular, isto contradiz o que foi exposto por Show *et al.* (2004) e Yan & Tay (1997), demonstrando que o lodo granular possui atividade metanogênica superior ao lodo floculento.

Hutňan *et al.* (2009) observaram flotação de lodo ao utilizar um reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) para degradar glicerol residual empregando lodo floculento como inóculo. A saída encontrada pelos pesquisadores foi reinocular o reator com lodo granular. Com essa medida foi possível operar com COV de até 6,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, quase o dobro da carga máxima alcançada pelo reator UASB contendo lodo floculento (3,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d), além de elevar a produção específica de metano em cerca de 18%. Entretanto, nenhum aumento significativo na produção específica de metano foi observada por Siles López *et al.* (2009) ao comparar lodo granular e lodo floculento como inóculo para a digestão do mesmo tipo de glicerol residual (glicerol pré-acidificado para remover o K<sup>+</sup> do catalisador).

A adição da argila mineral bentonita (ANGELIDAKI *et al.*, 1990), sais de cálcio (ANGELIDAKI *et al.*, 1990; ROY *et al.*, 1985), com exceção do carbonato de cálcio, devido sua elevada insolubilidade em água (HANAKI *et al.*, 1981), e de magnésio (GALBRAITH *et al.*, 1971) ao glicerol residual pode reduzir o efeito tóxico dos AGCL. Os sais minerais descritos anteriormente induzem a formação de sais insolúveis de AGCL (GALBRAITH *et*

*al.*, 1971; HANAKI *et al.*, 1981), eliminando as formas livres desses ácidos e tornando-os indisponíveis aos microrganismos. Além disso, a remoção de AGCL por centrifugação do glicerol, após acidificação (PYLE & WEN, 2008) pode, também, aumentar a biodegradabilidade anaeróbia do glicerol residual.

### 3.6.3. Inibição por cloretos

Segundo Metcalf & Eddy (2003), os cloretos podem advir de efluentes de origem doméstica, industrial ou agropecuária. Em águas residuárias geradas nas usinas de biodiesel, os cloretos são formados, principalmente, durante a etapa de neutralização ácida com ácido clorídrico (HCl), já que normalmente compostos alcalinos são utilizados como catalisadores reacionais e precisam ser neutralizados para evitar a formação de sabões (sais de ácidos graxos), que afetam negativamente o processo de separação causando uma diminuição da quantidade de biodiesel produzida (CHIU *et al.*, 2006; BOURNAY *et al.*, 2005). Basicamente, o Cl<sup>-</sup> do ácido clorídrico se liga ao cátion do catalisador (geralmente Na<sup>+</sup> ou K<sup>+</sup>) dando características altamente salinas ao glicerol residual (KOLESÁROVÁ *et al.*, 2010).

Vale salientar que outras substâncias (básicas ou ácidas) podem atuar como catalisadores na produção de biodiesel (MA & HANNA, 1999), entretanto, devido seu baixo custo, o NaOH é o catalisador mais utilizado para este fim (CARMONA *et al.*, 2009).

O efeito tóxico dos cloretos aos microrganismos se dá através de plasmólise celular, ou seja, ocorre retração do volume das células por perda de água ou perda da atividade celular devido à elevada pressão osmótica. Como o cloreto é um poluente conservativo, ele não sofre qualquer alteração durante o processo de digestão anaeróbia, e deixa o reator praticamente da mesma forma que entrou (VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999). A inibição de cloretos à microrganismos anaeróbios foi estudada por diversos pesquisadores (RIFFAT & KRONGTHAMCHAT, 2006; SOTO *et al.*, 1991).

Considerando que as concentrações de cloretos necessárias para causar forte inibição da metanogênese podem variar de 5 a 9 gCl<sup>-</sup>/L (RIFFAT & KRONGTHAMCHAT, 2006; VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999; ITO *et al.*, 2005; VALLERO *et al.*, 2003a; FEIJOO *et al.*, 1995), e que o glicerol oriundo de biodiesel pode conter até 34 gCl<sup>-</sup>/L (CARMONA *et al.*, 2009), é muito provável que, assim como os AGCL, os cloretos causem problemas de toxicidade anaeróbia na digestão de glicerol residual.

Para atenuar os problemas de inibição devido à elevada salinidade dos efluentes em reatores anaeróbios, a biomassa pode ser aclimatada às características salinas desse material,

como mostrado em pesquisa realizada por Ma *et al.* (2008) que operaram um reator UASB substituindo, gradualmente, glicerol puro por glicerol de alta salinidade (cerca de 29 vezes mais salino do que o glicerol puro) como co-substrato durante a degradação de efluente de indústria de batata. Além disso, a importância de se aclimatar a biomassa a um ambiente salino já é bem estabelecida por Vallero *et al.* (2003a), Vallero *et al.* (2003b), Aspé *et al.* (1997), Omil *et al.* (1996), Guerrero *et al.* (1996), Omil *et al.* (1995), Soto *et al.* (1991) e Doudoroff (1940).

A adição externa de solutos compatíveis (substâncias não-tóxicas, sintetizadas principalmente por organismos halófilos, que protegem componentes celulares contra elevada pressão osmótica) a um sistema anaeróbio digerindo efluentes salinos pode aumentar a tolerância à elevada pressão osmótica deste ambiente, com a desvantagem de onerar o processo. Os principais solutos compatíveis são:  $\beta$ -glutamina,  $\alpha$ -glutamato, N-acetil- $\beta$ -lisina and glicinabetaina (VYRIDES & STUCKEY, 2009). Vyrides *et al.* (2010), por exemplo, conseguiram aumentar em mais de quatro vezes (em relação ao controle) a produção de CH<sub>4</sub> adicionando 0,1 mM do soluto compatível betaína a reatores anaeróbios em batelada tratando efluente sintético composto por glicose e 35 gNaCl/L.

A diluição do glicerol residual pode ser uma solução para a inibição microbiana pela elevada salinidade (SUEHARA *et al.*, 2005), embora em escala industrial o uso de água bruta para este fim poderia encarecer o processo. Uma alternativa poderia ser a mistura com outras correntes de efluentes, como a proveniente de processos de lavagem ou esgoto sanitário, o que também pode ser uma fonte de macro e micronutrientes (FORESTI *et al.*, 2006; AIYUK *et al.*, 2004).

Testes realizados por Siles *et al.* (2010) mostraram que a diluição do glicerol com “água de lavagem”, o resíduo líquido gerado durante a etapa de purificação do biodiesel, pode ser uma solução viável, do ponto de vista operacional, ambiental e econômico, contanto que a concentração das substâncias tóxicas presentes nessa água, principalmente AGCL e sais não exceda os limites tolerados pelos microrganismos anaeróbios (KOLESÁROVÁ *et al.*, 2010), mostrados nos itens 3.6.2 e 3.6.3 desta dissertação.

Além das estratégias de redução do estresse osmótico descritas anteriormente, há o pré-tratamento físico-químico para precipitação de sais presentes no glicerol residual, antes do tratamento anaeróbio, como demonstrado por Siles *et al.* (2010) e Siles López *et al.* (2009) que, após a etapa de acidificação do glicerol com ácido fosfórico, centrifugaram-no para recuperar o cátion do catalisador (KOH), um dos responsáveis pela formação de sais neste glicerol, na forma de fosfato de potássio que é insolúvel, para utilizar como fertilizante

agrícola, diminuindo consideravelmente a concentração de sais e agregando valor ao afluyente.

#### 3.6.4. Inibição por sulfatos e sulfetos

Da mesma forma que os cloretos são formados durante a etapa de neutralização com ácido clorídrico, como mostrado no item anterior, o uso do ácido sulfúrico proporciona a formação de sulfatos ao reagir com o catalisador químico. Desta forma, estes compostos ficam dissolvidos em grande quantidade no glicerol residual.

Sob condições anaeróbias, o  $\text{SO}_4^-$  sofre redução, por intermédio das bactérias redutoras de sulfato (BRS), formando sulfeto de hidrogênio ou gás sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) (MIDDLETON & LAWRENCE, 1977). O  $\text{H}_2\text{S}$  é um gás corrosivo que pode causar problemas de geração de odores (HULSHOFF POL *et al.*, 1998), pois é liberado com o biogás produzido durante a digestão anaeróbia ou mantendo-se dissolvido em água.

Compostos sulfurosos presentes na água residuária a ser tratada podem inibir a atividade das bactérias anaeróbias por dois mecanismos: i) competição por doadores de elétrons entre *archaeas* metanogênicas e BRS; ii) precipitação de nutrientes essenciais ao desenvolvimento bacteriano na forma de sulfetos insolúveis de metais ( $\text{FeS}_2$ ,  $\text{MnS}$ ,  $\text{CuS}$ ,  $\text{ZnS}$  e outros) (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; MAILLACHERUVU & PARKIN, 1996; KARHADKAR *et al.*, 1987). Quando o objetivo de um tratamento anaeróbio de efluentes é obter metano, a presença de  $\text{H}_2\text{S}$  na composição do biogás reduz a concentração de  $\text{CH}_4$ , diminui o potencial de geração de energia e eleva os custos com remoção de  $\text{H}_2\text{S}$  contido no biogás antes que o mesmo seja utilizado em um gerador de energia (JENSEN & WEBB, 1995). Por outro lado, a presença de sulfetos na água pode atuar benéficamente ao formar precipitados de sulfetos de metais pesados eventualmente dissolvidos no meio, diminuindo a toxicidade desses compostos aos microrganismos presentes no ambiente (MIDDLETON & LAWRENCE, 1977).

O glicerol residual pode conter cerca de  $255 \text{ gSO}_4^-/\text{L}$  (MA *et al.*, 2008), o que provavelmente ocasionará problemas ao utilizá-lo como substrato em um sistema anaeróbio para produção de metano pois, segundo Rinzema & Lettinga (1988), em um ambiente com valores da relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^-$  abaixo de 10 ocorre o predomínio das BRS em detrimento das *archaeas* metanogênicas. Admitindo-se uma concentração média de DQO para o glicerol residual igual a  $1.260 \text{ g/L}$ , essa relação chegaria a 4,9, favorecendo a competição entre esses grupos de microrganismos e elevando a toxicidade por sulfetos. No entanto, a digestão deste tipo de material pode ocorrer com sucesso de acordo com os resultados obtidos por Choi &



Rim (1991), ao realizar testes variando-se a razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>=</sup> tratando diversos resíduos industriais. A partir dos resultados alcançados, os pesquisadores notaram que o valor da razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>=</sup> necessário para causar inibição da digestão anaeróbia é menor do que 2,7.

A energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) para a reação de redução anaeróbia de sulfato é de -48 kJ/mol, enquanto que a  $\Delta G^\circ$  para a reação de metanogênese acetoclástica é de -31 kJ/mol). Isto implica que a metanogênese só ocorrerá após praticamente todo o sulfato ter sido reduzido pelas BRS, consumindo parte do ácido acético disponível. Sendo assim, cada grama de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> é responsável por consumir 0,625g de ácido acético, que seriam suficientes para produzir cerca de 0,233 L de CH<sub>4</sub>, sob CNTP. Este valor seria, então, a redução do volume de metano e de geração de energia a partir do biogás.

De acordo com um levantamento bibliográfico realizado por Chen *et al.* (2008), o teor de sulfeto necessário para causar inibição do consórcio anaeróbio não deve exceder 50–125 mgH<sub>2</sub>S/L em pH 7 a 8 e 250 mgH<sub>2</sub>S/L sob uma faixa de pH entre 6,4 e 7,2. Existem algumas sugestões para atenuar os possíveis problemas causados pelo excesso de sulfetos ao tratar glicerol residual rico em sulfatos, como a diluição, que aumenta consideravelmente os custos com água bruta e com a quantidade final de água residuária a ser tratada; a remoção por técnicas físico-químicas de “stripping” ou precipitação na forma de sais insolúveis de sulfeto; ou a oxidação biológica de S<sup>=</sup> a S<sup>o</sup> (enxofre elementar) (CHEN *et al.*, 2008; HULSHOFF POL *et al.*, 1998). Outra possibilidade é a adaptação do lodo anaeróbio a um meio rico em sulfetos, como comprovado por Isa *et al.* (1986).

### 3.6.5. Escassez de nutrientes

Os microrganismos envolvidos no tratamento anaeróbio de águas residuárias, bem como em outros processos biológicos, necessitam, além de uma fonte de carbono e energia, de nutrientes e elementos traços para crescer e realizar suas atividades metabólicas (SINGH *et al.*, 1999).

A concentração de macro e micronutrientes a ser adicionada ao processo visa atender à concentração destes elementos presentes na célula microbiana (LETTINGA *et al.*, 1999), podendo ajudar na granulação do lodo (RAJESHWARI *et al.*, 2000), mecanismo fundamental para o funcionamento de reatores anaeróbios do tipo UASB (HULSHOFF POL *et al.*, 2004).

A quantidade destes elementos químicos no interior do sistema deve ser cuidadosamente calculada para que não ocorra inibição por falta ou excesso de nutrientes, já que níveis elevados desses elementos podem levar o sistema ao colapso (SINGH *et al.*, 1999).

Para evitar que ocorram problemas relacionados com falta ou excesso de nutrientes durante a digestão anaeróbia de efluentes, Chernicharo (1997) recomenda que a composição química deste tipo de água residuária a ser tratada seja determinada antes mesmo do início do processo através de testes laboratoriais para verificar se a relação entre a concentração de nutrientes requerida corresponde à massa de DQO biodegradável a ser tratada. Esse mesmo autor relata em seu livro que o tratamento combinado de diversos tipos de despejos pode compensar a falta em alguns dos despejos como, por exemplo, o tratamento de um resíduo industrial combinado com esgoto doméstico, já que este possui um elevado teor de nutrientes em sua composição.

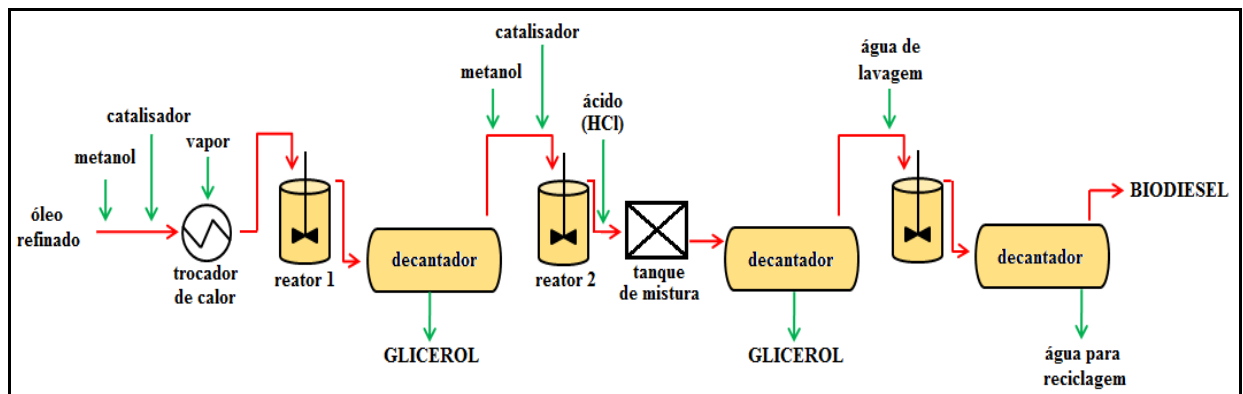
Os principais elementos de importância ao tratamento anaeróbio de efluentes são: nitrogênio, enxofre, fósforo, ferro, cálcio, magnésio, manganês, cobalto, níquel, molibdênio, selênio e vitamina B<sub>12</sub> (CHERNICHARO, 1997). O glicerol residual pode apresentar uma elevada diversidade de nutrientes em sua composição e concentração de cada um deles varia em função da natureza do triglicerídeo e do próprio processo de utilizados na produção de biodiesel (LOBATO *et al.*, 2010; THOMPSON & HE, 2006). No entanto, a concentração destes elementos no glicerol residual pode não ser suficiente para suprir as necessidades da massa de lodo presente em um reator anaeróbio de alta taxa como o UASB, pois os nutrientes são essenciais à síntese celular, que por sua vez, é função direta da massa de matéria orgânica digerida. Logo, quanto maior a carga orgânica aplicada ao sistema, maior a necessidade nutricional.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Origem e produção do glicerol residual

O glicerol utilizado durante a pesquisa foi produzido em uma usina de biodiesel da Petróleo Brasileiro S.A. – Petrobras – na unidade denominada UBQ (Usina de Biodiesel de Quixadá), localizada no município de Quixadá, Ceará.

A matéria-prima utilizada na fabricação de biodiesel era composta por uma mistura de dois óleos vegetais, de algodão e de soja, em uma proporção de 2:3 (v/v). Após o refino do óleo e do duplo processo de transesterificação, o glicerol era separado do biodiesel por gravidade (Figura 4), coletado em recipientes de 4L e transportado para o Laboratório de Gestão da Embrapa Agroindústria Tropical, localizado em Fortaleza-CE, onde ficavam preservados em vidro âmbar a 4°C. O catalisador químico utilizado na reação era o hidróxido de sódio (NaOH). O ácido clorídrico (HCl) foi o reagente empregado na etapa de acidificação da mistura biodiesel-glicerol. Na Figura 5 pode ser visualizado o glicerol residual utilizado na pesquisa.



**Figura 4 -** Desenho esquemático do processo de produção de biodiesel e geração de glicerol. (esquema elaborado segundo informações fornecidas pela Petrobras)



**Figura 5 -** Glicerol residual utilizado nesta pesquisa.

#### 4.2. Teste de atividade metanogênica específica

O teste de atividade metanogênica específica máxima (AME) foi realizado tanto para caracterizar a atividade do inóculo como para monitorar a atividade das *archaeas* durante a operação do reator. O método utilizado para determinar a AME seguiu os procedimentos descritos por Soto *et al.* (1993), empregando-se o deslocamento de líquido seguido de cromatografia gasosa para monitoramento do biogás produzido.

Os ensaios foram realizados a cada mudança de operação com intuito de avaliar a capacidade do lodo anaeróbio em converter matéria orgânica em  $\text{CH}_4$  ao fim de cada etapa operacional. A concentração de substrato dentro dos frascos foi sempre equivalente a 5 gDQO/L.

Utilizou-se frasco de “controle”, sem a adição de substrato, para subtração do volume de biogás produzido por endogenia (Aquino *et al.*, 2007).

A relação desejada, substrato/microrganismo, nos frascos foi igual 8. A melhor relação, ou seja, aquela que alcançou a maior AME, foi obtida através de testes previamente realizados variando-se as concentrações de DQO e biomassa anaeróbia nos frascos.

Os testes foram conduzidos em frascos de 318 mL (volume útil de 200 mL), preenchidos com lodo anaeróbio, substrato orgânico, bicarbonato de sódio (em proporção de 1

gNaHCO<sub>3</sub> para cada gDQO) e água destilada. Foram adicionados macro e micronutrientes em concentrações suficientes para prevenir possível carência durante os testes.

Para avaliar a AME, Aquino *et al.* (2007) sugerem o uso de uma solução mista de AGV's como substrato, por se tratar de compostos prontamente disponíveis para as *archaeas* metanogênicas. No entanto, testes prévios foram realizados com o intuito de determinar qual tipo de substrato (solução de AGV's composta pelos ácidos acético, propiônico e butírico ou glicose) levaria a uma maior AME. Os resultados mostraram que utilizando-se glicose, o valor da AME foi sempre mais elevado que ao se utilizar uma solução de AGV's como substrato nos frascos. A partir daí, decidiu-se adotar a glicose como substrato nos testes de AME realizados nesta pesquisa. Castro *et al.* (2002) também verificaram que a AME foi mais elevada nos frascos contendo glicose como substrato em comparação com o acetato.

Uma possível explicação para uma elevada AME ao utilizar a glicose como substrato, se comparado à uma solução de AGV's é que o inóculo provavelmente continha uma elevada densidade de *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas, em relação às *archaeas* consumidoras de acetato. Aquino *et al.* (2007) explicam que lodo anaeróbio proveniente de sistemas digerindo compostos considerados complexos (proteínas, carboidratos e lipídeos), como é o caso do inóculo utilizado neste experimento (ver item 4.5.2), possui uma taxa elevada de produção de hidrogênio, que faz aumentar a metanogênese por via hidrogenotrófica em relação à metanogênese a partir de acetato. Além disso, sabe-se que a taxa de crescimento das *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas é superior a das acetoclásticas, que pode influenciar no aumento da metanogênese a partir do H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (PAVLOSTATHIS & GIRALDO-GOMEZ, 1991).

O lodo anaeróbio utilizado no teste era oriundo do reator UASB utilizado nessa pesquisa. A quantidade de lodo coletada era aquela suficiente para inocular os frascos e realizar determinação de sólidos voláteis. Para se conseguir uma amostra homogênea, foi retirado lodo (em quantidades iguais) de todas as torneiras localizadas no corpo principal do reator.

Para a adição de nutrientes e micronutrientes, foi feita uma solução concentrada, como descrita na Tabela 5, para que apenas 20 mL fossem adicionados aos frascos. Após a adição do reagente tampão, aferia-se o frasco até o volume desejado e o vedava com septo de borracha.

**Tabela 5 -** Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada nos testes de AME.

Nutriente	Concentração (g/L)	Micronutriente	Concentração (mg/L)
NH <sub>4</sub> Cl	2,800	FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,086
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,500	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,002
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,000	ZnCl <sub>2</sub>	0,002
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,100	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,002
CaCO <sub>3</sub>	1,000	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,021
Solução de micronutrientes	10	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,002
		AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,004
		CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,086

Após o fechamento dos frascos, era realizada a injeção de gás composto por 80% de N<sub>2</sub> e 20% de CO<sub>2</sub>, durante 1 minuto, para a expurga do oxigênio dissolvido no meio líquido e no “head-space” do frasco. Os testes eram conduzidos em mesa incubadora, fabricada pela Tecnal (modelo TE142), a 35±1°C com agitação orbital a 120 rpm. Para o cálculo da atividade específica foram determinadas as concentrações de sólidos totais voláteis (STV) do lodo.

Conforme citado, a medição do volume de metano produzido nos frascos era realizada por deslocamento de líquido seguido de análise cromatográfica do biogás. O método consiste em interligar uma mangueira delgada entre o frasco e uma garrafa de Marriote contendo uma solução salina-ácida (25 gNaCl/L, acidificada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> até pH = 2). Esta solução diminui a solubilidade do metano e do gás carbônico. Para determinar o percentual de CH<sub>4</sub> no biogás, uma amostra da atmosfera do “head-space” foi coletada e injetada no cromatógrafo gasoso. O volume de metano produzido a cada leitura foi calculado a partir da Equação 8.

$$V_{\text{Prod}}^{\text{CH}_4} = V_{\text{HS}}^{\text{Total}} \times \%_{\text{HS}}^{\text{CH}_4} + V_{\text{Lib}}^{\text{Biogas}} \times \%_{\text{Biogas}}^{\text{CH}_4} - V_{\text{HS}}^{\text{Total}} \times \%_{\text{HS}_0}^{\text{CH}_4} \dots\dots\dots (\text{Eq. 8})$$

Onde  $V_{\text{Prod}}^{\text{CH}_4}$  é o volume de metano produzido pelo reator (L);  $V_{\text{HS}}^{\text{Total}}$  é o volume total do “head-space” (L);  $\%_{\text{HS}}^{\text{CH}_4}$  é a concentração de metano do biogás no “head-space” (%);  $V_{\text{Lib}}^{\text{Biogas}}$  é o volume de biogás liberado (L);  $\%_{\text{Biogas}}^{\text{CH}_4}$  é a concentração de metano do biogás (%);  $\%_{\text{HS}_0}^{\text{CH}_4}$  é a concentração de metano do biogás no “head-space”, na medição anterior (%).

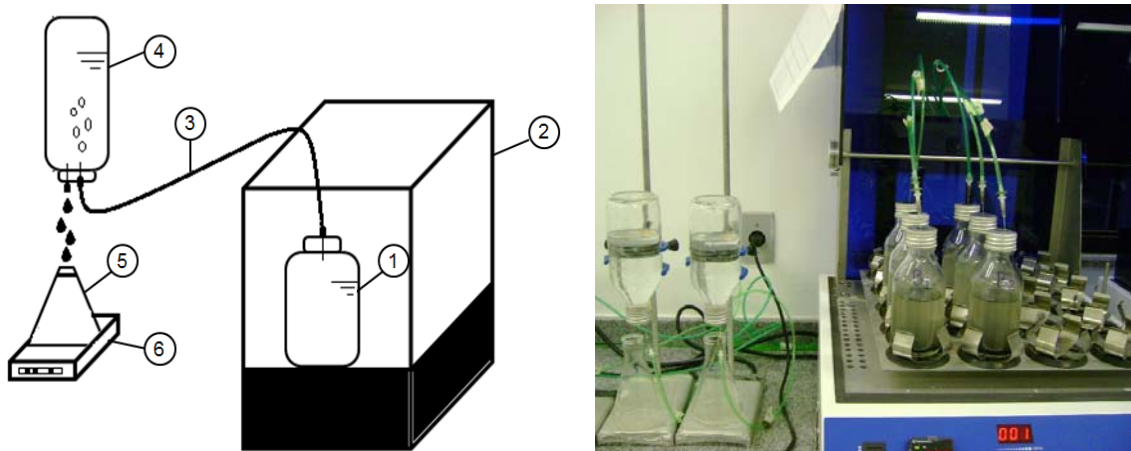
A partir do valor do volume de metano produzido, a AME foi calculada de acordo com a Equação 9. Onde  $V_{CH_4}^{DQO}$  é o volume de metano expresso em kgDQO;  $M_x$  é a massa de lodo no frasco-reator, em kgSV; e  $t$  é o tempo, em dias.

$$AME = \frac{V_{CH_4}^{DQO}}{M_x \times t} \dots\dots\dots (Eq. 9)$$

Para converter volume de metano produzido em massa de DQO, basta dividi-lo por  $0,395 \text{ m}^3$ , que é o volume de metano equivalente a 1 kgDQO removida anaerobiamente. A massa de lodo é quantificada pela determinação da série de sólidos.

Conhecendo-se os valores da concentração de lodo e de substrato nos frascos, além do intervalo de tempo a cada leitura do volume de metano, pode-se obter a AME a partir da máxima inclinação da curva de produção acumulada de metano.

A Figura 6 apresenta o esquema e a fotografia do aparato experimental feito para a medição do volume de metano produzido nos frascos de AME.



**Legenda:**

- |                    |   |
|--------------------|---|
| 1) Frasco-reator   | 4) Garrafa de Mariotte (25 gNaCl/L; pH=2) |
| 2) Mesa incubadora | 5) Recipiente para coleta da sol. salina  |
| 3) Mangueira       | 6) Balança analítica                      |

**Figura 6 -** Esquema e fotografia do aparato experimental dos testes de AME.

Além dos testes de AME, destinados a avaliar a capacidade do lodo, no reator, de converter um substrato de fácil degradação em metano, paralelamente foram realizados testes de atividade utilizando-se glicerol residual. Para isto, todos os procedimentos utilizados nos

testes de AME foram seguidos, com exceção do substrato. Os resultados indicam a capacidade máxima do lodo em degradar o glicerol residual.

#### 4.3. Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

Os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia do glicerol foram realizados sob as mesmas condições que os testes de AME, baseando-se nos mesmos métodos, modificando-se apenas o substrato (glicerol residual, em lugar de glicose) e o tempo de reação (30 dias). A Equação 10 foi usada para calcular a biodegradabilidade.

$$\text{Bio} = \frac{(\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{30} - \text{DQO}_{\text{CH}_4\_ \text{Controle}}^{30})}{\text{DQO}_{\text{Glic}}^0} \times 100 \dots\dots\dots (\text{Eq. 10})$$

Onde: “Bio” é a biodegradabilidade da amostra (%);  $\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{30}$  é o volume total de metano produzido no frasco contendo glicerol, em termos de DQO (g), já que a 35°C,  $0,395 \text{ LCH}_4 = 1 \text{ gDQO}$ ;  $\text{DQO}_{\text{CH}_4\_ \text{Controle}}^{30}$  é o volume total de metano produzido no frasco “controle”, em termos de DQO (g);  $\text{DQO}_{\text{Glic}}^0$  é a massa inicial de glicerol (em gramas de DQO) adicionada a cada reator.

O tempo de digestão foi de 30 dias para todos os frascos, suficiente para que, praticamente, toda matéria orgânica contida no glicerol residual fosse consumida.

A  $\text{CH}_4^{\text{Glic}}_{\text{DQO}}$  foi calculada baseada na lei de Henry. A massa de glicerol foi calculada pela multiplicação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO pelo volume de glicerol aplicado em cada reator.

Além do teste de biodegradabilidade do glicerol de soja/algodão, o mesmo utilizado como substrato para o reator UASB, foram realizados testes com outros tipos de glicerol residual visando comparar os resultados com o de outras matrizes vegetais, como soja, canola, mamona e glicerina P.A. Em paralelo, foram realizados testes biodegradabilidade de glicose, com o intuito de comparar os resultados com a digestão de um substrato ideal.

O potencial de produção de metano (PPM) foi calculado baseando-se na produção acumulada de metano após 30 dias e na massa de substrato utilizada nos testes. A unidade utilizada para representar o PPM foi  $\text{m}^3\text{CH}_4/\text{kg}$  glicerol adicionado, e foi calculado de acordo com a Equação 11.



$$PPM = \frac{V_{CH_4}^{30} - V_{controle}^{30}}{m_{glicerol}^0} \dots\dots\dots (Eq. 11)$$

Onde:  $V_{CH_4}^{30}$  representa o volume de metano produzido no frasco contendo glicerol residual ao final de 30 dias;  $V_{controle}^{30}$  é o volume de metano produzido pelo frasco “controle” ao final de 30 dias;  $m_{glicerol}^0$  é a massa inicial de glicerol residual no frasco.

Para determinar o valor da Produção Específica de Metano (PEM), foram utilizados os dados obtidos durante o último período de operação do reator UASB, ou seja, quando foi aplicada uma COV de 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d e a diluição do glicerol residual no afluente foi igual a 1:5. A Equação 12 foi utilizada para calcular a PEM.

$$PEM = \frac{\overline{V_{CH_4}}}{\overline{m_{glicerol}^{Afl}}} \dots\dots\dots (Eq. 12)$$

Onde:  $\overline{V_{CH_4}}$  é o volume médio de metano produzido; e  $\overline{m_{glicerol}^{Afl}}$  é a média da massa de glicerol no afluente do reator UASB.

#### 4.4. Teste de toxicidade anaeróbia

O teste de toxicidade anaeróbia teve como objetivo avaliar se o glicerol residual era tóxico ou não para o consórcio metanogênico do reator UASB com base na produção de metano, ou seja, o glicerol residual é considerado tóxico ou inibidor caso ocorra diminuição da atividade metanogênica. O procedimento experimental foi baseado nos testes de AME (ver item 4.2), porém variando-se as concentrações de glicose e de glicerol residual nos frascos.

Os experimentos foram realizados utilizando a técnica estatística do planejamento fatorial 2<sup>k</sup>, onde *k* são os fatores analisados em 2 níveis, (-) e (+). Esta técnica é bastante utilizada para avaliar os efeitos de duas ou mais variáveis na resposta de um processo (BOX & WILSON, 1951).

Para o teste de toxicidade anaeróbia à glicerol residual, *k* foi igual 2, já que duas variáveis foram analisadas, são elas a concentração de glicose e a concentração de glicerol.

Além disso, pontos centrais (PC) em triplicata (nível zero) foram adicionados a fim de avaliar o erro experimental. A partir de um modelo de delineamento composto central rotacional foi possível avaliar o efeito quadrático das variáveis analisadas na AME e submeter os resultados deste último parâmetro a uma superfície de resposta para avaliar a toxicidade do glicerol residual. A Tabela 6 representa os parâmetros estatísticos utilizados.

**Tabela 6 -** Parâmetros estatísticos utilizados no teste de toxicidade anaeróbia.

Parâmetro	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Concentração de glicose (gDQO/L)	0,00	1,46	5,00	8,54	10,0
Concentração de glicerol (gDQO/L)	0,00	1,46	5,00	8,54	10,0

Nota:  $\alpha = 1,414$

Para avaliar se havia toxicidade permanente, realizaram-se testes de atividade metanogênica aplicando-se duas alimentações. Usando os mesmos procedimentos dos testes de AME relacionados com inóculo e nutrientes, foram utilizados seis frascos de atividade metanogênica, sendo dois alimentados com glicose e dois alimentados com glicerol (experimentos em duplicata). Outros dois frascos continham apenas lodo anaeróbio e nutrientes, servindo de controle. Na primeira alimentação, utilizou-se quantidade de glicose ou glicerol necessária para produzir 5 gDQO/L nos frascos. Após 75% da matéria orgânica ter sido convertida em metano, uma nova alimentação foi realizada. Desta vez, apenas glicose foi utilizada como substrato nos frascos, exceto para o frasco controle, mas também utilizando quantidade necessária para produzir 5 gDQO/L.

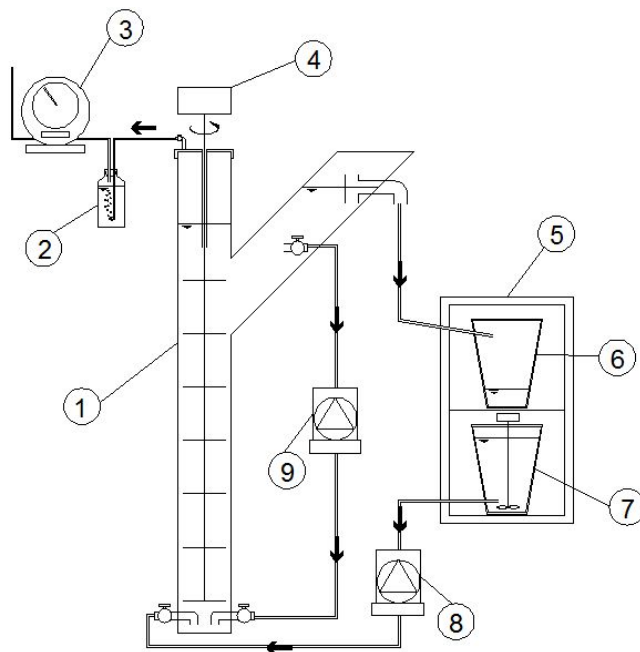
Caso o valor das AME's nos frascos que continham glicerol residual na primeira alimentação permanecesse inferior à AME dos frascos que anteriormente haviam sido alimentados com glicose, poder-se-ia concluir que havia toxicidade permanente, caso contrário, ocorria apenas uma limitação na atividade metanogênica inicial.

#### 4.5. Reator UASB

##### 4.5.1. Parâmetros de dimensionamento e equipamento

Nesta pesquisa utilizou-se um reator UASB em escala de laboratório, confeccionado em tubos e conexões em PVC para esgoto ( $\phi = 100$  mm), com altura total de 1,82 m e volume útil de 14,85 L. O UASB foi dimensionado para operar a uma carga orgânica volumétrica

(COV) teórica de, no máximo, 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.dia e velocidade ascendente de 0,59 m/h, segundo procedimentos apresentados por van Haandel & Lettinga (1994) e Chernicharo (1997). O valor da concentração média de DQO do afluente foi fixada como sendo 1.260 kg/m<sup>3</sup>, de acordo com o valor da concentração de DQO do glicerol residual utilizado como substrato ao reator UASB nessa pesquisa. O separador de fases do reator foi configurado em forma de “Y”, uma modificação apresentada por Cavalcanti (2003). Ao longo do corpo do reator foram instaladas 8 torneiras (uma a cada 15 cm) para retirada de amostras do lodo. Além destas, havia mais duas torneiras na parte inferior do UASB, uma para entrada do afluente e a outra para a recirculação do efluente que era bombeado do líquido contido na parte superior do reator, mais precisamente na extensão do “Y”, localizado a 25 cm da bifurcação do tubo principal, conforme ilustrado na Figura 7.



**Legenda:**

- |                                   |                               |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| 1) Reator UASB                    | 6) Reservatório para efluente |
| 2) Selo hidráulico                | 7) Reservatório para afluente |
| 3) Gasômetro                      | 8) Bomba para afluente        |
| 4) Agitador rotativo lento (1rpm) | 9) Bomba para recirculação    |
| 5) Refrigerador 4°C               |                               |

**Figura 7 -** Esquema e fotografia do reator UASB em escala de laboratório.

Um homogeneizador rotativo lento (1 rpm) contendo oito hastes flexíveis ao longo do eixo central foi instalado para diminuir a possibilidade de formação de “curtos-circuitos”,

“pistões” de lodo, “caminhos preferenciais” ou “zonas mortas” no fluxo ascendente do reator, conforme descrito em Leitão *et al.* (2009).

O afluente era mantido em um recipiente de volume compatível com o volume necessário para dois dias de alimentação, sob refrigeração a aproximadamente 4°C para evitar que houvesse fermentação da matéria orgânica. A vazão afluente era controlada por uma bomba peristáltica da marca Gilson, modelo Minipuls 3, enquanto que uma bomba dosadora, fabricada pela LMI Milton Roy, modelo P133-398TI, era responsável por promover a recirculação do efluente e manter a velocidade ascendente desejada.

Um gasômetro Ritter, modelo TG05/05 foi utilizado para medir o volume de biogás produzido. Antes que o biogás chegasse ao gasômetro, o mesmo passava por um selo hídrico contendo água destilada com a finalidade de controlar a pressão de gás no “head-space” do reator, visualizar a produção de gás pelo borbulhamento do biogás na água contida no recipiente, e servir como ponto de coleta de biogás para determinação das concentrações de CH<sub>4</sub> e de CO<sub>2</sub>.

#### 4.5.2. Inóculo

Inicialmente, todo o volume do reator foi preenchido com uma mistura de lodos de três sistemas de tratamento de efluentes (em proporções iguais). Desta forma, o reator recebeu uma biota mais diversificada para que, durante a operação do sistema, ocorresse seleção natural e, assim, houvesse estímulo para o predomínio daqueles organismos adaptados às condições aplicadas.

As três alíquotas de lodo foram retiradas de uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) da indústria cervejeira FEMSA; de uma ETE da Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), que trata esgoto doméstico; e de um reator UASB em escala de laboratório alimentado com efluente sintético composto por sacarose e nutrientes (Tabela 7), conforme descrito em Leitão *et al.* (2009). O volume de cada lodo utilizado para compor o volume total de inóculo no reator UASB foi igual a 4,95 L.

A caracterização de cada amostra de lodo utilizada para compor a mistura foi realizada através da determinação dos sólidos totais e voláteis (ST e SV) e da Atividade Metanogênica Específica (AME). Os mesmos dados foram também determinados para a mistura que serviu de inóculo do reator UASB.

**Tabela 7 -** Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada até o 260º dia de operação (Solução de nutrientes 1).

<b>Nutriente</b>	<b>Concentração (g/L)</b>	<b>Micronutriente</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
NH <sub>4</sub> Cl	0,28	FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	2000
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,25	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	50
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,10	ZnCl <sub>2</sub>	50
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,01	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	38
Extrato de levedura	0,10	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	500
Solução de micronutrientes	1mL/L	(NH <sub>4</sub> ) 6Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	50
		AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	90
		CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2000

#### 4.5.3. Partida e operação do reator UASB

Para a partida, o reator UASB foi completamente preenchido com o inóculo descrito no item 4.5.2, para que, após o início da operação, mantendo-se vazão constante e determinada concentração de matéria orgânica afluenta, todo o lodo em excesso fosse expurgado do sistema nos primeiros dias de experimento. Assim, o volume de lodo que permaneceu no sistema após alguns dias de operação, foi considerado o máximo de biomassa que o reator conseguiu reter, sob aquelas condições operacionais.

Inicialmente, o reator foi alimentado com afluenta sintético composto por sacarose, macro e micronutrientes (solução 1, conforme Tabela 7), em função do volume do reator, e bicarbonato de sódio (numa relação 1 gNaHCO<sub>3</sub>/gDQOaplicada) de acordo com procedimentos realizados por Leitão *et al.* (2009), visto que estes autores conseguiram operar um reator UASB com COV de 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d e elevada DQO afluenta (60.000 mg/L). A COV foi mantida em 2 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, com TDH teórico de aproximadamente 26,9 horas. Após o 260º dia de operação, a solução de nutrientes 1 foi substituída pela solução 2, de acordo com as concentrações descritas na Tabela 8. Diferentemente da solução de nutrientes 1, as concentrações dos nutrientes da solução 2 foram adotadas de acordo com a massa de DQO afluenta, tendo como base os dados descritos no levantamento bibliográfico realizado por Singh *et al.* (1999). No decorrer da operação, buscou-se diminuir a relação gNaHCO<sub>3</sub>/gDQOaplicada, de acordo com a capacidade do sistema em neutralizar os ácidos produzidos e evitar redução drástica de pH.

**Tabela 8 -** Solução estoque de nutrientes e micronutrientes utilizada após o 260º dia de operação (Solução de nutrientes 2)

<b>Nutriente</b>	<b>Concentração (g/L)</b>	<b>Micronutriente</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
NH <sub>4</sub> Cl	36,92	FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	4,05
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	24,72	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,16
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	11,02	ZnCl <sub>2</sub>	0,06
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	33,15	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,05
Extrato de levedura	1,84	NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,12
Solução de micronutrientes	100 mL/L	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,02
		(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	2,10
		AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	4,44
		CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2,00
		Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,19
		EDTA	0,57

Obedecendo aos parâmetros de projeto, o reator foi operado de tal forma que atingisse a COV máxima (10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d), substituindo gradativamente a solução de sacarose até 100% de glicerol no afluente, com a menor diluição possível. O programa de operação do reator UASB está apresentado na Tabela 9. De acordo com esta tabela, a etapa I teve como meta diminuir gradualmente a quantidade da solução de sacarose no afluente até que houvesse apenas glicerol residual como substrato e COV igual a 6 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. A etapa II consistiu em elevar a COV até 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. A etapa III teve como objetivo operar com glicerol residual até que não houvesse nenhuma diluição do afluente, mantendo a COV igual a 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. O elevado valor do TDH teórico na etapa III deve-se à vazão afluente aplicada na fase final do experimento, que tem que ser bastante reduzida para manter a COV de projeto sob elevada concentração de DQO no afluente.

**Tabela 9 -** Programa de operação do reator UASB em escala de laboratório.

Etapa	Duração (dias)	Tempo acumulado (dias)	Vazão afluyente				DQO <sub>afluyente</sub> (g/L)			COV (KgDQO/m <sup>3</sup> .d)	TDH (h)	Tampão (gNaHCO <sub>3</sub> /L)
			Sol. Sacarose (L/dia)	Glicerol (g/dia)	Água (L/dia)	Total (L/d)	Solução de sacarose	Glicerol	Total			
I	116	116	15,0 - 0,0	0 - 57	0,00 - 14,95	15,00	2,1 - 0,0	0,0 - 4,9	2,1 4,9	2,0 - 6,0	27	2,1 - 6,7
II	99	215	0,0	57 - 114	14,95 - 14,90	15,00	-	4,9 - 9,9	4,9 - 9,9	6,0 - 10,0	27	2,2
III	183	398	0,0	114	14,90 - 0,00	15,00 - 0,09	-	9,9 - 1260,0	9,9 - 1260,0	10,0	27- 3960	4,5

#### 4.5.4. Monitoramento do reator UASB

O programa de monitoramento do reator está apresentado na Tabela 10. Três vezes por semana, o efluente do reator era coletado durante 24 horas em um recipiente localizado dentro de um refrigerador, a 4°C. O volume de efluente coletado pelo recipiente era dividido pelo tempo de coleta, para monitoramento da vazão diária.

**Tabela 10** - Programa de monitoramento do reator

<b>Parâmetros</b>	<b>Método</b>	<b>Frequência</b>
Vazão afluyente	Relação volume/tempo	diária
Volume de biogás	Gasometria	diária
Composição de biogás	Cromatográfico	2 x semana
DQO afluyente e efluente	Espectrofotométrico	3 x semana
pH	Potenciométrico	3 x semana
AGV totais	Titulométrico	3 x semana
Alcalinidade total e à bicarbonato	Titulométrico	3 x semana
Cloretos	Titulometria	3 a 4 x por etapa
Série de sólidos	Gravimétrico	eventual
Atividade metanogênica	Incubação	a cada mudança operacional

As determinações de DQO do efluente eram feitas a partir de amostras coletadas durante estas 24 horas, visando obter uma amostra composta e representativa. Para obter a DQO relativa à produção de lodo para determinação do tempo de retenção celular (TRC), foram realizadas amostras do sobrenadante do efluente total. Para tanto, considerou-se que a diferença entre a DQO total do efluente e a DQO do sobrenadante é a DQO relativa à massa de lodo que foi expulsa do sistema (LEITÃO *et al.*, 2009). Para análise de DQO do sobrenadante, o efluente total era deixado em repouso no cone de Imhoff por uma hora para que fosse coletada uma amostra da parte superior da coluna d'água, a aproximadamente 4 cm de profundidade. A determinação de DQO do afluyente



era realizada a cada alimentação do reator, após agitação visando obter uma amostra homogênea.

Para analisar a constituição do biogás, uma amostra era coletada no “*head space*” do selo hídrico através de uma seringa de cromatografia e imediatamente injetada no cromatógrafo gasoso. Os gases determinados nesta análise eram CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>.

As amostras para determinação de pH, alcalinidade e AGV’s eram coletadas imediatamente antes do procedimento para que o valor destas variáveis não se modificassem até a leitura.

As coletas eram realizadas do afluente e de uma amostra composta do efluente tratado, cada vez que o TDH teórico era atingido.

Para determinação da concentração e massa do lodo no UASB, amostras eram coletadas de cima para baixo pelas torneiras localizadas no corpo principal do reator UASB, em quantidades iguais, para formação de uma amostra composta. A massa de lodo (M<sub>x</sub>) era calculada pela soma dos produtos da concentração de sólidos totais do lodo (ST<sub>i</sub>) pelo volume de influência de cada torneira (V<sub>i</sub>) (Equação 13).

$$M_x = \sum_{i=1}^{i=8} (ST_i \times V_i) \dots\dots\dots (Eq. 13)$$

#### 4.5.5. Determinações físicas, químicas e biológicas

O glicerol residual utilizado neste trabalho foi caracterizado no Laboratório de Controle de Qualidade da UBG da Petrobras, e no Laboratório de Valorização de Resíduos e Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. A determinação dos elementos químicos e dos AGCL contidos no glicerol residual foi feita nos Laboratórios de Água e Solos e de Análise Instrumental, respectivamente, ambos localizados nas dependências da Embrapa Agroindústria Tropical. A determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) do glicerol residual foi realizada no Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água (EQUAL), no Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará. As variáveis analisadas, o número de determinações e os métodos empregados para a caracterização do glicerol residual estão descritas na

Tabela 11, da mesma forma que os elementos químicos determinados durante essa caracterização estão mostrados na Tabela 12.

**Tabela 11** - Variável, número de determinações e métodos analíticos utilizados para a caracterização do glicerol residual.

Variável	Método	Número de determinações
DQO <sup>a</sup>	Espectrofotométrico	3
DBO <sup>b</sup>	Incubação	1
Alcalinidade total e à bicarbonato <sup>a</sup>	Titulométrico	1
pH <sup>c</sup>	Potenciométrico	2
Cinzas <sup>c</sup>	Gravimétrico	2
Cloretos <sup>c</sup>	Titulométrico	2
Teor de glicerol <sup>c</sup>	Cromatográfico	2
Umidade <sup>c</sup>	Titulação Karl Fischer	2
Metanol	Cromatográfico	1
Teor de MONG <sup>c</sup>	Cálculo	2
AGCL <sup>d</sup>	Cromatográfico	3
Densidade Absoluta a 20°C <sup>c</sup>	Vibracional	2

Nota: (a) Laboratório de Valorização de Resíduos e Biomassa; (b) Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água; (c) Laboratório de Controle de Qualidade da UBQ-Petrobras; (d) Laboratório de Análise instrumental; MONG = matéria orgânica não-glicerídea = 100% - (umidade% + glicerol% + cinzas%).

**Tabela 12** - Elementos químicos determinados para caracterizar o glicerol residual.

Elemento	Método	Número de determinações
Ca	Espectroscopia de absorção atômica	3
K	Fotometria de Chama	3
Mg	Espectroscopia de absorção atômica	3
P	Espectrofotometria	3
S	Espectrofotometria	3
Na	Fotometria de Chama	3
N	Destilação	3

O teor de glicerol foi determinado segundo método D6584, descrito em ASTM (2000). Um cromatógrafo da PerkinElmer 500 GC com amostrador automático foi utilizado nesta análise. Um Detector de Ionização de Chama (FID) em temperatura igual a 380°C foi utilizado nesta análise. O gás de arraste utilizado foi o gás hélio e o gás combustível foi composto por uma mistura de ar sintético e hidrogênio. A coluna empregada foi uma Elite-5HT de dimensões 15(m)x0,32(mm)x0,10(μm). A temperatura do forno aumentava gradualmente de 50°C a 380°C durante a determinação. O tempo de corrida para cada análise foi de 31 minutos.

A determinação de umidade do glicerol residual foi feita em um titulador volumétrico Karl Fischer modelo KF-1000, fabricado pela Analyser.

A concentração de DQO foi determinada em função da massa de glicerol residual, considerando que a densidade do glicerol residual era de 1,26 kg/L.

O teor de cinzas foi analisado utilizando-se 50 mL da amostra de glicerol residual em cápsula de porcelana.

A análise do perfil de AGCL foi feita por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (FID). O equipamento utilizado foi um Varian CP-3800, equipado com coluna capilar SP2560 de fase estacionária biscianopropil polidimetilsiloxano (100m×0,25mm×0,20μm; Supelco Bellefonte, PA); Durante a injeção da amostra foi utilizado um divisor de fluxo (split 1:25), hidrogênio como gás carreador com fluxo constante de 1,5 mL/min, temperatura do injetor e do detector iguais a 220°C. O forno cromatográfico teve temperatura com aumento gradual entre 80°C e 200°C.

A composição do biogás foi determinada em um cromatógrafo a gás fabricado pela Varian, modelo 450CG, equipado com um detector de condutividade térmica (TCD). Para essa determinação foram utilizadas duas colunas preenchidas com sílica (fase estacionária) e dimensões 10(m)x0,53(mm)x0,70(mm), , sendo uma para determinar CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub> (modelo Varian CP7620) e outra para CO<sub>2</sub> (modelo Varian CP7429). As temperaturas do forno, do injetor e do detector eram 45, 100 e 120°C, respectivamente. Hidrogênio foi usado como gás de arraste e os gases combustíveis eram o nitrogênio e o ar sintético. O tempo total de cada corrida foi de 5 minutos.

As determinações de DQO e de pH foram realizadas seguindo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2005). de acordo com os métodos 5220D (colorimétrico) e 4500-H<sup>+</sup>B, respectivamente. Para obter a amostra do sobrenadante do efluente e determinar sua

DQO, utilizou-se o método 2540F descrito em APHA (2005). O digestor de DQO utilizado foi da marca Marconi e modelo MA-4004/E - Dry Block, e os resultados foram obtidos através da leitura em um espectrofotômetro da Femto, modelo 700S. O pHmetro utilizado foi fabricado pela Tecnoyon (mPA-210). A DBO do glicerol residual foi determinada pelo método 5210B, descrito em APHA (2005).

A concentração de AGV's totais, alcalinidade total e a bicarbonato foram determinadas por titulometria seguindo método apresentado por Buchauer (1998).

A concentração de cloretos foi determinada de acordo com os procedimentos descritos no método 4500B em APHA (2005).

Sólidos totais, sólidos totais fixos e voláteis, foram determinados de acordo com APHA (2005), métodos 2540B e 2540E. As alíquotas eram de 50 mL para cada duplicata. A determinação de cinzas do glicerol foi feita pelo método 2540, APHA (2005). A estufa e a mufla usadas eram das marcas J.Prolab e Quimis, modelos JP 101 e Q318M, respectivamente. Uma balança analítica modelo MARK 210A, da marca Tecnal foram utilizadas para pesar as amostras.

As análises utilizadas nas determinações dos elementos químicos no glicerol residual foram adaptadas a partir da metodologia descrita em Silva (1999). Os equipamentos utilizados foram um fotômetro de chama, marca Digimed, modelo DM-62; um espectro de absorção atômica Perkin Elmer, modelo AAnalyst 300; um espectrofotômetro Femto, modelo 600 Plus; e um destilador de nitrogênio da Tecnal, modelo TE-036/1.

#### 4.5.6. Parâmetros operacionais, hidráulicos e balanço de massa

A carga orgânica volumétrica (COV) é um parâmetro operacional utilizado para determinar a quantidade de matéria orgânica aplicada ao volume útil de um reator biológico durante um intervalo de tempo. Para calcular a COV real (aquela que considera os valores de vazão e concentração afluente medidas pontualmente, pelas análises de rotina) e a planejada (aquela calculada a partir de valores teóricos) foi utilizada a Equação 14. Para o cálculo da COV teórica, considerou-se que a concentração de DQO do glicerol residual era 1.000 g/kg ou 1.260 g/L. onde  $Q$  é a vazão afluente, em  $m^3/d$ ;  $DQO_{\text{afl}}$  é a DQO do afluente, em  $kg/m^3$ ; e  $V_{\text{reator}}$  é o volume útil do reator, em  $m^3$ .

$$\text{COV} = \frac{Q \times \text{DQO}_{\text{Afl}}}{V_{\text{reator}}} \dots\dots\dots (\text{Eq. 14})$$

Para determinar o TDH e o TRC, foram utilizadas as fórmulas apresentadas nas Equações 15 e 16, respectivamente, onde  $\overline{\text{SV}}_x$  é a concentração média do lodo dentro do reator (obtida através de uma composição de amostras de lodo retirado de oito torneiras localizadas ao longo do corpo do reator), em termos de sólidos voláteis (SV); e  $\text{SV}_{\text{Efl}}$  é a concentração de sólidos voláteis do lodo no efluente tratado, ambos em  $\text{kgSV/m}^3$ . Os valores de  $\overline{\text{SV}}_x$  foram determinados por análise de série de sólidos e a  $\text{SV}_{\text{Efl}}$  foi calculada a cada determinação de DQO do efluente, de acordo com a Equação 17, onde  $\text{DQO}_{\text{Efl}}^{\text{Total}}$  é a DQO do efluente total, em  $\text{kg/m}^3$ ; e  $\text{DQO}_{\text{Efl}}^{\text{sobr}}$  é a DQO do sobrenadante do efluente, em  $\text{kg/m}^3$ ; 1,5 é o valor da razão DQO/SV, adotado a partir de van Haandel & Lettinga (1994) e Marais & Ekama (1976).

$$\text{TDH} = \frac{V_{\text{reator}}}{Q_{\text{Afl}}} \dots\dots\dots (\text{Eq. 15})$$

$$\text{TRC} = \frac{V_{\text{reator}} \times \overline{\text{SV}}_x}{Q \times \text{SV}_{\text{Efl}}} \dots\dots\dots (\text{Eq. 16})$$

$$\text{SV}_{\text{Efl}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Efl}}^{\text{Total}} - \text{DQO}_{\text{Efl}}^{\text{sobr}}}{1,5} \dots\dots\dots (\text{Eq. 17})$$

A equação 18, extraída de van Haandel & Lettinga (1994), foi utilizada para realizar o balanço de massa e, a partir dele, calcular a produção teórica de biogás produzido pelo reator UASB, onde  $Q_{\text{Efl}}$  é a vazão efluente, em  $\text{m}^3/\text{d}$ ;  $Y_{x/s}$  é a taxa de produção celular, em  $\text{kgSV/kgDQO}$ ;  $Q_{\text{biogás}}$  é a vazão de biogás, em  $\text{m}^3/\text{d}$ ;  $\% \text{CH}_4$  é a média de 7 dias do percentual de metano no biogás;  $V_{\text{CH}_4\text{-CNTP}}^{\text{DQO}}$  é o volume de metano equivalente a cada grama de DQO digerida anaerobiamente em CNTP ( $0,350 \text{ m}^3 \text{CH}_4/\text{kgDQO}$ );  $T$  é a temperatura, em  $^\circ\text{C}$ ; e  $\text{atm}$  é a pressão, em  $\text{atm}$ .

$$Q_{Afl} \times DQO_{Afl} = (Q_{Efl} \times DQO_{Efl}) + (Y \times Q_{Afl} \times DQO_{Afl}) + \left[ \frac{Q_{biogas} \times \%CH_4}{V_{CH_4-CNTP}^{DQO} \times (273 + T) / (273 \times \text{Atm})} \right] \dots (\text{Eq. 18})$$

A taxa de crescimento celular, foi adotada como sendo igual 0,11 kgSV/kgDQO devido à produção de lodo para cada quilo de DQO aplicada ao sistema, valor típico para crescimento anaeróbio (METCALF & EDDY, 2003).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização do glicerol residual

Os resultados relativos à caracterização físico-química das amostras de glicerol residual utilizados nessa pesquisa e com outros trabalhos encontram-se descritos nas Tabelas 13 e 14. O glicerol residual utilizado durante toda a operação do reator UASB em escala de laboratório foi aquele obtido a partir da transesterificação da mistura dos óleos de algodão e soja, com DQO igual a 1.000 g/kg, ou 1.260 g/L e DBO igual a 851 gO<sub>2</sub>/L. A relação DBO/DQO deste glicerol residual é 0,68, que indica condições favoráveis à digestão anaeróbia pelo elevado teor de matéria biodegradável (HUTŇAN *et al.* 2009).

A elevada biodegradabilidade do glicerol residual utilizado nessa pesquisa pode ser devida à baixa concentração de compostos recalcitrantes, se comparada a outras pesquisas que tiveram problemas durante a digestão desse material, como nos experimentos de Hutňan *et al.*, (2009) e Contrim (2009), que não conseguiram operar um reator com COV além de 6,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d e 2,4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, respectivamente.

Foram detectados traços dos ácidos palmítico, esteárico e o oléico no glicerol residual utilizado como alimento para o reator UASB em escala de laboratório, em concentrações bem inferiores às CI<sub>50</sub> por AGCL descritas na Tabela 4, item 3.6.2 desta dissertação, o que pode ter contribuído para que não ocorresse problemas durante a digestão do glicerol residual.

**Tabela 13** - Concentração dos principais compostos encontrados no glicerol residual utilizado nesta e em outras pesquisas.

Composição								Matriz Vegetal	Referência.
pH	Cinzas <sup>a</sup>	Cloretos <sup>b</sup>	Teor Glicerol <sup>a</sup>	Umidade <sup>a</sup>	Metanol <sup>a</sup>	Teor de MONG <sup>a</sup>	Densidade Absoluta <sup>c</sup>		
5,5	6,2	46,1	82,4	10,0	0,048	1,4	1,26	Algodão / Soja	
6,0	6,4	48,3	80,0	13,4	0,077	0,1	1,24	Soja	
5,0	8,2	ALD	78,0	2,9	0,001	10,1	1,26	Mamona	Este trabalho
5,0	4,3	ALD	84,0	4,5	0,072	7,2	1,24	Canola	
5,5	0,3	ALD	95,1	4,5	ALD	0,1	1,25	Glicerina P.A	
10,1	7,2	46,1 <sup>d</sup>	DNF	4,3	RP	DNF	1,05	-	Lobato <i>et al.</i> , (2010)
12,8	64,3 <sup>e</sup>	-	20,2	3,0	DNF	12,4	DNF	Palma	Yong <i>et al.</i> , (2001)
>10	2,0	ALD	70,0	4,0	DNF	DNF	DNF	Palma	Hazimah <i>et al.</i> , (2003)

Notas: <sup>a</sup> % (m/m); <sup>b</sup> g/L; <sup>c</sup> kg/L, a 20°C; <sup>d</sup> valor fornecido em (μS/cm); <sup>e</sup> cloretos incluídos como cinzas; ALD = abaixo do limite de detecção; RP = removido previamente; DNF = dados não fornecidos pelos autores.



**Tabela 14** - Concentração dos principais elementos químicos que compõem o glicerol residual utilizado nesta e em outras pesquisas.

Composição							Matriz Vegetal	Ref.
Ca <sup>a</sup>	K <sup>a</sup>	Mg <sup>a</sup>	P <sup>a</sup>	S <sup>a</sup>	Na <sup>b</sup>	N <sup>b</sup>		
7,29	0,3	3,29	0,01	ALD	2,59	0,14	Algodão / Soja	Este trabalho
16,0	12,0	12,0	45,10	-	1,08	<0,05	DNF	Lobato <i>et al.</i> (2010)
7,0	7,5	4,0	0,04	-	0,79 <sup>1</sup>	0,13 <sup>c</sup>	DNF	Oswald (2009)
ALD	31250,0	-	ALD	-	0,02 <sup>c</sup>	-	Soja	
140,0	27300,0	-	480,00	-	0,02 <sup>c</sup>	-	Sebo de frango	Pyle (2008)
ALD	ALD	-	ALD	-	1,00 <sup>c</sup>	-	canola	
11,7	ALD	3,9	25,30	21,0	1,20	0,04	Mostarda “Idagold”	
23,0	ALD	6,6	48,00	16,0	1,20	0,04	Mostarda “PacGold”	
24,0	ALD	4,0	65,00	21,0	1,10	0,05	Colza	Thompson & He (2006)
19,7	ALD	5,4	58,70	14,0	1,10	0,05	Canola	
11,0	ALD	6,8	53,00	ALD	1,20	0,04	Soja	
163,0	216,7	126,7	136,70	128,0	1,10	0,06	Crambe	

Notas: <sup>a</sup> mg/L; <sup>b</sup> %p/p = percentual peso-peso; <sup>c</sup> valores obtidos considerando a densidade do glicerol residual igual a 1,26kg/L.

## 5.2. Toxicidade anaeróbia

A Tabela 15 mostra os resultados da atividade metanogênica específica (AME) obtida de acordo com as concentrações de glicose e glicerol aplicadas aos frascos, seguindo o procedimento experimental descrito na Tabela 6 localizada no Capítulo Material e Métodos desta dissertação.

**Tabela 15** - Resultados da AME, em kgDQO/kgSV.d, de acordo com as concentrações de glicose e glicerol, em gDQO/L, aplicadas aos frascos.

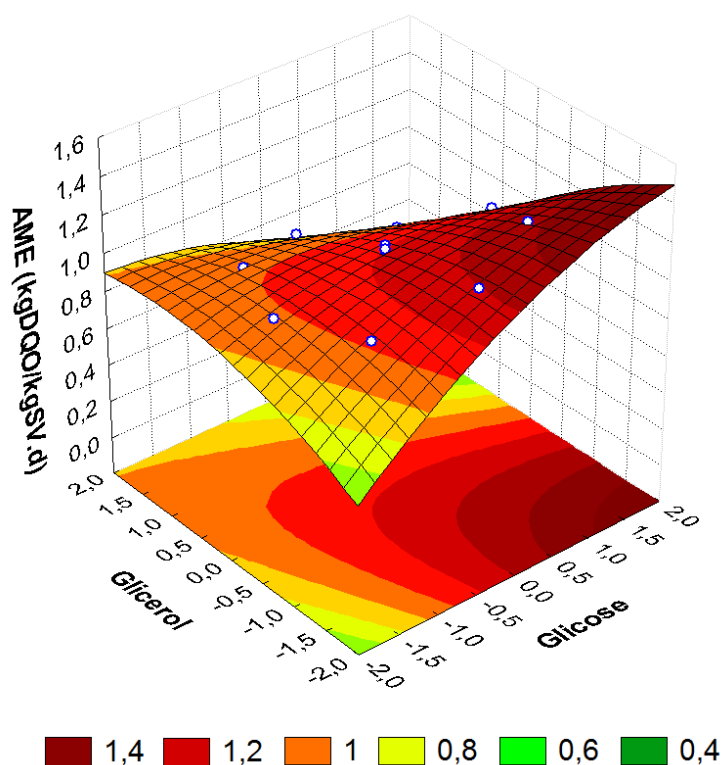
Teste	Conc. Glicose	Conc. Glicerol	Conc. Glicose	Conc. Glicerol	Conc. Total Substrato	AME
1	-1	-1	1,46	1,46	2,92	1,02
2	+1	-1	8,54	1,46	10,00	1,27
3	-1	+1	1,46	8,54	10,00	0,96
4	+1	+1	8,54	8,54	17,08	0,82
5	0	0	5,00	5,00	10,00	1,09
6	0	0	5,00	5,00	10,00	1,11
7	0	0	5,00	5,00	10,00	1,09
8	- $\alpha$	0	0,00	5,00	5,00	0,99
9	+ $\alpha$	0	10,0	5,00	15,00	1,06
10	0	- $\alpha$	5,00	0,00	5,00	1,20
11	0	+ $\alpha$	5,00	10,0	15,00	0,87

De acordo a Figura 8, que mostra a superfície de resposta obtida a partir dos valores de AME em função das concentrações de glicose e glicerol residual nos frascos-reatores, nota-se que o glicerol residual reduziu a atividade metanogênica do lodo. Isto é comprovado pela queda nos valores da AME à medida que a concentração de glicerol residual aumenta nos frascos, em substituição à glicose.

**Tabela 16** - Estimativa dos efeitos para a variável AME ( $R^2=0,99473$ ). Planejamento experimental com 2 fatores, 1 Bloco, 11 experimentos, conforme Tabela 15.

Fator	Efeito	Erro Padrão	p
Média/Interseção	1,097781	0,007845	0,000000
Glicose (Linear)	0,055751	0,009608	0,002143
Glicose (Quadrático)	-0,078707	0,011436	0,000991
Glicerol (Linear)	-0,242035	0,009608	0,000002
Glicerol (Quadrático)	-0,069907	0,011436	0,001698
Glicose x Glicerol	-0,197010	0,013588	0,000028

Nota: p é a probabilidade..



**Figura 8** - Superfície de resposta obtida a partir dos valores da AME em função das concentrações de glicose e glicerol residual nos frascos-reatores. Os valores dos eixos x e y estão apresentados na forma codificada conforme Tabela 6.

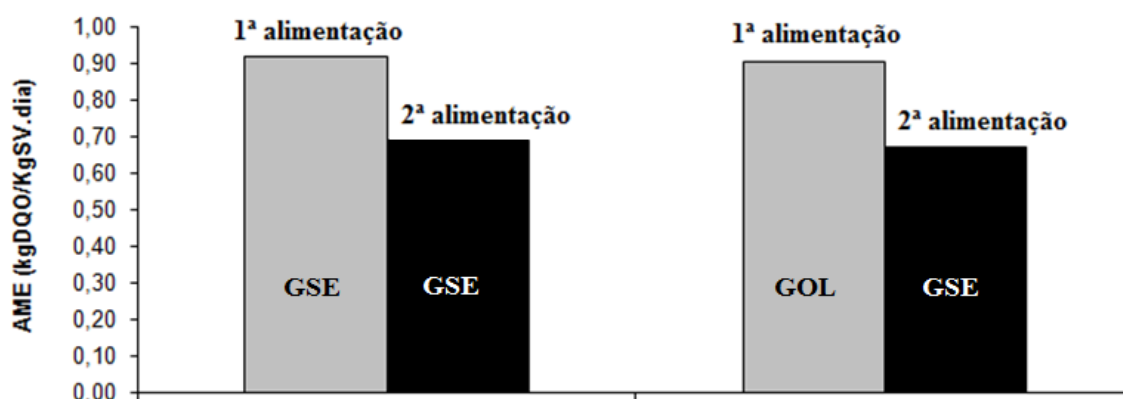
De acordo com a Equação 19, que gerou a superfície de resposta, a AME pode alcançar até 0,99 kgDQO/kgSV.d utilizando glicose em concentração de 12 gDQO/L. Por outro lado, usando a mesma concentração de glicerol residual, resultaria em uma menor AME (0,71 kgDQO/kgSV.d). Altas concentrações causariam diminuição na AME, tanto usando glicose, glicerol residual ou ambos substratos, já que excesso de

matéria orgânica pode inibir a atividade metanogênica devido à formação de ácidos orgânicos em uma taxa mais elevada do que podem ser consumidos.

$$AME = 1,098 + 0,028[GLI] - 0,039[GLI]^2 - 0,121[GOL] - 0,035[GOL]^2 - 0,099[GLI][GOL] \dots \dots \dots (Eq. 19)$$

Onde: AME é a atividade metanogênica específica, em kgDQO/kgSV.d; [GLI] é a concentração de glicose; e [GOL] é a concentração de glicerol residual.

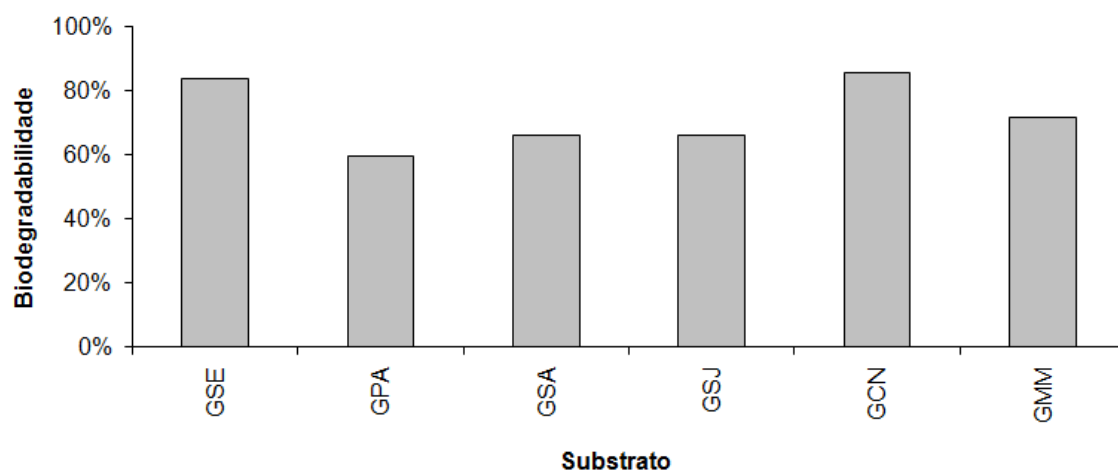
Para comprovar se houve inibição permanente, foram realizados testes atividade metanogênica utilizando-se frascos alimentados apenas com de glicose (GSE) e com 100% de glicerol residual (GOL). De acordo com os resultados obtidos, após a segunda alimentação utilizando apenas glicose em todos os frascos (exceto o controle), notou-se que as atividades metanogênicas foram semelhantes tanto nos frascos contendo inicialmente glicose como nos frascos contendo inicialmente glicerol residual (Figura 9). Isto comprova que não ocorreu inibição permanente devido ao glicerol residual. Os valores menores de AME para a primeira alimentação com glicerol ocorreram provavelmente pela redução da taxa de hidrólise da molécula de glicerol que, por ser um triálcool, é uma molécula mais complexa se comparada à molécula de glicose. Além disso, a presença de algumas impurezas no glicerol residual pode ter reduzido a atividade metabólica do lodo anaeróbio.



**Figura 9 -** Teste de toxicidade anaeróbia permanente devido ao glicerol residual.  
GSE = Glicose; GOL = glicerol residual

### 5.3. Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

Os resultados do teste de biodegradabilidade anaeróbia de glicerol residual oriundo de diversas matrizes vegetais, além de glicose e glicerina P.A, estão apresentados na Figura 10.



Notas: GSE = glicose; GPA = glicerina P.A.; GSA = soja+algodão; GSJ = 100% soja; GCN = canola; GMM = mamona.

**Figura 10** - Biodegradabilidade anaeróbia de glicerol residual oriundo de diversas matrizes vegetais, glicose e glicerina P.A.

Os resultados mostraram que a natureza do óleo vegetal que deu origem a cada glicerol utilizado e o processo utilizado na fabricação do biodiesel, influenciou sua biodegradabilidade. O glicerol oriundo de óleo de canola (GCN) teve 85,6% de biodegradabilidade, resultado semelhante ao obtido nos frascos contendo glicose como substrato (84,0%). O elevado valor de biodegradabilidade obtido pela digestão deste tipo de glicerol pode ser explicado por ser o glicerol residual com maior teor de pureza (84%) se comparado aos de outras matrizes vegetais utilizados no teste. Além disto, o GCN não possuía cloretos e apresentava a menor concentração de cinzas, que pode ter contribuído para aumentar a sua biodegradabilidade.

O glicerol oriundo de transesterificação de soja/algodão (GSA) e de 100% soja (GSJ) apresentou valores de biodegradabilidade iguais a 65,9%, 66,2%, respectivamente. As altas concentrações de cloretos, juntamente com os elevados teores de umidade, podem ter sido limitantes para que a fração biodegradável fosse menor que à dos demais gliceróis.

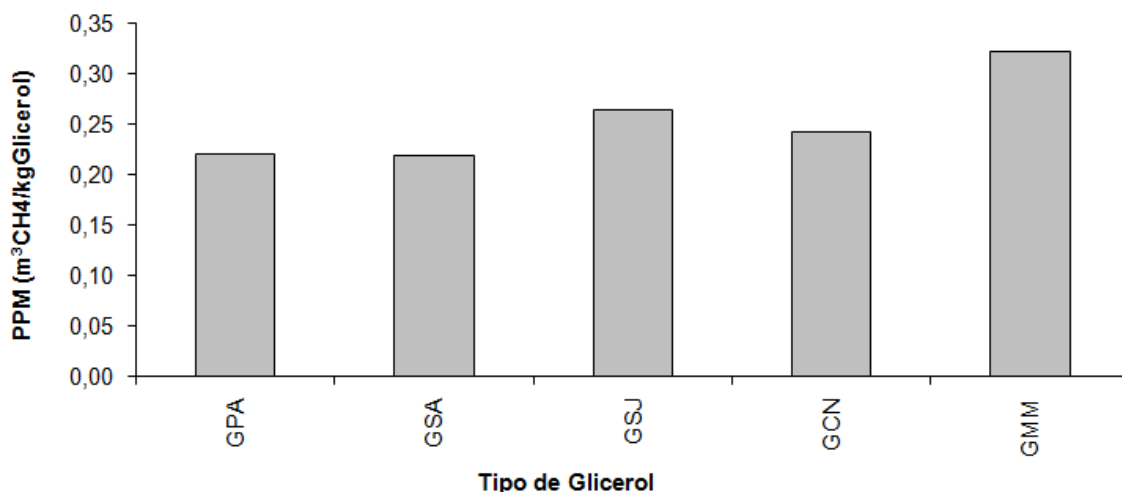
O glicerol oriundo da transesterificação do óleo de mamona (GMM), apesar de ser o substrato com menor teor de glicerol dentre os demais (Tabela 13), apresentou biodegradabilidade superior ao GSA e o GSJ. O GMM possui maior concentração de AGCL se comparado aos outros gliceróis utilizados no teste de biodegradabilidade, o que pode ter causado a inibição da atividade metanogênica durante os primeiros dias de teste. No entanto, uma forte e evidente adaptação do lodo ao GMM aconteceu após 14 dias de tempo de contato, com uma produção diária de metano aumentando de 1,3 para 22,4 L/dia.

Os resultados de biodegradabilidade anaeróbia ficaram abaixo do valor obtido por Siles López *et al.* (2009), que alcançaram 100% de biodegradabilidade de glicerol residual utilizando lodo granular como inoculo a 37°C. A explicação para os elevados níveis de biodegradabilidade obtidos por estes autores é que o glicerol residual utilizado no teste passou por um pré-tratamento de acidificação e destilação para remover sais e impurezas orgânicas.

Os elevados valores de biodegradabilidade de glicerol residual obtidos nesta pesquisa podem ser justificados pelo elevado teor de carbono orgânico dissolvido no glicerol residual, favorável à digestão anaeróbia, diferentemente de outros materiais de difícil digestão, como resíduos lignocelulósicos (ELEAZER *et al.*, 1997; BENNER *et al.*, 1984).

Baseado nos resultados de biodegradabilidade pode-se determinar o Potencial de Produção de Metano (PPM). A Figura 11 apresenta os resultados do PPM a partir da digestão de cada tipo de glicerol utilizado como substrato no teste de biodegradabilidade anaeróbia.

O elevado valor de PPM para o GMM ( $0,322 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgGlicerol}$ ) pode ser atribuído à elevada biodegradabilidade aliada à elevada DQO que esse tipo de glicerol apresenta. O PPM dos outros tipos de glicerol testados, inclusive o GSA, utilizado como substrato para o reator UASB em escala de laboratório, mostraram resultados semelhantes, com valores entre 0,221 e  $0,265 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgGlicerol}$ . Todos os valores obtidos estão abaixo da faixa teórica que é de  $0,426 \text{ m}^3\text{CH}_4\text{-CNTP}/\text{kgGlicerol}$  sob condições ambientais ideais, mas dentro da realidade quando se trata da digestão de um material rico em impurezas.



**Figura 11** - PPM a partir da digestão de glicerol oriundo da transesterificação de diversas matrizes vegetais e glicerina P.A. GPA = Glicerina P.A.; GSA = soja+algodão; GSJ = 100% soja; GCN = canola; GMM = mamona.

Os valores encontrados na presente pesquisa mostram semelhança com os resultados de Siles López *et al.* (2009), que conseguiram obter entre 0,291 e 0,411 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol utilizando glicerol residual como substrato para testes de biodegradabilidade anaeróbia. Os valores obtidos por esses pesquisadores variaram de acordo com o tratamento imposto ao glicerol residual antes que este fosse colocado em contato com o lodo anaeróbio, já que quanto mais eficiente for o tipo de pré-tratamento do glicerol residual, maior será sua pureza e biodegradabilidade, e mais elevado será o valor do PPM.

Quando se calculou o valor da média do volume diário de metano produzido pelo sistema nos últimos 16 dias de operação, ou seja, durante o período em que a diluição do glicerol residual chegou a 1:5, e o dividiu pela massa de glicerol que entrava no sistema diariamente, chegou-se a um valor de Produção Específica de Metano (PEM) igual a 0,380 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol. A provável explicação para o valor do PEM obtido a partir dos dados de operação do reator de fluxo contínuo ter sido mais elevado que o PPM (0,220 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol), obtido a partir do teste de biodegradabilidade, são as variações da quantidade de glicerol que aflui ao sistema, além da variação na produção de biogás e concentração de metano ao longo do tempo.

O valor de PEM obtido pelo reator UASB foi semelhante ao obtido por Yang *et al.* (2008) tratando glicerol puro sob condições mesofílicas, 0,370 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol, e Hutňan *et al.* (2009) utilizando lodo floculento como inóculo para reator UASB alimentado com glicerol residual, que chegaram a 0,420 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol. Os

resultados de Contrim (2009), entre 0,078 e 0,096 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol, foram bem mais reduzidos se comparados com o valor encontrado no reator UASB em escala laboratorial. No entanto, alguns experimentos alcançaram valores bem mais elevados que os valores encontrados pela presente pesquisa, como Yang *et al.* (2008) durante a digestão de glicerol puro sob condições termofílicas (0,446 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol) e Hutňan *et al.* (2009), tratando glicerol residual em reatores em batelada (0,526 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol).

#### 5.4. Caracterização do inóculo

Os resultados da caracterização de cada lodo componente do inóculo, inclusive da mistura entre eles, estão apresentados na Tabela 17. A partir destes resultados, decidiu-se que a mistura entre os lodos era a melhor opção de inóculo para o reator UASB, por ter apresentado o maior valor de AME se comparada com cada lodo componente da mistura, individualmente. Provavelmente, a maior biodiversidade dessa mistura foi responsável por promover a elevada taxa de conversão de glicose (o substrato utilizado nos testes de AME) em metano.

**Tabela 17** - Caracterização de cada lodo componente do inóculo e da mistura entre eles.

Origem	Alimentação	Tipo de lodo	Concentração <sup>a</sup>	AME <sup>b</sup>	Substrato
ETE FEMSA	Efluente de cervejaria	Granular	68	0,430	Glicose
ETE CAGECE	Esgoto doméstico	Floculento	25	0,439	Glicose
Reator de bancada	Efluente sintético	Floculento	24	0,492	Glicose
Mistura <sup>c</sup>	—	Granular + floculento	44	0,721	Glicose

Nota: <sup>a</sup> em gSSV/L; <sup>b</sup> (KgDQO/KgSSV.d); <sup>c</sup> Mistura utilizada como inóculo para o UASB, composta pelos outros três lodos citados no quadro.

A AME foi bem inferior nos frascos testando cada lodo individualmente do que nos frascos contendo a mistura entre os lodos. Isso pode ter ocorrido devido às condições operacionais a que a biomassa anaeróbia foi submetida no teste (substrato, nutrientes, alcalinidade, temperatura), já que o lodo não passou por período de



adaptação/aclimatação antes do início do experimento, que pode ter afetado a atividade bacteriana. Em relação à AME obtida a partir da mistura entre os lodos, seus elevados valores pode ter ocorrido devido à maior biodiversidade do consórcio anaeróbio resultante, tornando um lodo mais versátil na conversão da matéria orgânica sob as novas condições experimentais.

### **5.5. Operação do reator UASB em escala de laboratório**

As Tabelas 18 e 19 apresentam um resumo dos parâmetros monitorados durante a operação do reator UASB, utilizando valores médios para cada parâmetro seguidos do intervalo de confiança. Nestas tabelas, percebe-se que a Etapa II foi dividida em duas subetapas. A Etapa IIa mostra a operação com adição da solução de nutrientes 1, e a Etapa IIb com a solução de nutrientes 2.

**Tabela 18** - Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB.

Tempo <sup>a</sup>	Dil. <sup>b</sup>	COV <sup>c</sup>	Q <sub>afI</sub> <sup>d</sup>	DQO <sub>afI</sub> <sup>e</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>Tot f</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>Sobr g</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>X h</sup>	DQO <sub>CH4</sub> <sup>i</sup>	E <sub>Tot</sub> <sup>j</sup>	E <sub>sob</sub> <sup>j</sup>	Q <sub>biogás</sub> <sup>k</sup>	% CH <sub>4</sub> <sup>l</sup>
----- ETAPA I -----												
0-40	1:1500	2,2	15,0	2130±56	86±12	75±9	22±6	31±2	96,0	96,4	16,2±1	-
41-75	1:750	4,5	15,0	4511±97	278±122	163±42	128±118	75±4	93,8	96,4	39±2	-
76-86	1:263	6,5	15,0	6748	1549±766	1503±747	46±40	86±6	76,3	77,1	44,7±3	-
87-92	1:750	4,4	15,0	4328	392±66	377±80	15±15	73±7	91,0	91,3	38±4	-
93-133	1:175	5,8	15,0	5779	1199±182	1159±174	41±33	79±4	79,3	80	41,1±2	-
----- ETAPA IIa -----												
133-166	1:175	5,8	15,0	5779	2666±319	2540±302	126±90	61±5	53,9	56,1	32,7±2	-
167-188	1:175	5,7	15,0	5618	3371±535	3198±504	2420±504	33±3	39,9	43,1	16,7±2	-
189-239	1:395	2,5	14,9	2519±176	1073±162	937±181	290±164	22±1	59,0	64,6	11,5±1	-
240-259	1:197	2,3	6,5	5311±760	2022±312	1878±361	107±82	18±1	61,5	64,3	9,5	-
----- ETAPA IIb -----												
260-289	1:197	3,7	6,4	8462±767	1033±428	958±423	151±117	22±4	86,8	87,7	12,1±3	71
290-308	1:100	6,9	7,4	13740±1480	1631±423	1553±374	79±91	53±3	88,3	77,9	32,1±2	64
309-328	1:72	8,9	6,7	19226±2946	2254±1659	1687±886	567±905	61±8	89,6	92,0	36,5±4	65
329-342	1:65	8,7	7,1	18695±2993	678±251	747±55	130±65	75±12	96,4	96,2	46,7±7	64
----- ETAPA III -----												
343-351	1:40	10,6	4,5	35939±3419	1477±566	1334±465	144±211	97±10	95,9	96,2	58,0±6	63
352-369	1:20	10,0	1,5	82359±5913	1677±617	1540±573	164±152	64±11	98	98,2	40,7±7	60
370-386	1:10	8,0	0,7	163660±23362	2361±577	2268±653	85±60	55±9	98,5	98,5	40,1±7	53
387-403	1:5	10,6	0,4	352918±22331	7639±2732	7805±2176	752±807	91±6	97,5	97,7	61,5±4	59

Notas: <sup>a</sup> dias; <sup>b</sup> diluição do glicerol residual no afluente (v/v); no afluente; <sup>c</sup> kgDQO/m<sup>3</sup>.d; <sup>d</sup> L/d; <sup>e</sup> gDQO/L; <sup>f</sup> DQO total do efluente, em gDQO/L; <sup>g</sup> DQO do sobrenadante do efluente, em gDQO/L; <sup>h</sup> massa de lodo no efluente, em gDQO/L; <sup>i</sup> volume de metano expresso em gDQO; <sup>j</sup> eficiência na remoção de DQO, em %; <sup>k</sup> vazão de biogás, em L/d; <sup>l</sup> percentual de metano no biogás, em %; ± são os valores do intervalo de confiança ( $\alpha = 0,05$ ).

**Tabela 19** - Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB

Tempo	COV	Dil.	Alcal. <sup>a</sup>	AGV <sub>tot</sub> <sup>b</sup>	AGV/Alc <sup>c</sup>	M <sub>x</sub> <sup>d</sup>	TRC <sup>e</sup>	TDH <sup>e</sup>	AME <sup>f</sup>	COL <sup>g</sup>	Cl <sup>-</sup> <sub>af</sub> <sup>h</sup>	Cl <sup>-</sup> <sub>ef</sub> <sup>h</sup>
----- ETAPA I -----												
0-40	2,2	1:1500	1478±161	85±21	0,05±0,01	810	10907	27	0,754	0,03	N.H.A	N.H.A
41-75	4,5	1:750	2006±186	214±52	0,09	706	3711	27	0,829	0,08±0,01	200±20	201±29
76-86	6,5	1:263	1322±136	1489±260	0,98±0,25	478,56	926	27	N.H.A	0,18	271	237
87-92	4,4	1:750	1703±383	455±69	0,23±0,02	478,56	4506	27	N.H.A	0,11±0,03	271	291
93-133	5,8	1:175	1416±109	925±73	0,56±0,07	478,56	1359	27	N.H.A	0,15	246±45	249±26
----- ETAPA IIa -----												
133-166	5,8	1:175	1615±287	2150±202	1,25±0,31	478,56	427	24	N.H.A	0,15	310,6838	233,261
167-188	5,7	1:175	2035±177	1785±206	0,76±0,15	352,00	139	24	N.H.A	0,19±0,03	N.H.A	N.H.A
189-239	2,5	1:395	1273±97	757±61	0,52±0,07	70,51	310	24	0,449	0,45±0,03	245±9	249±25
240-259	2,3	1:197	1697±220	1835±268	0,9±0,06	70,51	98	55	N.H.A	0,41±0,02	339,4692	338,2122
----- ETAPA IIb -----												
260-289	3,7	1:197	2675±377	945±427	0,35±0,22	70,51	226	56	0,897	0,65±0,05	N.H.A	N.H.A
290-308	6,9	1:100	2302±405	462±163	0,17±0,05	70,51	367	49	N.H.A	1,21±0,13	1985,2	2144,016
309-328	8,9	1:72	3419±1291	597±325	0,24±0,26	98,89	977	54	0,834	1,11±0,10	2065	2833
329-342	8,7	1:65	2462±385	123±58	0,04±0,02	98,89	240	52	1,196	1,07±0,11	3524	2903
----- ETAPA III -----												
343-351	10,6	1:40	3114±311	193±33	0,05±0,01	121,12	437	79	0,918	1,11±0,14	7772	6079,5±1975
352-369	10,0	1:20	3472±591	165±90	0,04±0,02	122,74	535	592	0,717	1,01±0,20	6948	6055
370-386	8,0	1:10	3019±490	352±361	0,08±0,06	132,02	4714	850	0,724	0,72±0,17	10554	9997
387-403	10,6	1:5	4755±285	1648±507	0,29±0,10	144,2	4104	1082,05	0,838	0,85±0,16	20898±1895	11207±2962

Notas: <sup>a</sup> alcalinidade total, em mgCaCO<sub>3</sub>/L; <sup>b</sup> AGV's totais, em mgAGV/L; <sup>c</sup> adimensional; <sup>d</sup> massa de lodo no reator, em gSV; <sup>e</sup> horas; <sup>f</sup> kgDQO/kgSV.d; <sup>g</sup> carga orgânica aplicada ao lodo, em kgDQO/kgSV.d; <sup>h</sup> concentração de cloretos, em mgCl/L; NHA = não houve análise;

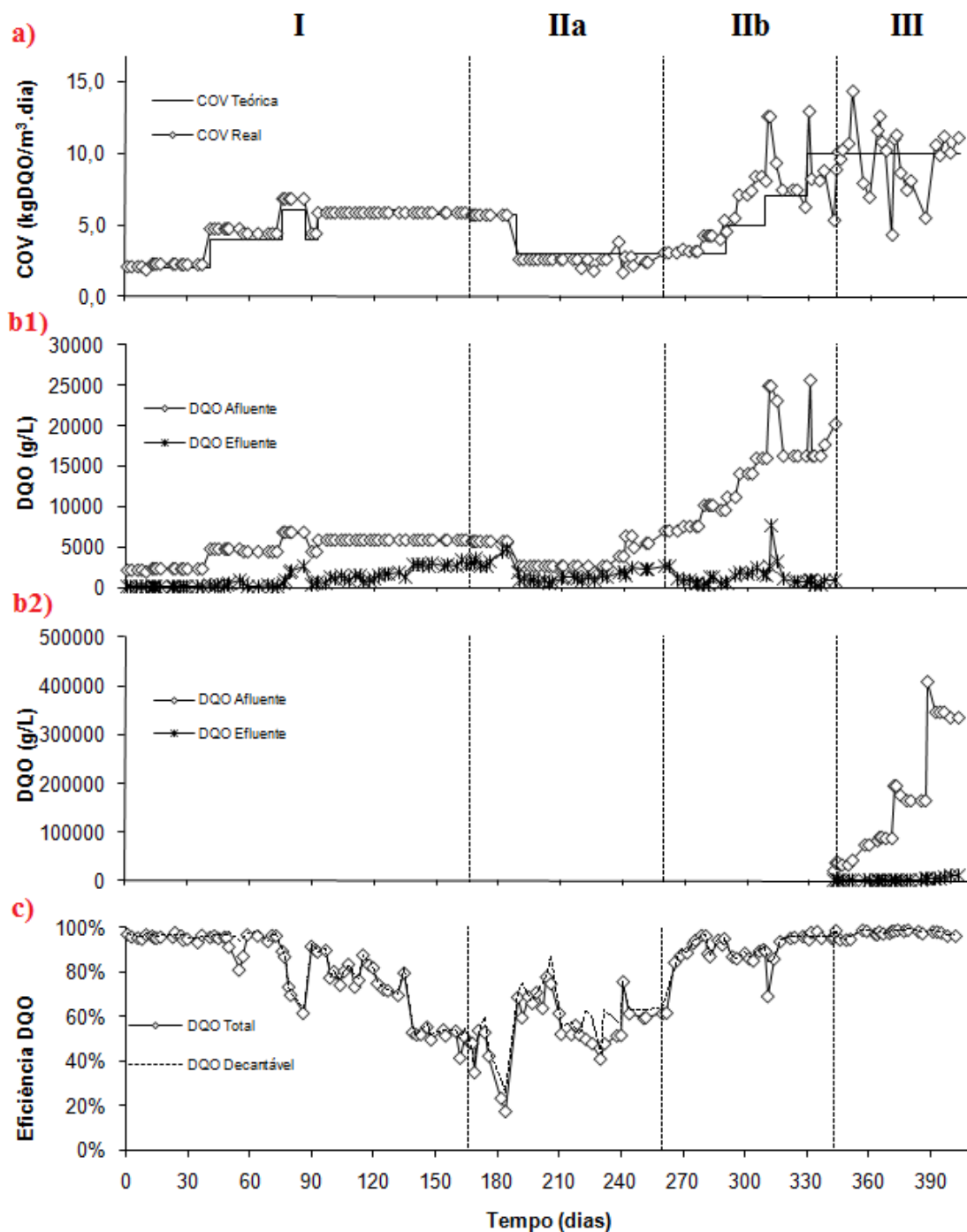
### 5.5.1. Carga orgânica aplicada ao lodo, carga orgânica volumétrica, e demanda química de oxigênio

Os resultados da operação do reator UASB apresentados na Tabela 19 mostraram que, praticamente durante toda a operação, a biomassa presente no reator não correu riscos de sobrecarga orgânica. Isso pode ser comprovado ao comparar os valores de COL com os de AME do lodo. A carga máxima tolerada pela massa de lodo presente no reator é igual ao valor da AME máxima. Isso significa que, se o valor da COL for superior à AME, provavelmente a biomassa anaeróbia não terá condições de suportar a carga aplicada.

De acordo com a Tabela 19, a COL média a cada operação esteve sempre abaixo ou próxima da carga que a massa de lodo no interior do sistema suportaria, salvo algumas exceções, como entre os dias 309 e 328, 343 e 351, quando a COL foi relativamente superior à suportada pela massa total de lodo no reator. Mesmo assim, esses valores de COL não foram suficientes para causar colapso no sistema.

Como apresentado na Tabela 9, o plano de operação do reator tinha como meta elevar gradativamente a COV até alcançar o valor máximo de projeto (10,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d), com 100% de glicerol no afluente. A Figura 12 apresenta a variação da DQO e eficiência de remoção de matéria orgânica em função da COV aplicada ao longo do tempo de operação. Nesta figura, o gráfico que relaciona as concentrações de DQO afluente e efluente em função do tempo foi dividido em dois (b1 e b2), devido a grande amplitude entre as concentrações de DQO afluente iniciais e finais, entre 2 e 350 gDQO/L.

As mudanças na COV e diluição do glicerol residual no afluente ao reator UASB ocorriam cada vez que o sistema estava adaptado ao regime de alimentação, ou seja, quando os valores de pH, de alcalinidade, de ácidos graxos voláteis e de eficiência de remoção de matéria orgânica, atingiam os valores previstos.



**Figura 12 -** Variação das concentrações de DQO afluente e efluente (b1 e b2), e da eficiência de remoção de matéria orgânica (c) de acordo com a COV aplicada (a) ao longo do tempo de operação. Obs: Gráficos b1 e b2 diferem na escala do eixo Y.

Durante a Etapa I, quando o objetivo era retirar aos poucos a solução de sacarose do afluente visando a adaptação do lodo anaeróbico ao meio contendo glicerol, o reator não conseguiu operar com COV maior que 6,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, apresentando desempenho instável, com queda da eficiência na remoção de matéria orgânica (de 92% para 63%),

acúmulo de ácidos orgânicos, alcançando 1.815 mgAGV/L e conseqüente aumento na relação AGV/Alcalinidade, que era de 0,22, passando a valores de 1,42 após o 10º dia operação sob a mesma COV. Além disto, houve expurga de lodo na ordem de 80 gSV, o equivalente a 10% da massa de lodo presente no reator, possivelmente ocasionado pela morte celular causada pela falta de nutrientes. Na falta de nutrientes o lodo se torna mais floculento e menos denso, causando o arraste para fora do reator (RAJESHWARI *et al.*, 2000).

Para evitar um colapso no sistema devido à acumulação de ácidos orgânicos, decidiu-se reduzir a COV para 4,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, visto que a remoção de matéria orgânica sob essa COV era eficiente. No 167º dia de operação, houve nova tentativa de aumento da COV concomitantemente com a eliminação da sacarose, obedecendo a estratégia inicial de operação do reator UASB. Porém, ao alcançar 5,8 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, a eficiência na remoção de DQO, no 184º dia de operação, chegou a valores de 17%, com elevação da concentração de AGV's e redução drástica da produção diária de biogás. Isso mostrou que o reator não era capaz de operar sob condições estáveis acima de 5,2 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Para evitar falha no sistema anaeróbio, a COV foi reduzida para 3,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d até que a estabilidade do sistema se restabelecesse. Os problemas de instabilidade no reator podem ter ocorrido devido à falta de nutrientes. Para testar esta hipótese, a partir da Etapa IIb a solução de nutrientes foi substituída por outra mais concentrada (Tabela 8). A hipótese estava correta e, com esta nova estratégia, o reator foi capaz de operar sob condições estáveis até a COV de projeto (10,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d), comprovando que a concentração de nutrientes é um fator limitante durante a digestão anaeróbia de glicerol residual como a única fonte de substrato orgânico. Além disso, pôde-se concluir que a quantidade de nutrientes a ser adicionada ao sistema degradando glicerol residual deve ser proporcional à carga orgânica aplicada, conforme descrito por Singh *et al.* (1999).

Os resultados mostraram que a partir do 266º dia de operação, a eficiência na remoção de DQO aumentou de 61% para 84%, com redução da concentração de AGV's, em apenas uma semana operando com maior concentração de nutrientes. Isto comprova a experiência de Hutňan *et al.* (2009) e Bodík *et al.* (2008) quando mostraram a importância da adição, em concentrações adequadas, de alguns nutrientes essenciais (como fósforo e nitrogênio) ao afluente de um reator anaeróbio tratando glicerol oriundo da produção de biodiesel. A melhora no desempenho de sistemas anaeróbios durante a

digestão de material orgânico através da suplementação de metais traços e macronutrientes também foi comprovada por diversos outros autores (AHRING *et al.*, 1991; SPEECE, 1988; SPEECE *et al.*, 1983).

A disponibilidade de nutrientes é essencial para o crescimento e conseqüente aumento da atividade metabólica de *archaeas* e bactérias (LETTINGA *et al.*, 1999). Boonyakitsombut *et al.* (2002) mostraram que a adição de nutrientes essenciais como ferro, cobalto e níquel, além de extrato de levedura, aumentou em quase 100% a taxa de consumo de ácido propiônico. No entanto, segundo estes autores, durante a digestão anaeróbia de glicose, o único nutriente testado que provocou aumento significativo da produção diária de biogás e reduziu consideravelmente a DQO efluente foi o extrato de levedura.

Após a suplementação nutricional, o reator se manteve estável e sem acúmulo significativo de AGV's, mantendo a remoção de matéria orgânica quase sempre acima de 90%, até o final da operação, mesmo operando com diluição de glicerol residual no afluente igual a 1:5, quando se esperava que a eficiência do sistema diminuiria devido ao acúmulo de intermediários ou por toxicidade a cloretos.

A biomassa anaeróbia presente no reator UASB foi eficiente na remoção de matéria orgânica mesmo quando operou em concentrações de cloretos igual a 14 g/L, mostrando que o consórcio metanogênico adaptou-se ao meio contendo elevada salinidade, já que a concentração de cloretos que havia no interior do sistema foi superior àquela tolerada por microrganismos anaeróbios não-halófilos, entre 5 e 9 gCl<sup>-</sup>/L (RIFFAT & KRONGTHAMCHAT, 2006; VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999; ITO *et al.*, 2005; VALLERO *et al.*, 2003a).

A digestão anaeróbia do glicerol residual contendo elevada concentração de cloretos (14 gCl<sup>-</sup>/L) ocorreu de maneira estável. Estes resultados estão compatíveis com aqueles obtidos por Riffat & Krongthamchat (2006), que utilizaram reatores anaeróbios em batelada (volume de 125 mL) para degradar acetato sob diversas concentrações de NaCl. Estes pesquisadores conseguiram atingir uma AME de aproximadamente 2,5 kgDQO/kgSV.d operando em concentrações entre 18 e 21 gCl<sup>-</sup>/L após 21 dias do início do experimento, comprovando que o lodo anaeróbio pode se adaptar a um meio altamente salino em poucos dias. Acima de 21 gCl<sup>-</sup>/L, a atividade metanogênica reduzia.

Para aumentar ainda mais a tolerância do lodo à salinidade contida no glicerol residual, pode-se fazer compor o inóculo do reator UASB com cultura halófila, que permitirá trabalhar com diluições reduzidas deste resíduo, como nos experimentos de Aspé *et al.* (1997) que comprovaram que inóculo oriundo de sedimentos marinhos degradando efluente de indústria pesqueira, contendo altas concentrações de cloretos (entre 14,6 e 17,9 gCl/L) é mais apropriado do que um inóculo oriundo de esterco de porco.

Hutňan *et al.* (2009) utilizaram glicerol residual como fonte de carbono para reatores anaeróbios em batelada e não conseguiram estabilidade com COV superior a 5,6 kgDQO/m<sup>3</sup>.d., mesmo com grande diluição do glicerol (1:286). No entanto, os mesmos pesquisadores obtiveram êxito ao utilizar um reator UASB com COV de 6,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. diluição de glicerol igual a 1:20, visando produção de metano. Contrim (2009) só conseguiu bom desempenho com, no máximo, 2,4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, alcançando 80% de eficiência de remoção de DQO. Não há possibilidade de ter ocorrido inibição por cloretos nas pesquisas anteriormente citadas, pois a diluição do glicerol era elevada fazendo com que a concentração de cloretos fosse de, no máximo, 0,2 g/L, muito abaixo daquela necessária para causar inibição da atividade microbiana em um reator anaeróbio. Outros fatores podem ter contribuído para o mau desempenho destes sistemas, como elevada concentração de AGCL, elevada viscosidade do glicerol residual ou até mesmo o tempo de adaptação do lodo entre uma carga orgânica e outra mais elevada.

Os resultados de remoção de DQO obtidos pelo reator UASB, em escala de laboratório, operando com COV de 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, foram superiores aos obtidos por Yang *et al.* (2008). Estes autores conseguiram remover 87% de DQO de um afluente sintético composto por glicerol puro e nutrientes com COV variando entre 0,25 e 1,00 kgDQO/m<sup>3</sup>.d.

É improvável que tenha ocorrido inibição do lodo anaeróbio pela presença de AGCL. As análises qualitativas do glicerol residual, realizadas ao final deste trabalho, mostraram que havia baixas concentrações de ácidos palmítico, esteárico e oléico.

Durante os últimos 51 dias de experimento, quando o afluente possuía glicerol residual em diluições reduzidas, ocorreram problemas operacionais relacionados com bombeamento da solução de glicerol e nutrientes que adquiriu viscosidade e concentração de sólidos em suspensão elevadas, entupindo freqüentemente a tubulação



de entrada, prejudicando o controle da vazão afluyente e, conseqüentemente, o controle da COV.

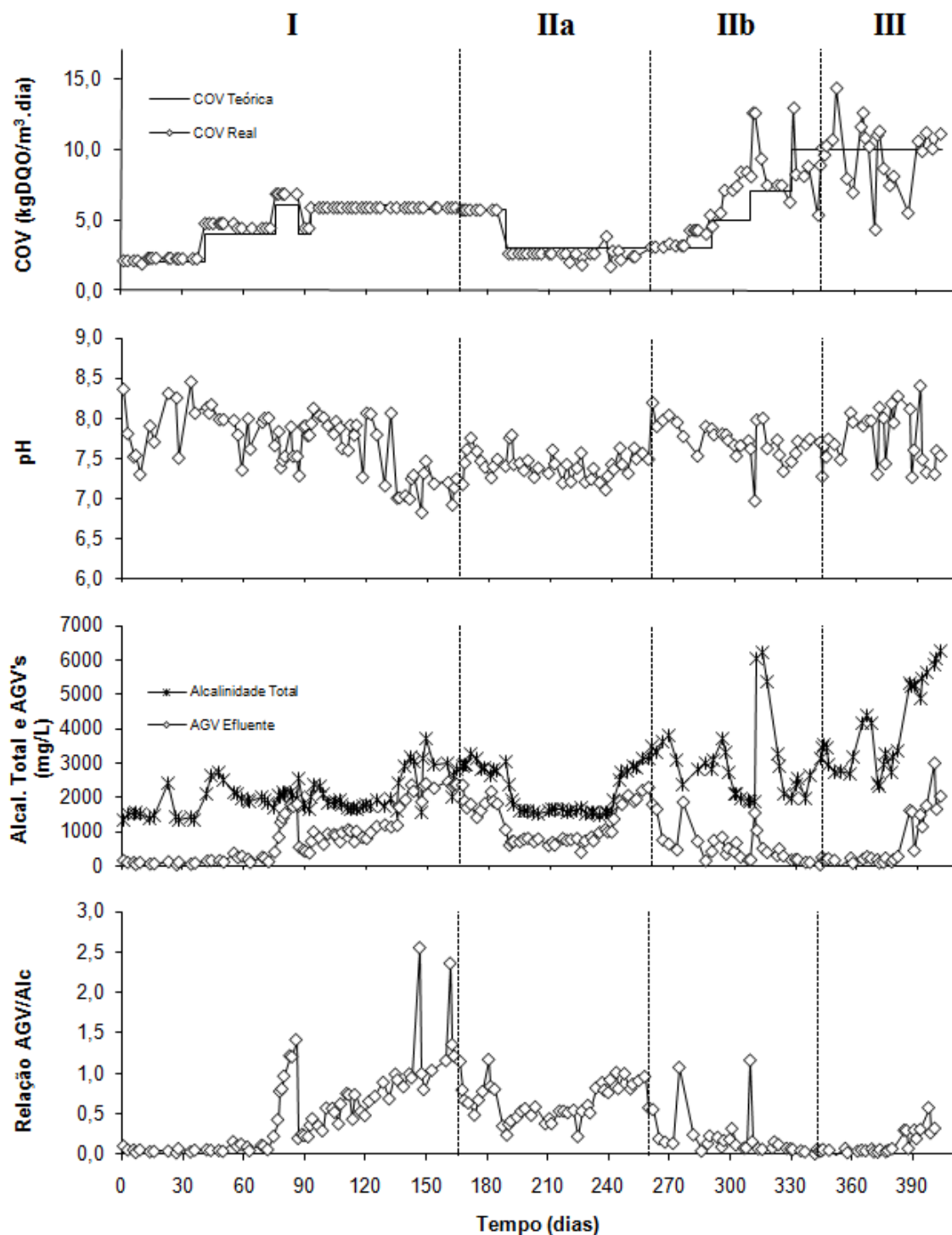
### 5.5.2. pH, ácidos graxos voláteis e alcalinidade

A Figura 13 apresenta as variações de pH, ácidos graxos voláteis totais (AGV's), alcalinidade a bicarbonato e relação AGV/Alcalinidade a bicarbonato ( $AGV/Al_{HCO_3^-}$ ) de acordo com as mudanças realizadas durante a operação do reator UASB.

Como mostrado na Figura 13, durante todas as etapas os valores de pH estiveram, quase sempre, dentro da faixa ideal para digestão anaeróbia, entre 6,3 e 7,8 (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994 & VAN HAANDEL, 1994), mesmo operando com escassez de nutrientes no reator, ou seja, até o final da Etapa IIa, mostrando que a suplementação de alcalinidade foi suficiente para evitar a acidificação do reator. Apesar disso, em alguns dias o pH chegou a atingir valores acima da faixa ideal. Isso pode ter ocorrido devido à superdosagem de bicarbonato de sódio no meio (tampão), embora não tenha ocorrido nenhum tipo de problema envolvendo excesso de  $NaHCO_3$  e de pH acima de 7,8.

Assim como no presente trabalho, nenhum problema relacionado com pH foi constatado por Siles López *et al.* (2009) durante a digestão anaeróbia de glicerol residual, com valores variando entre 7,72 e 7,81, de acordo com os tipos de glicerol e inóculo utilizados nos experimentos. Nos testes de Contrim (2009), o pH variou entre 6,94 e 7,77. A importância em se adicionar um agente tampão a um sistema degradando glicerol residual foi comprovada por Yang *et al.* (2008), ao aumentarem o pH de 4,7 para 7,5 por adição de  $NaHCO_3$  (4,2 g/L) ao reator. Hutňan *et al.* (2009) também precisaram adicionar  $NaHCO_3$  para aumentar o pH de 6,0 para 7,0 ao degradar glicerol residual utilizando reator em batelada, mostrando a incapacidade do glicerol residual em neutralizar os ácidos produzidos pelas bactérias acidogênicas.

Durante a operação do reator UASB, nesta pesquisa, o sistema exigiu a adição de  $NaHCO_3$  como tampão. No entanto, com a substituição da solução de nutrientes 1 pela solução 2, a relação  $gNaHCO_3/gDQO$  diminuiu de 1 para 0,1 sem que houvesse problemas de queda drástica de pH. O aumento da capacidade do sistema em neutralizar os ácidos deveu-se ao aumento da concentração de fosfato, na forma de  $K_2HPO_4$ , na solução de nutrientes adicionada ao afluyente. A eficiência no uso deste reagente como tampão é comprovada por Gallert & Winter (1997) e Shelton & Tiedje (1984).



**Figura 13** - Variação dos parâmetros operacionais pH, alcalinidade total e AGV's e relação AGV/Alc de acordo com a COV aplicada ao longo do tempo de operação.

Segundo Wang *et al.* (1999) e Ahring *et al.* (1995), a concentração de AGV's é um parâmetro eficiente para indicar instabilidade do processo anaeróbio, pois o acúmulo destes ácidos no sistema indica que eles não estão sendo convertidos a metano na mesma proporção em que estão sendo produzidos.

Durante a Etapa I, quando o reator estava sendo operado com COV até 4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d e utilizando a solução menos concentrada de nutrientes, não houve problemas de acumulação de ácidos no reator, e os valores foram mantidos sempre abaixo de 282 mgAGV/L, salvo algumas exceções quando a concentração chegou a 406 mgAGV/L. No entanto, ao elevar a COV para valores superiores a 4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, o sistema apresentou acumulação de ácidos, alcançando 2.468 mgAGV/L no dia 160. Este acúmulo de AGV's provocou diminuição na remoção de matéria orgânica, mas o sistema voltou à estabilidade operacional a partir do 189º dia, quando a COV foi reduzida de 5,8 para 3,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d.

Como consequência do acúmulo de intermediários, o valor da relação AGV/Alc<sub>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub> chegou a valores superiores a 0,3 sempre que a COV era maior que 4 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, mostrando instabilidade no sistema, conforme Ripley *et al.* (1986) que sugerem que o valor desta relação não deve ultrapassar 0,3. Contrim (2009) e Siles López *et al.* (2009) operaram reatores anaeróbios em batelada para digestão de glicerol e conseguiram manter a relação AGV/Alc<sub>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub> menor que 0,4, mantendo o sistema sem riscos de acidificação.

A escassez de nutrientes foi o principal responsável pelo acúmulo de ácidos no sistema, pois a partir do dia em que houve a substituição da solução de nutrientes 1 a concentração de AGV's caiu de 2.302 para 469 mg/L em duas semanas. Com isso, a relação AGV/Alc<sub>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></sub> passou de 0,96 para 0,14 no mesmo intervalo de tempo, mantendo-se abaixo de 0,35 até o final da operação.

Os teores elevados de ácidos orgânicos no sistema durante as etapas I e IIa mostraram que as bactérias acidogênicas foram mais resistentes à privação nutricional, diferentemente das *archaeas* metanogênicas, que não conseguiram converter estes intermediários em CH<sub>4</sub> na mesma taxa em que estavam sendo produzidos, causando acumulação de ácidos orgânicos no sistema. Kim *et al.* (2002) verificaram que a falta de nutrientes como Ca, Fe, Ni e Co induz ao acúmulo de AGV's no sistema.

Mesmo operando sob elevadas cargas de cloretos no afluente, uma concentração dentro do reator de 14,0 gCl/L (final da Etapa III) não foi suficiente para causar acúmulo de ácidos no reator, mostrando que as *archaeas* metanogênicas foram tolerantes à elevada salinidade. Essa tolerância, provavelmente, foi consequência de um processo de adaptação desse grupo de microrganismos, como comprovado por Riffat & Kongthamchat (2006), quando observaram que foram necessários cerca de 22 dias para

se alcançar a máxima AME em teste em batelada sob diversas concentrações de cloreto de sódio.

### 5.5.3. Biogás

A produção de metano é um indicador forte do desempenho de um reator anaeróbio (MICHAUD *et al.*, 2005), pois caracteriza a atividade metabólica de um ecossistema metanogênico.

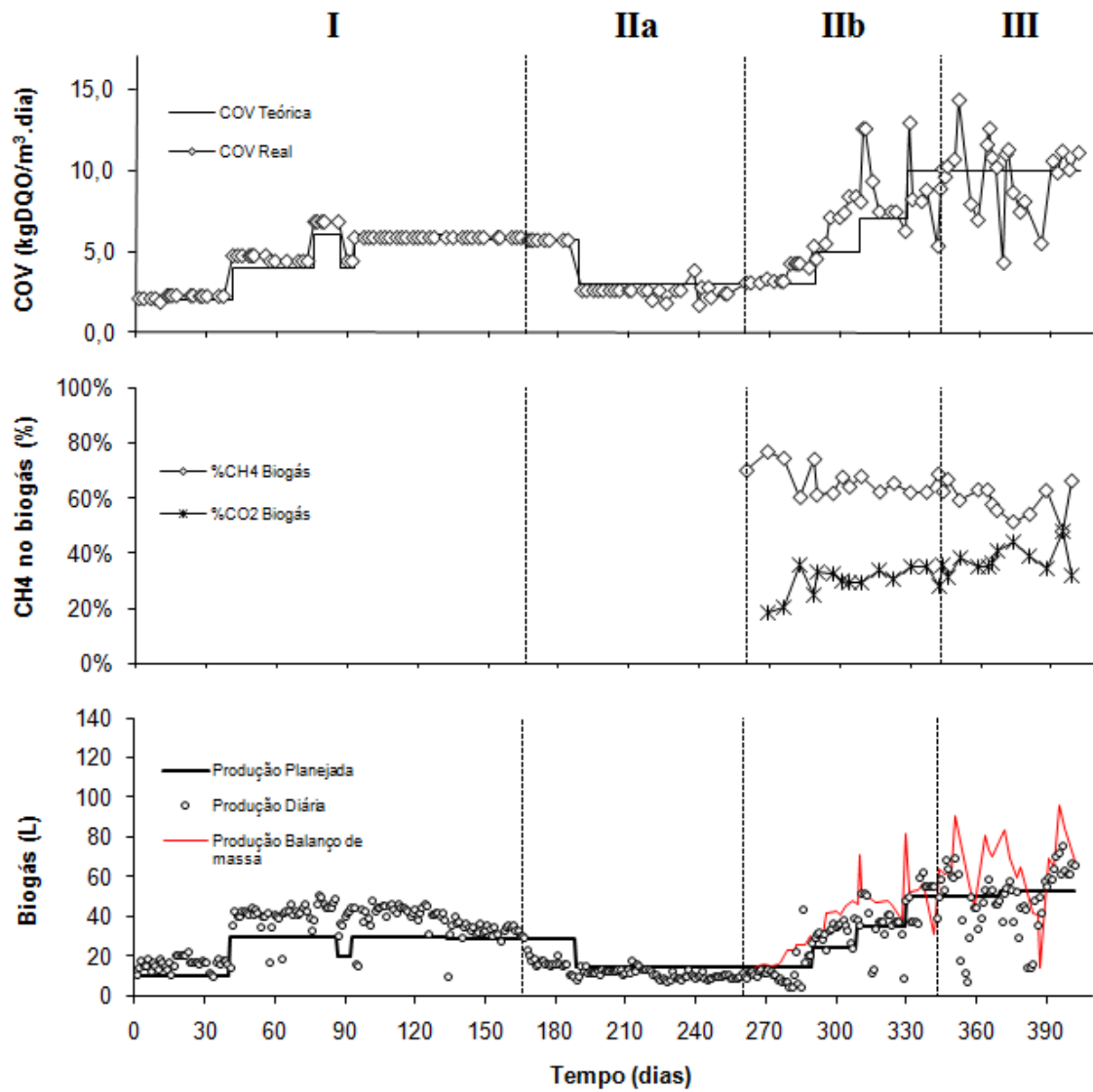
Os dados de composição do biogás só foram obtidos a partir do dia 269 por limitações no equipamento de cromatografia gasosa. O percentual dos principais gases presentes no biogás oriundo do UASB (CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>) em função da COV aplicada está apresentado na Figura 14.

Operando sob COV de 3,7 kgDQO/m<sup>3</sup>.d., a concentração de metano no biogás foi, em média, 71%. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por Najafpour *et al.* (2006), que obtiveram aproximadamente 80% de CH<sub>4</sub> na composição do biogás durante a digestão anaeróbia de efluente de indústria de óleo vegetal operando sob uma carga de 2,6 kgDQO/m<sup>3</sup>.d.

Com a elevação da COV e, principalmente, com o decréscimo da diluição do glicerol, nota-se que a concentração de CH<sub>4</sub> no biogás entra em declínio. Com COV média de 3,7 kgDQO/m<sup>3</sup>.d a concentração média de CH<sub>4</sub> no biogás foi igual a 71%, já com COV de aproximadamente 10,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, o percentual de CH<sub>4</sub> no biogás alcançou médias de 63% e 50%, em diluições iguais a 1:40 e 1:5, respectivamente. A queda no percentual de metano pode ser explicada pelo aumento da concentração de cloretos no afluente, bem como pelo aumento da carga orgânica que pode ter sobrecarregado o sistema, causando aumento da concentração de AGV's, provavelmente ácido propiônico e butírico, inibidores da metanogênese.

Como já citado, a média da concentração de CH<sub>4</sub> no biogás a partir da Etapa III até o final da operação foi igual a 59%. Este resultado mostrou semelhança com outras pesquisas que utilizaram glicerol residual como substrato para digestão anaeróbia, como apresentado na Tabela 20. O gás N<sub>2</sub> também foi detectado no biogás, mas em concentrações abaixo de 4%, que pode ser proveniente da contaminação com o ar atmosférico entre os procedimentos de coleta da amostra e de transferência para o cromatógrafo. Além disso, esta fração de nitrogênio gasoso pode estar associada ao

processo de desnitrificação de compostos nitrogenados presentes no próprio glicerol residual e na solução de nutrientes adicionada ao reator.



**Figura 14 -** Produção de biogás e concentrações de metano de acordo com a COV aplicada ao longo do tempo de operação.

**Tabela 20** - Valores médios das concentrações de metano e dióxido de carbono do biogás produzido por reatores anaeróbios degradando glicerol residual em diversas pesquisas.

CH <sub>4</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	Condições experimentais	Referência
59,0	38,1	Temp. ambiente; COV=10*; UASB / fluxo contínuo	Este trabalho
61,1	38,6	37°C; reator em batelada e UASB (COV = 3,5* a 6,5*)	1; 2
69	31	30°C; valores obtidos ao final de um ciclo; batelada seqüencial; COV= 2,4*	3
65	-	35°C; COV = 1*; Reator Leito Fixo / Semi-contínuo	4
73,9	-	55°C; COV = 1*; Reator Leito Fixo / Semi-contínuo	4

Notas: \* A COV é dada em kgDQO/m<sup>3</sup>.d; <sup>1</sup>Hutňan *et al.* (2009); <sup>2</sup>Bodík *et al.* (2008); <sup>3</sup>Contrim (2009); <sup>4</sup>Yang *et al.*, (2008).

A partir da Tabela 20, nota-se que a concentração de metano no biogás produzido durante a digestão de glicerol residual é elevada quando se aplicam COV's reduzidas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa se assemelham aos valores teóricos mostrados por Angelidaki & Ellegaard (2003) ao concluírem que o ácido propiônico (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>), uma molécula orgânica com fórmula molecular semelhante ao glicerol, é responsável por formar 58% de CH<sub>4</sub> no biogás quando é degradada anaerobiamente.

A Figura 14 mostra ainda que a produção de biogás diária planejada durante toda a operação obedeceu aos valores da produção diária real e ficou dentro do esperado quando o valor da produção diária calculada a partir do balanço de massa ficou sempre próxima aos valores da produção real. Em algumas ocasiões, a produção diária de biogás foi muito diferente da produção real, isso porque o TDH era elevado, fazendo com que não fosse obtida uma resposta imediata da produção de gás.

A Tabela 21 apresenta o balanço de massa baseado no volume de biogás produzido em diversas etapas de operação do reator UASB. Como só foi possível

realizar análise de constituição do biogás a partir da Etapa IIa, até o 269º dia de operação admitiu-se o percentual  $\text{CH}_4$  como sendo igual a 75%. Este valor foi encontrado por autores que utilizaram reatores anaeróbios para tratar efluentes agroindustriais (LEITÃO *et al.*, 2009; DEMIRER *et al.* 2000).

Em alguns períodos, o valor do percentual de volume de  $\text{CH}_4$  recuperado esteve discrepante de 100% devido a fatores como: i) TDH, pois os elevados TDH's fizeram aumentar o tempo de resposta quando ocorria qualquer mudança na vazão e nas características do afluente; ii) variações no percentual de metano presente no biogás medido pontualmente; iii) variações da taxa de produção celular, que reduz o volume de biogás a ser produzido; iv) variações no valor da massa de DQO relativa à lodo; v) descarte de lodo, já que em diversos momentos foram necessários retirar biomassa em excesso do sistema; vi) metano dissolvido no efluente.

**Tabela 21** - Balanço de massa realizado a partir de cada etapa de operação do reator UASB.

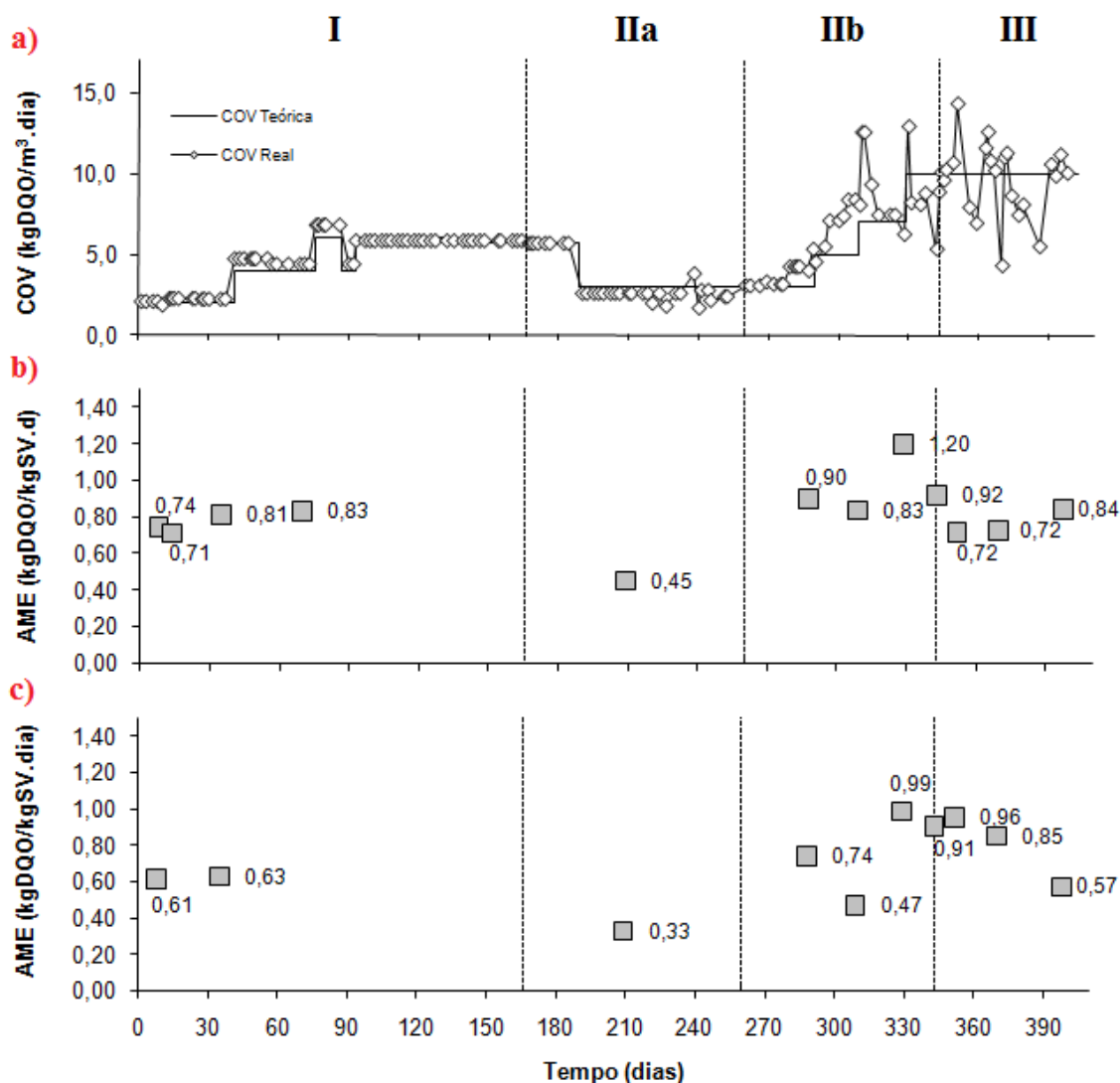
Tempo <sup>a</sup>	COV <sup>b</sup>	Q <sub>Afl</sub> <sup>c</sup>	DQO <sub>Afl</sub> <sup>d</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>Tot d</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>Sobr d</sup>	DQO <sub>Efl</sub> <sup>X d</sup>	Q <sub>CH<sub>4</sub></sub> <sup>DQO e</sup>	E <sub>Tot</sub> <sup>f</sup>	E <sub>Sob</sub> <sup>f</sup>	Q <sub>Biogás</sub> <sup>c</sup>	% CH <sub>4</sub> <sup>f</sup>	%CH <sub>4</sub> Rec <sup>g</sup>
----- ETAPA I -----												
0-40	2,2	15	2130	86	75	22	31	96,0	96,4	16,2	75	102%
41-75	4,5	15	4511	278	163	128	75	93,8	96,4	39,0	75	122%
76-86	6,5	15	6748	1549	1503	46	86	76,3	77,1	44,7	75	111%
87-92	4,4	15	4328	392	377	15	73	91,0	91,3	38,0	75	124%
93-133	5,8	15	5779	1199	1159	41	79	79,3	80,0	41,1	75	116%
----- ETAPA IIa -----												
133-166	5,8	15	5779	2666	2540	126	61	53,9	56,1	32,7	75	136%
167-188	5,7	15	5618	3371	3198	2420	32	39,9	43,1	16,7	75	45%
189-239	2,5	14,9	2519	1073	937	290	22	59,0	64,6	11,5	75	128%
240-259	2,3	6,5	5311	2022	1878	107	18	61,5	64,3	9,488	75	88%
----- ETAPA IIb -----												
260-289	3,7	6,4	8462	1033	958	151	22	86,8	87,7	12,05	71	47%
290-308	6,9	7,4	13740	1631	1553	79	53	88,3	77,9	32,07	64	60%
309-328	8,9	6,7	19226	2254	1687	567	61	89,6	92,0	36,52	65	56%
329-342	8,7	7,1	18695	678	747	130	75	96,4	96,2	46,65	64	59%
----- ETAPA III -----												
343-351	10,6	4,5	35939	1477	1334	144	97	95,9	96,2	57,99	63	62%
352-369	10	1,5	82359	1677	1540	164	64	98,0	98,2	40,74	60	54%
370-386	8	0,7	163660	2361	2268	85	55	98,5	98,5	40,13	53	49%
387-403	10,6	0,4	352918	7639	7805	752	91	97,5	97,7	61,48	59	61%

Notas: (a) dia; (b) kgDQO/m<sup>3</sup>.d; (c) m<sup>3</sup>/d; (d) kgDQO/m<sup>3</sup>; (e) produção de CH<sub>4</sub>, expressa em kgDQO/d; (f) %; (g) percentual de CH<sub>4</sub> recuperado baseado na Equação 18.



#### 5.5.4. Atividade metanogênica específica (AME)

A evolução da atividade metanogênica específica do lodo anaeróbico ao longo do tempo de operação está apresentada na Figura 15. Nota-se que desde o período de partida até o final da Etapa III o valor da AME esteve sempre acima de 0,71 kgDQO/kgSV.d, com exceção do período em que o reator havia entrado em colapso por falta de nutrientes (Etapa IIa), o que evidencia que os microrganismos metanogênicos foram fortemente afetados pela privação nutricional. Isso é comprovado pelo fato de que após a mudança da solução de nutrientes (substituição da solução 1 pela solução 2) o valor da AME aumentou em 100%.



**Figura 15** - Valores de AME tendo glicose (b) e glicerol residual (c) como substrato de acordo com a COV aplicada (a) ao longo do tempo de operação.

Os dados da Figura 15b mostram valores elevados de AME do lodo durante toda a operação do reator, com resultados semelhantes aos obtidos por Dolfing & Bloeman (1985) que, ao utilizarem lodo proveniente de um reator que tratava efluente à base de açúcares, alcançaram 0,90 kgDQO/kgSV.d. Além destes autores, Xiangwen *et al.* (2008) foram capazes de chegar a uma AME de 0,95 kgDQO/kgSV.d ao final da operação de um reator anaeróbio tratando efluente de cervejaria. Outros pesquisadores também obtiveram resultados semelhantes, como Fang *et al.* (1995), até 1,17 kgDQO/kgSV.d com lodo proveniente de um sistema tratando efluente composto por AGV's, e Han *et al.* (2005) alcançando 0,70 kgDQO/kgSV.d, com inóculo proveniente de um reator produtor de biohidrogênio a partir de resíduos alimentares.

Apesar dos valores elevados no final da operação, esperava-se que a AME diminuísse com o aumento da concentração de glicerol residual no afluente, mas o consórcio anaeróbio dentro do reator foi capaz de alcançar valores de AME igual a 0,84 kgDQO/kgSV.d, mesmo quando a concentração de cloretos no reator foi 14.000 gCl<sup>-</sup>/L (final da Etapa III), mostrando elevada atividade do lodo até o final da pesquisa.

Riffat & Krongthamchat (2006), buscando saber qual a máxima AME sob diversas concentrações de NaCl nos frascos, conseguiram atingir aproximadamente 2,5 kgDQO/kgSV.d sob uma concentração de 30 a 35 gNaCl/L e acetato como substrato, 21 dias após o início do experimento, mostrando adaptação do lodo à elevada salinidade do meio. O valor da AME obtido por Riffat & Krongthamchat (2006) é bastante elevado se comparado à presente pesquisa e a resultados alcançados por Soto *et al.* (1993), de no máximo 1,08 kgDQO/kgSV.d, mesmo sob condições ambientais e de substrato ideais.

Siles López *et al.* (2009) testaram a AME de um lodo utilizando glicerol residual pré-tratado para remoção de impurezas como substrato e conseguiram alcançar cerca de 1,26 kgDQO/kgSV.d, valor superior à média máxima encontrada neste trabalho.

A partir dos resultados, mostrados na Figura 15c, nota-se que a AME do lodo digerindo glicerol residual se manteve, em média, 13% abaixo da AME com glicose como substrato. Isto possivelmente é devido à maior complexidade do glicerol em relação à glicose. O valor reduzido da AME, obtido na Etapa IIa (0,33 kgDQO/m<sup>3</sup>.d), é atribuído ao período em que o sistema estava operando com carga de nutrientes reduzida, mostrando que a atividade metanogênica do lodo degradando glicerol é afetada pela falta de nutrientes.

## 5.6. Produção de energia

O biogás produzido em um sistema anaeróbio digerindo glicerol residual pode ser utilizado para geração de energia térmica ou elétrica. Em uma estimativa preliminar, uma usina de biodiesel como a da Petrobrás em Quixadá produz aproximadamente 25 m<sup>3</sup>/dia de glicerol, com DQO em torno de 1.260 kg/m<sup>3</sup>. Supondo que os reatores UASB tenham eficiência de 90%, o sistema produzirá cerca de 16.128 m<sup>3</sup>/dia de biogás com aproximadamente 60% de metano. Isto é suficiente para gerar aproximadamente 3.600 kW.

Pelo menos três alternativas podem ser estudadas para uso desta energia:

- Alternativa I - Sistema de geração de energia elétrica utilizando motor de ciclo Otto alimentado com biogás: Esta alternativa tem a vantagem de gerar energia elétrica com baixo custo de investimento. No entanto, o grupo gerador com motor de ciclo Otto tem baixa eficiência (28%), necessita de sistema de lavagem de gás e tem custo de operação e manutenção elevado.
- Alternativa II - Sistema de co-geração de energia elétrica utilizando ciclo combinado Brayton e Rankine: Este sistema tem a vantagem de produzir energia elétrica e térmica com eficiência elevada (48%). No entanto os custos com investimentos são elevados devido às caldeiras especiais e turbinas.
- Alternativa III - Sistema de geração de energia térmica (produção de vapor): Este sistema produzirá apenas energia térmica que poderá ser utilizada na usina nas operações unitárias de secagem e destilação. As principais vantagens são o baixo custo de investimento e alta eficiência (85%).

A Tabela 22 apresenta um resumo das diversas premissas e resultados da análise econômica das diversas alternativas estudadas. Todo o detalhamento da análise econômica encontra-se no Anexo 1. Os resultados deste estudo mostram claramente que, se o objetivo é produção de energia elétrica, a Alternativa II é mais viável economicamente, apresentando tempo de retorno do investimento em pouco mais de 2 anos. Vale ressaltar que esta energia poderia abastecer aproximadamente 5.000 famílias (considerando consumo de 0,6 kW/dia/família). Caso o objetivo seja a produção de energia térmica para uso na própria usina, o tempo de retorno seria de apenas 1 ano, e poderia atender parte da necessidade da própria usina de biodiesel.

Caso haja necessidade de diluir o glicerol residual, sugere-se utilizar água do poço ou até mesmo despejos originados na própria indústria de biodiesel, como

mostrado na pesquisa de Siles *et al.* (2010), ao realizarem digestão anaeróbia de glicerol diluído em água de lavagem de biodiesel pré-tratada para remoção de óleo, em proporção de 1:5,6 (em termos de DQO). O glicerol utilizado neste experimento, bem como as condições experimentais, foram muito semelhantes aos dos testes realizados por Siles López *et al.* (2009). O uso de efluentes de origem doméstica também pode ser utilizado como meio de diluição do glicerol residual.

**Tabela 22** - Resumo das premissas e resultados da análise econômica das alternativas de uso da energia produzida a partir da digestão anaeróbia do glicerol.

Parâmetro	Alternativa		
	I	II	III
<b>Parâmetros fixos</b>			
Produção de glicerol (m <sup>3</sup> /dia)	25,0	25,0	25,0
DQO do glicerol (kg/m <sup>3</sup> )	1.260	1.260,0	1.260,0
COV de projeto (10 kgDQO/m <sup>3</sup> .d)	10,0	10,0	10,0
Volume do reator (m <sup>3</sup> )	3.145	3.145,1	3.145,1
Eficiência do reator	90%	0,9	0,9
Produção de biogás (m <sup>3</sup> /dia)	16.128	16.127,7	16.127,7
Teor de metano no biogás	60%	60%	60%
PCI do metano (30°C e 1 atm) (kJ/m <sup>3</sup> )	50.016	50.016,0	50.016,0
Geração de energia térmica teórica (kW)	6.246	6.246,4	6.246,4
Investimento em reatores aneróbios (R\$/m <sup>3</sup> )	1.360,00	1.360,00	1.360,00
Custo de investimento dos reatores anaeróbios (R\$)	4.277.319,24	4.277.319,24	4.277.319,24
Custo de investimento do terreno (R\$)	150.000,00	150.000,00	150.000,00
<b>Parâmetros variáveis</b>			
Eficiência do sistema de geração	28%	48%	85%
Custo de investimento com equipamentos (R\$/kW)	2.550,00	1.700,00	765,00
Custo de investimento com equipamentos diversos (R\$)	4.459.934,30	5.097.067,77	4.061.725,88
Custo com pessoal (R\$/ano)	124.488,00	124.488,00	124.488,00
Custos diversos (R\$/ano)	72.000,00	36.000,00	24.000,00
Depreciação (obras, materiais e equipamentos)	5%	5%	5%
Custo da energia (motores, iluminação, etc.) (R\$/ano)	36.000,00	36.000,00	36.000,00
Custo da energia industrial da Coelce (R\$/kWh)	0,22341	0,22341	0,22341
Receitas devido à energia proveniente do biogás (R\$/ano)	3.376.017,05	5.787.457,81	10.248.623,20
Tempo de retorno do capital investido (anos / meses)	4 / 11	2 / 4	1 / 0
Taxa interna de retorno	27,6%	52,3%	111,4%
Taxa de atratividade	15,0%	15,0%	15,0%

## 6. CONCLUSÕES

- O glicerol residual utilizado no decorrer dessa pesquisa possuía 82,4% de pureza, 10% de umidade, 46,1 gCl/L, 0,048% de metanol, 6,2% de cinzas, teor de MONG igual a 1,4, densidade absoluta de 1,26 kg/L e pH igual a 5,5. Sua DQO é 1000 gDQO/kg e DBO igual a 851 gO<sub>2</sub>/L, chegando a uma relação DBO/DQO igual a 0,68.
- O glicerol residual utilizado como alimento para o reator UASB foi 65,9% biodegradado anaerobiamente;
- O glicerol residual não foi tóxico ao lodo anaeróbio, apenas provocou uma limitação da AME inicial por ser um material de degradação mais complexa que a glicose;
- O PPM foi igual a 0,220 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgGlicerol oriundo da transesterificação de óleo de soja/algodão;
- O reator UASB de 14,85 litros pode ser operado com COV de 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, TDH de 750 horas (31dias), TRC de 4104 dias, velocidade ascendente de 0,59 m/h, alimentado com glicerol residual diluído 1:5 (DQO<sub>afI</sub> de 312 gDQO/L). Com estes parâmetros operacionais, o reator converteu 97,5% da matéria orgânica contida do afluente, produzindo 61,5 L de biogás por dia, sendo 59% dele constituído de CH<sub>4</sub>.
- Baseado na produção de biogás deste reator em escala de laboratório, estima-se que um reator em escala real de 3.150 m<sup>3</sup>, instalado em uma usina que gera 25 m<sup>3</sup> de glicerol por dia, pode produzir cerca de 16000 m<sup>3</sup> de biogás por dia e gerar cerca de 6.246 kW.
- Para produção de energia elétrica, um sistema de co-geração utilizando turbina com vapor supercrítico é mais viável economicamente, apresentando tempo de retorno do investimento em 2 anos e 4 meses. Na produção de energia térmica para uso na própria usina, o tempo de retorno do investimento é de apenas 1 ano.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES

São diversas as sugestões para trabalhos posteriores utilizando o glicerol residual na digestão anaeróbia:

- Verificar se o reator UASB visando produção de metano é capaz de operar com estabilidade sob diluição inferior à 1:5;
- Avaliar o uso de outra fonte de alcalinidade para o reator UASB degradando glicerol residual visando redução de custos com bicarbonato de sódio;
- Avaliar o uso de outras fontes de nutrientes como, por exemplo, a diluição de glicerol residual em esgoto doméstico, rico em macro e micronutrientes;
- Avaliar o uso de glicerol residual como substrato para produção de biohidrogênio (visando geração de energia) e síntese de ácidos orgânicos (para uso industrial) a partir de digestão anaeróbia.

## 8. REFERÊNCIAS

ADHIKARI, S.; FERNANDO, S. D.; HARYANTO, A. Hydrogen production from glycerol: an update. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 2600 - 2604, 2009.

AGUILAR, A.; CASAS, C.; LEMA, J. M. Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: kinetics and inhibition. **Water Research**, v.29, n. 2, p. 505 - 509, 1995.

AHRING, B. K.; SANDBERG, M.; ANGELIDAKI, I. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 559-565, 1995.

AHRING, B. K.; ALATRISTE-MONDRAGON, F.; WESTERMANN, P.; MAH, R. A. Effects of cations on *Methanosarcina thermophila* TM-1 growing on moderate concentrations of acetate: production of single cells. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 686-689, 1991.

AIYUK, S.; AMOAKO, J.; RASKIN, L.; HAANDEL, A. VAN; VERSTRAETE, W. Removal of carbon and nutrients from domestic wastewater using a low investment, integrated treatment concept. **Water research**. v. 38, n. 13, p. 3031-42, 2004.

ALDIGUIER, A. S.; ALFENORE, S.; CAMELEYRE, X.; GOMA, G; URIBELARREA, J. L.; GUILLOUET, S. E.; MOLINA-JOUVE, C. Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 26, p. 217-222, 2004.

ALVES, M. M.; VIEIRA, J. A.; PEREIRA, R. M.; PEREIRA, M. A; MOTA, M. Effects of lipids and oleic acid on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: oleic acid toxicity and biodegradability. **Water research**. v. 35, n. 1, p. 264-70, 2001.

AMON, T.; AMON, B.; KRYVORUCHKO, V.; BODIROZA, V; PÖTSCH, E; ZOLLITSCH, W. Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure : Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. **International Congress Series**, v. 1293, p. 217 - 220, 2006.

ANGELIDAKI, I.; PETERSEN, S. P.; AHRING, B.K. Effects of lipids on thermophilic anaerobic digestion and reduction of lipid inhibition upon addition of bentonite. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 469-472, 1990.

ANGELIDAKI, I; AHRING, B K. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 37, p. 808-812, 1992.

ANGELIDAKI, I; ELLEGAARD, L. Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants: status and future trends. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 109, p. 95-105, 2003.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21.ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. D. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 192-201, 2007.

ASPÉ, E.; MARTÍ, M. C.; ROECKEL, M. Anaerobic treatment of fishery wastewater using a marine sediment inoculum. **Water Research**, v. 31, n. 9, p. 2147-2160, 1997.

ASTM. **Test method for determination of free and total glycerine in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography**. D 6584-00, American Society for Testing and Materials, 2007, United States.

AIYUK, S.; AMOAKO, J.; RASKIN, L.; VAN HAANDEL, A.; VERSTRAETE, W. Removal of carbon and nutrients from domestic wastewater using a low investment, integrated treatment concept. **Water research**, v. 38, n. 13, p. 3031-42, 2004.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2002.

BARBIRATO, F.; CHEDAILLE, D.; BORIES, A. Propionic acid fermentation from glycerol: comparison with conventional substrates. **Applied Microbiology**, v. 47, p. 441-446, 1997.

BARBIRATO, F.; HIMMI, E. H.; CONTE, T.; BORIES, A. 1,3-propanediol production by fermentation: an interesting way to valorize glycerin from the ester and ethanol industries. **Industrial Crops and Products**, v. 7, n. 2-3, p. 281-289, 1998.

BENNER, R.; MACCUBBIN, A. E.; HODSON, R. E. Anaerobic biodegradation of the lignin and polysaccharide components of lignocellulose and synthetic lignin by



sediment microflora. **Applied and environmental microbiology**, v. 47, n. 5, p. 998-1004, 1984.

BIEBL, H. Fermentation of glycerol by *Clostridium pasteurianum*--batch and continuous culture studies. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 18-26, 2001.

BIEBL, H.; MENZEL, K.; ZENG, A P.; DECKWER, W. D. Microbial production of 1,3-propanediol. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 52, n. 3, p. 289-97, 1999.

BIEBL, H.; ZENG, A P.; MENZEL, K.; DECKWER, W. D. Fermentation of glycerol to 1,3-propanediol and 2,3-butanediol by *Klebsiella pneumoniae*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 24-9, 1998.

BODÍK, I.; HUTŇAN, M.; PETHEÖOVÁ, T.; KALINA, A. Anaerobic treatment of biodiesel production wastes. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION OF SOLID WASTES AND ENERGY CROPS, 5, 2008, Tunisia: **Anais...** Tunisia: Hammamet, 2008.

BOONYAKITSOMBUT, S.; KIM, M. I.; AHN, Y. H.; SPEECE, R. E. Degradation of Propionate and Its Precursors : The Role of Nutrient Supplementation. **Journal of Civil Engineering**, v. 6, n. 4, p. 379-387, 2002.

BOURNAY, L.; CASANAVE, D.; DELFORT, B.; HILLION, G.; CHODORGE, J. New heterogeneous process for biodiesel production: A way to improve the quality and the value of the crude glycerin produced by biodiesel plants. **Catalysis Today**, v. 106, n. 1-4, p. 190-192, 2005.

BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 13, n. 1, p. 1-45, 1951.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Portaria Ministerial nº 702, de 30 de outubro de 2002. Institui o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel - PROBIODIESEL, com o intuito de promover o desenvolvimento científico e tecnológico de biodiesel, a partir de ésteres etílicos de óleos vegetais puros e/ou residuais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 06/11/2002, s.1, p.23. 2002.

BRASIL. Lei n.º 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 14/01/2005, n.10, s.1, p.8. 2005.

BRASIL. Resolução de 13 de março de 2008. Estabelece em três por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, nos termos do art. 2º da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 14/03/2008, n.51, s.1, p.82. 2008.

BRASIL. Resolução nº 2, de 27 de abril de 2009. Estabelece em quatro por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, de acordo com o disposto no art. 2º da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 18/05/2009, n.92, s.1, p.90. 2009a.

BRASIL. Resolução nº 6, de 16 de setembro de 2009. Estabelece em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, de acordo com o disposto no art. 2º da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 26/10/2009, n.204, s.1, p.99. 2009b.

BUCHAUER, K. A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to waste-water and sludge treatment processes. **Water S.A**, v. 24, n. 1, p. 49-56, 1998.

BUSWELL, A. M.; MUELLEPI, H. F. Mechanism of methane fermentation. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 550-552, 1952.

CARMONA, M.; VALVERDE, J. L.; PÉREZ, A.; WARCHOL, J.; RODRIGUEZ, J. F. Purification of glycerol/water solutions from biodiesel synthesis by ion exchange: sodium removal Part I. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 84, n. 5, p. 738-744, 2009.

CASTRO, H.; QUEIROLO, M.; QUEVEDO, M.; MUXÍ, L. Preservation methods for the storage of anaerobic sludges. **Biotechnology Letters**, v. 24, p. 329-333, 2002.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated application of the UASB reactor and ponds for domestic sewage treatment in tropical regions**. 2003. 141. f. Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands., 2003.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4044-64, 2008.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores Anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 1997.

CHIU, C. W.; DASARI, M. A.; SUTTERLIN, W. R.; SUPPES, G. J. A. Removal of residual catalyst from simulated biodiesel's crude glycerol for glycerol hydrogenolysis to propylene glycol. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, p. 791-795, 2006.

CHOI, E.; RIM, J. M. Competition and inhibition of sulphate reducers and methane producers in anaerobic treatment. **Water Science & Technology**, v. 23, n. 7/9, p. 1259-1264, 1991.

CONTRIM, L. H. B. **ASBR aplicado ao tratamento de efluente do processo de produção de biodiesel**. 2009. 171 p. Dissertação de Mestrado - Escola de Engenharia Mauá, Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, Brasil, 2009.

DAMASCENO, L. H. S.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, E M; ZAIAT, M; FORESTI, E. Effect of bicarbonate alkalinity on gravimetric solids analysis in anaerobic wastewater treatment. **Interciencia**, v. 32, n. 9, p. 610-614, 2007.

DAUN, L. G.; MESQUITA, R. A. C.; KIMURA, R. K.; GONÇALVES, A. C.; RAMOS, R. A. V. Alternativa para o uso do glicerol obtido da produção de Biodiesel em biodigestores anaeróbios como otimizador da produção de biogás. In: THE LATIN-AMERICAN CONGRESS ON ELECTRICITY GENERATION AND TRANSMISSION – CLAGTEE, 8, 2009, Ubatuba, Brazil. **Anais...** Ubatuba, 2009, p.1-5.

DEMIRER, G. N.; DURAN, M.; ERGÜDER, T. H.; GÜVEN, E; UGURLU, Ö; ULAS, T. Anaerobic treatability and biogas production potential studies of different agro-industrial wastewaters in Turkey. **Biodegradation**, v. 11, p. 401-405, 2000.

DHARMADI, Y.; MURARKA, A.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol by *Escherichia coli*: a new platform for metabolic engineering. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 94, p. 821-829, 2006.

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

DOUDOROFF, M. Experiments on the adaptation of *Escherichia coli* to sodium chloride. **The Journal of general physiology**, v. 23, n. 5, p. 585-611, 1940.

ELEAZER, W. E.; ODLE, W. S.; WANG, Y.-S.; BARLAZ, M. A. Biodegradability of Municipal Solid Waste Components in Laboratory-Scale Landfills. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 3, p. 911-917, 1997.

FANG, H. H. P.; LI, Y. Y.; CHUI, H. K. UASB treatment of wastewater with concentrated mixed VFA. **Journal of Environmental Engineering**, v. 121, n. 2, p. 153-160, 1995.

FEIJOO, G.; SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: Antagonism and adaptation phenomena. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 180-188, 1995.

FERNANDES, T. V. **Hydrolysis inhibition of complex biowaste**, 2010. 176p. Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2010

FORESTI, E. Fundamentos do processo de digestão anaeróbio. In: M. Muxi (Ed.). **Tratamento anaeróbio**. Montevideo: Universidad de la Republica. p.97-110, 1994.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M. Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 5, n. 1, p. 3-19, 2006.

FORESTI, E. Anaerobic treatment of domestic sewage: established technologies and perspectives. **Water science and technology**, v. 45, n. 10, p. 181-6, 2002.

FORREST, A. K.; SIERRA, R.; HOLTZAPPLE, M. T. Effect of biodiesel glycerol type and fermentor configuration on mixed-acid fermentations. **Bioresource technology**, v. 101, p. 9185-9, 2010.

FOUNTOULAKIS, M. S.; MANIOS, T. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. **Bioresource technology**, v. 100, n. 12, p. 3043-7, 2009.

FOUNTOULAKIS, M. S.; PETOUSHI, I.; MANIOS, T. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. **Waste Management**, v. 30, n. 10, p. 1849-1853, 2010.

FRANKIN, R. J. Full-scale experiences with anaerobic treatment of industrial wastewater. **Water Science & Technology**, v. 44, n. 8, p. 1-6, 2001.

GALBRAITH, H.; MILLER, T. B.; PATON, A. M.; THOMPSON, J. K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol. **The Journal of applied bacteriology**, v. 34, n. 4, p. 803-13, 1971.

GALLERT, C.; WINTER, J. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: effect of ammonia on glucose degradation and methane production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 48, p. 405-410, 1997.

GAVALA, H. N.; ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K. Kinetics and modeling of anaerobic digestion process. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 81, p. 57-93, 2003.

GUERRERO, L.; OMIL, F.; MENDEZ, R.; LEMA, J. M. Treatment of saline wastewaters from fish meal factories in an anaerobic filter under extreme ammonia concentrations. **Bioresour. Technol**, v. 6, n. 1, p. 69-78, 1996.

GUNASEELAN, N.; V. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. **Biomass & Bioenergy**, v. 26, p. 389-399, 2004.

GUWY, A. J. Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. **Reviews in Environmental Science & Bio/Technology**, v. 3, n. 2, p. 131-139, 2004.

GÄTGENS, C.; DEGNER, U.; BRINGER-MEYER, S.; HERRMANN, U. Biotransformation of glycerol to dihydroxyacetone by recombinant *Gluconobacter oxydans* DSM 2343. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 76, n. 3, p. 553-9, 2007.

HAN, S.-K.; KIM, S.-H.; SHIN, H.-S. UASB treatment of wastewater with VFA and alcohol generated during hydrogen fermentation of food waste. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2897-2905, 2005.

HANAKI, K.; MATSUO, T.; NAGASE, M. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 23, p. 1591-1610, 1981.

HAZIMAH, A. H.; OOI, T. L.; SALMIAH, A. Recovery of glycerol and diglycerol from glycerol pitch recovery of glycerol and diglycerol from glycerol pitch. **Journal of Oil Palm Research**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2003.

HICKEY, R. F.; SWITZENBAUM, M. S. Thermodynamics of volatile fatty acid accumulation in anaerobic digesters subject to increases in hydraulic and organic loading. **Research Journal of the Water Pollution**, v. 63, n. 2, p. 141-144, 1991.

HIMMI, E. H.; BORIES, A.; BOUSSAID, A.; HASSANI, L. Propionic acid fermentation of glycerol and glucose by *Propionibacterium acidipropionici* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*. **Applied Microbiology**, v. 53, p. 435-440, 2000.

HOLM-NIELSEN, J. B.; LOMBORG, C. J.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; ESBENSEN, K. H. On-line near infrared monitoring of glycerol-boosted anaerobic digestion processes: evaluation of process analytical technologies. **Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 302-313, 2008.

HOLST, B.; LUNDE, C.; LAGES, F.; OLIVEIRA, R.; LUCAS, C. GUP1 and its close homologue GUP2, encoding multi-membrane-spanning proteins involved in active glycerol uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 108-124, 2000.

HULSHOFF POL, L. W.; CASTRO LOPES, S. I. DE; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. Anaerobic sludge granulation. **Water research**, v. 38, n. 6, p. 1376-89, 2004.

HULSHOFF POL, L. W.; LENS, P. N.; STAMS, A J M; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. **Biodegradation**, v. 9, n. 3-4, p. 213-24, 1998.

HUTŇAN, M.; KOLESÁROVÁ, N.; BODÍK, IGOR; ŠPALKOVÁ, V.; LAZOR, M. Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production. In: MARKOS, J. (ed.). INTERNATIONAL CONFERENCE OF SLOVAK SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING, 36, 2009. Tatranske. **Anais...** „Tatranské Matliare: Slovak Society of Chemical Engineering, 2009.p.156-1 - 156-13.

HWU, C.-S.; DONLON, B.; LETTINGA, G. Comparative toxicity of long-chain fatty acid to anaerobic sludges from various origins. **Wat. Sci. Tech.**, v. 34, n. 5-6, p. 351-358, 1996.

HWU, C.; BEEK, B. V.; LIER, J. B. V.; LETTINGA, G. Thermophilic high-rate anaerobic treatment of wastewater containing long-chain fatty acids : effect of washed out biomass recirculation. **Biotechnology letters**, v. 19, n. 5, p. 453-456, 1997.

HWU, C.; TSENG, S.-K.; YUAN, C.-Y.; KULIK, Z.; LETTINGA, G. Biosorption of long-chain fatty acids in UASB treatment process. **Wat. Res.**, v. 32, n. 5, p. 1571-1579, 1998.

INCE, O. Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater. **Wat. Res.**, v. 32, n. 9, p. 2707-2713, 1998.

INCE, O.; ANDERSON, G. K.; KASAPGIL, B. Control of organic loading rate using the specific methanogenic activity test during start-up of an anaerobic digestion system. **Water Research**, v. 29, n. 1, p. 349-355, 1995.

ISA, Z.; GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects. **Applied and environmental microbiology**, v. 51, n. 3, p. 572-579, 1986.

ITO, T.; NAKASHIMADA, Y.; SENBA, K.; MATSUI, T.; NISHIO, N. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **J. Biosci. Bioeng.**, v. 100, n. 3, p. 260-265, 2005.

JARVIS, G. N.; MOORE, E. R.; THIELE, J. H. Formate and ethanol are the major products of glycerol fermentation produced by a *Klebsiella planticola* strain isolated from red deer. **Journal of applied microbiology**, v. 83, p. 166-74, 1997.

JAWED, M.; TARE, V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. **WaterSA**, v. 25, n. 3, p. 345-350, 1999.

JENSEN, A. B.; WEBB, C. Treatment of H<sub>2</sub>S-containing gases: A review of microbiological alternatives. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 2-10, 1995.

JERIS, J. S.; McCARTY, P. L. The biochemistry of methane fermentation using C<sup>14</sup> tracers. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 37, n. 2, p. 178-192, 1965.

KARGI, F.; DINÇER, A. R. Salt inhibition effects in biological treatment of saline wastewater in rbc. **Journal of Environmental Engineering**, v. 125, p. 966-971, 1999.

KARHADKAR, P. P.; AUDIC, J.-M.; FAUP, G. M.; KHANNA, P. Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. **Water Research**, v. 21, n. 9, p. 1061-1066, 1987.

KIM, M.; AHN, Y.-H.; SPEECE, R. E. Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs. thermophilic. **Water Research**, v. 36, p. 4369-4385, 2002.

KOLESÁROVÁ, N.; HUTŇAN, MIROSLAV; ŠPALKOVÁ, V.; LAZOR, M. Biodiesel by-products as potential substrates for biogas production. In: MARKOS, J. (ed.). In: 37th INTERNATIONAL CONFERENCE OF SSCHE, 37, 2010, Tatranske. **Anais...** . Tatranské Matliare, Slovakia: Slovak Society of Chemical Engineering Institute of Chemical and Environmental Engineering Slovak University of Technology, p.1126-1139, 2010.

KOSTER, I. W.; CRAMER, A. Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long-chain fatty acids. **Applied and environmental microbiology**, v. 53, n. 2, p. 403-9, 1987.

LALMAN, J. A.; BAGLEY, D. M. Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. **Water research**, v. 35, n. 12, p. 2975-83, 2001.

LALMAN, J. A.; KOMJAROVA, I. Impact of long chain fatty acids on glucose fermentation under mesophilic conditions. **Environmental Technology**, v. 25, n. 4, p. 391-401, 2004.

LALMAN, J.; BAGLEY, D. M. Anaerobic degradation and inhibitory effects of linoleic acid. **Water Research**, v. 34, n. 17, p. 4220-4228, 2000.

LECLERC, M.; DELBES, C.; MOLETTA, R.; GODON, J.-J. Single strand conformation polymorphism monitoring of 16S rDNA *Archaea* during start-up of an anaerobic digester. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 34, n. 3, p. 213-220, 2001.

LEE, P. C.; LEE, W. G.; LEE, S. Y.; CHANG, H. N. Succinic acid production with reduced by-product formation in the fermentation of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* using glycerol as a carbon source. **Biotechnology and bioengineering**, v. 72, n. 1, p. 41-8, 2001.

LEITÃO, R. C.; ARAÚJO, A. M.; FREITAS-NETO, M. A.; ROSA, M. F.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic treatment of coconut husk liquor for biogas production. **Water science and technology**, v. 59, n. 9, p. 1841-6, 2009.



LETTINGA, G; HULSHOF POL, L. W.; ZEEMAN, G. Biological wastewater treatment. Part I: Anaerobic wastewater treatment. Lectures notes. Wageningen, The Netherlands: Wageningen University, 1999.

LETTINGA, G; VELSEN, A. F. M. VAN; HOBMA, S. W.; ZEEUW, W. DE; KLAPWIJK, A. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and bioengineering**, v. 22, p. 699-734, 1980.

LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y.; BLACKBURN, J. W. Batch stage study of lipid production from crude glycerol derived from yellow grease or animal fats through microalgal fermentation. **Bioresource technology**, v. 101, n. 17, p. 6745-50, 2010.

LOBATO, A.; CUETOS, M. J.; GÓMEZ, X.; MÓRAN, A. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 59-68, 2010.

LYBERATOS, G.; SKIADAS, I. V. Modelling of anaerobic digestion: a review. **Global Nest: the Int. J.**, v. 1, n. 2, p. 63-76, 1999.

LÓPES, F. D.; REVILLA, J. L. G.; MUNILLA, M. H. **Manual de derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço do melaço, outros derivados, resíduos, energia.** Distrito Federal: Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados da Cana-de-açúcar (ICIDCA), 1999.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.

MA, J.; VAN WAMBEKE, M.; CARBALLA, M.; VERSTRAETE, W. Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB reactor by co-digestion with glycerol. **Biotechnology letters**, v. 30, p. 861-867, 2008.

MAGASANIK, B.; BROOKE, M. S.; KARIBIAN, D. Metabolic pathways of glycerol dissimilation a comparative study of two strains of aerobacter aerogenes treating barium-L-a-glycerophosphate. **J Bacteriol**, v. 66, p. 611-19, 1953.

MAILLACHERYVU, K. Y.; PARKIN, G. F. Kinetics of growth, substrate utilization and of sulfide toxicity for propionate, acetate, and hydrogen utilizers in anaerobic systems. **Water**, v. 68, n. 7, p. 1099-1106, 1996.

MARAIS, G. V. R.; EKAMA, G. A. The activated sludge process. Part 1- Steady state behaviour. **Water S.A.**, v. 2, n. 4, p. 163-200, 1976.

McCARTNEY, D. M.; OLESZKIEWICZ, J. A. Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD: sulfate ratio and acclimation. **Water Environment Research**, v. 65, n. 5, p. 655-664, 1993.

McCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals: part one: Chemistry and Microbiology. **Public Works**, v. 95, p. 107-112, 1964a.

McCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals: part two: environmental requirements and control. **Public Works**, v. 95, p. 123-126, 1964b.

METCALF & EDDY. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. Metcalf & Eddy Inc., 2003.

MICHAUD, S.; BERNET, N.; BUFFIÈRE, P.; DELGENÈS, J. P. Use of the methane yield to indicate the metabolic behaviour of methanogenic biofilms. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2751-2755, 2005.

MIDDLETON, A. C.; & LAWRENCE, A. W. Kinetics of microbial sulfate reduction. **Water Pollution Control Federation**, v. 49, n. 7, p. 1659-1670, 1977.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. DA; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

NAJAFPOUR, G. D.; ZINATIZADEH, A. A. L.; MOHAMED, A. R.; HASNAIN ISA, M.; Nasrollahzadeh. High-rate anaerobic digestion of palm oil mill effluent in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 370-379, 2006.

OMIL, F; MÉNDEZ, R; LEMA, J M. Anaerobic treatment of saline wastewaters under high sulphide and ammonia content. **Bioresource Technology**, v. 54, n. 3, p. 269-278, 1995.

OMIL, F.; MENDEZ, RAMON; LEMA, JUAN M. Anaerobic treatment of seafood processing waste waters in an industrial anaerobic pilot plant. **WaterSA**, v. 22, n. 2, p. 173-182, 1996.

OOI, T. L.; YONG, K. C.; HAZIMAH, A. H.; DZULKEFLY, K.; WAN YUNUS, W. M. Z. Glycerol residue: a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. **Journal of oleo science**, v. 53, n. 1, p. 29-33, 2004.

PABÓN PEREIRA, C. P. **Anaerobic digestion in sustainable biomass chains**, 2009. 262f. Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2009.

PACHAURI, N.; HE, B. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities. In: ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 2006. Oregon. **Anais...** .. Oregon: American Society of Agricultural and Biological Engineers. p.1-16, 2006

PAPANIKOLAOU, S.; FAKAS, S.; FICK, M., CHEVALOT, I.; GALIOTOUPANAYOTOU, M.; KOMAITIS, M; MARC, I.; AGGELIS, G. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 1, p. 60-71, 2008.

PASSWATER, R. A. **Fish oil update**. New Canaan, CT: Keats, 1987.

PAVLOSTATHIS, S. G.; GIRALDO-GOMEZ, E. Kinetics of anaerobic treatment. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 8, p.35-39, 1991.

PEREIRA, M A; MOTA, M; ALVES, M. M. Degradation of oleic acid in anaerobic filters: effect of inoculum acclimatization and biomass recirculation. **Water Environ. Res.**, v. 73, n. 5, p. 612-621, 2001a.

PEREIRA, M A; PIRES, O. C.; MOTA, M; ALVES, M. M. Sequencing adsorption and degradation cycles towards the methanization of long chain fatty acids: comparison between granular and suspended sludge. In: T. Instituut (Ed.). WORLD CONGRESS ON ANAEROBIC DIGESTION, 9, 2001, Belgium. **Anais...** . Antwerpen, Belgium. v. 4, p.605-610, 2001b.

PEREIRA, M A; PIRES, O. C.; MOTA, M; ALVES, M. M. Anaerobic degradation of oleic acid by suspended and granular sludge: identification of palmitic acid as a key intermediate. **Water science and technology**, v. 45, n. 10, p. 139-44, 2002a.

PEREIRA, M. A.; ROEST, K.; STAMS, A. J. M, MOTA, M.; ALVES, M.; AKKERMANS, A.D.L. Molecular monitoring of microbial diversity in expanded granular sludge bed (EGSB) reactors treating oleic acid. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 41, n. 2, p. 95-103, 2002b.

PEREIRA, M. A. A. DE S. **Degradação de ácido oléico em filtro anaeróbio: efeito da adaptação do inóculo e da recirculação da biomassa**, 1998. 102f. MSc. thesis, Universidade do Minho, 1998.

PYLE, D. J. **Use of biodiesel-derived crude glycerol for the production of Omega-3 polyunsaturated fatty acids by the microalga *Schizochytrium limacinum***, 2008. 72f. MSc. thesis, State University of Virginia, Blacksburg, VA, 2008.

PYLE, D.; WEN, Z. Production of Omega-3 Fatty Acid-Rich Microalgae from Biodiesel Derived Crude Glycerol: Effects of Glycerol Impurities on Algal Growth and DHA Production. ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING. 2008, Providence. **Anais....**, Providence, RI: ASABE, 2008 p.1-12

QATIBI, A.-I.; BORIES, ANDRÉ; GARCIA, J.-L. Sulfate reduction and anaerobic glycerol degradation by a mixed microbial culture. **Current Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 47-52, 1991.

RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V. V. N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, p.135-156, 2000.

REHMAN, A.-U; SAMAN WIJESEKARA, R. G.; NOMURA, N.; SATO, S.; MATSUMURA, M. Pre-treatment and utilization of raw glycerol from sunflower oil biodiesel for growth and 1,3-propanediol production by *Clostridium butyricum*. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 1080, p. 1072-1080, 2008.

RIFFAT, R.; KRONGTHAMCHAT, K. Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater. **International journal of Environmental Science and Technology**, v. 2, n. 4, p. 291-299, 2006.

RINZEMA, A; ALPHENAAR, P. A.; LETTINGA, G. Anaerobic digestion of long chain fatty acids in UASB-reactors and expanded granular sludge bed reactors. **Process Biochem.**, v. 28, p. 527-537, 1993.

RINZEMA, A.; BOONE, M.; KNIPPENBERG, K. V.; LETTINGA, G. Bactericidal effect of long chain fatty acids in anaerobic digestion. **Environmental Research**, v. 66, n. 1, p. 40-49, 1994.

RINZEMA, ARJEN; LETTINGA, GATZE. Anaerobic treatment of sulfate-containing waste water. In: D. L. Wise (ed.). **Biotreatment Systems**. v.3, p.65-109, 1988

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. **Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

ROY, F.; ALBAGNAC, G.; SAMAIN, E. Influence of calcium addition on growth of highly purified syntrophic cultures degrading long-chain fatty acids. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 702-705, 1985.

RYWIŃSKA, A.; RYMOWICZ, W.; ZAROWSKA, B.; WOJTATOWICZ, M. Biosynthesis of citric acid from glycerol by acetate mutants of *yarrowia lipolytica* in fed-batch fermentation. **Food Technol. Biotechnol.**, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2009.

SCARAMUZZO, M. **Consumo de biodiesel cresce no país**. 2011. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/consumo-biodiesel-cresce-pais-270111.htm>. Acesso em: 02/02/2011

SAATCI, Y.; ARSLAN, E. I.; KONAR, V. Removal of total lipids and fatty acids from sunflower oil factory effluent by UASB reactor. **Bioresource technology**, v. 87, n. 3, p. 269-72, 2003.

SCHAUDER, R.; SCHINK, B. *Anaerovibrio glycerini* sp. nov., an anaerobic bacterium fermenting glycerol to propionate, cell matter, and hydrogen. **Archives of Microbiology**, v. 152, n. 1989, p. 473-478, 1989.

SCHÜLLER, H.-J. Transcriptional control of nonfermentative metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Current genetics**, v. 43, n. 3, p. 139-60, 2003.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review : The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource technology**, v. 65, n. 3, p. 175-190, 1998.

SHELTON, D. R.; TIEDJE, J. M. General method for determining anaerobic biodegradation potential. **Applied and environmental microbiology**, v. 47, n. 4, p. 850-7, 1984.

SHIN, H.; KIM, S. H.; LE, C. Y.; NAM, S. Y. Inhibitory effects of long-chain fatty acids on VFA degradation and beta-oxidation. **Water science and technology**, v. 47, n. 10, p. 139-46, 2003.

SHOW, K.-Y.; WANG, Y.; FOONG, S.-F.; TAY, JOO-HWA. Accelerated start-up and enhanced granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactors. **Water research**, v. 38, p. 2292-2304, 2004.

SILES LÓPEZ, J. A.; MARTÍN SANTOS, M. D. L. A.; CHICA PÉREZ, A. F.; MARTÍN MARTÍN, A. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource technology**, v. 100, n. 23, p. 5609-15, 2009.

SILES, J. A.; MARTÍN, M. A.; CHICA, A. F.; MARTÍN, A. Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource technology**, v. 101, n. 16, p. 6315-6321, 2010..

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999

SILVA, G. P. DA; MACK, M.; CONTIERO, J. Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology advances**, v. 27, n. 1, p. 30-9, 2009.

SINGH, R.; KUMAR, S.; OJHA, C.S.P. Nutrient requirement for UASB process: a review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 3, n. 1, p. 35-54, 1999.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Biodegradability and toxicity in the anaerobic treatment of fish canning wastewaters. **Environmental Technology**, v. 12, p. 669-677, 1991.

SOTO, M; MÉNDEZ, R; LEMA, J M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Wat. Res.**, v. 27, n. 8, p. 1361-1376, 1993.

SPEECE, R. A survey of municipal anaerobic sludge digesters and diagnostic activity assays. **Water Research**, v. 22, n. 3, p. 365-372, 1988.

SPEECE, R.; PARKIN, G.; GALLAGHER, D. Nickel stimulation of anaerobic digestion. **Water Research**, v. 17, n. 6, p. 677-683, 1983.

SUEHARA, K.-I.; KAWAMOTO, Y.; FUJII, E.; KOHDA, J.; NAKANO, Y.; YANO, T. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 4, p. 437-42, 2005.

TAHERZADEH, M. J.; ADLER, L.; LIDÉN, G. Strategies for enhancing fermentative production of glycerol: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 53-66, 2002.

THOMPSON, J. C.; HE, B. B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 22, n. 2, p. 261-265, 2006.

VALLERO, M. V. G.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. Long-term adaptation of methanol-fed thermophilic (55°C) sulfate-reducing reactors to NaCl. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 375-82, 2003a.

VALLERO, M.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. Effect of NaCl on thermophilic (55°C) methanol degradation in sulfate reducing granular sludge reactors. **Water Research**, v. 37, n. 10, p. 2269-2280, 2003b.

VAN HAANDEL, A. C. Influence of the digested COD concentration on the alkalinity requirement in anaerobic digesters. **Water Science & Technology**, v. 30, n. 8, p. 23-34, 1994.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, GATZE. **Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente**. Campina Grande: Epgraf, 1994.

VIJAYARAGHAVAN, K.; RAMANUJAM, T. K. Effect of chloride and condensable tannin in anaerobic degradation of tannery wastewaters. **Bioprocess Engineering**, v. 20, n. 6, p. 499, 1999.

VOEGELE, R. T.; SWEET, G. D.; BOOS, W. Glycerol kinase of *Escherichia coli* is activated by interaction with the glycerol facilitator. **J Bacteriol**, v. 175, p. 1087-1094, 1993.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos de tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 1996.

VYRIDES, I.; SANTOS, H.; MINGOTE, A.; RAY, M. J.; STUCKEY, D. C. Are compatible solutes compatible with biological treatment of saline wastewater? Batch and continuous studies using submerged anaerobic membrane bioreactors (SAMBRs). **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 19, p. 7437-42, 2010.

VYRIDES, I.; STUCKEY, D. C. Enzyme and microbial technology adaptation of anaerobic biomass to saline conditions: role of compatible solutes and extracellular polysaccharides. **Journal Of Bacteriology**, v. 44, p. 46-51, 2009.

WANG, Q.; KUNINOBU, M.; OGAWA, H. I.; KATO, Y. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, v. 16, p. 407-416, 1999.

WANG, Z. X.; ZHUGE, J.; FANG, H.; PRIOR, B. A. Glycerol production by microbial fermentation: a review. **Biotechnology Advances**, v. 19, n. 3, p. 201-23, 2001.

WENG, C.; JERIS, J. Biochemical mechanisms in the methane fermentation of glutamic and oleic acids. **Water Research**, v. 10, n. 1, p. 9-18, 1976.

WETHMAR, M.; DECKWER, W.-D. Semisynthetic culture medium for growth and dihydroxyacetone production by *Gluconobacter oxydans*. **Biotechnology Techniques**, v. 13, p. 283-287, 1999.

WOHLGEMUT, O. **Co-Digestion of hog manure with glycerol to boost biogas and methane production**, 2009, 90p. MSc. Thesis, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, 2009.

XIANGWEN, S.; DANGCONG, P.; ZHAOHUA, T.; XINGHUA, J. Treatment of brewery wastewater using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3182-6, 2008.

YAN, Y.-G.; TAY, J.-H. Characterisation of the granulation process during UASB start-up. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1573-1580, 1997.

YANG, Y.; TSUKAHARA, K.; SAWAYAMA, S. Biodegradation and methane production from glycerol-containing synthetic wastes with fixed-bed bioreactor under mesophilic and thermophilic anaerobic conditions. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 4, p. 362-367, 2008.

YAZDANI, S. S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 18, p. 213-219, 2007.



YONG, K. C.; OOI, T. L.; DZULKEFLY, K.; WANYUNUS, W. M. Z.; HAZIMAH, A. H. Characterization of glycerol residue from a palm kernel oil methyl ester plant. **Journal of Oil Palm Research**, v. 13, n. 2, p. 1-6, 2001.

ZHANG, A.; YANG, S.-T. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 1346-1351, 2009.

ZHANG, G.; MA, B.; XU, X.; LI, C.; WANG, L. Fast conversion of glycerol to 1,3-propanediol by a new strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 3, p. 256-260, 2007.

ZHANG, Y.; DUBÉ, M. A.; MCLEAN, D. D.; KATES, M. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 1-16, 2003.

## 9. ANEXO A – ANÁLISE ECONÔMICA DAS ALTERNATIVAS PARA USO DA ENERGIA PRODUZIDA PELO BIOGÁS GERADO

Este anexo foi destinado ao estudo da possibilidade de uso para a energia produzida a partir do glicerol oriundo do biodiesel. Levou-se em consideração o volume de glicerol produzido em uma usina semelhante à UBQ (Usina de Biodiesel de Quixadá), localizada no município de Quixadá, Ceará, pertencente à Petróleo Brasileiro S.A. – Petrobras.

Um reator do tipo UASB foi dimensionado, e estimou-se a produção de biogás a partir dos resultados obtidos nesta pesquisa (COV, eficiência de conversão em biogás, percentual de metano no biogás).

Foram estudadas três alternativas de uso para a energia produzida a partir do glicerol oriundo do biodiesel: (i) Alternativa I - Sistema de geração de energia elétrica utilizando motor de ciclo Otto alimentado com biogás; (ii) Alternativa II - Sistema de co-geração de energia elétrica utilizando ciclo combinado Brayton e Rankine; (iii) Alternativa III - Sistema de geração de energia térmica (produção de vapor).

A análise econômica foi baseada na taxa interna de retorno (TIR) e o valor presente líquido (VPL). Será empregado também o custo periódico, tempo de retorno de capital. A análise buscou identificar o lucro ou se a taxa de retorno é maior do que a taxa de atratividade.

O dimensionamento do reator anaeróbio foi baseado na carga orgânica volumétrica, conforme Equação 14.

$$COV = \frac{DQO_{Afl} \times Q}{V_{reator}} \dots\dots\dots (Eq. 14)$$

Durante a pesquisa, o reator foi operado com carga orgânica de 10 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Como foi possível operar o reator de maneira estável com diluição do glicerol de 1:5 (eficiência de 90%), a concentração de DQO no afluente foi adotada como sendo 252 kg/m<sup>3</sup>. A produção de glicerol na UBQ é de 25 m<sup>3</sup>/d, fazendo com que a vazão afluente diária seja igual a 125 m<sup>3</sup>/d. Com isto o volume do reator será de 3.145 m<sup>3</sup>.

A produção de biogás foi calculada através da equação de balanço de massa (Equação 18).

$$Q_{\text{Afl}} \times \text{DQO}_{\text{Afl}} = (Q_{\text{En}} \times \text{DQO}_{\text{En}}) + (Y \times Q_{\text{Afl}} \times \text{DQO}_{\text{Afl}}) + \left[ \frac{Q_{\text{Biogas}} \times \% \text{CH}_4}{\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{\text{CNTP}} \times (273 + T) / (273 \times \text{Atm})} \right] \dots \dots (\text{Eq. 18})$$

Para a estimativa de produção de energia, considerou que o Poder Calorífico Inferior (PCI) do metano é de 50.016 kJ/kg em CNTP. Para um biogás com 60% de metano, 30°C e 1 atm, o PCI será de 30.010 kJ/kg.

A seguir é apresentado o estudo econômico das alternativas de uso desta energia. Para todas as alternativas, consideraram-se as seguintes premissas:

- Produção de glicerol na UBQ da Petrobras = 25,0 m<sup>3</sup>/dia
- DQO do glicerol sem diluição = 1.260 (kg/m<sup>3</sup>)
- Vazão afluyente com diluição de 1:5 = 125 m<sup>3</sup>/dia
- DQO do glicerol diluído = 252 kg/m<sup>3</sup>
- COV de projeto = 10,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d
- Volume do reator (conforme calculado anteriormente) = 3.145 m<sup>3</sup>
- Eficiência do reator = 90%
- Produção de biogás = 16.128 m<sup>3</sup>/dia
- Teor de metano no biogás = 60%
- PCI do biogás (30°C e 1 atm) (KCal/m<sup>3</sup>) = 30.010 kJ/kg
- Geração de energia teórica = 6.246 kW
- Custo dos Reatores Anaeróbios (CHERNICHARO, 1997; VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994) = 1.360,00 R\$/m<sup>3</sup>
- Custo de invest. reatores anaeróbios (custo/m<sup>3</sup> x volume do reator) = 4.277.319,24 R\$
- Custo de investimento do terreno (estimado) = 150.000,00 R\$

### **9.1. Alternativa I - Sistema de geração de energia elétrica utilizando motor de ciclo Otto alimentado com biogás**

Esta alternativa tem a vantagem de gerar energia elétrica com baixo custo de investimento. No entanto, o grupo gerador com motor de ciclo Otto tem baixa eficiência

(25%), necessita de sistema de lavagem de gás e tem custo de operação e manutenção elevado.

**Considerações:**

- Eficiência do sistema de geração = 25%
- Custo de investimento com equipamentos para produção de energia = 1.500,00 US\$/kW
- Considerar 1,7 R\$/US\$
- Custo de investimento com equipamentos para produção de energia = R\$ 4.459.934,30
- Custo de pessoal: 1 Engenheiro com salário de R\$ 3.000,00 e 2 operários com salário de R\$ 1.160,00, incluindo encargos trabalhistas) = 124.488,00 R\$/ano
- Custos diversos (estimado) = 72.000,00 R\$/ano
- Depreciação dos investimentos (obras, materiais e equipamentos) = 5%
- Custo da energia (motores, iluminação, etc.) (estimado) = 36.000,00 R\$/ano
- Custo da energia industrial da Coelce = 0,22341 R\$/kWh
- Receitas devido à energia proveniente do biogás = 3.376.017,05 R\$/ano
- Taxa de atratividade = 15,0%

**Resultados:**

- Tempo de retorno do capital investido = 4 anos e 11 meses
- Taxa Interna de Retorno = 27,6%

**9.2. Alternativa II - Sistema de co-geração de energia elétrica utilizando turbina com vapor supercrítico**

Este sistema tem a vantagem de produzir energia elétrica e térmica com eficiência elevada (48%). No entanto os custos com investimentos são elevados devido às caldeiras especiais e turbinas.

**Considerações:**

- Eficiência do sistema de geração = 48%
- Custo de investimento com equipamentos diversos (estimado) = 5.097.067,77 R\$

- Custo de pessoal: 1 Engenheiros com salário de R\$ 3.000,00 e 2 operários com salário de R\$ 1.160,00, incluindo encargos trabalhistas = 124.488,00 R\$/ano
- Custos diversos (estimado) = 36.000,00 R\$/ano
- Depreciação dos investimentos (obras, materiais e equipamentos) = 5%
- Custo da energia (motores, iluminação, etc.) (estimado) = 36.000,00 R\$/ano
- Custo da energia industrial da Coelce = 0,22341 R\$/kWh
- Receitas devido à energia proveniente do biogás = 5.787.457,81 R\$/ano
- Taxa de atratividade = 15,0%

#### **Resultados:**

- Tempo de retorno do capital investido = 2 anos e 4 meses
- Taxa Interna de Retorno = 52,3%

### **9.3. Alternativa III - Sistema de geração de energia térmica (produção de vapor)**

Este sistema produzirá apenas energia térmica que poderá ser utilizada na usina nas operações unitárias de secagem e destilação. As principais vantagens são o baixo custo de investimento e alta eficiência.

#### **Considerações:**

- Eficiência do sistema de geração = 85%
- Custo de investimento com equipamentos diversos (estimado) = 4.061.725,88 R\$
- Custo de pessoal: 1 Engenheiro com salário de R\$ 3.000,00 e 2 operários com salário de R\$ 1.160,00, incluindo encargos trabalhistas) = 124.488,00 R\$/ano
- Custos diversos (estimado) = 36.000,00 R\$/ano
- Depreciação dos investimentos (obras, materiais e equipamentos) = 5%
- Custo da energia (motores, iluminação, etc.) (estimado) = 36.000,00 R\$/ano
- Custo da energia industrial da Coelce = 0,22341 R\$/kWh
- Receitas devido à energia proveniente do biogás = 10.248.623,20 R\$/ano
- Taxa de atratividade = 15,0%

**Resultados:**

- Tempo de retorno do capital investido = 1 ano
- Taxa Interna de Retorno = 111,4%









