UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E SANEAMENTO

ANDREZA NATALINE SIMÕES

PROCESSAMENTO DO GLICEROL BRUTO EM REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO
FLUIDIFICADO, ACIDOGÊNICO E METANOGÊNICO, EM TEMPERATURA
MESOFÍLICA

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2017

ANDREZA NATALINE SIMÕES

PROCESSAMENTO DO GLICEROL BRUTO EM REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO
FLUIDIFICADO, ACIDOGÊNICO E METANOGÊNICO, EM TEMPERATURA
MESOFÍLICA

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2017

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 pelo Serviço de Biblioteca
"Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes" da EESC/USP

S593p Simões, Andreza Nataline
Processamento do glicerol bruto em reatores anaeróbios de leito fluidificado, acidogênico e metanogênico, em temperatura mesofílica / Andreza Nataline Simões; orientador Edson Luiz Silva. -- São Carlos, 2017.

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

1. Digestão anaeróbia. 2. Glicerol bruto.
3. 1,3-propanodiol. 4. Hidrogênio. 5. Metano.
6. RALF. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharela **ANDREZA NATALINE SIMÕES**.

Título da dissertação: "Processamento do glicerol bruto em reatores anaeróbios de leito fluidificado, acidogênico e metanogênico, em temperatura mesofílica"

Data da defesa: 24.03.2017.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Edson Luiz Silva**
(Orientador)
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

Dra. **Valéria Del Nery**
(Pós-Doutoranda/CNPq)

Aprovado

Profa. Dra. **Lorena de Oliveira Pires**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Araraquara)

Aprovado

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Luís Fernando Costa Alberto**

Aos meus pais Alvimar e Gilda,
Aos meus irmãos Aroldo e Aline,
Ao meu sobrinho/afilhado Davi,
Ao meu cunhado Carlos,
Ao meu namorado Neiton.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar mais uma oportunidade de crescimento pessoal e profissional. A Nossa Senhora Aparecida por me iluminar e colocar pessoas especiais em meu caminho que muito me ajudaram nessa caminhada.

Agradeço ao Prof. Dr. Edson Luiz Silva pela orientação, acolhimento e por disponibilizar toda a infraestrutura necessária à realização dessa pesquisa. Foi um período muito intenso e de grande aprendizado. Muito obrigada.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) a concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz (DEQ/UFSCar) e Prof. Ass. Marcelo Zaiat (SHS/USP) pelo cuidado com que avaliaram o projeto e pelas modificações sugeridas no Exame de Qualificação. Novamente ao Prof. Ass. Marcelo Zaiat (SHS/USP) e à Dra. Valéria Del Ney (SHS/USP) pelas contribuições no Exame de Acompanhamento. Agradeço à Dra. Valéria Del Ney (SHS/USP) e à Prof. Dra. Lorena Oliveira Pires (IQ/UNESP) pelo aceite em avaliar esta pesquisa e sugestões apresentadas na Defesa.

Deixo registrado meu agradecimento ao Prof. Dr. José Alberto Domingues Rodrigues (EEM/IMT) e a todo seu grupo de pesquisa pela ajuda com os reatores metanogênicos, o conhecimento compartilhado foi de grande importância para o presente trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, da Universidade de São Paulo (PPG-SHS/USP), em especial aos seus funcionários Maria Auxiliadora Altieri (Sá), Priscila Toselli, Rosemeire de Jesus (Rose) e André Garcia, pela atenção em sanar minhas dúvidas e pelos serviços prestados. Aos colegas da turma de mestrado do PPG-SHS 2015 pela ajuda durante as disciplinas, os almoços compartilhados com muitas risadas e as histórias de vida.

Ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar), em especial aos técnicos Alexandra Gonçalves, Amadeus Gomes de Azevedo e Oscar da Silva pela atenção e gentileza em atender o LCA II sempre que solicitados. Às queridas “meninas da limpeza” (DEQ/UFSCar) por ajudarem a manter o ambiente de trabalho limpo, pela alegria e carinho com o LCA II, obrigada.

Agradeço com imensa gratidão aos colegas do laboratório LCAII/DEQ/UFSCar – Talles Barcelos, Aline Paranhos, Gabriel Catucci, Lucas Ramos, Tiago Ferreira, Ariane Molke, Andressa Bernal, Camila Menezes e Isabele Baima. Aline, Gabriel, Lucas e Tiago, obrigada pela paciência em transmitir os conhecimentos necessários a realização desta

pesquisa. Em especial, agradeço à Aline pela ajuda, por me amparar em todos os momentos que a solicitei, mas principalmente pela amizade construída, além do Lucas, por sempre se mostrar disposto a contribuir e pelas análises. Ariane, Andressa, Camila e Isabele, agradeço pela ajuda na parte experimental durante o segundo semestre de 2016. Ariane, sou muito grata a ajuda despendida em horários e dias que não faziam parte da sua rotina laboratorial.

Meu agradecimento especial ao Talles Barcelos, colega de laboratório, companheiro de pesquisa e hoje grande amigo. Como foi gratificante poder dividir essa etapa da minha vida com você. Obrigada pelo respeito, ajuda imensurável, paciência, risadas e compartilhamento de história de vida, que ajudaram a tornar a parte experimental mais leve. Sou imensamente grata.

À minha família de Uberaba/São Carlos, Bárbara Freitas, Jéssica Lopes e Larissa Sene, obrigada por serem meus anjos da guarda, por me ouvirem e aconselharem sempre que necessitei. À Bárbara agradeço pela amizade, as caronas valiosas e todas as “gordices” dos fins de semana. À Jéssica agradeço as conversas muito proveitosas sobre nossas pesquisas, o auxílio na parte experimental e a alegria de sua presença. À Larissa, amiga e agora ex-companheira de quarto, sou muito grata por toda ajuda, pelas conversas e conselhos, pelas risadas e claro, pela companhia. Amo vocês.

Aos meus familiares, pelo constante e incansável incentivo voltado a mim, por acreditarem que eu seria capaz e pela compreensão nos momentos ausentes. Aos meus pais, Alvimar e Gilda Simões, obrigada por serem o meu maior exemplo de caráter, trabalho, humildade e amor. Obrigada por sonharem comigo o meu sonho. Aos meus irmãos Aroldo e Aline, agradeço por confiarem em minha escolha e pela ajuda sempre que necessitei. Ao meu cunhado Carlos Melo por ser como um irmão, obrigada por toda ajuda. À minha cunhada Graciele Simões pelo incentivo. Ao meu sobrinho/afilhado Davi Simões por inundar meus dias de pureza e alegria. Aos meus avós, José Barbosa, Malvina Barbosa e Izaltina Simões, pelas orações destinadas a mim. Enfim, a todos meus familiares, amo muito vocês.

Ao meu namorado Neiton Silva por toda a paciência em me ouvir, compreensão e conselhos, me ajudando a desempenhar da melhor forma as atividades do mestrado. Agradeço pelo amor e carinho, que se fizeram presentes em cada palavra pronunciada, e por estar sempre presente, mesmo distante fisicamente. Você foi minha força nos momentos de fraqueza.

A todos, mesmo que não citados, que de alguma forma fizeram parte desta etapa em minha vida e torceram pelo meu sucesso pessoal e profissional,

Meus sinceros agradecimentos.

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Coralina

“Cuidemos do nosso coração porque é de lá que sai o que é bom e ruim, o que constrói e destrói.”

Papa Francisco

RESUMO

SIMÕES, A. N. **Processamento do glicerol bruto em reatores anaeróbios de leito fluidificado, acidogênico e metanogênico, em temperatura mesofílica.** 2017. 147 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

A utilização de combustíveis renováveis tem se destacado nos últimos anos, principalmente devido aos impactos ambientais gerados pelo uso de combustíveis fósseis e escassez dos mesmos. Dentre os combustíveis renováveis destaca-se o biodiesel, cujo processo produtivo apresenta como principal subproduto o glicerol bruto, que tem instigado nos últimos anos intensas discussões sobre a problemática de sua destinação e disposição final. Apesar de ser utilizado na indústria química, o seu teor de impurezas limita o seu processamento industrial. Buscando agregar valor a esse resíduo bruto e contribuir para a produção de bioenergia, este trabalho teve por intuito avaliar a produção dos biocombustíveis hidrogênio e metano, assim como de intermediários químicos a partir de glicerol bruto como substrato em reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF), mesofílicos (30 °C), utilizando inóculo de cultura mista. O RALF-H₂, com o objetivo de produzir hidrogênio e metabólitos solúveis, foi submetido à concentração de 10 g.L⁻¹ de glicerol e variação do tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8, 6, 4, 2, 1 e 0,5 h. Já o RALF-CH₄, com intuito de produzir metano, operou sob TDH fixo de 24 h, submetido à variação da concentração de glicerol de 1, 2, 3, 4, 5 e 7 g.L⁻¹, e portanto, da taxa de carregamento orgânico (TCO) de 1, 2, 3, 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, respectivamente. No RALF-H₂, os valores máximos de conteúdo de hidrogênio no biogás (69,2 %), produtividade volumétrica de hidrogênio (1,90 L.h⁻¹.L⁻¹) e rendimento de hidrogênio (0,28 molH₂.mol⁻¹glicerol_{consumido}) foram verificados no TDH de 0,5 h. O 1,3-propanodiol se destacou entre os metabólitos produzidos, com rendimento máximo de 0,57 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerol_{consumido}, alcançado no TDH de 8 h. No RALF-CH₄, o máximo conteúdo de metano no biogás (83,0 %) foi verificado na TCO de 1 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, a maior produtividade volumétrica de metano (2,26 L.d⁻¹.L⁻¹) na TCO de 5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e o máximo rendimento (0,19 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada} ou 0,77 molCH₄.mol⁻¹glicerol_{consumido}) na TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Portanto, os resultados evidenciaram a possibilidade de produção de biocombustíveis e metabólitos de valor agregado utilizando glicerol bruto como substrato no processo da digestão anaeróbia.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia. Glicerol bruto. 1,3-propanodiol. Hidrogênio. Metano. RALF.

ABSTRACT

SIMÕES, A. N. **Processing of crude glycerol in anaerobic fluidized bed reactors, acidogenic and methanogenic, at mesophilic temperature.** 2017. 147 f. Dissertation (Master's degree) - School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2017.

The use of renewable fuels has been highlighted in recent years, mainly due to the environmental impacts generated by the use of fossil fuels and their scarcity. Among the renewable fuels highlights the biodiesel, whose production process displays as the main byproduct crude glycerol, which has instigated in recent years, intense debates about a problem of its destination and final disposal. Although it is used in the chemical industry, its impurities content limits its industrial processing. In order to add value to this crude residue and to contribute to the production of bioenergy, this work aimed to evaluate the production of biofuels hydrogen and methane, as well as chemical intermediates from crude glycerol as substrate in anaerobic fluidized bed reactors (AFBR), mesophilic (30 °C), using mixed culture inoculum. The AFBR-H₂, with the objective of producing hydrogen and soluble metabolites, was submitted to a concentration of 10 g.L⁻¹ of glycerol and a variation of the hydraulic retention time (HRT) of 8, 6, 4, 2, 1 and 0.5 h. The AFBR-CH₄, with the intention of producing methane, operated under fixed HRT of 24 h, subjected to the variation of the glycerol concentration of 1, 2, 3, 4, 5 and 7 g.L⁻¹ and, therefore, of the organic loading rate (OLR) of 1, 2, 3, 4, 5 and 7 kgCOD.m⁻³.d⁻¹, respectively. In the AFBR-H₂, the maximum values of hydrogen content in the biogas (69.2 %), hydrogen volumetric productivity (1.90 L.h⁻¹.L⁻¹) and hydrogen yield (0.28 molH₂.mol⁻¹glycerol consumed) were verified in the HRT of 0.5 h. The 1,3-propanediol was highlighted among the metabolites produced, with a maximum yield of 0.57 mol1,3-PDO.mol⁻¹glycerol_{consumed}, reached in the TDH of 8 h. In the AFBR-CH₄, the higher methane content in the biogas (83.0 %) was detected in the OLR of 1 kgCOD.m⁻³.d⁻¹, a higher volumetric productivity of methane (2.26 L.d⁻¹.L⁻¹) in the OLR of 5 kgCOD.m⁻³.d⁻¹ and the maximum yield (0.19 m³CH₄.kg⁻¹COD_{applied} or 0.77 molCH₄.mol⁻¹glycerol_{consumed}) in the OLR of 4 kgCOD.m⁻³.d⁻¹. Therefore, the results evidenced the possibility of producing biofuels and value-added metabolites using crude glycerol as a substrate at the anaerobic digestion process.

Keywords: Anaerobic digestion. Crude glycerol. 1,3-propanediol. Hydrogen. Methane. AFBR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do processo produtivo do biodiesel.	28
Figura 2 - Principais setores industriais que utilizam a glicerina.	30
Figura 3 - Representação esquemática das principais etapas da digestão anaeróbia (1) bactérias hidrolíticas (2) bactérias acidogênicas fermentativas, (3) bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio, (4) bactérias acetogênicas consumidoras de hidrogênio, (5) arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, (6) arqueias metanogênicas acetoclásticas e (7) bactérias redutoras de sulfato e bactérias redutoras de nitrato.	32
Figura 4 - Rotas metabólicas da fermentação do glicerol até compostos mais simples.	35
Figura 5 - Instalação experimental dos RALF (A) circuito fechado, (B) sistema aberto (contínuo).	72
Figura 6 - A) Cinasita; B) pneu triturado.	75
Figura 7 - Boxplot da conversão de glicerol em função dos TDH aplicados no RALF-H ₂	84
Figura 8 - Boxplot do conteúdo de H ₂ no biogás em função dos TDH aplicados no RALF-H ₂	87
Figura 9 - Boxplot da PVH ₂ em função dos TDH de 8 a 0,5 h aplicados no RALF-H ₂	90
Figura 10 - Boxplot zoom da PVH ₂ em função dos TDH de 8 a 1 h aplicados no RALF-H ₂	90
Figura 11 - Boxplot do YH ₂ em função dos TDH de 8 a 0,5 h aplicados no RALF-H ₂	93
Figura 12 - Boxplot zoom do YH ₂ em função dos TDH de 8 a 1 h aplicados no RALF-H ₂	93
Figura 13 - Fração molar dos principais metabólitos detectados no RALF-H ₂	100
Figura 14 - Boxplot da remoção média de DQO em função dos TDH aplicados no RALF-H ₂	107
Figura 15 - Boxplot da conversão média de glicerol em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	111
Figura 16 - Boxplot da remoção média da DQO em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	112
Figura 17 - Boxplot da TCO _{removida} em função da TCO _{aplicada} no RALF-CH ₄	114
Figura 18 - Boxplot da concentração dos AGV efluente em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	118
Figura 19 - Alcalinidade a bicarbonato em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	119
Figura 20 - Boxplot da relação AI/AP efluente em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	120

Figura 21 - Fração molar dos principais metabólitos detectados no RALF-CH ₄	124
Figura 22 - Boxplot do conteúdo de CH ₄ no biogás em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	126
Figura 23 - Boxplot da PVCH ₄ em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	128
Figura 24 - Boxplot do rendimento de metano em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estequiometria e variação da energia livre (ΔG^0) das reações acidogênese, acetogênese e metanogênese.....	33
Tabela 2 - Principais características da literatura mencionada na produção de 1,3-PDO.....	43
Tabela 3 - Principais características da literatura mencionada na produção de H_2	49
Tabela 4 - Principais características da literatura mencionada na produção de CH_4	58
Tabela 5 - Principais características da literatura mencionada utilizando RALF para obtenção de H_2	67
Tabela 6 - Dimensões e volumes dos RALF utilizados.....	71
Tabela 7 - Caracterização da solução de glicerol bruto ($\approx 5 \text{ g.L}^{-1}$)	73
Tabela 8 - Composição do meio nutricional e SL7 para o reator RALF- H_2	74
Tabela 9 - Composição do meio nutricional para o reator RALF- CH_4	74
Tabela 10 - Características dos materiais suporte.	76
Tabela 11 - Fases operacionais do reator RALF- H_2 , com concentração de glicerol fixa em 10 g.L^{-1}	78
Tabela 12 - Fases operacionais do reator RALF- CH_4 , com TDH fixo de 24 horas.	78
Tabela 13 - Frequência de realização das análises de monitoramento dos reatores.....	81
Tabela 14 - Descrição e duração das fases do RALF- H_2	83
Tabela 15 - Concentração e conversão média de glicerol em função dos TDH aplicados no RALF- H_2	84
Tabela 16 - Composição média de H_2 e CO_2 no biogás em função dos TDH aplicados no RALF- H_2	86
Tabela 17 - Produção volumétrica de hidrogênio no RALF- H_2	89
Tabela 18 - PVH ₂ encontrada na literatura utilizando a configuração de reator RALF.	91
Tabela 19 - Rendimento de hidrogênio no RALF- H_2	92
Tabela 20 - Comparação do desempenho de reatores mesofílicos com objetivo de produção de H_2	96
Tabela 21 - Concentração (mg.L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do RALF- H_2	99
Tabela 22 - Produção volumétrica ($\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$) e rendimento ($\text{mol}_{\text{metabólito}} \cdot \text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) dos metabólitos verificados durante a operação do RALF- H_2	101
Tabela 23 - Comparação do desempenho de reatores mesofílico com objetivo de produção de 1,3-PDO.	105

Tabela 24 - Valores médios de pH afluente e efluente do RALF-H ₂	106
Tabela 25 - Valores médios de DQO afluente e efluente do RALF-H ₂	107
Tabela 26 - Concentrações dos SST, SSF e SSV em função dos TDH aplicados do RALF-H ₂	108
Tabela 27 - Balanço de DQO para as seis condições operacionais realizadas em RALF-H ₂	109
Tabela 28 - Descrição e duração das fases do RALF-CH ₄	110
Tabela 29 - Concentração e conversão média de glicerol em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	110
Tabela 30 - Concentração e conversão média da DQO em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	112
Tabela 31 - Valores médios de pH afluente e efluente do RALF-CH ₄	115
Tabela 32 - Concentração média de AGV em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	117
Tabela 33 - Alcalinidade a bicarbonato média em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	117
Tabela 34 - Relação AI/AP em função das TCO aplicadas no RALF-CH ₄	120
Tabela 35 - Concentração (mg.L ⁻¹) e fração molar (%) dos metabólitos detectados no RALF- CH ₄	123
Tabela 36 - Composição média de CH ₄ e CO ₂ no biogás RALF-CH ₄	125
Tabela 37 - PVCH ₄ e YCH ₄ no RALF-CH ₄ em função das TCO aplicadas.	128
Tabela 38 - Comparação do desempenho de reatores mesofílicos com objetivo de produção de CH ₄	132
Tabela 39 - Concentração dos SST, SSF e SSV em função das TCO aplicadas do RALF-CH ₄	133
Tabela 40 - Balanço de DQO para as condições operacionais no RALF-CH ₄ que foram aplicadas as TCO de 3, 4, 5 e 7 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔG^0	Variação da Energia Livre de Gibbs
1,3-PDO	1,3-propanodiol
AB	Alcalinidade a Bicarbonato
ABR	<i>Anaerobic Baffled Reactor</i>
AC	Material suporte: Anéis de Cerâmica
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AI	Alcalinidade Intermediária
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AnSBBR	<i>Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor</i>
AP	Alcalinidade Parcial
AR	Material suporte: anéis de Rushing
ASBR	<i>Anaerobic Sequencing Batch Reactor</i>
BS	Biomassa Suspensa
BuOH	Butanol
CH ₄	Metano
CNTP	Condição Normal de Temperatura e Pressão
CO ₂	Dióxido de carbono
CSTR	<i>Continuous Stirred Tank Reactor</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EGSB	<i>Expanded Granular Sludge Bed</i>
EtOH	Etanol
EV	Material suporte: esferas de vidro
G _{afllu}	Glicerol Afluente
G _{eflu}	Glicerol Efluente
GB	Glicerol Bruto
GP	Glicerol Puro
H ₂	Hidrogênio
HAc	Ácido Acético
HBu	Ácido Butírico
HCa	Ácido Capróico
HIsoBu	Ácido Isobutírico
HIsoVa	Ácido Isovalérico

HPr	Ácido Propiônico
HSu	Ácido Succínico
HVa	Ácido Valérico
KOH	Hidróxido de potássio
MeOH	Metanol
NaOH	Hidróxido de sódio
PABR	<i>Periodic Anaerobic Baffled Reactor</i>
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel
PP	Material suporte: Pedra-pomes
PU	Material suporte: Espuma de Poliuretano
PV'H ₂	Produção Volumétrica de Hidrogênio (mmol.h ⁻¹ .L ⁻¹)
PV1,3-PDO	Produção Volumétrica de 1,3-PDO (g.h ⁻¹ .L ⁻¹)
PVCH ₄	Produção Volumétrica de Metano (L.d ⁻¹ .L ⁻¹)
PVH ₂	Produção Volumétrica de Hidrogênio (L.h ⁻¹ .L ⁻¹)
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado
RALF-CH ₄	Reator anaeróbio de leito fluidificado com objetivo de produzir metano
RALF-H ₂	Reator anaeróbio de leito fluidificado com objetivo de produzir hidrogênio e metabólitos solúveis
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico aplicada em DQO
TCO _{removida}	Taxa de Carregamento Orgânico Removida (em DQO)
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor</i>
UFCB	<i>Anaerobic Up-flow Column Bioreactor</i>
Y'CH ₄	Rendimento de Metano (m ³ CH ₄ .kg ⁻¹ DQO _{aplicada})
Y1,3-PDO	Rendimento de 1,3-PDO (mol1,3-PDO.mol ⁻¹ glicerol _{consumido})
YCH ₄	Rendimento de Metano (molCH ₄ .mol ⁻¹ glicerol _{consumido})
YH ₂	Rendimento de Hidrogênio (molH ₂ .mol ⁻¹ glicerol _{consumido})

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVO	26
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	27
3.1 PRODUÇÃO DE BIODISEL, GERAÇÃO E APROVEITAMENTO DO GLICEROL	27
3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	31
3.3 FERMENTAÇÃO DO GLICEROL: ROTAS METABÓLICAS	34
3.3.1 Rendimentos de ácidos orgânicos, álcoois, hidrogênio e metano a partir do glicerol	37
3.4 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE 1,3- PROPANODIOL A PARTIR DO GLICEROL..	39
3.5 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DO GLICEROL	44
3.6 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE METANO A PARTIR DO GLICEROL	50
3.7 REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO APLICADO NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO, METABÓLITOS E METANO	60
3.7.1 Reator anaeróbio de leito fluidificado aplicado à produção de hidrogênio e intermediários químicos.....	60
3.7.2 Reator anaeróbio de leito fluidificado aplicado na produção de metano	67
3.8 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	70
4 MATERIAIS E MÉTODOS	71
4.1 REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIFICADO	71
4.2 INÓCULO	72
4.3 ÁGUA RESIDUÁRIA	73
4.4 MATERIAL SUPORTE.....	75
4.5 FASE DE ADAPTAÇÃO DO INÓCULO DOS REATORES	76
4.5.1 Adaptação do reator RALF-H₂	77
4.5.2 Adaptação do reator RALF-CH₄	77
4.6 OPERAÇÃO EM MODO CONTÍNUO DOS REATORES	78
4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS	79
4.7.1 Análises físico-químicas	79
4.7.2 Determinação da concentração de glicerol.....	79
4.7.3 Determinação da produção e composição do biogás	79
4.7.4 Análises de ácidos orgânicos voláteis e álcoois.....	80

4.7.5	Análise da alcalinidade a bicarbonato e ácidos graxos voláteis.....	80
4.7.6	Frequência das análises	81
4.8	CÁLCULO DOS PRINCIPAIS PARÂMETROS	81
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
5.1	RESULTADOS DO REATOR RALF-H ₂	83
5.1.1	Conversão de glicerol.....	83
5.1.2	Composição do biogás.....	86
5.1.3	Produção volumétrica de hidrogênio	89
5.1.4	Rendimento de hidrogênio	92
5.1.5	Principais metabólitos produzidos	97
5.1.6	Variação do pH, remoção de DQO e sólidos suspensos.....	106
5.1.7	Balço de DQO.....	108
5.2	RESULTADOS DO REATOR RALF-CH ₄	110
5.2.1	Conversão de glicerol.....	110
5.2.2	Remoção de DQO.....	112
5.2.3	Variação do pH.....	115
5.2.4	Ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato.....	116
5.2.5	Quantificação dos metabólitos produzido.....	122
5.2.6	Composição do biogás.....	125
5.2.7	Produção volumétrica e rendimento de metano.....	127
5.2.8	Sólidos suspensos e balanço de DQO	133
6	CONCLUSÕES	135
7	SUGESTÕES	136
	REFERÊNCIAS	137

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a utilização dos combustíveis fósseis se sobressai em comparação com o uso de outras fontes de energia para suprir a necessidade energética global. Entretanto, os impactos ambientais gerados pelo seu uso, a escassez de suas reservas, além da instabilidade financeira e geopolítica nas regiões produtoras, tem provocado ampla discussão sobre sua utilização majoritária e incentivado o uso de fontes alternativas de energia.

Os biocombustíveis, etanol e biodiesel, são considerados alternativas de substituição ou de complementação ao uso dos combustíveis fósseis, visto que o etanol pode substituir a gasolina em motores de ciclo Otto e o biodiesel suprir o diesel em motores movidos a diesel comum. Além disso, as tecnologias utilizadas para produção desses biocombustíveis são alternativas renováveis, seguras e, portanto, ambientalmente de menor impacto quando comparadas aos combustíveis fósseis (DHARMADI; MURARKA; GONZALEZ, 2006).

Dentre os biocombustíveis citados se destaca o biodiesel, produzido a partir de reações de transesterificação de óleos ou gorduras, sob ação de um catalisador básico (NaOH ou KOH) e na presença de álcool (metanol ou etanol). Tal processo produtivo apresenta como principal subproduto o glicerol bruto ou glicerina, que tem gerado nos últimos anos discussões sobre a problemática de sua destinação e disposição final, visto que sua produção é cerca de 10 % em relação ao volume de biodiesel produzido.

O Brasil se destaca, em nível mundial, na produção de biodiesel, e, portanto, na oferta de glicerina, devido ao Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB) instituído em 2004 pelo Governo Federal, que estabeleceu a adição obrigatória do biocombustível ao diesel fóssil. De acordo com a legislação vigente (Lei nº 13.033 de 2014) a adição atual de biodiesel é de 7 %, a qual proporcionou em 2015 uma produção de biodiesel e geração de glicerina em torno de 3,9 milhões de m³ e 347 mil m³, respectivamente (ANP, 2016).

Embora aplicações industriais da glicerina sejam verificadas, como em indústrias alimentícia, farmacêutica, papel e celulose, têxtil, cosmética e outras, a sua utilização no processo produtivo ocorre mediante purificação, um processo economicamente desvantajoso principalmente para pequenos e médios empresários. Portanto, o aumento na geração de glicerol bruto, o conteúdo de impurezas presentes no mesmo e a baixa demanda de mercado, resultando em preços viáveis desse subproduto de 0,2 a 0,4 R\$.kg⁻¹, estimulam a pesquisa por alternativas de uso direto do glicerol (RIVALDI et al., 2007).

Com o objetivo de prevenir futuros problemas ambientais causados pela acumulação do glicerol e para tornar a produção de biodiesel mais competitiva, a conversão microbiana do

glicerol bruto por processos biológicos representa uma promissora aplicação desse subproduto para geração de intermediários químicos com alto valor agregado como 1,3-propanodiol (GALLARDO et al., 2014; ZHANG et al., 2007b); ácido propiônico (BARBIRATO; CHEDAILLE; BORIES, 1997; HIMMI et al., 2000); etanol (ITO et al., 2005; JARVIS; MOORE; THIELE, 1997); ácido acético e butírico (FORREST; SIERRA; HOLTZAPPLE, 2010) e hidrogênio (CHOOKAEW; O-THONG; PRASERTSAN, 2014a; ITO et al., 2005; LO et al., 2013; REUNGSANG; SITTIJUNDA; O-THONG, 2013). Além disso, pesquisas que fazem uso da completa digestão anaeróbia do glicerol, visando a geração de energia por meio da obtenção do metano, tem sido verificadas (HUTŇAN et al., 2013; LOVATO et al., 2012; VLASSIS et al., 2013; YANG; TSUKAHARA; SAWAYAMA, 2008).

Dentre os intermediários que possuem valor agregado destaca-se o 1,3-propanodiol (1,3-PDO), atualmente derivado do petróleo, que possui aplicação na produção de cosméticos e remédios, como anti-congelante, como fluido para transferência de calor e para a produção de polímeros (da SILVA et al., 2009). Sua obtenção a partir de uma fonte de menor impacto ambiental, como a bioconversão do glicerol, pode ampliar sua utilização no cenário industrial. Já a geração de bioenergia a partir da fermentação do glicerol, ou seja, a produção de hidrogênio e metano, apresenta-se vantajosa, visto que o hidrogênio tem sua demanda crescente devido aos avanços tecnológicos em indústrias de células combustíveis e o gás metano apresenta-se como uma excelente fonte de energia alternativa para aplicações industriais.

É importante ressaltar que a obtenção majoritária de um produto específico durante a conversão microbiana do glicerol é função, dentre outras, das condições operacionais estabelecidas e da configuração do reator utilizado. Observa-se na literatura uma lacuna no desenvolvimento e operação de reatores contínuos para a produção biológica de intermediários químicos, hidrogênio e metano a partir de glicerol bruto, sobretudo quando se estuda a configuração de reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), visto que para a produção de hidrogênio e intermediários químicos, verificam-se trabalhos fazendo uso de ensaios descontínuos (ITO et al., 2005; LO et al., 2013; MANGAYIL; KARP; SANTALA, 2012; SELEMBO, 2009) e alguns contínuos (CHOOKAEW; O-THONG; PRASERTSAN, 2014a; REUNGSANG; SITTIJUNDA; O-THONG, 2013) alimentados com glicerol bruto, não sendo verificado o uso da configuração RALF. De forma similar, embora sejam verificados na literatura trabalhos com o objetivo de produção de metano a partir da digestão anaeróbia do glicerol bruto em ensaios descontínuos (DINH et al., 2014; LOVATO et al., 2012; TANGKATHITIPONG; INTANOO; CHAVADEJ, 2014; YANG; TSUKAHARA,

SAWAYAMA, 2008) e contínuos (HUTNAN et al., 2013), a configuração de reator RALF ainda não foi explorada.

Assim sendo, o RALF apresenta-se com uma opção viável na bioconversão do glicerol, uma vez que, o mesmo tem sido empregado em estudos com distintas águas residuárias, nos quais apresenta como vantagens a acumulação de grande quantidade de biomassa no material suporte, possibilidade de elevadas taxas de carregamento orgânico (TCO), baixos tempos de detenção hidráulica (TDH) e boas características de mistura, além da menor queda de pressão quando comparado à reatores de leito fixo, evitando a colmatagem do leito (FUENTES et al., 2009; WU; LIN; CHANG, 2003; ZHANG, Z. et al., 2007). Além disso, a utilização do processo fermentativo mesofílico é considerada atrativa do ponto de vista econômico e tecnológico, e se tratando de glicerol bruto, pode ser aplicado ao mesmo após aproveitamento de sua energia térmica no próprio processo produtivo do biodiesel, uma vez que a temperatura de saída do resíduo glicerol está acima da faixa mesofílica.

Dessa forma, justifica-se a proposta da presente pesquisa, de operação de dois RALF mesofílicos (30 °C), independentes, utilizando inóculo de cultura mista e glicerol bruto como substrato orgânico para produção de bioenergia e intermediários químicos de valor agregado. No reator acidogênico (RALF-H₂), propôs-se avaliar a produção de hidrogênio e metabólitos solúveis, mediante variação do TDH de 8 a 0,5 h, mantendo-se a concentração de glicerol afluyente fixa em 10 g.L⁻¹. No reator metanogênico (RALF-CH₄), o objetivo foi avaliar a produção de metano sob TDH fixo de 24 h, variando a concentração de glicerol de 1 a 7 g.L⁻¹, e portanto, variando a TCO de 1 a 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

2 OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a produção biológica de hidrogênio e metano em reatores anaeróbios de leito fluidificado independentes, ambos sob condição mesofílica de temperatura (30 °C) e utilizando glicerol bruto como substrato orgânico para uma cultura mista.

A fim de atingir o objetivo geral foram determinados os seguintes objetivos específicos:

i. Avaliar a influência da variação do TDH (8 a 0,5 h), e consequentemente da TCO (30 a 480 $\text{kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), na produção de hidrogênio utilizando concentração de glicerol afluyente fixa em 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, no RALF- H_2 ;

ii. Avaliar a influência da variação da TCO (1 a 7 $\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), e consequentemente da concentração de glicerol afluyente (1 a 7 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), na produção de metano, com TDH fixo de 24 h, no RALF- CH_4 ;

iii. Avaliar a influência das condições operacionais na produção e distribuição dos metabólitos solúveis em ambos os reatores.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 PRODUÇÃO DE BIODISEL, GERAÇÃO E APROVEITAMENTO DO GLICEROL

A maior parte da energia consumida mundialmente provém da utilização dos combustíveis fósseis. Entretanto, a escassez desses combustíveis, a emissão dos poluentes gerados pela combustão dos mesmos e o aumento dos custos envolvidos no processo produtivo incentivaram a utilização de fontes alternativas de energia (SANTIBÁÑEZ; VARNERO; BUSTAMANTE, 2011). Dessa forma, o biodiesel (produzido a partir de biomassa) tem se destacado recentemente como alternativa de complementação ou substituição do combustível fóssil diesel, por ser obtido a partir de fontes renováveis e possuir características como biodegradabilidade, ser atóxico e apresentar baixos índices de emissões de poluentes (MA; HANNA, 1999).

A principal rota de obtenção do biodiesel ocorre através do processo de transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, usando catálise básica na presença de um álcool (MOTA; DA SILVA; GONÇALVES, 2009). De acordo com Mota, Silva e Gonçalves (2009), quimicamente o óleo ou a gordura usada na produção do biodiesel é um triglicerídeo, que sob ação de um catalisador básico, hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH), na presença de álcool (metanol ou etanol) sofre transesterificação, formando três moléculas de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos (que constituem o biodiesel em sua essência) e liberando uma molécula de glicerol (Equação 1).

A Figura 1 apresenta o fluxograma do processo produtivo do biodiesel, o qual se inicia pela escolha da matéria-prima utilizada no processo. A etapa de preparação consiste nos processos de clareamento (remoção de pigmentos) e degomagem (retirada de resquícios de umidade), as quais preparam o óleo ou a gordura para o processo de transesterificação. Tal processo ocorre em meio alcalino e em temperatura próxima a 60 °C. Após a reação de

transesterificação é obtida uma massa constituída por duas fases: mais densa (ou pesada) e menos densa (ou leve), as quais são separáveis por decantação (em tanques horizontais) ou centrifugação (KNOTHE; GERPEN, 2006).

Figura 1 - Fluxograma do processo produtivo do biodiesel.

Fonte: KNOTHE; GERPEN, 2006.

A fase mais densa é constituída por glicerina bruta, excesso de álcool, de água e impurezas inerentes à matéria-prima, as quais determinam o grau de pureza do glicerol, variável importante na comparação de resultados entre processos que utilizam esse subproduto (KNOTHE; GERPEN, 2006; SAMUL; LEJA; GRAJEK, 2014). Submetida ao processo de evaporação (70 °C), para recuperação do álcool, o glicerol apresenta-se parcialmente livre de impurezas e pode ser utilizado como substrato para a fermentação por várias espécies de microrganismos (RIVALDI et al., 2007). A destilação da glicerina é realizada para obtenção de níveis de pureza mais elevados (aproximadamente 99 %), sendo

que tal processo ocorre sob condição de alto vácuo (600 a 1330 Pa absoluto), numa temperatura superior a 190 °C e inferior a 200 °C (acima de 200 °C o glicerol pode polimerizar-se e até decompor-se). Ao fim desse processo se obtém a glicerina destilada e o resíduo de glicerol (MARÇON, 2010).

A fase menos densa, é composta por uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos (dependendo da natureza do álcool utilizado), de excesso de álcool reacional e impurezas. A purificação dos ésteres ocorre pelo processo de centrifugação e desumificação, obtendo-se o biodiesel (KNOTHE; GERPEN, 2006).

Atualmente, o Brasil encontra-se em posição de destaque na produção de biodiesel, e, portanto de oferta de glicerina, devido principalmente ao Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), instituído em 2004 pelo Governo Federal, que estabelece a adição obrigatória do biocombustível ao diesel fóssil. Em 2008 a adição estabelecida foi de 3 % (B3), em 2010 de 5 % (B5) e em 2014 de 7 % (B7), de acordo com as seguintes legislações: Lei nº 11.097 (2005), resolução ANP nº 7 (2008) e Lei nº 13.033 (2014). De acordo com dados da ANP (2016), a produção de biodiesel e consequente geração de glicerina (principal subproduto do processo) vêm crescendo no Brasil desde então, com produção em 2015 de aproximadamente 3,9 milhões de m³ de biodiesel (B100)¹, 15,1 % maior que em 2014, que proporcionou uma geração nesse mesmo ano de glicerina em torno de 346,8 mil m³ (ANP, 2016).

Vale destacar que a produção de biodiesel se deu principalmente pelo uso do óleo de soja como matéria-prima (3.061.027 m³), por gordura animal² (738.920 m³), seguido por óleo de algodão (78.840 m³) e outros materiais graxos³ (60.086 m³), em consequência da diversidade de grãos produzidos no país e sua extensa criação de bovinos (ANP, 2016). Além disso, dentre as regiões brasileiras, aquela com maior produção de biodiesel é a Centro-Oeste (44,4 %), seguida pela região Sul (38,4 %), Nordeste (8,0 %), Sudeste (7,5 %) e Norte (1,7 %).

A produção do glicerol bruto é cerca de 10 % (v/v) do biodiesel produzido, uma quantidade expressiva que tem gerado discussões sobre as alternativas de utilização de tal subproduto, devido seus passivos ambientais e os altos custos para disposição final (FAN; BURTON; ZHOU, 2010; MANGAYIL; KARP; SANTALA, 2012; SAMUL; LEJA; GRAJEK, 2014). Portanto, se as ações efetuadas pelo Governo Federal coloca o país com boa

¹ Especificado conforme Resolução ANP nº 14/2012.

² Inclui gordura bovina, gordura de frango e gordura de porco.

³ Inclui óleo de palma, óleo de amendoim, óleo de nabo-forrageiro, óleo de girassol, óleo de mamona, óleo de sésamo (gergelim), óleo de fritura usado e outros materiais graxos.

visibilidade mundial em relação à produção de biodiesel, elas também destacam a necessidade de se encontrar alternativas para o uso do seu subproduto na forma bruta (MOTA; DA SILVA; GONÇALVES, 2009).

A Figura 2 apresenta os principais setores industriais que utilizam a glicerina e suas respectivas porcentagens, sendo que, para a maioria das aplicações expostas, é necessário que a glicerina apresente alto teor de pureza, o que não ocorre no glicerol bruto proveniente da produção do biodiesel (PACHAURI; HE, 2006). Como já mencionado, o glicerol bruto (um líquido viscoso pardo escuro) contém impurezas como água, sais orgânicos e inorgânicos, ácidos graxos, pequena quantidade de ésteres e álcool, traços de glicerídeos e coloração vegetal, que varia sua composição de acordo com o triglicerídeo utilizado na produção do biodiesel (óleos ou gorduras), com as condições do processo de transesterificação e com a separação do biodiesel produzido (ABAD; TURON, 2012; HÁJEK; SKOPAL, 2010). Assim, o glicerol bruto deve ser submetido a um processo de purificação para utilização nesses setores. Tais processos incluem a filtração, destilação a vácuo, descoloração e troca de íons para a remoção principalmente de K^+ e Na^+ utilizados como catalisadores (YONG et al., 2001). Entretanto, os tratamentos de purificação possuem alto valor econômico para pequenos e médios produtores nacionais de biodiesel, o que implica na necessidade de pesquisas com o objetivo do aproveitamento direto do glicerol bruto (RIVALDI et al., 2007).

Figura 2 - Principais setores industriais que utilizam a glicerina.

Fonte: Adaptado de MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009.

Vale salientar que a rentabilidade de vários processos químicos depende em parte, da venda de seus subprodutos, permitindo a redução dos custos de produção e consequentemente do preço final do produto. Dessa forma, a conversão microbiana do glicerol bruto é vista como uma estratégia para o aproveitamento desse material e obtenção de intermediários químicos de alto valor agregado e bioenergia, tornando a produção de biodiesel mais rentável. Além disso, o glicerol bruto pode conter elementos nutricionais como fósforo, enxofre, cálcio, magnésio, sódio e nitrogênio, que são possíveis de serem utilizados durante o processo fermentativo, o que caracteriza o glicerol como matéria prima para a fermentação industrial (RIVALDI et al., 2007; THOMPSON; HE, 2006; WANG et al., 2001).

3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo biológico natural, que ocorre na ausência de oxigênio molecular, em que um consórcio microbiano (bactérias e arqueias) interage entre si para formar uma fermentação estável e autorregulada, na qual matéria orgânica biodegradável é convertida principalmente em uma mistura dos gases dióxido de carbono e metano, por meio de processos metabólitos complexos que ocorrem em etapas sequenciais (MOSEY, 1983).

Quatro principais etapas podem ser distinguidas na digestão anaeróbia (Figura 3), sendo a primeira caracterizada pela hidrólise de compostos orgânicos complexos em compostos dissolvidos de menor peso molecular, os quais são permeáveis às membranas celulares das bactérias fermentativas. Na segunda etapa, as bactérias acidogênicas fermentativas transformam esses compostos menores em produtos intermediários, ou seja, ácidos de cadeias longas (acético, propiônico, butírico), álcoois (etanol), dióxido de carbono e hidrogênio, além de novas células bacterianas. Na terceira etapa, as bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio agem sobre os produtos da acidogênese, transformando-os em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono, sendo que o hidrogênio pode ser convertido em acetato pelas bactérias acetogênicas consumidoras de hidrogênio (bactérias homoacetogênicas). Na quarta etapa tem-se a produção de metano por duas vias: hidrogenotrófica e acetoclástica, sendo que a primeira corresponde a cerca de 30 % da produção e a segunda cerca de 70 %.

Figura 3 - Representação esquemática das principais etapas da digestão anaeróbia (1) bactérias hidrolíticas (2) bactérias acidogênicas fermentativas, (3) bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio, (4) bactérias acetogênicas consumidoras de hidrogênio, (5) arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, (6) arqueias metanogênicas acetoclásticas e (7) bactérias redutoras de sulfato e bactérias redutoras de nitrato.

Fonte: Adaptado de MOSEY, 1982.

A Tabela 1 apresenta a estequiometria e a variação de energia livre de Gibbs das principais reações da digestão anaeróbia. Observa-se que algumas das reações acetogênicas são termodinamicamente desfavoráveis ($\Delta G^0 > 0$) nas condições padrões (pH neutro, 25 °C e 1 atm), como é o caso das reações do propionato, butirato e etanol. Entretanto, é importante que o equilíbrio dessas reações seja deslocado no sentido de formação do acetato, para que a metanogênese ocorra satisfatoriamente, o que é conseguido pela remoção de hidrogênio do meio. O principal mecanismo de remoção de hidrogênio é o seu consumo pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, o qual, se for capaz de manter uma pressão de hidrogênio no meio entre 10^{-4} e 10^{-6} atm, torna a degradação de propionato, butirato e etanol exergônica, liberando energia para os microrganismos acetogênicos, tornando essas reações termodinamicamente favoráveis (HARPER; POHLAND, 1986; LETTINGA et al., 1999). Posteriormente, os subprodutos da acetogênese são assimilados pelas arqueias metanogênicas acetoclásticas e convertidos a metano e dióxido de carbono.

Tabela 1 - Estequiometria e variação da energia livre (ΔG^0) das reações acidogênese, acetogênese e metanogênese.

Acidogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol⁻¹)
Glicose → Acetato	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2CO_2 + 2H^+ + 4H_2$	- 206,0
Glicose → Butirato	$C_6H_{12}O_6 + 3H_2O \rightarrow CH_3CH_2CH_2COO^- + 2CO_2 + H^+ + 2H_2$	- 255,0
Glicose → Propionato	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COO^- + 2H_2O + 2H^+$	- 358,0
Acetogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol⁻¹)
Propionato → Acetato	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + HCO_3^- + 3H_2$	+ 76,1
Butirato → Acetato	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+ 48,1
Etanol → Acetato	$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+ 9,6
Lactato → Acetato	$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	- 4,2
Bicarbonato → Acetato	$2HCO_3^- + 4H_2O + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$	- 70,3
Metanogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol⁻¹)
Acetato → Metano	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + CO_2 + 2HCO_3^-$	- 31,0
Hidrogênio e gás carbônico → Metano	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	- 135,6
Formiato → Metano	$4HCOO^- + H_2O + H^+ \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	- 32,6

Fonte: Adaptado de HARPER; POHLAND, 1986.

Vale destacar que, quando se objetiva a produção de metano, as etapas citadas devem ser mantidas em equilíbrio dinâmico, ou seja, como dito anteriormente, deve ocorrer a contínua remoção de hidrogênio do meio reacional para que a produção de acetato não seja interrompida ou sofra significativa diminuição, afetando assim a produção de metano. Já quando se deseja obter o biocombustível hidrogênio como produto principal da digestão anaeróbia, deve-se garantir que o sistema contenha principalmente organismos produtores de hidrogênio, além da otimização das condições operacionais para esse fim. Como a produção de hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos orgânicos ocorre durante uma etapa intermediária da digestão anaeróbia (acidogênese), deve-se garantir que o processo seja interrompido nesta fase, visto que nas etapas posteriores tem-se o consumo de hidrogênio para a manutenção do equilíbrio do sistema e para produção de metano.

As diferenças fisiológicas entre as bactérias acidogênicas e arqueias metanogênicas devem caracterizar o alicerce para o desenvolvimento de estratégias operacionais para o acúmulo de hidrogênio e/ou demais metabólitos de valor agregado ou para a produção de metano (SHIDA, 2008). Dessa forma, as condições operacionais estabelecidas favorecem ou não a produção desses bioprodutos, que possuem produções teóricas descritas na literatura, a partir de determinado substrato utilizado como fonte de carbono.

A importância do processo de digestão anaeróbia no tratamento de águas residuárias tem crescido nas últimas décadas por apresentar vantagens como: baixo consumo de energia, baixa produção de lodo e possibilidade de recuperação e utilização do metano como combustível (LETTINGA et al., 1980).

3.3 FERMENTAÇÃO DO GLICEROL: ROTAS METABÓLICAS

Devido à ocorrência do glicerol no ambiente, uma vez que ele é componente estrutural de alguns lipídeos, muitos microrganismos são capazes de utilizá-lo naturalmente como única fonte de carbono e energia, motivo que tem atraído atenção para a bioconversão do glicerol (DA SILVA; MACK; CONTIERO, 2009; SAMUL; LEJA; GRAJEK, 2014). A literatura descreve alguns microrganismos que convertem glicerol em hidrogênio, como *Clostridium* sp. (MANGAYIL; KARP; SANTALA, 2012), *Clostridium pasteurianum* (LO et al., 2013), *Enterobacter aerogenes* (ITO et al., 2005; REUNGSANG; SITTIJUNDA; O-THONG, 2013), *Klebsiella* sp. (CHOOKAEW; O-THONG; PRASERTSAN, 2014a) e *Klebsiella pneumoniae* (LIU; FANG, 2007); que convertem glicerol em 1,3-propanodiol (1,3-PDO), como *Citrobacter freundii* (DANIEL; BOENIGK; GOTTSCHALK, 1995; HOMANN et al., 1990), *Klebsiella pneumoniae* (CHENG et al., 2007; HOMANN et al., 1990), *Clostridium pasteurianum* (MOON et al., 2011), *Clostridium butyricum* (BIEBL et al., 1992; FORSBERG, 1987; GONZÁLEZ-PAJUELO; ANDRADE; VASCONCELOS, 2004, 2005), *Enterobacter agglomerans* (BARBIRATO; BORIES, 1997) e *Enterobacter aerogenes* (ITO et al., 2005); e que convertem glicerol a metano, como *Methanosaeta* sp., *Methanosarcina* sp., *Methanobacterium* sp. e *Methanospirillum* (DINH et al., 2014; LOVATO et al., 2012; PHUKINGNGAM et al., 2011; YANG; TSUKAHARA; SAWAYAMA, 2008).

O glicerol puro adentra a célula através do processo de difusão passiva, não sendo necessária a atuação das bactérias hidrolíticas, que possuem papel importante na degradação inicial de compostos como óleos e graxas, presentes no glicerol bruto (DA SILVA; MACK; CONTIERO, 2009). Esses microrganismos hidrolíticos fermentativos hidrolisam lipídeos e formam glicerol e ácidos graxos de cadeia longa pela ação de lipases extracelulares (MENDES et al., 2005).

O glicerol pode ser metabolizado pelas seguintes rotas metabólicas: redutora e oxidativa (Figura 4). Na via redutora, a enzima glicerol desidratase (GDHt) atua como catalisadora, removendo uma molécula de água (H₂O) do glicerol, o convertendo a 3-hidroxi propionaldeído (3HPA) o qual é convertido a 1,3-propanodiol pela enzima

1,3-propanodiol oxidoredutase (PDOR), com a oxidação do NADH_2 (BIEBL et al., 1999; SILVA et al., 2014).

Figura 4 - Rotas metabólicas da fermentação do glicerol até compostos mais simples.

Fonte: Adaptada de BIEBL et al., 1999.

A via oxidativa é catalisada pela enzima glicerol desidrogenase (GDH), a qual converte glicerol em dihidroxiacetona (DHA), gerando equivalentes redutores NADH_2 , sendo posteriormente fosforilada pela enzima dihidroxiacetona quinase (dependente de ATP) a dihidroxiacetona-fosfato (RIVALDI et al., 2007; SILVA et al., 2014). A dihidroxiacetona-fosfato por sua vez é convertida a fosfoenolpiruvato, que pode levar ao succinato e posteriormente a propionato ou ser convertida a piruvato, pela ação da enzima piruvato-ferredoxina oxiredutase (ALBUQUERQUE, 2014). O piruvato, por sua vez, sob ação da enzima hidrogenase é levado a formiato ou acetil-CoA, a partir do qual segue a rota glicolítica. O formiato pode ser convertido a H_2 e CO_2 por algumas bactérias entéricas, sendo a produção de H_2 atribuída a ação da enzima formiato liase (BIEBL et al., 1999). As reações a partir do acetil-CoA, que levam a diferentes produtos, variam de acordo com as condições ambientais e enzimas presentes nas reações, podendo originar compostos mais simples como 2,3-propanodiol, etanol, acetato, butirato, lactato, formiato, hidrogênio e dióxido de carbono (BIEBL, 2001; DA SILVA; MACK; CONTIERO, 2009; ITO et al., 2005; JARVIS; MOORE; THIELE, 1997).

Quando se pretende obter metano no processo anaeróbio (geração de energia), os microrganismos formadores de formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (na forma de íon bicarbonato) devem estar presentes, visto que estes são os únicos compostos que podem ser convertidos diretamente ao produto mencionado, pela ação de arqueias metanogênicas.

Caso algum fator externo interfira no processo de degradação anaeróbio as vias metabólicas mencionadas anteriormente podem ser inibidas. Além de fatores ambientais e operacionais (pH, alcalinidade e temperatura), o acúmulo de intermediários e a presença de compostos considerados tóxicos podem inibir a digestão anaeróbia do glicerol (VIANA, 2011). Os principais compostos encontrados nesse resíduo são ácidos graxos de cadeias longas (YONG et al., 2001), sais inorgânicos dissolvidos (CARMONA et al., 2009; HUTŇAN; KOLESÁROVÁ; BODÍK, 2013), sulfatos (MA et al., 2008) e sulfetos (HULSHOFF POL et al., 1998) formados a partir de compostos sulfurosos, que causam inibição da atividade dos microrganismos, em especial das arqueias metanogênicas.

A digestão anaeróbia do glicerol e obtenção de bioprodutos com valor agregado pode ocorrer mediante diferentes temperaturas: mesofílica, termofílica ou hipertermofílica. A escolha da faixa ótima vai depender do tipo de cultura empregada, sendo que, a variação da temperatura definida afeta diretamente a estabilidade e a sobrevivência do sistema (LEE et al., 2006).

O fato do processo de produção do biodiesel e obtenção do glicerol bruto, assim como sua purificação ocorrer em altas temperaturas, como já explicitado (transesterificação: 60 °C; evaporação para recuperação do álcool: 70 °C; purificação por destilação: 190 a 200 °C), pode justificar processos termofílicos e hipertermofílicos de utilização direta do glicerol em processos fermentativos nessas temperaturas. Entretanto, tal fato não descarta a utilização de processos mesofílicos, uma vez que, muitas indústrias tem implementado sistemas de aproveitamento da energia térmica do resíduo no próprio processo de produção, o que torna processos fermentativos mesofílicos de grande interesse neste contexto, ou seja, após a perda de energia térmica do resíduo no processo (VACCARI et al., 2005). Além disso, na condição mesofílica há menor custo para manter a temperatura constante na faixa estabelecida.

3.3.1 Rendimentos de ácidos orgânicos, álcoois, hidrogênio e metano a partir do glicerol

A distribuição dos metabólitos produzidos pela degradação do glicerol depende primordialmente dos microrganismos presentes, mas também das condições estabelecidas no processo, como tipo de fermentação, disponibilidade de substrato e presença de inibidores (BIEBL et al., 1999).

De acordo com Wang e Yang (2013), 1 mol de glicerol produz 1 mol de ácido propiônico (HPr), e nenhum de ácido acético, apresentando rendimento teórico de ácido propiônico de 0,80 gHPr.g⁻¹glicerol, conforme equação:

(a) Glicerol (C₃H₈O₃) → ácido propiônico (C₃H₆O₂)

De acordo com Zeng (1995) e Zeng, Menzel e Deckwer (1996) as reações que levam à formação de diferentes metabólitos através da fermentação do glicerol, por meio dos organismos *Klebsiella pneumoniae* e *Clostridium butyricum*, são descritas conforme equações a seguir, as quais podem produzir tais metabólitos concomitantemente ao hidrogênio ou consumi-lo:

(b) Glicerol (C₃H₈O₃) → ácido acético (CH₃COOH) e ácido fórmico (HCOOH)

(c) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ ácido butírico ($C_4H_8O_2$)

(d) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ ácido láctico ($C_3H_6O_3$)

(e) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ ácido succínico ($C_4H_6O_4$)

(f) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ etanol (C_2H_6O) e ácido fórmico ($HCOOH$)

(g) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ 2,3-butanodiol ($C_4H_{10}O_2$)

(h) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ 1,3-propanodiol ($C_3H_8O_2$)

A equação que leva a formação de butanol, a partir da fermentação de glicerol, pode ser descrita como (BIEBL, 2001; SARMA et al., 2012):

(i) Glicerol ($C_3H_8O_3$) $\rightarrow$ butanol ($C_4H_{10}O$)

Como visto pelas equações apresentadas anteriormente, diferentes metabólitos podem ser produzidos a partir do glicerol. Além disso, a partir desses metabólitos, outros compostos podem ser gerados, como o ácido capróico ($C_6H_{12}O_2$), com origem em rotas metabólicas a partir do ácido acético, ácido butírico e etanol (DING; TAN; WANG, 2010; THAUER et al., 1968). Verifica-se nas equações a seguir o consumo de hidrogênio em algumas rotas de formação do ácido capróico (14, 15 e 16):

Quando a digestão anaeróbia é completa e satisfatória, os ácidos graxos voláteis são utilizados e convertidos logo após sua formação a gás metano, que tem rendimento máximo em mols, a partir do glicerol, descrito conforme equação a seguir (DE SÁ; CAMMAROTA; FERREIRA-LEITÃO, 2014; DINH et al., 2014):

(j) Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) $\rightarrow$ metano (CH_4)

Entretanto, esse resultado pode sofrer interferência negativa devido às condições ambientais, operacionais e presença de compostos tóxicos no sistema. Além disso, um desequilíbrio no crescimento das bactérias acidogênicas e arqueais metanogênicas, com predominância das primeiras, pode levar a acumulação de intermediários e ao fracasso a digestão anaeróbia (KIM et al., 2011). Assim, a velocidade de conversão não é capaz de consumir completamente o ácido acético produzido e transformá-lo em metano, ocorrendo produção de metano com verificação de ácido acético no efluente, o que torna o rendimento de metano menor que o descrito na equação 18. De acordo com Zhang et al. (2015) a equação pode ser descrita como:

(j) Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) $\rightarrow$ ácido acético (CH_3COOH) + metano (CH_4)

3.4 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE 1,3- PROPANODIOL A PARTIR DO GLICEROL

A busca por fontes alternativas para obtenção de intermediários químicos, atualmente derivados do petróleo, tem despertado maior interesse nos últimos anos na fermentação do glicerol. Dentre os intermediários que possuem valor agregado, e podem ser obtido por tal processo, destaca-se o 1,3-propanodiol (1,3-PDO), matéria prima para a produção de cosméticos e remédios, utilizado como anti-congelante, como fluido para transferência de

calor e na produção do polímero polipropileno tereftalato (PPT) (da SILVA et al., 2009). O interesse nos últimos anos na fermentação do glicerol em 1,3-PDO se deve ao fato desse metabólito ser produzido de forma mais simples, sem geração de intermediários tóxicos e com menor conteúdo de impurezas (SILVA et al., 2014). Assim, pesquisas objetivando melhorias no processo fermentativo podem fazer com que o 1,3-PDO se torne mais competitivo em relação àquele derivado de fontes fósseis, principalmente devido ao emprego do glicerol, uma matéria-prima gerada em grande quantidade e com baixo custo (SILVA et al., 2014). Na literatura, um número significativo de trabalhos abordam a produção desse intermediário químico a partir do processo fermentativo, em sua maioria sob condições mesofílicas de temperatura.

González-Pajuelo, Andrade e Vasconcelos (2005) avaliaram os efeitos da taxa de diluição (D) e da concentração de alimentação de substrato na fermentação contínua de glicerina pura à 1,3-PDO, por meio de *Clostridium butyricum* VPI 3266, em um CSTR, no TDH de 3 h. A taxa de diluição variou de 0,05 a $0,40\text{ h}^{-1}$ e a concentração de glicerol em 30, 60 e 70 g.L^{-1} . A temperatura foi fixada em $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o pH mantido constante em 6,5 pela adição de Na_4OH 6N. Os autores observaram que com o aumento da taxa de diluição, para a concentração fixa de 30 g.L^{-1} , 1,3-PDO foi o principal produto final obtido, com valor máximo de 15 g.L^{-1} . Para todos os valores de D , a conversão de glicerol em 1,3-PDO foi entre 0,60 e $0,68\text{ mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$. Os autores também perceberam que um aumento na taxa de diluição produz elevação na produtividade volumétrica de 1,3-PDO, quando a concentração de alimentação de glicerol permaneceu constante em 30, 60 ou 70 g.L^{-1} . O maior valor reportado de produtividade ($10,3\text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) foi atingido em $D=0,30\text{ h}^{-1}$ e 60 g.L^{-1} de glicerol, obtendo rendimento de 1,3-PDO igual a $0,65\text{ mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$. Nessa condição a concentração de 1,3-PDO foi de $30,9\text{ g.L}^{-1}$. Destaca-se que, quando 70 g de glicerol alimentou o reator em uma taxa de diluição de $0,20\text{ h}^{-1}$, ocorreu lavagem do mesmo.

Cheng et al. (2007) foram os pioneiros em reportar a produção de 1,3-PDO, utilizando *K. pneumoniae*, em escala piloto. Os autores utilizaram um fermentador de três estágios e volumes de 5, 50 e 5000 L para a produção de 1,3-PDO em modo batelada alimentada. A temperatura foi mantida em $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o pH ajustado em 6,8 pela adição de NaOH 10M. Utilizando o fermentador de 5 L e concentração de glicerol de 50 g.L^{-1} , observou-se estabilidade nos resultados de concentração ($17,9\text{ g.L}^{-1}$), rendimento ($0,36\text{ g}_{1,3\text{-PDO}}.\text{g}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) e produtividade ($0,57\text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) de 1,3-PDO ao variar o tempo de incubação de 12 a 48 h. Partindo para o fermentador de 50 L e mantendo a

concentração de glicerol no intervalo de 15-40 g.L⁻¹, foram obtidos 51,8 g.L⁻¹ de 1,3-PDO, com um rendimento de 0,52 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolconsumido. Em condições semelhantes às descritas anteriormente, foram observados os melhores resultados no fermentador de 5000 L, onde foi reportada uma produção de 58,8 g.L⁻¹ de 1,3-PDO, com um rendimento equivalente a 0,53 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolconsumido e produtividade de 0,92 g.L⁻¹.h⁻¹.

Zhang, G. et al. (2007) avaliaram a produção de 1,3-PDO utilizando *Klebsiella pneumoniae*. As condições ótimas determinadas para pH e temperatura foram 8,0 e 40 °C, respectivamente. Como fontes de nitrogênio e carbono, as concentrações ótimas obtidas foram, respectivamente, 6,0 g.L⁻¹ de (NH₄)₂SO₄ e 20,0 g.L⁻¹ de glicerina pura. Nas fermentações em batelada, realizadas sob as condições ótimas citadas, o consumo total de glicerol ocorreu em apenas 8 h, quando a concentração de 1,3-PDO e biomassa apresentaram valores máximos. A concentração, rendimento e produtividade de 1,3-PDO encontrados foram equivalentes a 12,2 g.L⁻¹, 1,53 g.L⁻¹.h⁻¹ e 0,75 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerol, respectivamente. Para as fermentações em batelada-alimentada, a concentração de 1,3-PDO apresentou um máximo de 38,1 g.L⁻¹, enquanto a produtividade e rendimento decresceram (0,79 g.L⁻¹.h⁻¹ e 0,70 mol1,3-PDO.mol⁻¹ glicerol).

Gungormusler, Gonen e Azbar (2011) operando um reator anaeróbio de leito fixo mesofílico (37 °C), avaliaram o efeito de dois materiais suporte, anéis de cerâmica (AC) e pedra pomes (PP), e a utilização de biomassa suspensa (BS) na produção de 1,3-PDO. A concentração de glicerol bruto foi fixada em 40 g.L⁻¹ e com variação do TDH de 16 a 2 h. As máximas concentrações de 1,3-PDO alcançadas foram 31 g.L⁻¹ (reator AC, TDH=12 h), 31 g.L⁻¹ (reator PP, TDH=12 h) e 29 g.L⁻¹ (BS, reator TDH=8 h). Em relação a produção volumétrica de 1,3-PDO os melhores resultados para as os três reatores foram encontrados no TDH de 2 h, com valor máximo de aproximadamente 12 g.L⁻¹.h⁻¹ no reator de BS. O máximo rendimento foi encontrado no reator de PP e foi igual a 0,79 g1,3-PDO.g⁻¹glicerolconsumido.

Gonen, Gungormusler e Azbar (2012) avaliaram o efeito de três diferentes meios suportes, espuma de poliuretano (PU), esferas de vidro (EV) e pedra-pomes (PP), na imobilização de *Klebsiella pneumoniae* para a fermentação de glicerol bruto, em reator anaeróbio de leito fixo. A concentração de glicerol utilizada foi de 45 g.L⁻¹ e temperatura de 37 °C. Todos os biorreatores foram operados continuamente em diferentes TDH, variando entre 16 e 0,5 h. Visando melhorar a imobilização da biomassa no meio suporte, o meio de cultura foi continuamente reciclado no reator durante uma semana, com uma taxa de diluição de 0,05 h⁻¹. A concentração máxima de 1,3-PDO obtida (19,7 g.L⁻¹) foi alcançada utilizando o reator de PU no TDH de 8 h. Por outro lado, os reatores que utilizaram EV e PP, obtiveram

resultados semelhantes no TDH de 4 h. Os reatores imobilizados com PP apresentaram os melhores resultados de produtividade volumétrica ($8,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ no TDH de 1h) e rendimento ($0,45 \text{ g1,3-PDO.g}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{aplicado}}$ no TDH de 4h). Observou-se ainda que a concentração de 1,3-PDO aumentou ($19,7$; $18,4$ e $19,0 \text{ g.L}^{-1}$ para PU, PP e EV respectivamente) à medida que o TDH aumentava para 4, 6 e 8 h, respectivamente.

Gonen, Gungormusler e Azbar (2013) avaliaram a produção de 1,3-PDO, a partir de glicerol bruto (pureza de 50 %), na imobilização de *Clostridium beijerinckii* NRRL B-593 em dois reatores anaeróbios de leito fixo, utilizando esferas de vidro (EV) e anéis de Rushing (AR) como materiais suporte. Os biorreatores foram operados em temperatura mesofílica (37°C), com pH mantido entre 6 e 6,5, concentração de glicerol fixa em 45 g.L^{-1} e variando o TDH de 16 a 2 h. Os autores observaram que, para ambos os reatores, a concentração de 1,3-PDO atingiu o valor máximo no TDH de 8 h (reator EV= 28 g.L^{-1} e reator AR= 30 g.L^{-1}), decrescendo então, até o TDH de 16 h. Entretanto, para a produtividade volumétrica de 1,3-PDO, os resultados mostram um aumento com a diminuição do TDH. Os valores máximos foram atingidos no TDH de 2 h, correspondentes a $6,4 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e $6,1 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, ao utilizarem AR e EV, respectivamente. De maneira geral, o reator imobilizado com AR apresentou melhores rendimentos de 1,3-PDO que o reator com EV. O máximo rendimento obtido foi verificado no TDH de 8 h para o reator com AR ($0,77 \text{ mol1,3-PDO.mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{aplicado}}$) e no TDH de 12 h para o reator com esferas de vidro ($0,69 \text{ mol1,3-PDO.mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{aplicado}}$).

Gallardo et al. (2014) produziram 1,3-PDO a partir de glicerol residual, em três reatores granulares de leito expandido (EGSB). O reator R1 foi inoculado com lodo granular, R2 com lodo granular tratado termicamente e R3 com lodo granular fragmentado. Avaliou-se a aplicação de diferentes TDH, iniciando em 24 h e variando em 20, 12, 6 e 3 h. Os reatores foram operados a 37°C , com concentração de glicerol afluente constante em $25,0 \text{ g.L}^{-1}$ e pH afluente ajustado em 6,8 para proporcionar pH efluente na faixa de 5 a 6 (TDH de 24 a 12 h) e 4 a 5 (TDH de 6 a 3 h). Como resultado, observou-se a conversão de glicerol a 1,3-PDO em todos os reatores, no geral, sem influência do pré-tratamento aplicado ao inóculo no rendimento de 1,3-PDO. O rendimento máximo ($0,52 \text{ mol1,3-PDO.mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$) e a produtividade ($56,9 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) foram atingidos no R1 no TDH de 12 h e 3 h, respectivamente.

A Tabela 2 apresenta as principais características operacionais dos trabalhos mencionados.

Tabela 2 - Principais características da literatura mencionada na produção de 1,3-PDO.

Reator	Inóculo	Temperatura (°C)	Glicerol (g.L ⁻¹)	TDH (h)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	Y 1,3-PDO máximo (mol.mol ⁻¹ glicerol)	Referência
CSTR	<i>Clostridium butyricum</i> VPI 3266	35	30, 60 e 70	3*	240 - 560*	0,65 (60 g.L ⁻¹)	González-Pajuelo, Andrade e Vasconcelos (2005)
Fermentador 3 estágios	<i>Klebsiella pneumoniae</i> M5al	37	15 - 50	-	-	0,53	Cheng et al. (2007)
Batelada e Batelada alimentada	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40	20	-	-	0,75 0,70	Zhang, G. et al. (2007)
Leito fixo	<i>Clostridium beijerinckii</i> NRRL B-593	37	40	16 - 2	60 - 480*	AC: 0,94 (12h)* PP: 0,96 (12h)* BS: 0,86 (8h)*	Gungormusler, Gonen e Azbar (2011)
Leito fixo	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37	45*	16 - 0,5	67,5 - 2160*	PU: 0,30 (6h)* PP: 0,54 (4h)*	Gonen, Gungormusler e Azbar (2012)
Leito fixo	<i>Clostridium beijerinckii</i> NRRL B-593	37	45	16 - 2	67,5 - 240*	AR: 0,77 (8h) EV: 0,69 (12h)	Gonen, Gungormusler e Azbar (2013)
EGSB	Misto	37	25	24 - 3	25 - 200*	0,52 (12h)	Gallardo et al. (2014)

CSTR: *Continuous Stirred Tank Reactor*; EGSB: *Expanded Granular Sludge Bed*; AC: anéis de cerâmica; PP: pedra-pomes; BS: biomassa suspensa; PU: espuma de poliuretano; AR: anéis de Rushing; EV: esferas de vidro; * Calculado com base em informações apresentadas no artigo ou verificado graficamente.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

3.5 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DO GLICEROL

A produção de hidrogênio a partir da digestão anaeróbia de glicerol residual, também conhecida por fermentação escura, apresenta-se como alternativa promissora de aplicação desse substrato, uma vez que espera-se a utilização do hidrogênio como uma das principais fontes de energia limpa no futuro (ITO et al., 2005). A motivação para tal produção é devido a aplicação do hidrogênio como combustível de turbinas, em motores de combustão interna, na síntese e processos industriais e em células de combustíveis para geração de energia. Atualmente, muitos estudos têm investigado a produção de hidrogênio a partir do glicerol, sendo a maioria realizados em temperatura mesofílica. Além disso, trabalhos utilizando cultura mista tem se tornado frequente, uma vez que visam diminuir os custos empregados para manter as condições assépticas quando da utilização de cultura pura.

Ito et al. (2005) realizaram ensaios em batelada, utilizando glicerol puro e bruto (41 % de pureza) como fontes de carbono, por meio da cultura pura *Enterobacter aerogenes* HU-101. Os autores observaram que com o aumento da concentração de glicerol bruto de $1,7 \text{ g.L}^{-1}$ para 25 g.L^{-1} , o rendimento de H_2 e EtOH decresceu de 1,12 para $0,71 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}$ e 0,96 para $0,56 \text{ molEtOH.mol}^{-1}\text{glicerol}$, respectivamente. O mesmo fenômeno foi observado nos experimentos com glicerol puro, nos quais os rendimentos de H_2 e EtOH diminuíram de 1,05 para $0,82 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}$ e de 1,00 para $0,80 \text{ molEtOH.mol}^{-1}\text{glicerol}$, ao aumentarem a concentração do substrato de 5,0 para $25,0 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente. O rendimento de 1,3-PDO, para a concentração de 10 g.L^{-1} de glicerol puro e bruto, foi de 0,16 e $0,12 \text{ mol1,3-PDO.mol}^{-1}\text{glicerol}$, respectivamente. Os autores também avaliaram a produção de H_2 em reator contínuo de leito fixo (volume de 60 mL): (i) com células auto imobilizadas, temperatura de 37°C e concentração de glicerol de $10,13 \text{ g.L}^{-1}$ e (ii) com material suporte (Nagao Porcell), temperatura de 37°C e concentração de glicerol de 10 g.L^{-1} . Em (i) as máximas taxas de produção de hidrogênio encontradas foram de $80 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (glicerol puro) e de $30 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (glicerol bruto). Já em (ii) a máxima taxa de produção de hidrogênio encontrada foi de $63 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (glicerol bruto), com rendimento de etanol de $0,85 \text{ molEtOH.mol}^{-1}\text{glicerol}$.

Selembo et al. (2009) avaliaram a produção de hidrogênio e 1,3-PDO através da fermentação anaeróbia de glicerol puro e glicerol bruto (69,5 % de pureza), na concentração de 3 g.L^{-1} , sob condições mesofílicas de temperatura (30°C). O processo foi realizado em reator batelada com cultura mista, a qual foi tratada termicamente, com o intuito de inibir os microrganismos produtores de metano nos quatro inóculos utilizados nos experimentos

(*tomatsoil*, *wheatsoil*, lodo desidratado e lodo de digestor secundário). Os rendimentos de produção de hidrogênio obtidos foram de $0,28 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$ para o glicerol puro e $0,31 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$ para o glicerol bruto. Em relação ao 1,3-PDO, obteve-se rendimentos de $0,69 \text{ mol 1,3-PDO} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$ a partir do glicerol puro como substrato e $0,59 \text{ mol 1,3-PDO} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$ com o glicerol bruto como substrato. Tais resultados demonstraram que a produção de biodiesel pode ser combinada com a produção de hidrogênio e 1,3-PDO para uma máxima utilização de recursos e minimização dos resíduos gerados.

Mangayil, Karp e Santala (2012) realizaram ensaios em batelada, com duração de 72 h, com intuito de investigar o efeito de diferentes concentrações de glicerol bruto (0,5; 1,0; 2,5; 3,5; 5,0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), sob valores de pH e temperatura já otimizados em 6,5 e 40 °C, respectivamente. O glicerol bruto utilizado possuía pureza de 45 %. O inóculo utilizado foi lodo ativado, com origem em uma planta de tratamento de águas residuárias. Os autores observaram que o rendimento de hidrogênio aumentou positivamente com a elevação da concentração de glicerol bruto até 1,0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, acima da qual ocorreu uma diminuição na conversão do substrato a hidrogênio. Na condição ótima de 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, o rendimento máximo de hidrogênio foi encontrado e igual a $1,1 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}_{\text{consumido}}$. Nessa condição a conversão de glicerol foi de 56,5 % e o conteúdo de hidrogênio na fase gasosa de 15,2 %. Os metabólitos observados foram ácido butírico (2,6 mM), etanol (2,4 mM) e ácido acético (2,1 mM). Os autores também avaliaram o efeito das impurezas presentes no glicerol bruto em relação ao glicerol puro, utilizados na produção de hidrogênio, e concluíram que o crescimento do inóculo e produção de hidrogênio não foram afetados por tais impurezas.

Lo et al. (2013) avaliaram a viabilidade da utilização de glicerol bruto e glicerina pura para a produção de hidrogênio utilizando sete cepas isoladas de microrganismos produtores de hidrogênio (*Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum* e *Klebsiella* sp.) em reator de tanque agitado (CSTR). Entre as cepas analisadas, *C. pasteurianum* CH4 exibiu o melhor desempenho produzindo hidrogênio sob as condições ótimas de temperatura mesofílica (35 °C); pH inicial igual a 7; velocidade de agitação de 200 rpm e concentração de glicerol em 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Ao utilizarem o glicerol puro como fonte de carbono para a fermentação de hidrogênio, a taxa de produção média e rendimento de H_2 foram $103,1 \pm 8,1 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ e $0,50 \pm 0,02 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}$, respectivamente. Em contrapartida, quando se utilizou glicerol bruto como fonte de carbono, a taxa de produção e rendimento de H_2 foram melhoradas para $166,0 \pm 8,7 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ e $0,77 \pm 0,05 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicerol}$, respectivamente. Em tais condições, o percentual de H_2 obtido foi em de 72,71 %. O elevado percentual de H_2

atingido, ainda menor que os obtidos em alguns ensaios experimentais deste trabalho, pode ser justificado pelas condições operacionais adotadas, já que, segundo os autores, estas foram condições ótimas para a produção de hidrogênio.

Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013) investigaram a produção de hidrogênio em um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB), com 450 mL de volume útil, utilizando glicerol puro e bruto como substratos, mediante variação da TCO e pela imobilização de *Enterobacter aerogenes* ATCC13048, com origem em um inóculo de lodo granular metanogênico. A temperatura foi mantida em 37 °C e o pH afluente em 5,5, resultando em pH efluente entre 5 e 6,5. Operando com glicerol puro a TCO sofreu variação de 25; 37,5; 50; 62,5 e 75 g.L⁻¹.d⁻¹. Dentre essas TCO, aquelas que proporcionaram maior taxa de produção de hidrogênio (PVH₂), foram selecionadas como as TCO de operação utilizando glicerol bruto (37,5; 50 e 62,5 g.L⁻¹.d⁻¹). Os autores verificaram que as mudanças na TCO levaram a uma variação no conteúdo de hidrogênio presente no biogás e na PVH₂, visto que ambos apresentaram crescimento até a TCO de 50 g.L⁻¹.d⁻¹ e decaimento com TCO superiores. Assim, a TCO de 50 g.L⁻¹.d⁻¹ foi considerada ótima, a qual proporcionou o máximo conteúdo de hidrogênio e máxima PVH₂, respectivamente iguais a 37,1 % e 9,0 mmolH₂.L⁻¹.h⁻¹ (glicerol puro) e 24,2 % e 6,2 mmolH₂.L⁻¹.h⁻¹ (glicerol bruto), além do máximo rendimento de hidrogênio igual a 410 mmolH₂.mol⁻¹glicerol (glicerol puro) e 324 mmolH₂.mol⁻¹glicerol (glicerol bruto). Os autores ressaltaram que os menores valores obtidos na operação com glicerol bruto foram devido às impurezas contidas no mesmo. Os principais metabólitos solúveis encontrados utilizando glicerol bruto foram etanol, 1,3-PDO, ácido acético e ácido fórmico.

Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014a) investigaram a produção de hidrogênio pela imobilização de *Klebsiella* sp. TR17 em reatores UASB (1,3 L, com volume útil de 1,0 L). Tais reatores foram operados sob condições não esterilizadas a 40 °C e pH inicial igual a 8, com diferentes TDH aplicados (12, 10, 8, 6, 4 e 2 h). O substrato utilizado foi glicerol bruto com 50 % de pureza, em diferentes concentrações (10, 20 e 30 g.L⁻¹), o qual juntamente com suplementos nutricionais caracterizaram o meio de cultura. O inóculo utilizado foi lodo granular metanogênico, o qual foi submetido ao tratamento térmico para posterior imobilização de *Klebsiella* sp. TR17. Os autores verificaram que o TDH ótimo foi de 4 h, no qual foi atingida a máxima produção volumétrica de hidrogênio (242,15 mmolH₂.L⁻¹.d⁻¹) e máximo rendimento (44,27 mmolH₂.g⁻¹glicerol_{consumido}), para as concentrações de 30 e 10 g.L⁻¹, respectivamente. Aumentando-se a concentração do glicerol (10, 20 e 30 g.L⁻¹) para o TDH de 4h, a produção volumétrica aumentou (165,21; 210,44 e 242,15 mmolH₂.L⁻¹.d⁻¹,

respectivamente) e houve decréscimo do rendimento (44,27; 29,85 e 29,00 mmolH₂.g⁻¹glicerol_{consumido}, respectivamente), mas nenhum efeito foi verificado no conteúdo de hidrogênio no biogás (42, 46 e 43 %, respectivamente). Nesse TDH de 4h, o pH efluente apresentou-se próximo de 6,5. Os metabólitos produzidos foram ácido succínico, ácido acético, 1,3-propanodiol, 2,3-butanodiol e etanol.

Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014b) otimizaram a concentração de glicerol e do meio nutriente para a produção simultânea de hidrogênio e etanol, a partir de glicerol bruto (50 % de pureza), em reatores batelada (60 mL), utilizando cultura pura de *Klebsiella* sp. TR17. O pH inicial foi ajustado em 8, com NaOH (5N) ou HCl (5N), e os experimentos realizados a 40 °C. O meio nutriente ótimo obtido foi de 11,14 g.L⁻¹ de glicerol bruto, 2,47 g.L⁻¹ de KH₂PO₄ e 6,03 g.L⁻¹ de Na₄Cl, sendo que, os autores atribuíram ao KH₂PO₄ a função de tamponamento do sistema. O máximo rendimento de hidrogênio e etanol simultâneos previsto pelo modelo foi 0,27 molH₂.mol⁻¹glicerol e 0,63 molEtOH.mol⁻¹glicerol, respectivamente. Assim, aplicando as condições previstas na otimização em testes em batelada, a validação exibiu rendimentos similares ao teórico, com valores de 0,26 molH₂.mol⁻¹ glicerol e 0,58 molEtOH.mol⁻¹ glicerol, respectivamente. Os máximos rendimentos para hidrogênio e etanol, obtidos isoladamente (e não de forma simultânea) também foram apresentados: 0,26 molH₂.mol⁻¹glicerol e 0,63 molEtOH.mol⁻¹glicerol. Esses resultados estão próximos àqueles obtidos de forma simultânea, justificando a obtenção conjunta de ambos, hidrogênio e etanol.

Dounavis, Ntaikou e Lyberatos (2015) utilizaram um reator anaeróbico de coluna ascendente (UFCB), empacotado com grânulos cerâmicos cilíndricos, afim de avaliar o efeito da concentração do glicerol bruto (92,2 % de pureza), do pH afluente e do TDH na produção de hidrogênio. O meio de cultura foi composto por glicerol e nutrientes. O inóculo empregado foi um lodo obtido de um digestor anaeróbico, o qual foi submetido ao tratamento térmico para obter cultura mista acidogênica. A temperatura foi mantida em 35 °C e o TDH sofreu variações de 36, 48 e 24 h. A concentração variou em 10, 15, 20 e 25 g.L⁻¹ e o pH afluente em 6, 6,5 e 7. Dessa forma, oito períodos foram caracterizados (A - H), sendo definidos pelos seguintes valores de concentração de glicerol, TDH, pH e TCO, respectivamente: A) 10 g.L⁻¹, 36 h, 6 e 8,7 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; B) 15 g.L⁻¹, 36 h, 6 e 12,6 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; C) 20 g.L⁻¹, 36 h, 6 e 15,1 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; D) 20 g.L⁻¹, 48 h, 6 e 11,4 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; E) 20 g.L⁻¹, 24 h, 6 e 23,8 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; F) 20 g.L⁻¹, 24 h, 6,5 e 23,8 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; G) 20 g.L⁻¹, 24 h, 7 e 23,2 gDQO.d⁻¹.L⁻¹; H) 25 g.L⁻¹, 24 h, 7 e 29,7 gDQO.d⁻¹.L⁻¹. Os autores verificaram que o período A apresentou o maior consumo de glicerol (96,1 ± 2,1 %). Já os períodos A e G foram

considerados períodos ótimos para o parâmetro pH, com valores iguais a 5,8 e 6,1, respectivamente e o período H apresentou a máxima produção volumétrica de hidrogênio, $4,23 \pm 0,03 \text{ L.d}^{-1}$. Os autores verificaram que a proporção de hidrogênio na fase gasosa foi afetada levemente pelas mudanças operacionais, variando de $40,2 \pm 1,0 \%$ a $45,2 \pm 0,2 \%$. De forma contrária o rendimento ($\text{molH}_2.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) aumentou quando a concentração de glicerol na alimentação passou de 10 g.L^{-1} em A para 20 g.L^{-1} em C, e então sofreu redução quando o TDH aumentou de 36 h em C para 48h em D. Já o efeito do pH, para uma TCO constante (períodos E, F e G) no parâmetro rendimento, mostrou-se significativo, com aumento de rendimento de 50 % e 67 % quando o pH aumentou em 0,5 e 1,0 unidade (em F e G, respectivamente) em relação ao período E. Um novo acréscimo na TCO em H resultou em um aumento de 117 % do rendimento em relação a E, embora a eficiência de conversão de glicerol tenha diminuído nesse período.

A Tabela 3 apresenta as principais características operacionais dos trabalhos mencionados.

Tabela 3 - Principais características da literatura mencionada na produção de H₂.

Reator	Inóculo	Temperatura (°C)	Glicerol (g.L ⁻¹)	TDH (h)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	YH ₂ máximo (mol.mol ⁻¹ glicerol _{cons})	Referência
Batelada	<i>E. aerogenes</i> HU-101	37	1,7-25,0	-	-	GP: 1,05 (5,0 g.L ⁻¹) GB: 1,12 (1,7 g.L ⁻¹)	Ito et al. (2005)
Leito fixo	<i>E. aerogenes</i> HU-101	37	10,13	0 - 1,0 ^a	0 - 243*	-	Ito et al. (2005)
			10,00	0 - 0,67 ^a	0 - 358*		
Batelada	Misto	30	3,0	-	-	GP: 0,28 GB: 0,31	Selembo et al. (2009)
Batelada	Misto	40	0,5-5,0	-	-	1,10	Mangayil, Karp e Santala (2012)
CSTR	<i>C.butyricum</i> , <i>C.pasteurianum</i> e <i>Klebsiella</i> sp.	35	10	12	20*	GP: 0,50 GB: 0,77	Lo et al. (2013)
UASB	<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	37	25	12*	30*	GP: 0,41 GB: 0,32	Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013)
UASB	<i>Klebsiella</i> sp. TR17	40	10, 20 e 30	12 - 2	20 - 360*	4,08* (TDH=4h)	Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014a)
Batelada	<i>Klebsiella</i> sp. TR17	40	11,14	-	-	0,26	Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014b)
UFCB	Misto	35	10, 15, 20 e 25	24 - 48	8,7 - 29,7	≈ 0,50* (25 g.L ⁻¹ , 24h)	Dounavis, Ntaikou e Lyberatos (2015)

CSTR: Continuous Stirred Tank Reactor; UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor; UFCB: Anaerobic Up-flow Column Bioreactor; GP: glicerol puro; GB: glicerol bruto; ^a Calculado como sendo o inverso da taxa de diluição; * Calculado com base em informações apresentadas no artigo ou verificado graficamente.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

3.6 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE METANO A PARTIR DO GLICEROL

O glicerol bruto é um interessante substrato para a degradação anaeróbia, pois leva a obtenção do metano como produto final, sob as vantagens de economia de energia, geração de baixa quantidade de lodo e excelente estabilização do resíduo (HUTŇAN; KOLESÁROVÁ; BODÍK, 2013). A literatura atual apresenta alguns estudos com o objetivo de investigar a produção de metano a partir do glicerol como única fonte de carbono para a digestão anaeróbia, sendo a maioria realizados em temperatura mesofílica.

Yang, Tsukahara e Sawayama (2008) operaram quatro bioreatores anaeróbios de leito fixo, empacotados com espuma de poliuretano, em modo semi-contínuo, sendo dois destes operados na temperatura mesofílica (35 °C) e dois sob temperatura termofílica (55 °C). Os inóculos utilizados foram lodo mesofílico e termofílico, com origem em uma planta de tratamento de águas residuárias. Os autores objetivaram avaliar a produção de metano a partir de água residuária sintética contendo glicerol, sob variação das condições operacionais, com TDH fixo em 14 dias. Assim, a TCO sofreu variação em 0,25, 0,50 e 0,70 g.L⁻¹.d⁻¹, tendo fim nos seguintes dias de operação: 175, 294 e 426, respectivamente. Para a condição termofílica, uma TCO de 1,00 g.L⁻¹.d⁻¹ foi aplicada até o 516º dia de operação. Todos os resultados apresentados se caracterizaram como média dos dois bioreatores paralelos sob mesma condição de temperatura. O pH manteve-se em cerca de 7,5 durante toda a condição termofílica e menor que 7 após o 175º dia para a condição mesofílica. A porcentagem de metano e a eficiência de remoção de DQO apresentaram-se maiores e mais estáveis na condição termofílica, sendo que na TCO de 1,00 g.L⁻¹.d⁻¹, em média, 86,7 % de remoção de DQO foi alcançada. Em relação ao rendimento de metano, este apresentou diminuição com a elevação da TCO sob condição mesofílica e aumento na condição termofílica até a TCO de 0,70 g.L⁻¹.d⁻¹, com rendimento máximo nessa TCO de 0,45 LCH₄.g⁻¹DQO_{aplicada}, indicando melhor produção nessa temperatura.

Phukingngam et al. (2011) investigaram o desempenho de três reatores compartimentados anaeróbios (ABR), com cinco compartimentos separados cada, para a remoção orgânica e produção de biogás a partir de água residuária do biodiesel, variando a carga orgânica aplicada (0,5 a 3,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹). A operação se deu na temperatura de 27 °C, com pH afluente entre 6,8 a 7,2. Foi utilizado inóculo misto, com origem em reator UASB tratando efluente de indústria de refrigerantes. A água residuária do processo de produção do biodiesel foi pré-tratada com coagulantes químicos para remoção parcial de óleo. Os resultados mostraram que o ABR operado em 1,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e TDH de 10 dias

forneceu as melhores eficiências de remoção de DQO (99 %), metanol (100 %) e glicerol (100 %). O aumento da carga orgânica acima de $1,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$ conduziu a diminuição das eficiências de remoção de DQO e metanol para aproximadamente 80 %. Nas TCO de 0,5 a $2,1 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$, a concentração de AGV variou de 12 a 64 mgHAc.L^{-1} e a razão AGV/AB variou entre 0,04 e 0,10. Os valores de pH efluente foram 7,07 a 7,51. Um aumento da TCO para $3,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$ provocou elevação significativa dos AGV para 410 mgHAc.L^{-1} , resultando em aumento da relação de AGV/AB para 0,61 e queda do pH para 6,07. A taxa de produção de biogás aumentou de $2,1 \text{ L.d}^{-1}$ para $12,4 \text{ L.d}^{-1}$ quando a TCO foi aumentada de 0,5 para $1,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$, e foi relativamente constante quando os reatores foram operados em TCO mais elevadas: 2,1 a $3,0 \text{ kg.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$ de DQO. O rendimento de metano apresentou comportamento semelhante, aumentando até a TCO de $1,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$, na qual apresenta o valor máximo de aproximadamente $0,28 \text{ LCH}_4.\text{g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$, entretanto apresenta decréscimo para as TCO de 2,1 e $3,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}\text{.d}^{-1}$. A composição de metano variou de 64 a 74 %. Um estudo de microscopia eletrônica de varredura indicou que o grupo predominante de microrganismos presentes na superfície externa do lodo granular foi *Methanosarcina*.

Lovato et al. (2012) operou um reator anaeróbio em batelada sequencial contendo biomassa imobilizada (AnSBBR), com recirculação da fase líquida, utilizando cubos de espuma de poliuretano como material suporte e volume total do meio reacional de 3,0 L. Os pesquisadores avaliaram a produtividade de metano e a remoção de matéria orgânica, mediante alterações operacionais, com pH fixo em 7 e temperatura mantida em 30°C . Por ser um sistema em batelada alimentada o TDH não foi mensurado, mas foi referido como igual ao tempo total do ciclo, portanto, 8 h. O substrato utilizado foi o efluente oriundo da produção de biodiesel (produzido pela autora), com suplementação de alcalinidade. Os ciclos de alimentação tiveram variação de 2, 4 e 6 h e o TCO de 4,5; 6,0 e $7,5 \text{ gDQO.L}^{-1}\text{.d}^{-1}$. O melhor resultado de rendimento foi de $5,28 \text{ mmolCH}_4.\text{g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$, com porcentagem de metano no biogás de 75 %, que ocorreram no tempo de alimentação de 2 h e TCO de $4,5 \text{ gDQO.L}^{-1}\text{.d}^{-1}$. Nessa condição a concentração de ácidos voláteis totais foi de $174,5 \text{ mgHAc.L}^{-1}$ e a remoção de DQO não filtrada de 83 %. Entretanto a máxima remoção de DQO não filtrada se deu no tempo de alimentação de 4 h, na TCO de $4,5 \text{ gDQO.L}^{-1}\text{.d}^{-1}$, no valor de 85 %. Nessa TCO de $4,5 \text{ gDQO.L}^{-1}\text{.d}^{-1}$, a alcalinidade suplementada no afluente, com adição de $1,30 \text{ gNaHCO}_3.\text{g}^{-1}\text{DQO}_{\text{aplicada}}$, foi suficiente para manter o pH próximo de 7 e controlar os ácidos. Os autores verificaram que os tempos de alimentação mais longos favoreceram a diminuição da concentração de ácidos voláteis totais durante o ciclo, garantindo a estabilidade e a segurança do processo.

Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013) avaliaram a utilização de glicerol bruto (GB_{NT} - 55 % de pureza) e glicerol bruto pré-tratado por processo de acidificação (GB_{PT} - 80 % de pureza) para produção de metano, em reatores anaeróbios de mistura, operados a 37 °C. Lodo suspenso de uma planta de tratamento de esgoto foi utilizado como inóculo. O reator operado com GB_{NT} teve sua TCO aumentada de 1,6 a 8,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Inicialmente a produção específica de biogás aumentou com o aumento da TCO até 5,6 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, com parâmetros operacionais estáveis, como produção específica de biogás maior que 0,55 L.g⁻¹DQO, concentração de AGV inferior a 700 mgHAc.L⁻¹ e pH em torno de 7. Com o aumento da TCO para 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, ocorreu um acentuado aumento na concentração de DQO e AGV, com diminuição do pH (abaixo de 6) e da produção de biogás. Houve recuperação do sistema, mediante ajuste do pH e novamente se estabeleceu aumento gradual da dosagem de glicerol. Entretanto, foram verificados outros três processos de deterioração (com aumento dos AGV e queda de pH) devido ao conteúdo de sais inorgânicos dissolvidos (SID) presentes no glicerol e sua acumulação no reator. A produção de biogás específica média durante a operação desse reator foi de 0,560 L.g⁻¹DQO. A média da concentração de metano no biogás foi de 61,1 % e rendimento de metano médio de 0,328 L.g⁻¹DQO_{aplicada}. No reator operado com GB_{PT} a TCO foi elevada de 1,2 para 3,6 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. A produção específica de biogás foi em média 0,470 L.g⁻¹DQO para a TCO de 1,2 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, com aumento dessa variável na TCO aplicada de 3,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Quando a TCO foi elevada para 3,6 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, houve deterioração na performance do reator, com sobrecarga indicada pelo aumento da concentração de DQO e AGV no efluente, com diminuição do pH e da produção de biogás. Assim, a TCO foi reduzida novamente a 3,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, permanecendo nesse valor. A média da produção específica de biogás nesse reator foi de 0,680 L.g⁻¹DQO e concentração de metano média de 57,5 %. O rendimento de metano médio foi de 0,345 L.g⁻¹DQO_{aplicada}.

Hutňan et al. (2013) avaliaram a operação de três reatores UASB, inoculados com biomassa suspensa ou granular, no tratamento de glicerol bruto não-diluído e diluído, sob condição mesofílica de temperatura (37 °C) e cultura mista como inóculo. Seis tipos diferentes de gliceróis brutos (GB) foram utilizados, sendo GB1 e GB2 com aproximadamente 55 % de pureza e os demais (GB3-GB6) com cerca de 80 % (devido ao processo de acidificação). Para glicerol não diluído, TDH de 24 h e 8 h foram usados para biomassa suspensa e granular, respectivamente. Utilizando glicerol diluído o TDH foi de 4,8 h. No processamento de glicerol bruto não-diluído (GB1), com biomassa suspensa (UASB₁), a TCO variou de 1,30 a 4,32 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. A produção de biogás específica média foi de 0,73 L.mL⁻¹ de glicerol bruto. Concluiu-se que reator UASB não é adequado

para tratar glicerol bruto quando inoculado com lodo anaeróbio suspenso, pelo fato da biomassa ter apresentado ocasionalmente tendência a flotar, devido aos componentes oleosos do substrato se fixar aos flocos de lodo em suspensão, movendo-os para a superfície. No processamento de glicerol bruto não-diluído (GB1 e GB2) com biomassa granular (UASB₂) a produção de biogás aumentou proporcional ao aumento da dosagem de glicerol. A TCO variou de 2,16 a 6,49 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, alcançando nessa última produção média específica de biogás de 0,82 L.mL⁻¹ de glicerol bruto. Ocorreu deterioração repentina do desempenho do reator, provavelmente pela acumulação de SID, atingindo concentração de ácidos em torno de 6000 mgHAc.L⁻¹ no colapso. A operação com glicerol bruto diluído (GB2-GB6) e biomassa granular (UASB₃), não levou à acumulação de sais no reator, cuja máxima TCO aplicada foi de 3,9 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. O conteúdo de metano no biogás foi em média 70 % e a produção específica de biogás não sofreu variação significativa durante o aumento da TCO, com valor médio de 0,51 L.mL⁻¹ glicerol aplicado. Quando se converte a produção específica de biogás para L.g⁻¹DQO os valores são: (a) UASB₁: 0,46 L.g⁻¹DQO_{aplicada}, (b) UASB₂: 0,51 L.g⁻¹DQO_{aplicada} e (c) UASB₃: 0,43 L.g⁻¹DQO_{aplicada}. Convertendo a produção específica a metano na CNTP, os valores variaram de 0,27 a 0,31 LCH₄.g⁻¹DQO_{aplicada}.

Vlassis, Antonopoulou e Lyberatos (2012) avaliaram a produção de metano utilizando glicerol puro como substrato, em um reator de mistura perfeita (CSTR), com inóculo de cultura mista e operado na temperatura mesofílica (35 °C). Aplicaram-se distintas TCO (0,25; 0,375 e 0,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹) e portanto diferentes concentrações de glicerol (5; 7,5 e 10 gDQO.L⁻¹), em TDH fixo de 20 dias. Na TCO inicial de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, a remoção de DQO alcançou 95 % e o rendimento de metano foi de 0,21 L.g⁻¹DQO_{aplicada}. Com o aumento da TCO para 0,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, houve elevação imediata na produção de metano que diminuiu gradualmente após alguns dias de operação. Tal diminuição foi acompanhada pelo aumento nas concentrações efluentes de DQO e de AGV. O acúmulo de AGV provocou queda no pH (abaixo de 6,7) causando a inibição da metanogênese, que cessou a produção de metano. A TCO foi redefinida para o valor inicial (0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹), indicando que o funcionamento global do reator não suporta cargas orgânicas acima de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Nessa condição o rendimento de metano foi de 0,30 L.g⁻¹DQO_{aplicada}. A produção fermentativa de hidrogênio a partir de glicerol puro também foi avaliada, utilizando-se reatores em batelada sob condições mesófilos (35 °C) e cultura microbiana anaeróbica pré-tratada termicamente como inóculo. O maior rendimento obtido foi de 22,14 ± 0,46 mLH₂.g⁻¹DQO_{adicionada} para um pH inicial de 6,5 e uma concentração de glicerol inicial de 8,3 gDQO L⁻¹. O produto metabólico principal foi

1,3-PDO, enquanto os ácidos butírico e acético, bem como o etanol, em concentrações mais baixas, foram também determinados.

Vlassis et al. (2013) estudaram a digestão anaeróbia de glicerol puro em dois tipos de biorreatores: um reator contínuo de tanque agitado (CSTR) e um reator anaeróbio compartimentado (PABR). Ambos foram operados em condição mesofílica de temperatura (35 °C), submetidos à diferentes TCO. O CSTR foi operado com TDH de 20 dias e concentração de glicerol variando de 5,0; 7,5 e 10,0 gDQO. L⁻¹, que corresponde à TCO de 0,25; 0,375 e 0,50 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, respectivamente (Vlassis et al., 2012). Já o PABR foi operado com TDH de 10 dias e concentração de glicerol variando de 10; 15; 20; 25; 30 e 37,5 gDQO.L⁻¹, que corresponde à TCO de 1; 1,5; 2; 2,5; 3 e 3,75 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, respectivamente. No CSTR a carga máxima de glicerol suportada pelo sistema foi de 0,25 gDQO.L⁻¹ d⁻¹, a qual forneceu uma produtividade de metano de 0,074 L.d⁻¹L⁻¹, remoção de DQO média de 94 % e concentração de glicerol no efluente inferior a 0,03 g.L⁻¹. A alcalinidade e o pH variaram entre os limites habituais para este tipo de processo (3,98 gCaCO₃.L⁻¹ e 7,22 respectivamente), e os sólidos foram estabilizado em 2,45 gSST.L⁻¹ e 1,42 gSSV.L⁻¹. Utilizando-se PABR, até a TCO de 2,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ o reator comportou-se de forma estável. Ao aumentar a TCO para 3,75 g DQO.L⁻¹.d⁻¹, a produção de metano se elevou até o momento em que os AGV se acumularam e atingiram concentração de 15 gDQO.L⁻¹, que resultou na queda do pH (5,22), evidências que levaram a considerar o reator acidificado. Após dias operando em modo batelada (para garantir a recuperação), a TCO foi progressivamente aumentada de 0 a 3,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. O PABR apresentou a maior produtividade de metano de 0,993 L.d⁻¹L⁻¹ enquanto foi operado na TCO de 3 g.DQO.L⁻¹ d⁻¹. Nesta fase, a remoção de DQO foi de 95 %. Portanto, o PABR foi mais eficiente, uma vez que foi submetido a uma carga orgânica 10 vezes maior do que o CSTR. Além disso, seu desempenho foi melhor em termos de remoção de DQO e produtividade de metano.

Watanabe et al. (2013) operaram dois biorreatores anaeróbios de fase única (1,5 L de volume útil cada), sendo R_{CJ} contendo carvão de cedro japonês como material suporte e R_C operando como reator controle, sem material suporte. Os biorreatores foram operados em modo semi-contínuo, com agitação, TDH de 30 dias e temperatura de 35 °C. O inóculo teve origem em um lodo de digestor anaeróbio de grande escala. O substrato utilizado foi o glicerol (≈ 47 % de pureza). Foram estipuladas fases de operações, as quais corresponderam a diferentes adições de glicerol e, portanto distintas TCO aplicadas, sendo a fase 1 com 0,54 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, fase 2 com 1,09 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e fase 3 com 2,17 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Os autores constataram que a produção acumulada de metano comportou-se semelhante em ambos os

reatores durante as duas primeiras fases, com R_{CJ} mostrando resultados ligeiramente superiores que R_C . Entretanto, na fase 3 (maior TCO aplicada) R_{CJ} apresentou produção acumulada de metano significativamente superior a R_C no final da operação, cerca de 1,6 vezes maior (aproximadamente 52 L.reator^{-1} e 32 L.reator^{-1} , respectivamente). No reator R_C , durante o período de operação em torno de 50 a 60 dias, houve uma diminuição na produção de metano, justificada pelo aumento dos níveis de ácido propiônico verificados, indicando a menor eficiência de degradação do mesmo neste reator. A concentração de ácido propiônico foi de 4510 mg.L^{-1} no dia 81 em R_C e de 650 mg.L^{-1} em R_{CJ} . Os autores destacaram que em R_{CJ} tal metabólito foi degradado de maneira satisfatória pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas fixadas no material suporte. Os valores de pH no final da operação foram de 5,87 para R_C e 6,72 para R_{CJ} .

Albuquerque (2014) operou quatro reatores UASB (R_1 , R_2 , R_3 e R_4) em escala de bancada (3,4 L cada), utilizando como substratos glicerol puro e bruto, a fim de verificar a influência destes na produção de metano, assim como da TCO (1 e $2 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$), TDH (12 e 24 h), concentração do substrato (1 e 2 g.L^{-1}) e temperatura (ambiente e 35°C). Para este estudo o pH foi mantido entre 6,8 e 7,2. O inóculo utilizado foi lodo anaeróbio de um reator UASB tratando esgoto sanitário e o substrato glicerol bruto passou por processo de enriquecimento com nutrientes. A operação foi dividida em 2 fases, sendo que na fase 1 os quatro reatores operaram com TCO de $1 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, TDH de 24h e concentração de substrato de 1 g.L^{-1} . Em relação à temperatura, R_1 e R_2 operaram em 35°C e R_3 e R_4 em temperatura ambiente. Já em relação ao substrato, em R_1 e R_3 aplicou-se glicerol bruto e em R_2 e R_4 glicerol puro. Na fase 2, os quatro reatores operaram com TCO de $2 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e glicerol bruto como substrato. R_1 e R_2 operaram com TDH de 12h e concentração de 1 g.L^{-1} , já R_3 e R_4 com TDH de 24h e concentração de 2 g.L^{-1} . Em relação à temperatura, R_1 e R_3 operaram em temperatura ambiente e R_2 e R_4 a 35°C . A autora concluiu que não houve diferença significativa em nenhum dos reatores na fase 1, cujo teor médio de metano no biogás foi de 53 %. Nessa fase a maior produção diária de metano se deu em R_4 ($0,40 \text{ mL.d}^{-1}$). Na segunda fase também não foi constatada diferença estatística entre os reatores, sendo o teor médio de metano no biogás igual a 80 %, com produção máxima de $0,61 \text{ mL.d}^{-1}$ em R_2 . Para análise da influência do TDH, R_1 (fase 1) e R_2 (fase 2) foram comparados, assim como R_3 (fase 1) e R_1 (fase 2), resultando em um teor de metano no biogás e produção de metano maiores no TDH de 12h, com valores de 81 % e $0,61 \text{ mL.d}^{-1}$ para R_2 (fase 2) e 72 % e $0,31 \text{ mL.d}^{-1}$ para R_1 (fase 2). Em relação ao efeito da concentração inicial do substrato, R_1 (fase 1) e R_4 (fase 2) foram comparados, assim como R_3 (fase 1) e R_3

(fase 2), mostrando que os melhores resultados de conteúdo de metano no biogás e produção de metano ocorreram quando a concentração foi dobrada, com valores de 83 % e 0,44 mL.d⁻¹ para R4 (fase 2) e 83 % e 0,44 mL.d⁻¹ para R3 (fase 2).

Dinh et al. (2014) utilizou lodo granular com cultura mista (oriundo de um reator UASB metanogênico tratando água residuária de cervejaria) como inóculo para o tratamento de glicerol em reatores bateladas em escala laboratorial, na temperatura de 39 °C, a fim de avaliar a mudança na comunidade microbiana durante as fases de aclimação e a produção de metano. Dois tipos de soluções sintéticas foram preparadas, sendo (i) uma mistura de glicose, acetato de sódio e ácido láctico (solução GAL) e (ii) glicerol. A mistura de ambas as soluções alimentava os reatores e a proporção de glicerol (de 0 a 100 %) aumentou de forma gradual. A TCO de 2,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ foi mantida constante durante todo o processo fermentativo. Verificou-se um conteúdo de metano entre 59 e 64 %, resultando em uma produção volumétrica de gás metano média de 0,58 L.d⁻¹.L⁻¹ durante as fases de aclimação. Quando a alimentação foi composta totalmente por glicerol, a concentração total de AGV foi menor que 200 g.L⁻¹ (calculado pela soma de ácido acético, propiônico, butírico e isobutírico), permanecendo estável até o final da operação. A análise microbiológica revelou que as comunidades de bactérias e arqueias, mudaram significativamente. Bactérias do gênero *Trichococcus* e família *Syntrophomonadaceae*, tornou-se rapidamente dominante após o início da aclimação, e arqueias pertencentes às metanogênicas hidrogenotróficas do gênero *Methanobacterium* e *Methanospirillum*, aumentaram gradualmente com o progresso da aclimação.

Tangkathitipong, Intanoo e Chavadej (2014) avaliaram a produção simultânea de hidrogênio e metano a partir de água residual contendo glicerol em reator anaeróbio em batelada sequencial (ASBR) de dois estágios. Os reatores foram operados em 37°C e 6 ciclos por dia. Inóculo de cultura mista foi utilizado nos reatores e uma alimentação de concentração constante de 45 gDQO.L⁻¹ foi estabelecida. O pH do reator de hidrogênio (ASBR_{H2}) foi controlado em 5,5. O sistema ASBR de dois estágios foi operado em diferentes TCO (que variaram de 33,75 - 84,38 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ no sistema ASBR_{H2} e 5,63 a 14,06 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ no sistema ASBR_{CH4}). O mais elevado desempenho de produção de hidrogênio e metano foi verificado nas TCO de 67,50 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e 11,25 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, respectivamente. Assim, encontrou-se as porcentagens máxima de H₂ e CH₄ (31,67 % e 74,76 %, respectivamente) e as taxas de produção máxima específica de hidrogênio (332,54 mLH₂.L⁻¹.d⁻¹) e metano (672,84 mLCH₄.L⁻¹.d⁻¹). O desempenho da produção de hidrogênio na máxima TCO diminuiu devido à toxicidade pelo acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV), cuja concentração no

ASBR_{CH₄} alcançou um valor máximo de aproximadamente 1750 mgHAc.L⁻¹, sendo os principais componentes verificados ácidos acético, propiônico, butírico e valérico, uma concentração significativa de 1,3-propanodiol e muito pequena de etanol, os quais se acumularam no sistema resultando na redução do pH e prejudicando a metanogênese. Quando o sistema foi considerado em fase única, a TCO de 9,64 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ foi considerada ótima, na qual foi encontrada porcentagem máxima de H₂ e CH₄ (16,65 % e 38,12 %, respectivamente), as taxas de produção máxima específica de hidrogênio (154 mLH₂.L⁻¹.d⁻¹) e metano (355 mLCH₄.L⁻¹.d⁻¹) e os rendimento máximo de hidrogênio (34,19 mLH₂.g⁻¹DQO_{removida} ou 20,43 mLH₂.g⁻¹DQO_{aplicada}) e metano (78,81 mLCH₄.g⁻¹DQO_{removida} ou 6,11 mLCH₄.g⁻¹DQO_{aplicada}). Assim, os resultados mostram que o sistema sequencial foi mais vantajoso que a operação em fases separadas.

Boonsawang et al. (2014) avaliou o processo anaeróbio de duas fases (reator acidogênico e metanogênico), tratando águas residuais de biodiesel. Inóculo misto advindo de um reator UASB foi utilizado, sendo submetido a tratamento térmico para utilização no reator acidogênico. O efeito do pH, TDH e TCO sobre o desempenho de ambos os reatores foi investigado, sob condição de temperatura mesofílica (30 °C). A condição ideal foi obtida utilizando a metodologia de superfície de resposta com o desenho Box-Behnken. No reator acidogênico, o pH, o TDH e a TCO ótimos foram 6,48, 16 h, e 26 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, respectivamente. Aplicando-se essas condições experimentalmente, elevada produção de AGV (9,35 g.L⁻¹) foi alcançada, com a baixa produção de metano e remoção de DQO (41,5 %). No reator metanogênico, o valor ótimo do pH, do TDH e da TCO foram 6,95, 30 h, e 6,10 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, respectivamente. A produção de biogás verificada experimentalmente foi de 19,1 L.d⁻¹, remoção de DQO de 93,5 % e rendimento de metano de 0,143 LCH₄.g⁻¹DQO_{removida}. Comparando-se os sistemas, aquele operado em duas fases apresentou maior eficiência (remoção de DQO, produção de biogás e produção de metano) do que o sistema de uma fase.

A Tabela 4 apresenta as principais características operacionais dos trabalhos mencionados.

Tabela 4 - Principais características da literatura mencionada na produção de CH₄.

Reator	Inóculo	Temperatura (°C)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	TDH (h)	Concentração (g.L ⁻¹)	Y'CH ₄ máximo (m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Aplicada})	Referência
Leito fixo	Misto	35 55	0,25 - 0,70 0,25 - 1,00	336	3,5 - 9,8* 3,5 - 14,0*	0,370 (TCO=0,25) 0,451 (TCO=0,70)	Yang, Tsukahara e Sawayama (2008)
ABR	Misto	27	0,5 - 0,31 ^a	240	5 - 30* ^b	0,28* (TCO=105) ^e	Phukingngam et al. (2011)
AnSBBR	Misto	30	4,5; 6,0 e 7,5 ^a	2; 4 e 6 ^c	-	5,28 (TCO=4,5)	Lovato et al. (2012)
RAM-GB _{NT} RAM-GB _{PT}	Misto	37	1,6 - 8,0 ^a 1,2 - 3,6 ^a	-	-	0,328 0,345	Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013)
UASB ₁ UASB ₂ UASB ₃	Misto	37	1,30 - 4,32 ^a 2,16 - 6,49 ^a 3,90 ^a	24 8 14,8	1,3 - 4,32* ^b 0,72-2,16* ^b 2,4* ^b	0,29* 0,31 0,27	Hutňan et al. (2013)
CSTR	Misto	35	0,25 - 0,50 ^a	480	5 - 10 ^b	0,30 (TCO=0,25)	Vlassis, Antonopoulou e Lyberatos (2012)
CSTR PABR	Misto	35	0,25 - 0,50 ^a 1,00 - 3,75 ^a	480 240	5 - 10 ^b 10 - 37,5 ^b	0,30 (TCO=0,25) 0,33 (TCO=3,00)	Vlassis et al. (2013)
R _{CJ} R _C	Misto	35	0,54 - 2,17 ^a	720	16,2-65,1* ^b	-	Watanabe et al. (2013)
UASB	Misto	Ambiente ^d 35	1 e 2 ^a	12 e 24	1 - 2 ^b	-	Albuquerque (2014)

Tabela 4 - Principais características da literatura mencionada na produção de CH₄ (continuação)

Batelada	Misto	39	2,5 ^a	-	8,22 ^b	-	Dinh et al. (2014)
ASBR _{fase única} ASBR _{duas fases}	Misto	37	4,82-12,05 ^a 5,63-14,06 ^a	-	45 ^b	6,11x10 ⁻³ (TCO=9,64) -	Tangkathitipong, Intanoo e Chavadej (2014)
R _{CH4} fase única R _{CH4} duas fases	Misto	30	8,8 ^a 4,0 a 8,0 ^a	-	-	0,143 (TCO=6,10) ^f 0,190 (TCO=4,00) ^f	Boonsawang et al. (2014)

ABR: *Anaerobic Baffled Reactor*;

AnSBBR: *Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor*;

RAM: Reator Anaeróbio Metanogênico;

UASB: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor*;

CSTR: *Continuous Stirred Tank Reactor*;

PABR: *Periodic Anaerobic Baffled Reactor*;

R_{CJ}: Reator com carvão de cedro japonês como material suporte;

R_C: Reator Controle;

ASBR: *Anaerobic Sequencing Batch Reactor*;

R_{CH4}: Reator Metanogênico;

^a TCO em função da DQO aplicada (kgDQO.m⁻³.d⁻¹);

^b concentração dada em função da DQO do glicerol (gDQO.L⁻¹);

^c tempo de alimentação (h);

^d A temperatura ambiente variou de 16 a 37 °C;

^e unidade: mmol.g⁻¹DQO_{Removida};

^f unidade: m³.kg⁻¹DQO_{Removida};

* Calculado com base em informações apresentadas no artigo ou verificado graficamente.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

3.7 REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO APLICADO NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO, METABÓLITOS E METANO

Existem na literatura diferentes reatores de fluxo contínuo aplicados a produção de hidrogênio, metabólitos e metano, sendo o reator contínuo de tanque agitado (*Continuous Stirred Tank Reactor* - CSTR) o mais frequentemente utilizado (BARROS et al., 2010). Entretanto, outros reatores são aplicados, como o reator anaeróbio de manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor* - UASB), reator anaeróbio de leito fixo e o reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), que são considerados superiores ao CSTR quanto a capacidade de reterem grande quantidade de biomassa (BARROS et al., 2010). Os microrganismos presentes nestes reatores estão retidos em leito imobilizado ou fixos a sólidos, em forma de biofilmes ou grânulos. As condições fluidodinâmicas estabelecidas, de acordo com a configuração do reator adotado, tem influência direta no processo fermentativo, uma vez que altera a superfície de contato entre microrganismo e substrato e, portanto, a transferência de massa que tem ligação direta com o desenvolvimento dos microrganismos (REIS; SILVA, 2011).

Algumas características fazem do RALF uma configuração benéfica para os processos anaeróbios de produção de bioenergia e metabólitos, como a utilização de partículas no estado fluidificado (característica que aumenta a área superficial de contato com os microrganismos degradadores da matéria orgânica presentes no substrato), transferência de massa eficiente em relação à fluidificação e fácil operação (REIS; SILVA, 2011). De acordo com Zhang, Z. et al. (2007) em comparação a outros reatores, o RALF possui maior adesão de biomassa no meio suporte, suporta baixos TDH e apresenta melhores condições de mistura.

Existem na literatura trabalhos que utilizaram RALF com o intuito de produzir em sua maioria hidrogênio, mas também metabólitos e metano, mediante diferentes condições operacionais e utilização de substratos, os quais serão abordados nos tópicos posteriores.

3.7.1 Reator anaeróbio de leito fluidificado aplicado à produção de hidrogênio e intermediários químicos

Inicialmente, estudos envolvendo água residuária sintética, de menor complexidade, foram reportados pelo grupo de pesquisa do LCAII/DEQ/UFSCar, assim como por outros autores.

Zhang, Z. et al. (2007) avaliaram a produção de hidrogênio em RALF, utilizando carvão ativado como material suporte, glicose (com adição de nutrientes) como substrato, em temperatura mesofílica de operação (37 °C), pH igual a 4,00 e mistura de dois lodos (ativado e digerido) como inóculo. A variação do TDH se deu de 4 a 0,5 h na concentração de 10 g.L⁻¹ de glicose, na qual foi possível observar que a composição de H₂ diminuiu de 61,2 % para 57,2 % com a diminuição do TDH, enquanto o rendimento máximo de hidrogênio de 0,94 molH₂.mol⁻¹glicose foi encontrado para o TDH de 4 h. A produção volumétrica de hidrogênio aumentou linearmente com a diminuição do TDH, com o máximo de 2,22 L.h⁻¹.L⁻¹ no TDH de 0,5 h. Entretanto, a taxa de conversão de glicose diminuiu de 99,47 % em 4 h para 71,44 % em 0,5 h. A biomassa aderida aumentou de 8,1 gVSS.L⁻¹ em 4 h para 21,5 gVSS.L⁻¹ em 0,5 h. Os metabólitos solúveis produzidos foram: acetato (43-46 %), butirato (20-31 %), etanol (14-21 %), ácido capróico (7-10 %) e propionato (0-3 %). Os autores também investigaram o efeito do aumento da concentração (10, 20 e 30 g.L⁻¹) para um TDH fixo de 1 h.

Amorim et al. (2009) avaliaram a produção de hidrogênio em RALF, utilizando cinasita como material suporte e alimentado com água residuária sintética à base de glicose (2 g.L⁻¹). A faixa de TDH avaliada variou de 8 a 1 h e a temperatura foi de 30 °C. Houve acréscimo do rendimento de hidrogênio de 1,41 para 2,49 molH₂.mol⁻¹glicose, quando da redução do TDH de 8 para 2 h, porém, para TDH de 1 h houve diminuição deste parâmetro para 2,41 molH₂.mol⁻¹glicose. O biogás produzido foi composto por H₂ e CO₂, sendo que a redução do TDH levou ao aumento do conteúdo de H₂ de 8 para 35 %. Os principais metabólitos solúveis durante a fermentação foram os ácidos acético e butírico, respondendo por 36,1-53,3 % e 37,7-44,9 % dos metabólitos solúveis totais, respectivamente.

Barros et al. (2010) realizaram experimentos em dois RALF a fim de avaliarem o efeito do material suporte na produção de hidrogênio, sendo R1 operado com poliestireno e R2 com argila expandida. Os reatores foram mantidos na temperatura de 30 °C, pH de 5,5 e o TDH sofreu variação de 8, 6, 4, 2 e 1 h. O inóculo, obtido a partir do lodo anaeróbico de um UASB tratando águas residuárias de suinocultura, foi submetido ao tratamento térmico a fim de eliminar organismos metanogênicos. O substrato utilizado foi água residuária sintética contendo 4 g.L⁻¹ de glicose, suplementada com nutrientes. Os autores concluíram que a conversão de glicose foi maior no reator operado com a presença de argila expandida (R2), atribuindo esse fato as melhores características de superfície desse material. Em ambos os reatores, no TDH de 2 h, ocorreu o rendimento máximo, com valores de 1,90 molH₂.mol⁻¹glicose para R1 e 2,52 molH₂.mol⁻¹glicose para R2, com decréscimo no

TDH de 1 h. Já as máximas produções volumétricas de hidrogênio ocorreram no TDH de 1 h cujos valores para R1 e R2 foram respectivamente $0,95 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $1,21 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$.

Reis e Silva (2011) operaram dois RALF sob velocidades ascensionais distintas (R_{124} com $1,24 \text{ cm.s}^{-1}$ e R_{188} com $1,88 \text{ cm.s}^{-1}$) com o intuito de verificar o efeito dessa variação e do TDH na produção de hidrogênio, sendo que o TDH variou em 8, 6, 4, 2 e 1 h. O substrato utilizado foi a glicose, na concentração de 5 g.L^{-1} , suplementado com nutrientes. O inóculo empregado foi lodo proveniente de um UASB tratando águas residuárias de suinocultura, o qual foi submetido ao tratado térmico. A cinasita foi utilizada como material suporte, a temperatura mantida em 30°C e o pH entre 4 e 5. Os autores verificaram que o decréscimo do TDH implicou em uma maior produção volumétrica de hidrogênio, sendo que R_{124} apresentou resultados maiores em relação a R_{188} para todos os TDH aplicados, com produção máxima de $1,22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ no TDH de 1 h. Também com a redução do TDH, o valor médio do rendimento aumentou até o TDH de 2 h para ambos os reatores, quando ocorreu o máximo rendimento com valor igual a $2,55 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}$ glicose em R_{124} . O TDH de 1 h apresentou um decréscimo significativo de tal parâmetro, sendo a acumulação de AGV no sistema uma justificativa apresentada pelos autores.

Barros e Silva (2012) avaliaram a influência de diferentes materiais suportes, poliestireno (R1), pneu triturado (R2) e polietileno tereftalato – PET (R3), na produção simultânea de hidrogênio e etanol em três RALF, utilizando glicose como substrato, na concentração de 4 g.L^{-1} . Os reatores foram inoculados com lodo anaeróbio, pré-tratado termicamente, proveniente de um reator UASB destinado ao tratamento de efluente suíno. Os RALF foram operado com TDH decrescente de 8 a 1 h, temperatura constante de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e pH em cerca de 5,0 no afluente e 3,5 no efluente. Em relação à produção de H_2 , o melhor desempenho se deu no reator utilizando pneu triturado, no TDH de 2 h, cujo máximo rendimento de hidrogênio foi de $2,11 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}$ glicose, com teor de H_2 de 60 %. Em todos os reatores, os metabólitos solúveis predominantes foram ácido acético, ácido butírico, ácido láctico e etanol, com pequenas quantidades de ácido propiônico, entretanto, o reator R2 produziu uma maior quantidade de ácido acético e butírico ($434,74$ e $1013,61 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente). No entanto, o reator R3 mostrou melhor desempenho na concentração de etanol ($1941,78 \text{ mg.L}^{-1}$).

Muñoz-páez et al. (2013) operaram dois RALF a fim de verificar a influência da temperatura e da TCO na produção de hidrogênio. Os reatores em temperatura ambiente (R_A) e mesofílica de 35°C (R_M) foram operados em duas fases, sendo a fase 1 com TCO de $5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e a fase 2 com TCO de $8 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$. Sacarose, nas concentrações de 5 e 8 mg.L^{-1} ,

enriquecida com nutrientes foi utilizada como substrato e o TDH permaneceu constante em 1 dia. O inóculo utilizado foi lodo metanogênico proveniente de digestor anaeróbio tratando sacarose submetido ao tratamento térmico e tendo carvão ativado granular como material suporte. Os autores constataram que houve melhora no desempenho dos reatores quando a TCO foi aumentado de 5 para 8 g.L⁻¹.d⁻¹, visto que, o conteúdo médio de hidrogênio no biogás aumentou da fase 1 para fase 2 de 10,6 % para 56,0 % em R_A e de 5,0 % para 31,6 % em R_M. Além disso, a produção volumétrica de hidrogênio também aumentou de 1,6 para 41,1 mmolH₂.L⁻¹.d⁻¹ em R_A e de 0,4 para 19,1 mmolH₂.L⁻¹.d⁻¹ em R_M durante a mudança de fase. Nota-se de forma geral que, R_A apresentou melhores resultados em relação a R_B. O pH médio das fases 1 e 2 diminuiu de 5,22 para 4,35 em R_A e de 5,04 para 4,29 em R_M.

Os bons resultados obtidos com água residuária sintética motivaram na literatura a avaliação da produção de hidrogênio e outros metabólitos, a partir de água residuária complexa, como por exemplo, vinhaça de cana-de-açúcar, soro de queijo e manipueira.

Amorim et al. (2014) utilizaram um RALF para avaliar a produção de hidrogênio mediante variação do TDH (8, 6, 4, 2 e 1 h) e, portanto, da taxa de carregamento orgânico (28 a 161 kgDQO.m⁻³.d⁻¹). O substrato utilizado foi a manipueira, na concentração de 4 g.L⁻¹ enriquecida com nutrientes. O inóculo empregado foi lodo oriundo de uma lagoa facultativa tratando águas residuárias de suinicultura, o qual foi submetido a tratamento térmico. No interior do reator a temperatura foi mantida em 28 °C, o pH em aproximadamente 5,0 e argila expandida foi utilizada como material suporte. Os autores constataram que a produção volumétrica de hidrogênio aumentou com a diminuição do TDH, sendo assim, a máxima produção de 2,04 L.h⁻¹.L⁻¹ foi verificada no TDH de 1 h. O rendimento de hidrogênio apresentou crescimento com a diminuição do TDH até o valor de 2 h, com rendimento máximo de 1,91 molH₂.mol⁻¹glicose, apresentando diminuição significativa no TDH de 1 h, com valor de 1,20 molH₂.mol⁻¹glicose.

Santos et al. (2014) operaram dois reatores RALF com o intuito de verificar o efeito da utilização da vinhaça de cana-de-açúcar como substrato na produção de hidrogênio, sob duas condições distintas: R1 operando com vinhaça diluída (10 gDQO.L⁻¹) e R2 com vinhaça bruta (30 gDQO.L⁻¹), ambas com adição de nutrientes. Um lodo anaeróbico termofílico, proveniente de um reator UASB utilizado para tratamento de vinhaça, foi utilizado como inóculo e submetido a tratado térmico. A temperatura foi mantida em 55 °C, o pH próximo a 4,3 e argila expandida foi empregada como material suporte. O TDH sofreu variação em R1 de 6, 4, 2 e 1 h e em R2 de 8, 6, 4, 2 e 1 h. Os autores verificaram que a produção volumétrica de hidrogênio cresceu com a diminuição do TDH, ou seja, com o aumento da TCO, sendo o

valor máximo obtido igual a $1,96 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em R1. R2 apresentou valores baixos de produção de hidrogênio quando comparado a R1, indicando que o excesso da concentração de substrato diminuiu a capacidade do sistema em produzir hidrogênio, devido a inibição provocada pela elevada concentração de AGV. Em relação ao rendimento de hidrogênio, os autores verificaram que R1 se sobressaiu, com valor máximo de $2,86 \text{ mmolH}_2.\text{g}^{-1}\text{DQO}_{\text{adicionada}}$ no TDH de 6 h, verificando que a diminuição da TCO proporcionou menores rendimentos.

Rosa et al. (2014) operaram dois RALF com inóculos distintos (R1 com lodo de suinocultura e R2 com lodo de avicultura) com objetivo de avaliar a influência de ambos, assim como da variação do TDH (4, 2 e 1 h) na produção de hidrogênio. Ambos os inóculos foram submetidos ao tratamento térmico. O substrato utilizado foi soro de queijo na concentração de 5 g.L^{-1} , com adição de nutrientes, a temperatura foi mantida em 30°C , o pH na faixa de 4,0 a 4,5 e o poliestireno utilizado como material suporte. Mesmo com o tratamento térmico dos inóculos e condições operacionais ácidas, quando os reatores foram operados no TDH de 1 h, metano foi produzido concorrentemente com hidrogênio, sendo seu maior valor de $0,68 \text{ LCH}_4.\text{h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em R2. As produções máximas de hidrogênio em R1 e R2 foram respectivamente $0,74 \text{ LH}_2.\text{h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $0,51 \text{ LH}_2.\text{h}^{-1}.\text{L}^{-1}$, também no TDH de 1 h. Em ambos os reatores o conteúdo de metano foi igual a 16 %, o conteúdo de hidrogênio igual a 30 % em R1 e 10 % em R2. O máximo rendimento de hidrogênio se deu no TDH de 4 h em R1 e foi de $1,33 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}\text{lactose}$. Já o máximo rendimento de metano se deu em R2, no TDH de 1h (quando ocorreu produção de metano) e foi de $1,26 \text{ molCH}_4.\text{mol}^{-1}\text{lactose}$, justificando assim a diminuição do rendimento de hidrogênio nesse reator.

Reis et al. (2015) operaram dois RALF com intuito de avaliar a produção de hidrogênio e metano utilizando vinhaça de cana-de-açúcar como substrato, sob duas concentrações, sendo o reator R5 com concentração de 5 gDQO.L^{-1} e R10 com 10 gDQO.L^{-1} . O TDH sofreu a mesma variação em ambos os reatores (6, 4, 2 e 1 h) e o inóculo utilizado foi lodo anaeróbio proveniente de um reator UASB tratando águas residuárias de suinocultura, sendo tal lodo submetido a tratamento térmico. A água residuária foi composta de vinhaça nas concentrações mencionadas e suplementada com nutrientes. No interior do reator a temperatura foi mantida nas condições ambientes de 22°C , o pH na faixa de 4 a 5 e argila expandida foi utilizada como material suporte. Em R5 o conteúdo de hidrogênio no biogás apresentou decaimento durante a variação do TDH de 6 até 2 h, com significativo aumento no TDH de 1 h, ocorrendo neste último seu valor máximo (34 %). De maneira oposta o conteúdo de metano no biogás aumentou até o TDH de 2 h, no qual apresentou seu valor máximo, cessando sua produção no TDH de 1 h. Em R10 o conteúdo de hidrogênio apresentou

comportamento semelhante a R5, com decaimento entre os TDH de 6 a 2 h, entretanto no TDH de 1 h apresentou-se praticamente igual ao de 2 h e seu valor máximo ocorreu em 6 h. O conteúdo de metano apresentou comportamento irregular, mas com valores aproximadamente constantes. Assim, a condição ácida e o tratamento térmico não foram suficientes para inibir os organismos consumidores de hidrogênio. Em R5, tanto a produtividade volumétrica de hidrogênio como o rendimento de hidrogênio apresentaram aumento com a diminuição do TDH, com valores máximos em 1 h ($0,57 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $1,96 \text{ mmolH}_2.\text{gDQO}^{-1}\text{removida}$). Em R10, de maneira contrária, tais parâmetros apresentaram de forma geral decaimento com a diminuição do TDH. Os principais metabólitos produzidos foram etanol, ácido butírico, ácido propiônico e metanol.

Trabalhos recentes do grupo de pesquisa do LCAII/DEQ/UFSCar relatam o potencial de aplicação de RALF na fermentação do glicerol bruto.

Ferreira (2014) avaliou a influência do TDH (14, 12, 10, 8, 6, 4, 2 e 1 h) na produção de hidrogênio, a partir de glicerol bruto, em RALF termofílico. A concentração de glicerol foi fixada em 5 g.L^{-1} e a temperatura do reator mantida em 55°C . O inóculo utilizado foi lodo granular proveniente de um UASB termofílico para tratamento de vinhaça. Os resultados mostraram que o maior rendimento e produtividade de hidrogênio foram alcançados no TDH de 1 h, correspondendo a $3 \text{ mol H}_2.\text{mol}^{-1}$ glicerol e $1508,7 \text{ mL.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, respectivamente. O máximo conteúdo de hidrogênio também se deu no TDH de 1 h, com porcentagem de 70 % no biogás. Nos TDH de 14 a 2 h, houve a predominância dos metabólitos 1,3-propanodiol (34-50 %), etanol (14-29 %), ácido acético (4,5-18 %) e ácido butírico (4,3-21 %). No entanto, ao reduzir o TDH para 1 h, a produção de etanol foi interrompida e a produção de ácido propiônico foi favorecida (56 %), seguida por 1,3-propanodiol (30 %) e ácido acético (11,5 %).

Bosio (2014) avaliou a produção biológica de hidrogênio em RALF, utilizando glicerol bruto como substrato, na concentração fixa de 5 g.L^{-1} , mediante variação do TDH (14, 12, 10, 8, 6, 4, 2 e 1 h), com temperatura fixa de 30°C . Argila expandida foi utilizada como material de suporte e lodo proveniente de um reator UASB tratando água residuária de abatedouro de aves, foi utilizado como inóculo, mediante tratamento térmico prévio. A produção volumétrica de hidrogênio aumentou de 0,08 para $0,73 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ com a diminuição do TDH de 14 para 1 h, respectivamente. O rendimento de hidrogênio não apresentou a mesma tendência e manteve-se praticamente inalterado (0,62; 0,76; 0,73; 0,75; 0,60; 0,58; 0,69 e $0,85 \text{ molH}_2.\text{mol}^{-1}$ glicerol). Os principais metabólitos verificados foram 1,3-propanodiol, etanol, ácido acético, butírico e propiônico. A maior concentração de 1,3-PDO (1.230 mg.L^{-1}),

etanol (723 mg.L^{-1}), ácido acético (204 mg.L^{-1}), ácido propiônico (759 mg.L^{-1}) e ácido butírico (324 mg.L^{-1}) foi observada nos TDH de 6, 14, 8, 2, 6 h, respectivamente.

Nazareth (2015) com o intuito de avaliar a produção de ácido propiônico, 1,3-PDO e hidrogênio, operou um RALF utilizando pneu triturado como material suporte e glicerol bruto como substrato, na concentração de 5 g.L^{-1} , suplementado com nutrientes. O inóculo empregado foi lodo proveniente de um reator UASB mesofílico, utilizado no tratamento de águas residuárias de abatedouro de aves, o qual foi submetido a tratamento térmico. A temperatura foi mantida em $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e o pH entre 4,5 e 5,5. O TDH decresceu de 8 a 0,5 h. A autora constatou que não ocorreu produção volumétrica de hidrogênio nos TDH de 8, 6 e 4 h, e que nos demais TDH (2, 1 e 0,5 h) houve produção de hidrogênio, cujo valor máximo de $13,2 \text{ mL.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ocorreu no TDH de 1 h. Além disso, os resultados obtidos mostram que os principais metabólitos produzidos foram ácido propiônico e 1,3-PDO, com rendimentos máximos de 1,77 e $0,82 \text{ mol.mol}^{-1}$ glicerol, no TDH de 8 h.

Paranhos (2016) teve por objetivo otimizar a produção de hidrogênio e outros metabólitos, utilizando glicerol bruto como substrato, empregando técnicas de planejamento experimental e otimização estatística de processos. No primeiro estudo (otimização de parâmetros operacionais) um reator RALF mesofílico foi operado em 10 fases distintas, distribuídas conforme uma combinação do TDH (9,24 a 0,76 h) e da concentração de glicerol ($17,1$ a $2,9 \text{ g.L}^{-1}$) proposta por uma matriz de um DCCR. Como resultado, a máxima conversão de glicerol, 98,4 %, foi obtida em concentrações de substrato menores que $5,0 \text{ g.L}^{-1}$. O máximo rendimento ($0,17 \text{ mol H}_2.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) e conteúdo de hidrogênio no biogás produzido (87,4 %) foram atingidos em concentrações superiores a $10,0 \text{ g.L}^{-1}$ e TDH de 5 h. Dentre os principais metabólitos solúveis produzidos, 1,3-PDO e ácido propiônico (HPr) se destacaram. O máximo rendimento de 1,3-PDO ($1,05 \text{ mol 1,3-PDO.mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) foi obtido com $10,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicerol em TDH de 9,24 h, enquanto que o máximo rendimento de HPr ($0,71 \text{ mol HPr.Mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) foi alcançado com $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicerol e TDH de 2 h. O segundo estudo, por sua vez, consistiu na otimização de componentes do meio de cultura (glicerol, KH_2PO_4 , extrato de levedura e vitamina B12), através de ensaios em batelada, e posterior aplicação em RALF. Os máximos rendimentos de hidrogênio e etanol, $0,006$ e $0,291 \text{ mol.mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$, foram obtidos em meio de cultura ótimo constituído por $26,53 \text{ g.L}^{-1}$ de glicerol, $1,75$ de KH_2PO_4 , $0,0076 \text{ g.L}^{-1}$ de B12 e $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de extrato de levedura. A aplicação do meio de cultura otimizado em reator contínuo não resultou na melhoria dos rendimentos de hidrogênio e etanol, no entanto,

ocasionou um aumento no rendimento de 1,3-PDO, alcançando $0,38 \text{ mol } 1,3\text{-PDO} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glicérol}_{\text{consumido}}$.

A Tabela 5 apresenta um resumo das características operacionais dos trabalhos mencionados.

Tabela 5 - Principais características da literatura mencionada utilizando RALF para obtenção de H_2 .

Substrato	Inóculo	Temp (°C)	Conc _{sub} (g.L ⁻¹)	TDH (h)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	Referência
Glicose	Misto	37	10	4 - 0,5	60 - 480*	Zhang, Z. et al. (2007)
Glicose	Misto	30	2	8 - 1	6 - 48*	Amorim et al. (2009)
Glicose	Misto	30	4	8 - 1	12 - 96*	Barros et al. (2010)
Glicose	Misto	30	5	8 - 1	15 - 120*	Reis e Silva (2011)
Glicose	Misto	23	4	8 - 1	12 - 96*	Barros e Silva (2012)
Sacarose	Misto	TA e 35	5 e 8	24	5 e 8	Muñoz-páez et al. (2013)
Manipueira	Misto	28	4	8 - 1	28 - 161 ^a	Amorim et al. (2014)
Vinhaça	Misto	55	-	6 - 1 8 - 1	10 ^a 30 ^a	Santos et al. (2014)
Soro de queijo	Misto	30	5	4 - 1	30 - 120*	Rosa et al. (2014)
Vinhaça	Misto	22	-	6 - 1	5 ^a 10 ^a	Reis et al. (2015)
Glicerol	Misto	55	5	14 - 1	8,27 - 120*	Ferreira (2014)
Glicerol	Misto	30	5	14 - 1	8,27 - 120*	Bosio (2014)
Glicerol	Misto	30	5	8 - 0,5	15 - 240*	Nazareth (2014)
Glicerol	Misto	30	17,1-1,9	9,24-0,76	13,9 - 260,4	Paranhos (2016)

Temp: temperatura; Conc_{sub}: concentração do substrato utilizado (g_{substrato}.L⁻¹); TA: temperatura ambiente; ^a TCO é expressa em relação a DQO (kgDQO.m⁻³.d⁻¹); * Calculado com bases em informações do autor.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

3.7.2 Reator anaeróbio de leito fluidificado aplicado na produção de metano

Alguns estudos envolvendo água residuária sintética (de menor complexidade) e substratos de maior complexidade (como por exemplo, vinhaça), utilizando RALF com o objetivo de produzir metano podem ser verificados na literatura.

García Encina e Hidalgo (2005) avaliaram a influência da composição da fonte de carbono no desenvolvimento de biofilmes microbianos sob condições mesofílicas (33 °C) em reatores RALF. R1 foi alimentado com ácido acético como única fonte de carbono enquanto que R2 foi alimentado com águas residuárias contendo uma mistura de ácido acético, ácido propiônico e etanol. BioLite foi usado como material suporte em ambos os reatores e lodo mesofílico proveniente de um UASB foi utilizado como inóculo. A concentração de biomassa e a densidade do biofilme foram maiores na parte inferior do leito do que nos níveis superiores, sendo que a resistência à transferência de massa foi aumentada nessa zona. Estudos microscópicos revelaram diferenças importantes sobre a estrutura do biofilme, a colonização microbiana e a sua morfologia. Todos os experimentos realizados mostraram uma presença predominante de formas filamentosas metanogênicas, que se assemelharam a *Methanosaeta* (*Methanotrix*), que é essencial na estruturação do biofilme. Quando ácido propiônico e etanol foram incluídos na alimentação do reator, outras populações apareceram, provavelmente acetogênicas, que estavam localizadas na camada exterior do grânulo.

Fernández et al. (2007) avaliaram a produção de metano a partir da utilização de zeólita como material suporte em RALF mesofílico (30 °C). R1 operou com diâmetro de partículas de zeólita entre 0,25 a 0,50 mm e R2 com diâmetro de partículas de 0,50 a 0,80 mm. Vinhaça de cana-de-açúcar foi utilizada como substrato, com variação de TCO de 0 a 20 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. O pH manteve-se praticamente constante em 7,0 para ambos os reatores, conseguido por valores de alcalinidade total na faixa de 3400-3850 mgCaCO₃.L⁻¹, que impediram a queda desse parâmetro até a máxima TCO aplicada (20 gDQO.L⁻¹.d⁻¹). Na TCO máxima, a maior concentração de AGV efluente foi obtida e seu valor foi menor que 500 mgHAc.L⁻¹. Eficiências de remoção de DQO entre 80 % e 90 % foram alcançadas nos reatores para as TCO estabelecidas. Em relação ao volume de metano produzido por dia, este aumentou linearmente com o aumento da TCO aplicada. O rendimento de metano de 0,29 LCH₄.g⁻¹DQO_{consumida} mostrou-se independente da TCO aplicada. Os microrganismos anaeróbios predominantes que colonizaram a zeólita foram *Methanosaeta* e *Methanosarcinaceae*, enquanto as bactérias redutoras de sulfato se apresentaram em número reduzido. Os resultados obtidos em ambos os reatores foram muito similares, mostrando que o tamanho da partícula não exerceu influência na comunidade microbiana colonizadora do material suporte.

Siqueira, Damiano e Silva (2013) operou um RALF, com intuito de avaliar a produção de metano a partir do substrato vinhaça de cana-de-açúcar. O reator foi operado sob condição mesofílica (30 °C), utilizando partículas de poliestireno como material suporte, mantendo-se o

TDH fixo em 24 h e o pH efluente entre 7,8 e 8,6. O inóculo utilizado foi lodo granular de um reator UASB tratando água residuária de abatedouro de aves. As concentrações médias de vinhaça tratadas foram de 2.273, 4.891, 8.192, 10.353, 15.244 e 20.073 mg.L⁻¹, com TCO equivalentes de 3,33; 6,68; 10,33; 14,44; 19,87 e 26,19 kg.m⁻³.d⁻¹ e respectivas eficiências de remoção de DQO de 53, 67, 59, 66, 70 e 51 %. As concentrações de alcalinidade a bicarbonato e ácidos voláteis totais aumentaram com a elevação da TCO variando entre 918 a 7.275 mgCaCO₃.L⁻¹ e 365 a 3.146 mgHAc.L⁻¹, respectivamente. A produtividade de biogás no reator alcançou 5,37 m³.m⁻³.d⁻¹ para TCO aplicada de 25,32 kg.m⁻³.d⁻¹. Exames de microscopia ótica constataram a presença de arqueias metanogênicas do gênero *Methanosarcina* durante a adaptação do inóculo e predominância de espécies semelhantes às arqueia do gênero *Methanosaeta* durante a operação em modo contínuo.

Andalib et al. (2012) avaliaram a tratabilidade da vinhaça para produção de metano em RALF mesofílico (37,1 °C), utilizando zeólita como material suporte (diâmetro médio: 425 a 610 µm e área superficial específica: 26,5 m².g⁻¹) e aplicando TCO de 29 kg.m⁻³.d⁻¹. A vinhaça apresentava DQO total de 120 g.L⁻¹ e SST de 60 g.L⁻¹. A concentração de vinhaça na alimentação foi de 130 gDQO.L⁻¹ e sólidos solúveis totais de 47 gSST L⁻¹, enquanto a alcalinidade média foi mantida em 3700 mgCaCO₃.L⁻¹. O reator apresentou até 88 % de remoção de DQO_{total} e 78 % de remoção de SST em altas cargas orgânicas e cargas de sólidos (TCO e TCS) iguais a 29 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e 10,5 kgSST.m⁻³.d⁻¹, respectivamente, no TDH de 3,5 dias. Taxas de produção de metano de até 160 L.d⁻¹ no estado estacionário equivalente a 40 LCH₄.L⁻¹.d⁻¹ e taxa de produção de biogás por volume de reator de 15,8 L_{gás}.L⁻¹_{reator}.d⁻¹ foram alcançados.

Yeshanew et al. (2016) avaliaram o processo de *start-up* de um RALF mesófilos (37 °C) operado no TDH de 20 dias, utilizando glicose e posteriormente uma mistura de acetato e propionato como substratos, os quais foram enriquecidos com meio nutriente. Kaldness-K1 (pequenos cilindros de polietileno de baixa densidade) foi empregado como material suporte. O inóculo misto utilizado foi proveniente de uma planta de tratamento de resíduos de laticínio e de estrume de búfalo em condições mesofílicas. O desempenho do reator e a formação de biofilme foram avaliados durante o processo. O uso de acetato e propionato como substratos aumentou o crescimento de bactérias metanogênicas, favorecendo a sua colonização precoce. Por outro lado, a suplementação e biodisponibilidade de metais traços, em particular ferro, foi um importante parâmetro para sustentar a atividade de bactérias metanogênicas e acelerar o processo de *start-up*. No final do processo de adaptação, o reator

produziu um rendimento de metano diário perto do valor teórico, ou seja, entre 340 e 345 mL.g⁻¹DQO.d⁻¹, com uma eficiência de remoção de DQO entre 94 e 95 %.

3.8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A atual escassez de combustíveis fósseis e a preocupação ambiental envolvendo sua utilização, tem incentivado a busca por fontes alternativas de energia. No Brasil, destaque-se a produção crescente nos últimos anos do biodiesel, a qual disponibiliza quantidade expressiva de glicerol bruto no mercado. Assim, a utilização desse subproduto diretamente em processos fermentativos para a obtenção de intermediários químicos de valor agregado e bioenergia (na forma de hidrogênio e metano), tem-se apresentado como uma alternativa atrativa, visto que os processos de purificação do glicerol bruto possuem custos elevados, inviabilizando muitas vezes sua utilização em indústrias químicas que exigem alto teor de pureza.

O desenvolvimento e operação de reatores contínuos para a produção fermentativa de intermediários químicos, hidrogênio e metano a partir de glicerol bruto representam uma lacuna na literatura, quando se estuda a configuração de reator RALF, devido à carência de pesquisas apresentando variações nas condições operacionais aplicadas. Em relação ao parâmetro temperatura do processo fermentativo, a utilização de processos mesofílicos é considerada atrativa do ponto de vista econômico e tecnológico, e se tratando de glicerol bruto, pode ser aplicado ao mesmo, após aproveitamento de sua energia térmica no próprio processo produtivo do biodiesel, uma vez que a temperatura de saída do resíduo glicerol está acima da faixa mesofílica.

Assim, mediante escassez de pesquisas que buscam agregar valor ao glicerol bruto através da sua digestão anaeróbia em RALF mesofílico, para a obtenção de intermediários químicos de valor agregado e bioenergia, o presente trabalho teve por intuito contribuir com tal linha de pesquisa.

A configuração RALF e a utilização do inóculo misto, bem como a aplicação de um resíduo abundante e de baixo custo, vão de encontro com a sistemática de redução de custo de produção. O estudo de reatores acidogênico e metanogênico operados independentes, busca o conhecimento para futuras aplicações de reatores em série, os quais podem tornar a bioconversão do glicerol mais eficiente.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este tópico descreve as estratégias executadas durante o desenvolvimento desta pesquisa, o qual se caracteriza por apresentar o *layout* adotado durante o trabalho experimental, os procedimentos preliminares para obtenção de um sistema apto à coleta de dados em sistema aberto e as metodologias adotadas para avaliar o desempenho dos reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF).

Com o intuito de produzir bioenergia e intermediários químicos, este estudo foi embasado na operação de dois RALF, independentes, destinados à produção biológica de hidrogênio e metabólitos de valor agregado (reator acidogênico) e produção de metano (reator metanogênico), ambos utilizando glicerol bruto como fonte de carbono e operados em temperatura mesofílica. Dessa forma, para melhor compreensão, os reatores foram identificados da seguinte maneira:

- RALF-H₂: reator acidogênico;
- RALF-CH₄: reator metanogênico.

4.1 REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIFICADO

Foram utilizados dois reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF) em escala de bancada, com *layouts* idênticos, denominados RALF-H₂ e RALF-CH₄, cujas diferenças operacionais se basearam nos produtos finais pretendidos em cada um. Os reatores, construídos em acrílico transparente, possuíam as dimensões descritas na Tabela 6. Ambos foram operados na temperatura mesofílica de 30 ± 2 °C, mantida pela presença de um banho termostaticado, através da recirculação de água pela camisa externa dos reatores.

Tabela 6 - Dimensões e volumes dos RALF utilizados.

Reator	Altura (cm)	Diâmetro interno (cm)	Volume (L)
RALF-H ₂	150,7	3,615	1,55
RALF-CH ₄	150,7	3,345	1,32

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

As instalações experimentais em circuito fechado de operação e sistema aberto (modo contínuo) estão representadas na Figura 5 (A) e (B), respectivamente, na qual pode-se identificar os seguintes componentes: (1) tanque de água residuária afluyente (barrilete), (2)

bomba de alimentação afluyente⁴, (3) reator de leito fluidificado, (4) banho termostatzado⁵, (5) compartimento de separação gás-líquido, (6) saída para medição e análise de gases, (7) saída do efluente e (8) bomba de recirculação⁶.

O modo de operação em circuito fechado caracteriza a fase de adaptação dos microrganismos e a operação em sistema aberto representa a condição apta para a coleta de dados, ambas detalhadas nos tópicos 4.5 e 4.6.

Figura 5 - Instalação experimental dos RALF (A) circuito fechado, (B) sistema aberto (contínuo).

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

4.2 INÓCULO

Os reatores operados neste trabalho foram inoculados com lodo granular anaeróbio mesofílico, originário de um UASB, destinado para o tratamento das águas residuárias geradas no abatedouro da Avícola Dacar S/A, localizada no município do Tietê (SP). De acordo com Delforno (2014) este lodo possui uma grande diversidade microbiana, caracterizando assim uma cultura mista de organismos, o que justifica seu uso em reatores mesofílicos alimentados com diferentes substratos e objetivos específicos distintos, como glicerol (LOVATO et al., 2012; LULLIO et al., 2014; PARANHOS, 2016), água de

⁴ (RALF-H₂) Bomba ETATRON, modelo DLX-MA/AD, vazão de 8 L.h⁻¹ e pressão de 10 bar; (RALF-CH₄) Bomba dosadora EXATTA, modelo EX00504, vazão máxima de 0,5 L.h⁻¹ e pressão máxima de 4 bar.

⁵Banho termostatzado MARCONI, modelo MA-184.

⁶Bomba ECOSAN, vazão de 10 L.h⁻¹ a 200 L.h⁻¹ e pressão de 6 kg.cm⁻².

lavanderia (DELFORNO, 2014), soro de queijo (ROSA et al., 2014), caldo de cana e melaço (REGO, 2016) e vinhaça (SIQUEIRA; DAMIANO; SILVA, 2013; LAZARO et al., 2014).

Com o intuito de selecionar as bactérias acidogênicas esporulantes e, portanto, eliminar as arqueias metanogênicas no RALF-H₂, o lodo inserido neste reator foi submetido ao tratamento térmico proposto por Kim et al. (2006). Este tratamento é baseado em um choque térmico, visto que, o lodo é aquecido a 90 °C, permanecendo nessa temperatura por 10 minutos, sob constante homogeneização, e posteriormente é encaminhado a um banho de gelo até atingir a temperatura de 25 °C.

O lodo inserido no RALF-CH₄, reator que tem por intuito a produção de metano, não foi submetido a nenhum tratamento, já que a presença das arqueias metanogênicas é fundamental para se atingir o objetivo proposto neste reator.

4.3 ÁGUA RESIDUÁRIA

Os sistemas foram operados com águas residuárias sintéticas, compostas por glicerol (diluído em água) e meio nutricional. O substrato orgânico utilizado nos experimentos foi o glicerol bidestilado⁷, proveniente da indústria Biobrotas Oleoquímica, localizada no município de Brotas (SP). A Tabela 7 apresenta a caracterização de uma solução de aproximadamente 5 g.L⁻¹ deste glicerol. Tem-se que a concentração de 1,00 g.L⁻¹ de glicerol equivale a aproximadamente 1,07 g.L⁻¹ de DQO, portanto, as TCO aplicadas na unidade glicerol e DQO são consideradas equivalentes.

Tabela 7 - Caracterização da solução de glicerol bruto ($\approx 5 \text{ g.L}^{-1}$)

Parâmetro	Valores (mg.L ⁻¹)
Teor de glicerol (%)	82,6
DQO	5330,0
Carbono orgânico total	NM
Cobre	0,005
Zinco	0,2
Magnésio	0,3
Cálcio	363,3
Potássio	3,0
Fosfato	2,5
Metanol	33,6
Nitrogênio Kjeldahl	73,0

NM: Não medido.
Fonte: PARANHOS, 2016.

⁷ O glicerol permaneceu armazenado em temperatura ambiente até sua utilização.

Além da adição de glicerol (em concentrações mencionadas posteriormente), a alimentação de ambos os reatores (RALF-H₂ e RALF-CH₄) foi caracterizada pelo acréscimo de meio nutricional, com intuito de suprir as necessidades metabólicas da comunidade microbiana e influenciar diretamente na velocidade de crescimento dos microrganismos e velocidade de consumo do substrato. O meio nutricional proposto por Barbirato et al. (1995), com solução de elementos traço (SL7) de acordo com Biebl e Pfennig (1981), foi utilizado no reator RALF-H₂ (Tabela 8), enquanto que, para o reator RALF-CH₄, o meio nutricional empregado foi adaptado de Del Nery (1987) (Tabela 9).

Tabela 8 - Composição do meio nutricional e SL7 para o reator RALF-H₂.

Meio nutricional	
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	3.400 mg.L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	1.300 mg.L ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.000 mg.L ⁻¹
MgSO ₄ .7H ₂ O	200 mg.L ⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O	20 mg.L ⁻¹
FeSO ₄ .7H ₂ O	5 mg.L ⁻¹
SL7	2 mL.L ⁻¹
Solução de elementos traço (SL7)	
Água destilada	1 L
HCl (25 %)	1mL
ZnCl ₂	70 mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	100 mg
H ₃ BO ₃ .6H ₂ O	60 mg
CoCl ₂	200 mg
CuCl ₂ .2H ₂ O	20 mg
NiCl ₂ .6H ₂ O	20 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	40 mg

Fonte: BARBIRATO et al., 1995; BIEBL; PFENNIG, 1981.

Tabela 9 - Composição do meio nutricional para o reator RALF-CH₄.

Nutrientes	Concentração_{pretendida} (mg.L⁻¹)
K ₂ HPO ₄	85,0
KH ₂ PO ₄	21,7
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	33,4
(NH ₂) ₂ CO	125,0
CaCl ₂	47
CoCl ₂	0,08
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	5,0
NiSO ₄	1,0
SeO ₂	0,07

Fonte: Adaptado de DEL NERY, 1987.

Com o objetivo de manter uma constância do pH efluente entre 4,5 e 5,5 para o RALF-H₂ e entre 7,5 a 8,5 para o RALF-CH₄, o pH afluente foi controlado. No reator RALF-H₂ fez-se uso de ácido clorídrico (HCl) 30 %, sendo o máximo acrescentado estabelecido em 2 mL.L⁻¹ de água residuária afluente, valor esse consolidado pelo grupo de pesquisa do LCAII/DEQ/UFSCar. Quando esse valor máximo não foi suficiente, ácido acético puro (CH₃COOH) foi utilizado. Para o reator RALF-CH₄ o controle do pH afluente, a fim de tamponar o meio reacional, se deu pela adição de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) na relação de 1 a 2 gNaHCO₃.g⁻¹Glicerol.L⁻¹.

4.4 MATERIAL SUPORTE

Os materiais suportes utilizados, com a finalidade de aderência dos microrganismos e permanência dos mesmos nos reatores, foi argila expandida (cinasita) para o RALF-H₂ (Figura 6 (A)) e pneu triturado para o RALF-CH₄ (Figura 6 (B)). A utilização da cinasita e do pneu baseou-se em trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa do LCAII/DEQ/UFSCar que relataram a superioridade desses materiais em relação a outros (BARROS et al., 2010; BARROS; SILVA, 2012). A utilização da cinasita no reator RALF-H₂ tem por base diferentes trabalhos do grupo de pesquisa já mencionado, que apresentaram resultados positivos de produções de hidrogênio e metabólitos de valor agregado em RALF mesofílicos, alimentados com diferentes substratos (AMORIM et al., 2009; PARANHOS, 2016; REGO, 2016; REIS et al., 2015; SHIDA et al., 2009; SHIDA et al., 2012). Já a utilização de pneu triturado no reator RALF-CH₄ tem subsídios em trabalhos que verificaram a produção de metano utilizando esse material suporte (NICIURA, 2005).

Figura 6 - A) Cinasita; B) pneu triturado.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

As características dos materiais suporte estão dispostas na Tabela 10 e vale destacar o fato de serem inertes e apresentarem características físicas benéficas ao depósito dos microrganismos, como a porosidade (REIS; SILVA, 2011).

Tabela 10 - Características dos materiais suporte.

Material suporte	Forma	Dimensão (mm)	V_{mf}^* (cm.s⁻¹)	D_{real}^* (g.cm⁻³)	$D_{aparente}^*$ (g.cm⁻³)	Porosidade (%)
Cinasita	Granular	2,8 – 3,35	1,24	1,50	1,06	23,0
Pneu triturado	Irregular	2,8 – 3,35	1,18	1,14	-	18,0

* V_{mf} : velocidade mínima de fluidificação; D_{real} : densidade real; $D_{aparente}$: densidade aparente.

Fonte: AMORIM et al., 2014; BARROS et al., 2010; BARROS; SILVA, 2012.

A granulometria das partículas não uniformes de cinasita e de pneu foi obtida pelo peneiramento desses materiais (utilizou-se peneiras *Mesh* com diâmetro de 2,8 e 3,35 mm). Após essa seleção, a cinasita foi imersa em água e as partículas com densidade superior a densidade da água foram selecionadas e secas em estufa a 55 °C. Já o pneu foi mergulhado em hidróxido de sódio ($7,4 \cdot 10^{-3} M$) por cerca de 30 minutos, em seguida lavado com água e seco em estufa a 40 °C, com o objetivo de eliminar os resíduos de óleo encontrados nesse material (BARROS, 2009). Estes procedimentos descritos para a cinasita e para o pneu foram realizados três vezes consecutivas na mesma amostra.

As condições fluidodinâmicas dos reatores, como a velocidade ascensional e a vazão de recirculação, tem relação direta com o meio suporte utilizado. Dessa forma, para garantir a fluidificação nos reatores a velocidade ascensional foi fixada em 1,3 vezes a velocidade mínima de fluidificação do material suporte, proporcionando uma expansão de 30 % do leito em relação a sua altura quando empacotado. A altura do leito quando empacotado foi definida para o RALF-H₂ como sendo 1/3 da altura total do reator, já para o RALF-CH₄ como sendo aproximadamente 1/4 da altura total do reator. A vazão de recirculação foi calculada com base na velocidade ascensional e na área transversal dos reatores, sendo de $16,55 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (ou $59,58 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$) para o RALF-H₂ e $13,48 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (ou $48,53 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$) para o RALF-CH₄.

4.5 FASE DE ADAPTAÇÃO DO INÓCULO DOS REATORES

O procedimento operacional dos reatores teve início na etapa de inoculação e adaptação, em que o sistema operou em circuito fechado (Figura 5 (A)).

4.5.1 Adaptação do reator RALF-H₂

Para o reator RALF-H₂, o barrilete afluyente foi preparado com glicerol (na concentração inicial de 2 g.L⁻¹), meio nutricional e inóculo (triturado e tratado termicamente) na concentração de 10 % (v/v). O pH foi ajustado na faixa de 4,5 a 5,5 mediante adição de HCl 30 % (volume máximo de 2mL.L⁻¹) e pequenas alíquotas de CH₃COOH puro. Com intuito de eliminar o oxigênio dissolvido no meio líquido do barrilete e garantir a anaerobiose do sistema, gás nitrogênio foi inserido no barrilete e também no topo do reator por 10 minutos. Após a conexão do barrilete ao reator, o sistema passou a operar em circuito fechado com recirculação do efluente, para garantir a adesão da biomassa ao material suporte e sua adaptação ao substrato glicerol.

A concentração de glicerol foi monitorada diariamente e o pH aferido no mínimo três vezes ao dia, para assegurar que o mesmo estivesse na faixa já mencionada e descrita como desfavorável ao desenvolvimento de organismos metanogênicos. Com a verificação do consumo de glicerol maior que 80 %, o sistema foi suplementado com glicerol e meio nutricional, sendo que, a estratégia de adaptação utilizada foi aumentar a concentração de glicerol gradativamente para 3,5 g.L⁻¹, 5 g.L⁻¹ e 7,5 g.L⁻¹, cujo aumento sempre foi baseado no consumo de glicerol maior que 80 %.

A fase de adaptação do reator RALF-H₂ durou 28 dias, a partir do qual o circuito foi aberto e passou a operar em modo contínuo (Figura 5 (B)).

4.5.2 Adaptação do reator RALF-CH₄

Para o reator RALF-CH₄, o barrilete afluyente foi preparado com glicerol (na concentração de 1 g.L⁻¹), meio nutricional e inóculo (triturado) na concentração de 10 % (v/v). O pH foi ajustado na faixa de 7,5 a 8,5 mediante adição de NaHCO₃, na proporção de 1 g NaHCO₃.g⁻¹Glicerol.L⁻¹. Assim como no RALF-H₂, gás nitrogênio foi inserido no barrilete e no topo do reator por 10 minutos. Após a conexão do barrilete ao reator, o sistema passou a operar em circuito fechado com recirculação do efluente.

No RALF-CH₄, a estratégia adotada durante a adaptação foi de manter a concentração de glicerol constante em 1 g.L⁻¹ e diariamente, com consumo de glicerol superior a 80 %, metade do volume de inoculação era substituído por um novo, constituído de inóculo, glicerol e meio nutricional. A fase de adaptação desse reator teve duração de 5 dias, a partir do qual o circuito foi aberto e passou a operar em modo contínuo (Figura 5 (B)).

4.6 OPERAÇÃO EM MODO CONTÍNUO DOS REATORES

Na operação em modo contínuo, as bombas dosadoras foram conectadas aos barriletes e nas entradas dos reatores, passando a alimentar os mesmos com os afluentes preparados. Tais afluentes, renovados diariamente, foram constituídos de glicerol e meio nutricional, e respectivos compostos de controle do pH.

A operação em sistema aberto obedeceu a sequência das fases estabelecidas na Tabela 11 e Tabela 12. Após atingir o estado estacionário em determinada fase, que foi baseado na constância da taxa de produção volumétrica de hidrogênio e metano, na constância da conversão de glicerol e do pH efluente, a fase seguinte foi iniciada (CHOOKAEW; O-THONG; PRASERTSAN, 2014a, REIS; SILVA, 2011).

Tabela 11 - Fases operacionais do reator RALF-H₂, com concentração de glicerol fixa em 10 g.L⁻¹.

Fase	TDH (h)	TCO (kg_{glicerol}.m⁻³.dia⁻¹)
1	8	30
2	6	40
3	4	60
4	2	120
5	1	240
6	0,5	480

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Tabela 12 - Fases operacionais do reator RALF-CH₄, com TDH fixo de 24 horas.

Fase	Concentração de glicerol (g.L⁻¹)	TCO (kgDQO.m⁻³.dia⁻¹)
1	1	1
2	2	2
3	3	3
4	4	4
5	5	5
6	7	7

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Para o RALF-H₂, a escolha da faixa de variação do TDH baseou-se em trabalhos já consolidados na literatura operando reatores RALF (em especial os desenvolvidos pelo grupo de pesquisa do LCAII/DEQ/UFSCar) os quais fizeram uso de diferentes substratos com o objetivo de produzir hidrogênio e metabólitos solúveis (AMORIM et. al., 2009; AMORIM et al., 2014; BARROS et al., 2010; BARROS; SILVA, 2012; OTTAVIANO et al., 2016; RAMOS; SILVA, 2016; REIS; SILVA, 2011; REIS et al., 2015; SANTOS et al., 2014; SHIDA et al., 2009; SHIDA et al., 2012; ZANG, Z. et al., 2007). Já para o RALF-CH₄ a

operação em TDH fixo de 24h e variação da TCO baseou-se no trabalho de Siqueira, Damiano e Silva (2013), no qual um reator RALF foi operado com o objetivo de produção de metano.

4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.7.1 Análises físico-químicas

As análises dos parâmetros pH, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram realizadas de acordo com a metodologia apresentada em *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

4.7.2 Determinação da concentração de glicerol

A determinação da concentração de glicerol, afluyente e efluente, durante todo o experimento, ocorreu pela adaptação da metodologia baseada na técnica espectrofotométrica proposta por Bondioli e Della Bella (2005).

4.7.3 Determinação da produção e composição do biogás

A análise da produção volumétrica de biogás se deu pela metodologia proposta por Walker et al. (2009), aplicando-se o conceito de deslocamento da coluna de líquido. Tal método faz uso de um gasômetro *trough*, cuja “solução barreira” utilizada é definida como uma solução acidificada (pH igual a 2) de cloreto de sódio (NaCl), saturada a 75 %. O volume de gás introduzido no gasômetro, ou seja, o volume de biogás gerado nos reatores pode ser verificado pelo deslocamento da “solução barreira” no interior do gasômetro.

Para a determinação dos componentes presentes no biogás gerado, amostras do mesmo foram coletadas no topo dos reatores, com auxílio de uma seringa *gás tight*, e o volume de 1 mL de amostra foi injetado em um cromatógrafo gasoso. Assim, fez-se uso da cromatografia gasosa, por meio do cromatógrafo gasoso Shimadzu modelo GC-2010, Japan, equipado com um detector de condutividade térmica (TCD) para a identificação dos gases H₂, N₂, CH₄ e CO₂. Tal cromatógrafo é composto por uma coluna capilar Sigma-Aldrich modelo Carboxen

1010 Plot (30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro), sendo o argônio utilizado como gás de arraste.

As condições cromatográficas utilizadas encontram-se descritas:

- Temperatura do injetor: 30 °C
- Temperatura do detector: 200 °C
- Temperatura da coluna: 230 °C
- Vazão do gás de arraste (Ar): 5,66 mL.min⁻¹

4.7.4 Análises de ácidos orgânicos voláteis e álcoois

A determinação e quantificação dos ácidos orgânicos voláteis e álcoois ocorreu através da cromatografia gasosa, fazendo-se uso da metodologia *headspace*, com sistema amostrador automático de injeção de amostras acoplado. O gás coletado no *headspace* foi analisado em um cromatógrafo da marca Shimadzu modelo GC-17A equipado com detector de ionização de chama (FID, *Flame Ionization Detector*) e coluna capilar DB-WAX, de 30m x 0,25mm x 0,25µm, sendo o hidrogênio o gás de arraste.

As condições cromatográficas utilizadas encontram-se descritas:

- Rampa de temperatura: 35 °C (0') 2 °C/min 42 °C (0') 20 °C/min 75 °C (0') 35 °C/min 120 °C (1') 10 °C/min 170 °C (2').
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 280 °C
- Razão de Split: 10
- Vazão do gás de arraste (H₂): 50 mL.min⁻¹
- Vazão do make-up ou gás auxiliar (N₂): 35 mL.min⁻¹
- Vazão do gás de chama (ar sintético): 500 mL.min⁻¹
- Vazão da coluna: 1,56 mL.min⁻¹
- Velocidade linear: 34,3 cm.s⁻¹

4.7.5 Análise da alcalinidade a bicarbonato e ácidos graxos voláteis

A determinação da alcalinidade a bicarbonato (AB) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Ripley, Boyle e Converse (1986). Já a determinação dos ácidos graxos voláteis (AGV) seguiu o método de DiLallo e Albertson (1961) Modificado. Vale

salientar que essas análises de monitoramento foram realizadas somente para o reator RALF-CH₄, cujo processo de digestão anaeróbia é completo.

4.7.6 Frequência das análises

A Tabela 13 apresenta a frequência de realização das análises mencionadas nos itens anteriores, para os reatores RALF-H₂ e RALF-CH₄, assim como a metodologia ou o equipamento utilizados.

Tabela 13 - Frequência de realização das análises de monitoramento dos reatores.

Análise	Frequência	Metodologia/ Equipamento
Vazão efluente	Diária	Volumétrico
pH	Diária	<i>Standard Methods</i> (1998)
DQO	3x/semana	<i>Standard Methods</i> (1998)
SST ¹ , SSV ²	3x/semana	<i>Standard Methods</i> (1998)
Glicerol	3x/semana	Bondioli e Della Bella (2005)
Vazão do biogás	3x/semana	Walker et al. (2009)
Conteúdo do biogás (H ₂ , N ₂ , CH ₄ e CO ₂)	3x/semana	Shimadzu GC-2010
Ácidos orgânicos voláteis	3x/semana	Shimadzu GC-17A
Alcalinidade a bicarbonato ³	3x/semana	Ripley, Boyle e Converse (1986)
Ácidos graxos voláteis ³	3x/semana	DiLallo e Albertson (1961) Modificado

¹ sólidos suspensos totais, ² sólidos suspensos voláteis, ³ análises realizadas somente no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

4.8 CÁLCULO DOS PRINCIPAIS PARÂMETROS

Esse item apresenta as fórmulas utilizadas para a determinação dos principais parâmetros deste estudo, os quais abrangem:

- Taxa de carregamento orgânico teórica aplicada, em função da concentração de glicerol afluente (TCO_{aplicada glicerol}) e em função da concentração de DQO afluente (TCO_{aplicada DQO});
- Taxa de carregamento orgânico removida em função da DQO aplicada (TCO_{removida});
- Produção volumétrica de hidrogênio e metano (PVH₂ e PVCH₄);
- Produção volumétrica de hidrogênio (PV'H₂) em mmolH₂.h⁻¹.L⁻¹;
- Rendimento de hidrogênio e metano em mol por mol de glicerol consumido (YH₂ e YCH₄);

- vi. Rendimento de metano ($Y'CH_4$) em metro cúbico por quilograma de DQO aplicada;
- vii. Produção volumétrica dos metabólitos produzidos (PV metabólito);
- viii. Rendimento dos metabólitos produzidos (Y metabólito).

$$(i) TCO_{\text{aplicada glicerol}} = \frac{\text{concentração de glicerol aplicada (kg.m}^3\text{)}}{TDH_{\text{teórico (d)}}} \left(\text{kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1} \right)$$

$$TCO_{\text{aplicada DQO}} = \frac{\text{concentração de DQO aplicada (kg.m}^3\text{)}}{TDH_{\text{teórico (d)}}} \left(\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1} \right)$$

$$(ii) TCO_{\text{removida}} = \frac{\text{concentração de DQO afluyente (kg.m}^3\text{)} \times X_A}{TDH_{\text{teórico (d)}}} \left(\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1} \right)$$

Em que: X_A é a remoção da DQO.

$$(iii) PVH_2 = \frac{\left[\frac{\text{Volume de H}_2 \text{ produzido (L)}}{\text{Intervalo de tempo (h)}} \right]}{\text{Volume do leito do reator (L)}} \left(LH_2 \cdot h^{-1} \cdot L^{-1} \right)$$

$$PVCH_4 = \frac{\left[\frac{\text{Volume de CH}_4 \text{ produzido (L)}}{\text{Intervalo de tempo (d)}} \right]}{\text{Volume do leito do reator (L)}} \left(LCH_4 \cdot d^{-1} \cdot L^{-1} \right)$$

$$(iv) PV'H_2 = \frac{\left[\frac{H_2 \text{ produzido (mmol)}}{\text{Intervalo de tempo (h)}} \right]}{\text{Volume do leito do reator (L)}} \left(\text{mmolH}_2 \cdot h^{-1} \cdot L^{-1} \right)$$

$$(v) YH_2 = \frac{PVH_2 \text{ (mol H}_2 \cdot d^{-1} \cdot m^3\text{)}}{Glicerol_{\text{consumido}} \text{ (mol}_{\text{glicerol}} \cdot d^{-1} \cdot m^{-3}\text{)}} \left(\text{mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}} \right)$$

$$YCH_4 = \frac{PVCH_4 \text{ (mol CH}_4 \cdot d^{-1} \cdot m^3\text{)}}{Glicerol_{\text{consumido}} \text{ (mol}_{\text{glicerol}} \cdot d^{-1} \cdot m^{-3}\text{)}} \left(\text{mol CH}_4 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}} \right)$$

$$(vi) Y'CH_4 = \frac{PVCH_4 \text{ (m}^3 \text{CH}_4 \cdot d^{-1} \cdot m^{-3}\text{)}}{DQO_{\text{Aplicada}} \text{ (kg DQO} \cdot d^{-1} \cdot m^{-3}\text{)}} \left(m^3 \text{CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{aplicada}} \right)$$

$$(vii) PV \text{ metabólito} = \frac{\text{Concentração do metabólito (g.L}^{-1}\text{)}}{TDH_{\text{teórico (h)}}} \left(g_{\text{metabólito}} \cdot h^{-1} \cdot L^{-1} \right)$$

$$(viii) Y \text{ metabólito} = \frac{\text{Concentração do metabólito (mol.L}^{-1}\text{)} \times \text{Vazão média do reator (L.d}^{-1}\text{)}}{Glicerol_{\text{consumido}} \text{ (mol}_{\text{Glic}} \cdot d^{-1}\text{)}} \left(\text{mol metabólito} \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}} \right)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Serão apresentados os resultados e a interpretação dos parâmetros analisados nos reatores RALF-H₂ e RALF-CH₄ durante a operação contínua. Para melhor estruturação do texto, serão primeiramente exibidos os resultados referentes ao RALF-H₂ (acidogênico) e posteriormente os resultados do RALF-CH₄ (metanogênico).

5.1 RESULTADOS DO REATOR RALF-H₂

Operado em sistema aberto (modo contínuo) o RALF-H₂ foi submetido a seis fases operacionais, cuja duração em dias está descrita na Tabela 14.

Tabela 14 - Descrição e duração das fases do RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	Conc _{glicérol} (g.L ⁻¹)	TCO (kg _{glicérol} .m ⁻³ .d ⁻¹)	Duração da fase (d)
1	8	10	30	43
2	6		40	23
3	4		60	38
4	2		120	38
5	1		240	29
6	0,5		480	26

Conc_{glicérol}: concentração afluyente de glicérol.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

5.1.1 Conversão de glicérol

Estão apresentados na Tabela 15 os valores médios da concentração de glicérol (afluyente e efluyente) para o RALF-H₂, assim como a porcentagem de conversão desse parâmetro. Observa-se que o glicérol afluyente ficou muito próximo do valor estabelecido (10 g.L⁻¹), sendo que a menor concentração verificada foi na fase 2 (9,38 g.L⁻¹) e a maior na fase 6 (10,58 g.L⁻¹). Em relação à conversão de glicérol, observa-se uma similaridade nesse parâmetro mediante mudança do TDH, com variação de 38,3 % (fase 2) a 47,6 % (fase 6), valores esses que indicam uma estabilidade de consumo, mas um consumo incompleto do substrato.

A Figura 7 apresenta através do gráfico boxplot as conversões de glicerol em todas as fases, na qual verifica-se que a dispersão dos dados foi baixa em todos os TDH aplicados e, portanto, essa baixa amplitude dos dados, juntamente com os valores de conversão próximos, indicam que a variação do TDH (8 a 0,5 h), não teve influência na conversão de glicerol para o RALF-H₂.

Tabela 15 - Concentração e conversão média de glicerol em função dos TDH aplicados no RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	TCO (kg _{glicerol} .m ⁻³ .d ⁻¹)	G _{afllu} (g.L ⁻¹)	G _{eflu} (g.L ⁻¹)	Conversão (%)
1	8	30	10,00 ± 0,39 ⁽¹⁸⁾	6,06 ± 0,53 ⁽¹⁸⁾	39,4 ± 4,1 ⁽¹⁸⁾
2	6	40	9,38 ± 0,14 ⁽¹¹⁾	5,80 ± 0,29 ⁽¹¹⁾	38,3 ± 2,5 ⁽¹¹⁾
3	4	60	9,63 ± 0,28 ⁽¹³⁾	5,75 ± 0,52 ⁽¹³⁾	40,2 ± 5,5 ⁽¹³⁾
4	2	120	9,63 ± 0,29 ⁽¹⁰⁾	5,35 ± 0,30 ⁽¹⁰⁾	44,4 ± 3,5 ⁽¹⁰⁾
5	1	240	9,97 ± 0,35 ⁽¹³⁾	5,58 ± 0,39 ⁽¹³⁾	44,0 ± 3,8 ⁽¹³⁾
6	0,5	480	10,58 ± 0,70 ⁽¹⁵⁾	5,53 ± 0,41 ⁽¹⁵⁾	47,6 ± 4,8 ⁽¹⁵⁾

G_{afllu}: concentração afluyente de glicerol, G_{eflu}: concentração efluente de glicerol.

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 7 - Boxplot da conversão de glicerol em função dos TDH aplicados no RALF-H₂.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Uma possível explicação para o baixo consumo de glicerol, é a concentração desse substrato introduzida no sistema (10 g.L⁻¹), a qual pode ser elevada para a configuração RALF, e ter levado ao efeito denominado inibição por substrato e, como consequência,

inibição por retroalimentação do produto. Assim, uma quantidade elevada de substrato pode causar um excesso de formação de um produto, resultante de uma determinada via metabólica e bloquear outra via relacionada. Quando a concentração desse produto se eleva, a tendência é que esse metabólito atue como um inibidor alostérico, diminuindo a velocidade da via e sua própria produção (EDWARDS, 1970).

A fim de embasar tal hipótese, destaca-se que Nazareth (2015) verificou conversões de glicerol elevadas, porcentagens de 79,7 % a 89,8 %, operando RALF mesofílico (30 °C) sob variação de TDH de 8 a 1 h e de TCO de 15 a 120 kg_{glicerol}.m⁻³.d⁻¹. Entretanto, a concentração de glicerol adicionada ao sistema foi de 5 g.L⁻¹, metade do valor adicionado na presente pesquisa, que resultou em conversões aproximadamente duas vezes maiores. Vale destacar que o glicerol utilizado pela autora possuía pureza de 64,3 %.

Paranhos (2016) operando RALF mesofílico (30 °C) com o objetivo de otimização dos parâmetros operacionais, em seus ensaios utilizando concentração de glicerol bruto de 10 g.L⁻¹, em diferentes TDH (0,76 a 9,24 h) observou conversões entre 38,7 % a 53,0 %, valores semelhantes ao obtidos na presente pesquisa em condições operacionais muito próximas. Entretanto, operando com concentrações inferiores, 2,9 e 5 g.L⁻¹, nos TDH de 5h para primeira concentração e 8 h e 5 h para a segunda, a autora obteve conversões de glicerol de 83,4 % a 98,4 %.

Trabalhos na literatura com configurações de reatores distintas ao RALF também apresentaram diminuição da conversão de glicerol com o aumento da concentração desse substrato, indicando que determinadas concentrações levam à inibição por substrato.

Mangayil, Karp e Santala (2012) em ensaios em batelada, sob condição ótima de temperatura (40 °C) e pH (6,5), na concentração de glicerol bruto igual a 1 g.L⁻¹ observaram a máxima conversão de glicerol de 56,5 %. Entretanto, ao utilizarem uma concentração de 5 g.L⁻¹, a conversão de glicerol diminuiu consideravelmente para 27,2 %.

Dounavis et al. (2015) operando um bioreator anaeróbico de coluna ascendente (UFCB), em TDH de 36 h, ao aplicar uma concentração de glicerol de 9,2 g.L⁻¹ e TCO de 8,7 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, verificaram consumo de glicerol de 96,1 %. Na concentração de glicerol de 18,1 g.L⁻¹ e TCO de 15,1 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ ocorreu uma queda na conversão de glicerol para 70,3 %. Observa-se que o elevado TDH aplicado ao sistema proporcionou um maior tempo de permanência do substrato no meio reacional, o que justifica elevadas conversões de glicerol na concentração de 9,2 g.L⁻¹, bem próxima a utilizada na presente pesquisa (10 g.L⁻¹ de glicerol), mas que trabalhou com TDH menores (8 a 0,5 h).

Vale ressaltar que alguns trabalhos na literatura não apresentaram similaridade nas conversões de glicerol mediante variação do TDH, como é o caso de Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014a), que observaram no geral uma diminuiu da conversão de glicerol com a diminuição do TDH aplicado (12, 10, 8, 6, 4 e 2 h) em reator UASB, uma vez que, na concentração de 10 g.L⁻¹ de glicerol, a máxima conversão observada foi de 97,34 % (TDH de 12 h) e a mínima conversão um pouco superior a 40 % (TDH de 2 h). Tais divergências podem ser atribuídas a configuração do reator, ao inóculo e ao suplemento nutritivo utilizados, entre outros diferentes parâmetros operacionais.

5.1.2 Composição do biogás

A Tabela 16 apresenta os resultados da composição média do biogás em função da variação do TDH. Verifica-se que tal composição se restringiu a H₂ e CO₂, evidenciando a eficácia do tratamento térmico realizado no lodo e a aplicação de baixos valores de pH, como medidas para supressão da metanogênese.

Tabela 16 - Composição média de H₂ e CO₂ no biogás em função dos TDH aplicados no RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	TCO (kg _{glicerol} .m ⁻³ .d ⁻¹)	H ₂ (%)	CO ₂ (%)
1	8	30	0,0 ± 0,0 ⁽¹²⁾	100,0 ± 0,0 ⁽¹²⁾
2	6	40	5,1 ± 0,7 ⁽⁸⁾	94,9 ± 0,7 ⁽⁸⁾
3	4	60	6,2 ± 1,5 ⁽¹⁴⁾	93,8 ± 1,5 ⁽¹⁴⁾
4	2	120	24,0 ± 3,5 ⁽⁸⁾	76,0 ± 3,5 ⁽⁸⁾
5	1	240	37,4 ± 5,7 ⁽⁸⁾	62,6 ± 5,7 ⁽⁸⁾
6	0,5	480	69,2 ± 4,2 ⁽¹¹⁾	30,8 ± 4,2 ⁽¹¹⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Observa-se que a composição do biogás foi majoritariamente de CO₂ nas três primeiras fases executadas, com porcentagem de H₂ ausente ou muito baixa, 0 %, 5,1 % e 6,2 %, nos TDH de 8, 6 e 4 h, respectivamente. Entretanto, com a diminuição do TDH nas três últimas fases, TDH de 2, 1 e 0,5 h, a porcentagem de H₂ apresentou-se crescente, atingindo valores de 24,0 %, 37,4 % e 69,2 %, respectivamente. A Figura 8 apresenta o boxplot do conteúdo de hidrogênio no biogás em função da diminuição do TDH e consequente aumento da TCO. Verifica-se que a dispersão dos dados foi baixa em todos os

TDH executados e, que, com a aplicação do TDH de 2 h e posterior diminuição, o conteúdo de H_2 apresentou-se crescente e com comportamento bem definido. Tais resultados permitem afirmar que houve influência da variação do TDH sobre a composição do biogás, e que a diminuição do TDH para valores baixos (2, 1 e 0,5 h) e aumento da TCO ($120, 240$ e $480 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$) proporcionou aumento expressivo no H_2 medido. Assim, esses resultados sugerem que podem ter ocorrido alterações no metabolismo dos microrganismos (alteração de rota metabólica) quando o TDH foi diminuído e a carga orgânica aumenta ou as condições operacionais impostas podem ter selecionados microrganismos com capacidade de produção de H_2 (seletividade).

Figura 8 - Boxplot do conteúdo de H_2 no biogás em função dos TDH aplicados no RALF- H_2 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

A ausência de H_2 na fase 1 e seu baixo conteúdo nas fases 2 e 3 pode ser justificado pelo favorecimento da rota de produção de 1,3-propanodiol (via redutora) a qual não produz hidrogênio, concomitantemente com a presença de ácido capróico, o qual pode ter sido produzido em função dos ácidos butírico e acético, rotas de formação do ácido capróico que consomem hidrogênio, como demonstra as equações 14, 15 e 16 mencionadas no item 3.3.1. Os dois metabólitos citados apresentaram concentrações significativas nestas fases e apresentam descrição detalhada no item 5.1.5 desta seção.

Vale destacar que durante a execução experimental da presente pesquisa, notou-se que valores elevados de porcentagem de H_2 no biogás foram detectados nos primeiros dias após as mudanças de fase, cessando ou diminuindo poucos dias após tal mudança de condição, não

caracterizando assim a fase operacional. Acredita-se que o início da operação e a mudança do TDH submeteu os microrganismos à condições de stress, caracterizado por choque orgânico ou hidráulico. Durante choques de carga orgânica em reatores anaeróbios, os microrganismos acidogênicos, que possuem maior velocidade de crescimento, produzem mais hidrogênio, devido ao excesso de fonte de energia (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Decorridos alguns dias após a mudança de fase o comportamento do RALF-H₂ apresentava valores mais consistentes e estáveis.

O elevado conteúdo de H₂ encontrado nesta pesquisa (69,2 %) no TDH de 0,5 h, é considerado satisfatório e comprova que o glicerol é um substrato potencial para a produção de H₂ em condições específicas. Alguns autores também verificaram composição elevada.

Selembo et al. (2009) alcançou conteúdo de hidrogênio no biogás de 61 %, utilizando glicerol bruto como substrato, na concentração de 3,0 g.L⁻¹ em reator batelada mesofílico (30 °C). Já Lo et al. (2013) operando um CSTR mesofílico (35 °C), sob concentração de glicerol bruto de 10 g.L⁻¹ e TDH fixo de 12 h, alcançou conteúdo de 72,7 %.

Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013) avaliaram a produção de hidrogênio em um reator UASB (37 °C) por meio da cultura *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, utilizando glicerol bruto (25 g.L⁻¹) como substrato. Variando a TCO de 37,5; 50,0 e 62,5 kg.m⁻³.d⁻¹, observaram um percentual de H₂ de 20,3 %, 24,2 % e 16,1 %, respectivamente. Esses resultados são comparativos aos obtidos na presente pesquisa quando as TCO de 120 e 240 kg_{glicero}.l.m⁻³.d⁻¹ foram aplicadas, alcançando conteúdo de 24,0 % e 37,4 %.

Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014a) operando reator UASB na concentração de glicerol bruto de 10 g.L⁻¹, sob diferentes TDH (12, 10, 8, 6, 4 e 2 h) observaram que, para os TDH similares aos aplicados na presente pesquisa (8, 6, 4 e 2 h) o conteúdo de hidrogênio permaneceu praticamente constante em 45 %, não apresentando influência em consequência da variação do TDH.

Comportamento contrário ao observado na presente pesquisa foi verificado por Bosio (2014). A autora operou um reator RALF, mesofílico (30 °C), sob concentração de glicerol bruto de 5 g.L⁻¹ no qual verificou decaimento no conteúdo de hidrogênio de 58 % para 36 % ao diminuir o TDH de 12 para 1 h, justificado provavelmente pela mudança do metabolismo do consórcio microbiano ou pela seletividade de microrganismos com a diminuição do TDH.

Já o aumento do conteúdo de H₂ em função da diminuição do TDH e aumento da carga orgânica, também foi observado por Nazareth (2015). Operando RALF mesofílico (30 °C) e utilizando glicerol bruto como substrato (5 g.L⁻¹), a autora variou o TDH de 8 a

0,5 h, e constatou um aumento do conteúdo de H_2 com a diminuição do TDH, atingindo o valor máximo de 81,2 % no TDH de 0,5 h. O valor máximo atingido é elevado e superior ao máximo encontrado na presente pesquisa.

Paranhos (2016), operando RALF mesofílico (30 °C), no qual foi realizado a otimização dos parâmetros TDH e concentração de substrato, não constatou produção de hidrogênio na fase operacional com concentração de glicerol de 10 g.L⁻¹ e TDH de 9,24 h, condições muito similares a fase 1 da presente pesquisa (10 g.L⁻¹ e 8 h) na qual também não foi constatado conteúdo de H_2 .

5.1.3 Produção volumétrica de hidrogênio

A Tabela 17 apresenta os valores médios da produção volumétrica de hidrogênio (PVH₂) em função da diminuição do TDH de 8 a 0,5 h, aplicada ao RALF-H₂. Observa-se que a máxima PVH₂ foi verificada no TDH de 0,5 h, com valor de 1,90 L.h⁻¹.L⁻¹ ou 73,67 mmol.L⁻¹.h⁻¹.

Tabela 17 - Produção volumétrica de hidrogênio no RALF-H₂.

TDH (h)	TCO (kg_{glicerol}.m⁻³.d⁻¹)	PV'H₂ (mmol.h⁻¹.L⁻¹)	PVH₂ (L.h⁻¹.L⁻¹)
8	30	0,00 ± 0,00 ⁽¹⁷⁾	0,00 ± 0,00 ⁽¹⁷⁾
6	40	0,04 ± 0,01 ⁽⁷⁾	(0,95 ± 0,28).10 ⁻³ ⁽⁷⁾
4	60	0,07 ± 0,03 ⁽⁸⁾	(1,93 ± 0,74).10 ⁻³ ⁽⁸⁾
2	120	0,46 ± 0,04 ⁽⁷⁾	(12,38 ± 1,13).10 ⁻³ ⁽⁷⁾
1	240	0,82 ± 0,19 ⁽⁸⁾	(21,22 ± 4,84).10 ⁻³ ⁽⁸⁾
0,5	480	73,67 ± 7,90 ⁽⁶⁾	1,90 ± 0,20 ⁽⁶⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Em relação ao parâmetro PVH₂, a Figura 9 e a Figura 10 apresentam através do gráfico boxplot o seu comportamento mediante variação do TDH.

Verifica-se pela Figura 9 que o valor encontrado para o TDH de 0,5 h é claramente superior aos encontrados nos TDH de 8 a 1 h, fazendo-se necessário um zoom (Figura 10) para verificar o comportamento nesses TDH. Assim, observa-se na Figura 10, que mesmo considerando a dispersão dos dados em cada TDH aplicado, verifica-se uma tendência de

aumento da PVH_2 em função da diminuição do TDH, comportamento esse estendido quando o TDH de 0,5 h é aplicado, uma vez que essa variável se tornou ainda maior.

Figura 9 - Boxplot da PVH_2 em função dos TDH de 8 a 0,5 h aplicados no RALF- H_2 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Figura 10 - Boxplot zoom da PVH_2 em função dos TDH de 8 a 1 h aplicados no RALF- H_2 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Comparando-se o resultado de produção volumétrica máximo encontrado ($73,67 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) com a literatura de produção de hidrogênio a partir de glicerol, tem-se que poucos trabalhos apresentaram valores comparáveis ao encontrado. Ito et al. (2005) operando um reator de leito fixo, com material suporte Nagao Porcell, na temperatura de

37 °C e utilizando glicerol bruto na concentração de 10 g.L⁻¹, obteve resultado de 63 mmol.L⁻¹.h⁻¹ para a PV'H₂. Este mesmo autor operando um reator de leito fixo, sem material suporte, a 37 °C e glicerol puro na concentração de 10,13 g.L⁻¹, obteve 80 mmol.L⁻¹.h⁻¹ para a PV'H₂. Ferreira (2014) operando RALF termofílico (55 °C) e utilizando glicerol bruto na concentração de 5,0 g.L⁻¹, observou máxima PV'H₂ de 61,1 mmol.L⁻¹ h⁻¹ (ou 1,51 L.h⁻¹.L⁻¹) encontrada no TDH de 1 h. Além disso, a autora verificou tendência de aumento da PV'H₂ condicionado a diminuição do TDH.

Observa-se que a PVH₂ na presente pesquisa foi zero no TDH de 8 h e muito baixa nos TDH de 6 e 4 h. De forma similar Nazareth (2015) não verificou PVH₂ nos TDH de 8, 6 e 4 h. Tal fato foi atribuído ao direcionamento da rota metabólica (via oxidativa) para a produção de ácido propiônico (rota que consome hidrogênio) e para a rota de formação de 1,3-PDO (via redutora). Os baixos valores na presente pesquisa também podem ser atribuídos a rota de formação de 1,3-PDO (via redutora) e também a formação de ácido capróico (rota que consome hidrogênio), uma vez que esses foram os metabólitos mais representativos nestas fases, conforme explicitado posteriormente no item 5.1.5.

Vale ressaltar que, trabalhos que utilizaram a configuração de reator RALF, mas alimentados com diferentes substratos, apresentaram valores compatíveis e comparáveis ao máximo obtido na presente pesquisa, conforme explicitado na Tabela 18. Além disso, todos os trabalhos mencionados apresentaram o comportamento de aumento da PVH₂ condicionado a diminuição do TDH e aumento da carga orgânica de alimentação, uma vez que, todos os valores máximos foram obtidos no menor TDH aplicado.

Tabela 18 - PVH₂ encontrada na literatura utilizando a configuração de reator RALF.

T (°C)	Substrato	C_{afllu} (g.L⁻¹)	TDH (h)	PVH₂ (L.h⁻¹.L⁻¹)	Referência
37	Glicose	10	4 - 0,5	2,22 (0,5 h)	Zhang, Z. et al. (2007)
30	Glicose	2	8 - 1	0,97 (0,5 h)	Amorim et al. (2009)
30	Glicose	2	8 - 1	1,28 (1 h)	Shida et al. (2009)
30	Glicose	4	8 - 1	1,21 (1 h)	Barros et al. (2010)
30	Glicose	5	8 - 1	1,22 (1 h)	Reis e Silva (2011)
28	Manipueira	4	8 - 1	2,04 (1 h)	Amorim et al. (2014)
55	Vinhaça	10	8 - 1	1,96 (1 h)	Santos et al. (2014)
30	Glicerol bruto	10	8 - 0,5	1,90 (0,5 h)	Este estudo

C_{afllu}: concentração afluyente do substrato utilizado.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Observa-se que dentre os trabalhos mencionados, Amorim et al. (2014) e Santos et al. (2014) foram os que apresentaram resultados mais próximos ao encontrado na presente pesquisa. Vale ressaltar que, enquanto Amorim et al. (2014) trabalharam em temperatura mesofílica e sob concentração de substrato mais baixa, Santos et al. (2014) operaram em temperatura termofílica e em concentração mais elevada. Tal fato supõe que, tais PVH₂ elevadas apresentam uma relação mais forte com a configuração do reator RALF e os TDH aplicados, que o próprio substrato e a temperatura.

Destaca-se que diversos fatores positivos são atribuídos ao RALF, os quais podem ter favorecido as elevadas produções volumétricas, como a possibilidade de aplicação de baixos TDH e as boas características de mistura, as quais favorecem a transferência de massa entre o substrato e os microrganismos (WU et al., 2003).

5.1.4 Rendimento de hidrogênio

A Tabela 19 apresenta os valores médios de rendimento de hidrogênio (YH₂) em função da diminuição do TDH aplicado. Verifica-se que o máximo valor encontrado para o YH₂ ocorreu no TDH de 0,5 h, com valor de 0,28 molH₂.mol⁻¹glicerol_{consumido}. Além disso, ressalta-se que não houve YH₂ no TDH de 8 h, assim como ocorreu com a PVH₂ nesse TDH.

Tabela 19 - Rendimento de hidrogênio no RALF-H₂.

TDH (h)	TCO (kg _{glicerol} .m ⁻³ .d ⁻¹)	YH ₂ (molH ₂ .mol ⁻¹ glicerol _{consumido})
8	30	0,00 ± 0,00 ⁽¹⁷⁾
6	40	(2,36 ± 0,72).10 ⁻³ ⁽⁷⁾
4	60	(3,04 ± 1,28).10 ⁻³ ⁽⁸⁾
2	120	(8,69 ± 1,09).10 ⁻³ ⁽⁷⁾
1	240	(7,24 ± 1,79).10 ⁻³ ⁽⁸⁾
0,5	480	0,28 ± 0,05 ⁽⁶⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

A Figura 11 e a Figura 12 apresentam através do gráfico boxplot o comportamento do YH₂ mediante diminuição do TDH e consequente aumento da carga orgânica. Observa-se que o valor máximo encontrado no TDH de 0,5 h é claramente superior aos encontrados nos TDH de 8 a 1 h, fazendo-se necessário um zoom (Figura 12) para verificar o comportamento do rendimento nesses TDH.

Figura 11 - Boxplot do Y_{H_2} em função dos TDH de 8 a 0,5 h aplicados no RALF- H_2 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Figura 12 - Boxplot zoom do Y_{H_2} em função dos TDH de 8 a 1 h aplicados no RALF- H_2 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Observa-se que os dados no TDH de 1 h apresentam uma dispersão maior em relação aos demais, entretanto, considerando a amplitude dos dados nesse e nos demais TDH, verifica-se uma leve tendência de aumento do rendimento quando o TDH passa de 8 h para 6 h (permanecendo praticamente constante no TDH de 4 h) e quando o TDH é reduzido de 4 h para 2 h, valor mantido no TDH de 1h ao se considerar a dispersão dos dados. Entretanto,

esses aumentos tornam-se praticamente insignificantes ao se comparar ao valor de YH_2 encontrado quando o TDH de 0,5 h passa a ser aplicado.

O resultado mais expressivo de YH_2 , assim como da PVH_2 , conseguido com a diminuição do TDH para 0,5 h, sugere que alterações no metabolismo dos microrganismos ocorreram, mediante o aumento da carga orgânica aplicada, fazendo com que a maior parte do glicerol fosse utilizada para produzir produtos microbianos solúveis em vez de contribuir para o crescimento bacteriano ou manutenção celular, o que levou a um aumento na produção de hidrogênio e seu rendimento (AMORIM, et al., 2009). Além disso, as características de mistura do reator RALF, aliadas a uma alta carga de glicerol ($480 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{L}^{-1}$) disponível, favoreceram o melhor desempenho no TDH de 0,5 h, cujos resultados são bem superiores quando comparados aos demais TDH aplicados.

Valores comparáveis com o máximo YH_2 obtido na presente pesquisa são verificados na literatura. Selembo et al. (2009), operando reator batelada mesofílico (30°C) e utilizando glicerol puro e bruto, na concentração de $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, alcançou rendimento de $0,28 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$ quando glicerol puro foi adicionado e $0,31 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$ quando utilizaram glicerol bruto. Observa-se que o valor obtido na presente pesquisa é igual ao alcançado por Selembo et al. (2009) utilizando glicerol puro e bem próximo ao encontrado por esses autores ao utilizarem glicerol bruto.

Lo et al. (2013) em reator CSTR mesofílico (35°C), sob concentração de glicerol de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, ao utilizar glicerol puro como substrato alcançou YH_2 de $0,50 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$ e aplicando glicerol bruto encontrou $0,77 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$. Assim como Selembo et al. (2009), rendimentos maiores foram encontrado para glicerol bruto.

Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013) operando um reator UASB mesofílico (37°C) e aplicando uma TCO de $50 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, alcançou YH_2 de $0,41 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$ quando glicerol puro foi adicionado ao reator e $0,32 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$ quando glicerol bruto passou a ser alimentado. Observa-se que o valor encontrado para glicerol bruto está bem próximo ao verificado na presente pesquisa, também realizada em reator contínuo.

Dounavis et al. (2015) operando um UFCB mesofílico (35°C), alcançou o máximo YH_2 ($\approx 0,50 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$) quando glicerol bruto foi adicionado na concentração de $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ no TDH de 24 h. Operando na concentração de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ e TDH de 36 h, o menor YH_2 foi verificado ($\approx 0,15 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$).

Paranhos (2016) operando RALF mesofílico (30 °C), com o objetivo de otimização dos parâmetros operacionais, no ensaio utilizando concentração de glicerol bruto de 17,1 g.L⁻¹ no TDH de 5 h, alcançou o YH₂ máximo de 0,17 molH₂.mol⁻¹glicerol_{consumido}.

A Tabela 20 apresenta um resumo da literatura que objetiva a produção de hidrogênio, utilizando glicerol como substrato, mencionada até o momento. Comparando-se os resultados obtidos na presente pesquisa com a literatura, observa-se que o máximo conteúdo de H₂ obtido, de 69,2 %, é satisfatório, entretanto um pouco inferior ao máximo verificado por Paranhos (2016), de 87,4 %. Já a máxima PV'H₂ encontrada na presente pesquisa (73,67 mol.L⁻¹.h⁻¹) apresenta-se inferior ao encontrado por Ito et al. (2005) em uma de suas condições operacionais, cujo máximo foi 80 mol.L⁻¹.h⁻¹, e acima de todos os outros valores. Em relação ao YH₂ máximo encontrado na presente pesquisa de 0,28 molH₂.mol⁻¹glicerol_{consumido}, foi comparável principalmente com o valor encontrado por Selembo et al. (2009) e apresenta-se como um valor razoável.

Tabela 20 - Comparação do desempenho de reatores mesofílicos com objetivo de produção de H₂.

Reator	Temperatura (°C)	Glicerol (g.L ⁻¹)	TDH (h)	Inóculo	H ₂ (%)	PV'H ₂ (mmol.h ⁻¹ .L ⁻¹)	YH ₂ (mol.mol ⁻¹ glicerol _{cons})	Referência
Batelada	37	GP: 5,0 GB: 1,7	-	<i>E.aerogenes</i> HU-101	-	-	1,05 1,12	Ito et al. (2005)
Leito fixo (sem MS)	37	GP: 10,13* GB: 10,13*	-	<i>E.aerogenes</i> HU-101	-	80 30	-	Ito et al. (2005)
Leito fixo (com MS)	37	GB: 10,0	-	<i>E.aerogenes</i> HU-101	-	63	-	Ito et al. (2005)
Batelada	30	GP: 3,0 GB: 3,0	-	Misto	53 61	-	0,28 0,31	Selembo et al. (2009)
Batelada	40	GB: 1,0	-	Misto	15,2	-	1,10	Mangayil, Karp e Santala (2012)
CSTR	35	GP: 10,0 GB: 10,0	12	<i>C. pasteurianum</i>	78,3 72,7	4,07* 6,56*	0,50 0,77	Lo et al. (2013)
UASB	37	GP: 25,0* GB: 25,0*	12*	<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	37,1 24,2	9,0 6,2	0,41 0,32	Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013)
UASB	40	GB: 10,0	12 - 4	<i>Klebsiellasp.</i> TR17	42	6,88 (TDH 4h)	4,08* (TDH 4h)	Chookaew, O-thong e Prasertsan (2014a)
UFCB	35	GB: 10, 15, 20, 25	36, 48, 24	Misto	45,2 (20g/L, 24h)	-	≈ 0,50** (25g/L, 24h)	Dounavis, Ntaikou e Lyberatos (2015)
RALF	30	GB: 5,0	14 - 1	Misto	58 (12h)	-	0,85 (1h)	Bosio (2014)
RALF	55	GB: 5,0	14 - 1	Misto	70 (1h)	61,1* (1h)	3,0 (1h)	Ferreira (2014)
RALF	30	GB: 5,0	8 - 0,5	Misto	81,2 (TDH 0,5h)	0,53* (TDH 1h)	-	Nazareth (2015)
RALF	30	GB: 2,9 - 17,1	9,24 - 0,75	Misto	87,4 (10g/L, 5h)	9,74 (10g/L, 0,75h)	0,17 (17,1g/L, 5h)	Paranhos (2016)
RALF	30	GB: 10,0	8 - 0,5	Misto	69,2 (TDH 0,5h)	73,67 (TDH 0,5h)	0,28 (TDH 0,5h)	Este estudo

MS: material suporte; GP: glicerol puro; GB: glicerol bruto; * Calculado com base em informações apresentadas no artigo; ** Verificado graficamente.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

5.1.5 Principais metabólitos produzidos

Os metabólitos solúveis produzidos durante as seis fases operacionais do reator RALF-H₂ estão mencionados na Tabela 21, a qual apresenta a concentração média do metabólito assim como sua porcentagem molar. Os metabólitos verificados pela utilização do cromatógrafo Shimadzu GC-17A foram: 1,3-propanodiol (1,3-PDO), metanol (MeOH), butanol (BuOH), ácido acético (HAc), ácido propiônico (HPr), ácido isobutírico (HIsobu), ácido butírico (HBu); ácido isovalérico (HIsVa), ácido valérico (HVa) e ácido capróico (HCa). A Figura 13 apresenta graficamente a distribuição molar desses metabólitos e a Tabela 22 suas produções volumétricas e rendimentos.

Analisando os dados da Tabela 21 e da Figura 13, observa-se que no geral o 1,3-PDO foi o metabólito de maior expressividade ao longo da operação do reator, com porcentagem molar média de 46,3 %, 31,1 %, 34,0 %, 30,2 %, 22,7 % e 29,9 %, nos TDH de 8, 6, 4, 2, 1 e 0,5 h respectivamente. Destaca-se que, no TDH de 1 h, a porcentagem molar do HAc (25,2 %) e do HPr (30,3 %) são um pouco superior a do 1,3-PDO, e no TDH de 0,5 h a soma das porcentagens molar de HAc (18,4 %) e de HBu (19,0 %) é superior a porcentagem de 1,3-PDO.

Tem-se que nos TDH de 8, 6 e 4 h, houve uma produção mais expressiva de 1,3-PDO, seguida por uma produção equiparada de HCa e HBu. Retomando os resultados de conteúdo de H₂ no biogás, PVH₂ e YH₂ para essas fases, tem-se que os valores obtidos foram mínimos ou nulos. Uma explicação é a composição de metabólitos mencionada. Tem-se que a rota de 1,3-PDO é uma rota conhecidamente contrária a formação de hidrogênio (equação 11, item 3.3.1), na qual 1 mol de H₂ é consumido para a formação de 1 mol de 1,3-PDO. Além disso, a formação do HCa, pode ter ocorrido por vias que consomem hidrogênio, tais como as mencionadas nas equações 14, 15 e 16 do item 3.3.1. O HBu, embora seja uma rota conhecida de formação de H₂ (equação 5 do item 3.3.1) pode ter sido em partes consumido para a formação do HCa, na qual o consumo molar de hidrogênio é maior que a quantidade molar de hidrogênio formada durante a obtenção do HBu, o que explicaria a ausência ou mínimo conteúdo de H₂ no biogás e uma concentração de HBu presente no meio reacional.

Vale salientar que o mecanismo da produção de HCa a partir de glicerol bruto ainda é pouco explorado na literatura e requer maior investigação (DOUNAVIS et al., 2015). Entretanto, a concentração de HCa entre 800 e 900 mg.L⁻¹, em pH ácido (aproximadamente 5), é considerada uma concentração de inibição ao sistema (GE et al., 2015; WEIMER; NERDAHL; BRANDL, 2015). Verifica-se que para os TDH de 8, 6 e 4 h, no qual o pH do

sistema foi aproximadamente 5 (conforme item 5.1.6), as concentrações de HCa foram, respectivamente 811,3; 1049,6 e 1097,7 mg.L⁻¹. Portanto, o HCa pode ter agido como um inibidor no sistema e, somado a isso a presença expressiva de 1,3-PDO, prejudicado a formação de hidrogênio nesses TDH.

Nos TDH de 2 e 1 h, a presença de H₂ no biogás e valores de PVH₂ e YH₂ (mesmo baixos) foram verificados. Pode-se supor que a presença de HAc no reator, 11,9 % no TDH de 2 h e 25,2 % no TDH de 1 h, tenha influenciado de maneira mais significativa no comportamento do reator do que os outros metabólitos e contribuído então para a formação de hidrogênio, visto que a rota de obtenção do HAc (equação 3 do item 3.3.1) é conhecida pela formação de 3 mols de H₂ para cada 1 mol de HAc formado.

No TDH de 0,5 h observa-se presença de 1,3-PDO (29,9 %), seguida por HBu (19,0 %) e HAc (18,4 %). Tem-se que nesse TDH os maiores valores de conteúdo de H₂, PVH₂ e YH₂ foram verificados, com valores expressivos como já mencionado. Acredita-se que as rotas de HBu e HAc, ambas produtoras de H₂, influenciaram de maneira significativa para os resultados positivos de conteúdo de H₂, PVH₂ e YH₂, devido as condições operacionais estabelecidas (baixo TDH e elevada TCO). Assim, a presença de 1,3-PDO (29,9 %), rota conhecidamente contrária a formação de hidrogênio, é justificada pelo uso de cultura mista como inóculo. Vale destacar que, a porcentagem molar de 1,3-PDO no TDH de 0,5 h apresentou-se menor que nos TDH de 8, 6, 4 e 2 h, indicando uma tendência de diminuição do mesmo com a redução do TDH, o que vai de encontro com a verificação do aumento da porcentagem de H₂ no biogás, também com a diminuição do TDH.

Tabela 21 - Concentração (mg.L⁻¹) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do RALF-H₂.

Metabólitos		TDH (h)					
		8	6	4	2	1	0,5
mg.L ⁻¹	1,3-PDO	1843,4 ± 423,2 ⁽⁷⁾	934,0 ± 65,4 ⁽⁷⁾	1254,7 ± 494,2 ⁽⁵⁾	1229,6 ± 145,0 ⁽⁷⁾	855,0 ± 74,6 ⁽⁵⁾	1310,0 ± 55,0 ⁽⁶⁾
%		46,3	31,1	34,0	30,2	22,7	29,9
mg.L ⁻¹	MeOH	68,1 ± 3,1 ⁽⁸⁾	73,7 ± 2,5 ⁽⁹⁾	80,7 ± 0,9 ⁽⁷⁾	83,9 ± 3,9 ⁽¹⁰⁾	79,6 ± 2,1 ⁽⁵⁾	159,6 ± 5,6 ⁽⁶⁾
%		4,1	5,8	5,2	4,9	5,0	8,7
mg.L ⁻¹	BuOH	109,8 ± 10,1 ⁽⁸⁾	110,1 ± 1,9 ⁽¹⁰⁾	122,7 ± 1,3 ⁽⁹⁾	120,6 ± 1,0 ⁽⁹⁾	112,1 ± 0,1 ⁽⁵⁾	321,0 ± 54,5 ⁽⁶⁾
%		2,8	3,8	3,4	3,0	3,0	7,5
mg.L ⁻¹	HAc	0,0 ± 0,0 ⁽⁶⁾	0,0 ± 0,0 ⁽⁵⁾	154,4 ± 73,0 ⁽⁶⁾	381,6 ± 127,5 ⁽⁸⁾	750,4 ± 119,4 ⁽⁸⁾	634,9 ± 244,2 ⁽⁶⁾
%		0,0	0,0	5,3	11,9	25,2	18,4
mg.L ⁻¹	HPr	319,3 ± 16,0 ⁽⁸⁾	344,3 ± 15,9 ⁽⁹⁾	385,1 ± 18,2 ⁽⁷⁾	474,4 ± 43,6 ⁽⁵⁾	1113,6 ± 65,7 ⁽⁶⁾	658,6 ± 42,0 ⁽⁶⁾
%		8,2	11,8	10,7	12,0	30,3	15,5
mg.L ⁻¹	HIsoBu	31,4 ± 8,6 ⁽⁸⁾	25,0 ± 4,7 ⁽⁶⁾	14,2 ± 0,0 ⁽⁸⁾	14,2 ± 1,5 ⁽¹¹⁾	14,2 ± 0,0 ⁽⁵⁾	28,3 ± 0,0 ⁽⁵⁾
%		0,7	0,7	0,3	0,3	0,3	0,6
mg.L ⁻¹	HBu	1044,3 ± 272,7 ⁽⁵⁾	732,0 ± 86,7 ⁽⁸⁾	799,2 ± 68,4 ⁽⁶⁾	899,3 ± 105,1 ⁽⁸⁾	318,3 ± 64,3 ⁽⁸⁾	962,1 ± 115,2 ⁽⁵⁾
%		22,7	21,1	18,2	19,1	7,3	19,0
mg.L ⁻¹	HIsoVa	5,2 ± 2,2 ⁽⁹⁾	3,9 ± 0,0 ⁽⁵⁾	4,4 ± 0,0 ⁽⁶⁾	6,4 ± 1,5 ⁽¹²⁾	5,1 ± 1,7 ⁽⁶⁾	8,3 ± 0,0 ⁽⁵⁾
%		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
mg.L ⁻¹	HVa	95,9 ± 10,6 ⁽⁵⁾	108,2 ± 20,9 ⁽⁶⁾	163,5 ± 23,6 ⁽⁸⁾	231,2 ± 30,5 ⁽⁶⁾	286,7 ± 52,2 ⁽⁶⁾	21,6 ± 0,4 ⁽⁴⁾
%		1,8	2,7	3,3	4,2	5,7	0,4
mg.L ⁻¹	HCa	811,3 ± 128,1 ⁽⁵⁾	1049,6 ± 163,3 ⁽⁸⁾	1097,7 ± 118,0 ⁽⁶⁾	881,1 ± 69,7 ⁽⁶⁾	24,5 ± 8,0 ⁽⁵⁾	0,0 ± 0,0 ⁽⁶⁾
%		13,3	22,9	19,5	14,3	0,4	0,0
mg.L ⁻¹	SOMA	4328,7	3380,8	4076,6	4322,3	3559,5	4104,4
%		100	100	100	100	100	100

1,3-PDO: 1,3-propanodiol; MeOH: metanol; BuOH: butanol; HAc: ácido acético; HPr: ácido propiônico; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HIsoVa: ácido isovalérico; HVa: ácido valérico; HCa: ácido capróico.

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 13 - Fração molar dos principais metabólitos detectados no RALF-H₂.

Outros = MeOH + BuOH + HIsobu + HIsova + HVa

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Tabela 22 - Produção volumétrica ($\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$) e rendimento ($\text{mol}_{\text{metabólito}} \cdot \text{mol}^{-1} \text{glicerol}_{\text{consumido}}$) dos metabólitos verificados durante a operação do RALF- H_2 .

Metabólitos		TDH (h)					
		8	6	4	2	1	0,5
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	1,3-PDO	$0,23 \pm 0,05^{(7)}$	$0,16 \pm 0,01^{(7)}$	$0,31 \pm 0,12^{(5)}$	$0,61 \pm 0,07^{(7)}$	$0,86 \pm 0,07^{(5)}$	$2,62 \pm 0,11^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,57 \pm 0,15^{(7)}$	$0,31 \pm 0,03^{(7)}$	$0,39 \pm 0,16^{(5)}$	$0,35 \pm 0,05^{(7)}$	$0,24 \pm 0,03^{(5)}$	$0,32 \pm 0,04^{(6)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	MeOH	$0,01 \pm 0,00^{(8)}$	$0,01 \pm 0,00^{(9)}$	$0,02 \pm 0,00^{(7)}$	$0,04 \pm 0,00^{(10)}$	$0,08 \pm 0,00^{(5)}$	$0,32 \pm 0,01^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,05 \pm 0,01^{(8)}$	$0,06 \pm 0,01^{(9)}$	$0,06 \pm 0,01^{(7)}$	$0,06 \pm 0,01^{(10)}$	$0,05 \pm 0,01^{(5)}$	$0,09 \pm 0,01^{(6)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	BuOH	$0,01 \pm 0,00^{(8)}$	$0,02 \pm 0,00^{(10)}$	$0,03 \pm 0,00^{(9)}$	$0,06 \pm 0,00^{(9)}$	$0,11 \pm 0,00^{(5)}$	$0,64 \pm 0,11^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,03 \pm 0,01^{(8)}$	$0,04 \pm 0,00^{(10)}$	$0,04 \pm 0,01^{(9)}$	$0,04 \pm 0,00^{(9)}$	$0,03 \pm 0,00^{(5)}$	$0,08 \pm 0,02^{(6)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HAc	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,0 \pm 0,00^{(5)}$	$0,04 \pm 0,02^{(6)}$	$0,19 \pm 0,06^{(8)}$	$0,75 \pm 0,12^{(8)}$	$1,27 \pm 0,49^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,0 \pm 0,00^{(5)}$	$0,06 \pm 0,03^{(6)}$	$0,14 \pm 0,05^{(8)}$	$0,26 \pm 0,05^{(8)}$	$0,19 \pm 0,08^{(6)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HPr	$0,04 \pm 0,00^{(8)}$	$0,06 \pm 0,00^{(9)}$	$0,10 \pm 0,00^{(7)}$	$0,24 \pm 0,02^{(5)}$	$1,11 \pm 0,07^{(6)}$	$1,32 \pm 0,08^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,10 \pm 0,01^{(8)}$	$0,12 \pm 0,01^{(9)}$	$0,12 \pm 0,02^{(7)}$	$0,14 \pm 0,02^{(5)}$	$0,32 \pm 0,04^{(6)}$	$0,16 \pm 0,02^{(6)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HIsoBu	$0,00 \pm 0,00^{(8)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(8)}$	$0,01 \pm 0,00^{(11)}$	$0,01 \pm 0,00^{(5)}$	$0,06 \pm 0,00^{(5)}$
mol.mol^{-1}		$0,01 \pm 0,00^{(8)}$	$0,01 \pm 0,00^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(8)}$	$0,00 \pm 0,00^{(11)}$	$0,00 \pm 0,00^{(5)}$	$0,01 \pm 0,00^{(5)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HBu	$0,13 \pm 0,03^{(5)}$	$0,12 \pm 0,01^{(8)}$	$0,19 \pm 0,02^{(6)}$	$0,52 \pm 0,05^{(8)}$	$0,32 \pm 0,06^{(8)}$	$1,92 \pm 0,23^{(5)}$
mol.mol^{-1}		$0,28 \pm 0,08^{(5)}$	$0,21 \pm 0,03^{(8)}$	$0,21 \pm 0,04^{(6)}$	$0,22 \pm 0,03^{(8)}$	$0,08 \pm 0,02^{(8)}$	$0,20 \pm 0,04^{(5)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HIsoVa	$0,00 \pm 0,00^{(9)}$	$0,00 \pm 0,00^{(5)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(12)}$	$0,01 \pm 0,00^{(6)}$	$0,02 \pm 0,00^{(5)}$
mol.mol^{-1}		$0,00 \pm 0,00^{(9)}$	$0,00 \pm 0,00^{(5)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(12)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(5)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HVa	$0,01 \pm 0,00^{(5)}$	$0,02 \pm 0,00^{(6)}$	$0,04 \pm 0,01^{(8)}$	$0,12 \pm 0,02^{(6)}$	$0,29 \pm 0,05^{(6)}$	$0,04 \pm 0,00^{(4)}$
mol.mol^{-1}		$0,02 \pm 0,00^{(5)}$	$0,03 \pm 0,01^{(6)}$	$0,04 \pm 0,01^{(8)}$	$0,05 \pm 0,01^{(6)}$	$0,06 \pm 0,01^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(4)}$
$\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$	HCa	$0,10 \pm 0,02^{(5)}$	$0,17 \pm 0,03^{(8)}$	$0,27 \pm 0,03^{(6)}$	$0,44 \pm 0,03^{(6)}$	$0,02 \pm 0,01^{(5)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$
mol.mol^{-1}		$0,16 \pm 0,03^{(5)}$	$0,23 \pm 0,04^{(8)}$	$0,22 \pm 0,04^{(6)}$	$0,16 \pm 0,02^{(6)}$	$0,00 \pm 0,00^{(5)}$	$0,00 \pm 0,00^{(6)}$

1,3-PDO: 1,3-propanodiol; MeOH: metanol; BuOH: butanol; HAc: ácido acético; HPr: ácido propiônico; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HIsoVa: ácido isovalérico; HVa: ácido valérico; HCa: ácido capróico.

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

A Tabela 22 apresenta a produção volumétrica ($\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$) e o rendimento ($\text{mol}_{\text{metabólito}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) de todos os metabólitos verificados e apresentados na Tabela 21. Observa-se que, por ser o metabólito de maior expressividade, o 1,3-PDO apresenta os resultados mais significativos, com produção volumétrica de 1,3-PDO (PV1,3-PDO) variando de 0,16 a 2,62 $\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e o rendimento de 1,3-PDO (Y1,3-PDO) variando de 0,24 a 0,57 $\text{mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$.

Na maioria dos trabalhos descritos na literatura, altos rendimentos de hidrogênio estão condicionados a baixos rendimentos de 1,3-PDO, como em Ito et al. (2005), ou o contrário, elevados rendimentos de 1,3-PDO condicionados a baixos rendimentos de hidrogênio ou sua ausência de produção, como em González-Pajuelo, Andrade e Vasconcelos (2005). Entretanto, Selembo et al. (2009), em reator batelada, verificaram elevados rendimento de 1,3-PDO e H_2 na mesma condição operacional, mostrando que é possível obter simultaneamente tanto hidrogênio quanto 1,3-PDO usando cultura mista como inóculo.

Verifica-se que o máximo Y1,3-PDO (0,57 $\text{mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) se deu no maior TDH aplicado (8 h), no qual não foi verificado hidrogênio no sistema e, portanto, YH_2 igual a zero (conforme já discutido no item 5.1.4). Já o máximo YH_2 foi obtido no TDH de 0,5 h, no qual o Y1,3-PDO foi de 0,32 $\text{mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$, valor esse considerado baixo se comparado ao máximo obtido no TDH de 8 h. Portanto, tais resultados estão condizentes com o esperado pela literatura. Já em relação a PV1,3-PDO, o seu máximo foi conseguido no menor TDH aplicado (0,5 h), diferentemente do máximo Y1,3-PDO, conseguido no maior TDH aplicado (8 h).

Uma quantidade expressiva de trabalhos na literatura discute a produção de 1,3-PDO a partir da fermentação de glicerol. Entretanto, trabalhos utilizando a configuração de reator RALF ainda são escassos. Mesmo assim, a comparação dos resultados obtidos pode ser realizada.

González-Pajuelo, Andrade e Vasconcelos (2005) encontraram máxima PV1,3-PDO de 10,3 $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e máximo Y1,3-PDO de 0,65 $\text{mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$ na condição de taxa de diluição de 0,30 h^{-1} e concentração de glicerol puro de 60 g.L^{-1} . Os autores operaram um reator CSTR (35 °C), no TDH de 3 h e utilizaram cultura de *Clostridium butyricum* VPI 3266. Observa-se que o valor de PV1,3-PDO encontrado pelos autores foi elevado quando comparado ao obtido na presente pesquisa.

Cheng et al. (2007) alcançou PV1,3-PDO e Y1,3-PDO máximos de 0,92 $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e 0,53 $\text{mol}_{1,3\text{-PDO}}.\text{mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$, respectivamente. Tais resultados foram alcançados em

um fermentador de três estágios operados em modo batelada (37 °C), utilizando cultura pura e concentração de glicerol variando de 15 a 40 g.L⁻¹.

Operando reator batelada, Zhang, G. et al. (2007) conseguiram os melhores resultados em relação ao 1,3-PDO, com PV1,3-PDO de 1,53 g.L⁻¹.h⁻¹ e Y1,3-PDO de 0,75 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolconsumido, a partir da utilização da cultura *Klebsiella pneumoniae* e glicerina pura (20,0 g.L⁻¹).

Gungormusler, Gonen e Azbar (2011) operando reator de leito fixo mesofílico (37 °C), avaliaram o efeito da operação com dois materiais suportes: anéis de cerâmica (CR) e pedra pomes (PS), e com biomassa suspensa (BS). Adotando concentração de glicerol bruto de 40 g.L⁻¹ e variação o TDH de 16 a 2 h, verificou maiores PV1,3-PDO no TDH de 2 h para todos os reatores, com máximo verificado no reator BS de 12 g.L⁻¹.h⁻¹. O Y1,3-PDO máximo se deu no reator com PP no TDH de 12 h, com valor de 0,96 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolconsumido. Observa-se que como encontrado na presente pesquisa, a máxima PV1,3-PDO se deu no menor TDH aplicado, enquanto o máximo Y1,3-PDO ocorreu em TDH mais elevado.

Gonen, Gungormusler e Azbar (2012) operando reator anaeróbico de leito fixo (37 °C), sob concentração de glicerol bruto de 45 g.L⁻¹ e utilizando cultura pura (*Klebsiella pneumoniae*), avaliaram o efeito da variação do TDH (16 a 0,5 h) utilizando diferentes matérias suportes. O reator imobilizado com pedra-pomes apresentou os melhores resultados de PV1,3-PDO (8,5 g.L⁻¹.h⁻¹ no TDH de 1h) e de Y1,3-PDO (0,54 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolaplicado no TDH de 4 h).

Gonen, Gungormusler e Azbar (2013) utilizaram glicerol bruto (45 g.L⁻¹) e cultura pura (*Clostridium beijerinckii* NRRL B-593) em reator anaeróbico de leito fixo, utilizando esferas de vidro (EV) e anéis de Rasching (AR) como materiais suporte. Variando o TDH de 16 a 1 h, alcançaram a máxima PV1,3-PDO de 6,4 g.L⁻¹.h⁻¹ no reator com AR (no TDH de 2 h) e máximo Y1,3-PDO de 0,77 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolalimentado no mesmo reator (no TDH de 8 h).

Gallardo et al. (2014) operando três reatores granulares de leito expandido (EGSB), na temperatura de 37 °C, alimentados com glicerol residual (25,0 g.L⁻¹), avaliaram a aplicação de diferentes TDH (24 a 3 h) na produção de 1,3-PDO. O reator inoculado com lodo granular, apresentou máxima PV1,3-PDO de 2,37 g.L⁻¹.h⁻¹ e máximo Y1,3-PDO de 0,52 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerolconsumido nos TDH de 12 e 3 h, respectivamente. Tais valores foram muito semelhantes ao encontrados na presente pesquisa, atribuídos possivelmente ao fato da configuração EGSB ser muito próxima da configuração RALF.

A Tabela 23 apresenta um resumo da literatura mencionada, que teve por propósito a produção de 1,3-PDO em condição mesofílica, utilizando glicerol como substrato. Comparando-se os resultados obtidos na presente pesquisa com a literatura, observa-se que a máxima PV1,3-PDO encontrada ($2,62 \text{ g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$) é muito próxima do valor alcançado por Gallardo et al. (2014). Já o máximo Y1,3-PDO verificado ($0,57 \text{ mol1,3-PDO.mol}^{-1}\text{glicerol}_{\text{consumido}}$) é comparável com muitos trabalhos citados como Cheng et al. (2007), Selembo et al. (2009), Gonen, Gungormusler e Azbar (2012) e Gallardo et al. (2014), sendo considerado um valor mediano e satisfatório.

Tabela 23 - Comparação do desempenho de reatores mesofílico com objetivo de produção de 1,3-PDO.

Reator	Glicerol (g.L ⁻¹)	TDH (h)	Inóculo	1,3-PDO (g.L ⁻¹)	PV 1,3-PDO (g.h ⁻¹ .L ⁻¹)	Y 1,3-PDO (mol.mol ⁻¹ glicerol)	Referência
CSTR	GP: 60,0	3	<i>C. butyricum</i> HU-101	30,9	10,30	0,65	González-Pajuelo, Andrade e Vasconcelos (2005)
Fermentador 3 estágios	GP: 15-40 (5000 L)	-	<i>K. pneumoniae</i> M5al	58,8	0,92	0,53	Cheng et al. (2007)
Batelada				12,2	1,53	0,75	
Batelada alimentada	GP: 20,0	-	<i>K. pneumoniae</i>	38,1	0,79	0,70	Zhang, G. et al. (2007)
Batelada	GP: 3,0 GB: 3,0	-	Misto	-	-	0,69 0,59	Selembo et al. (2009)
Leito Fixo	GB: 40,0	16 - 2	<i>C. beijerinckii</i> NRRL B-593	AC: 31 (12h) PP: 31 (12h) BS: 29 (8h)	8 (2h)** 5 (2h)** 12 (2h)**	0,94 (12h)* 0,96 (12h)* 0,86 (8h)*	Gungormusler, Gonen e Azbar (2011)
Leito fixo	GB:45,0	16 - 0,5	<i>K. pneumoniae</i>	PU: 19,7 (8h) PP: 18,4 (6h)	6,0 (1h) 8,5 (1h)	0,30 (6h)* 0,54 (4h)*	Gonen, Gungormusler e Azbar (2012)
Leito fixo	GB:45,0	16 - 2	<i>C. beijerinckii</i> NRRL B-593	AR: 30,0 (8h) EV: 28,0 (8h)	6,4 (2h) 6,1 (2h)	0,77 (8h) 0,69 (12h)	Gonen, Gungormusler e Azbar (2013)
EGSB	GB: 25,0	24 - 3	Misto	-	2,37 (3h)	0,52 (12h)	Gallardo et al. (2014)
RALF	GB: 2,9-17,1	9,24 - 0,75	Misto	4,47 (10g/L; 9,24h)	1,04 (15g/L; 9,24h)	1,05 (10g/L; 9,24h)	Paranhos (2016)
RALF	GB:10,0	8 -0,5	Misto	1,84 (8h)	2,62 (0,5h)	0,57 (8h)	Este estudo

GP: glicerol puro; GB: glicerol bruto; PU: espuma de poliuretano; PP: pedra-pomes; AR: anéis de Rushing; EV: esferas de vidro; AC: anéis de cerâmica; BS: biomassa suspensa. * Calculado com base em informações apresentadas no artigo. ** Verificado graficamente.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

5.1.6 Variação do pH, remoção de DQO e sólidos suspensos

A Tabela 24 apresenta os valores médios de pH afluente e efluente para o RALF-H₂. Pode-se observar que o pH afluente apresentou variação de 4,85 a 6,84, justificada pela correção realizada no afluente a fim de manter o pH efluente próximo a 4,5, tido como pH ótimo para a produção de hidrogênio (AMORIM et al., 2009; ROSA et al., 2014). Assim, verifica-se que o pH efluente apresentou-se praticamente constante com a elevação do TDH, com variação de 4,47 a 4,85.

Para Mohan, Babu e Sarma (2007), pH em torno de 4,5 favorece as bactérias acidogênicas e inibem as arqueais metanogênicas. Reungsang, Sittijunda e O-thong (2013) operando reator UASB com glicerol bruto, mantiveram o pH efluente entre 4,3 e 5,0, ou seja, faixa de pH muito semelhante a mantida na presente pesquisa (4,47 a 4,84).

Tabela 24 - Valores médios de pH afluente e efluente do RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	pH _{afluente}	pH _{efluente}
1	8	4,85 ± 0,11 ⁽⁴³⁾	4,77 ± 0,14 ⁽⁴³⁾
2	6	5,18 ± 0,25 ⁽²³⁾	4,85 ± 0,07 ⁽²³⁾
3	4	5,72 ± 0,16 ⁽³⁸⁾	4,80 ± 0,10 ⁽³⁸⁾
4	2	5,81 ± 0,27 ⁽³⁰⁾	4,47 ± 0,27 ⁽²⁷⁾
5	1	6,84 ± 0,22 ⁽²⁹⁾	4,85 ± 0,29 ⁽²⁹⁾
6	0,5	6,45 ± 0,09 ⁽²⁶⁾	4,66 ± 0,18 ⁽²⁶⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

De acordo com O-thong et al. (2008), o pH é um dos principais fatores que influenciam a produção de hidrogênio e metabólitos, afetando principalmente, o crescimento microbiano e a atividade das enzimas envolvidas na formação de determinado produto. Para Zhang, Z. et al. (2007), em relação à composição dos metabólitos dissolvidos, ao contrário de pH entre 5,5 e 6,0, baixos pH (entre 4,0 e 5,0) favorecem a produção de álcoois, em relação a ácidos graxos voláteis. Observou-se no item anterior (5.1.5) que a o álcool 1,3-PDO teve sua fração molar superior em todas as fases (exceto no TDH de 1 h, no qual também foi expressivo), embasando assim a afirmação de O-thong et al. (2008).

Praticamente nenhum trabalho na literatura que visa a produção de hidrogênio e metabólitos a partir de glicerol apresenta valores de redução de DQO expressivos, já que se espera uma sutil conversão desse parâmetro por se tratar de um processo fermentativo em que a digestão anaeróbia é interrompida na fase acidogênese, com presença de metabólitos

reduzidos dissolvidos. Observa-se pela Tabela 25 que os valores de DQO afluente e efluente permaneceram estáveis durante as fases operacionais executadas. A Figura 14 apresenta o gráfico boxplot para a remoção de DQO, na qual pode-se perceber que tal remoção permaneceu praticamente constante em todas as fases e que apresentou-se muito baixa (1,8 % a 5,9 %). Esses baixos valores de remoção de DQO em um reator acidogênico são satisfatórios, quando se pensa na operação de reatores sequenciais, uma vez que o reator metanogênico passa a ter grande disponibilidade de matéria orgânica para consumir.

Tabela 25 - Valores médios de DQO afluente e efluente do RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	DQO _{afluente} (g.L ⁻¹)	DQO _{efluente} (g.L ⁻¹)	Remoção (%)
1	8	12,63 ± 0,38 ⁽⁹⁾	12,39 ± 0,40 ⁽⁹⁾	1,9 ± 0,6 ⁽⁹⁾
2	6	11,26 ± 0,47 ⁽⁸⁾	11,04 ± 0,45 ⁽⁸⁾	2,0 ± 0,8 ⁽⁸⁾
3	4	11,30 ± 0,56 ⁽⁸⁾	11,10 ± 0,58 ⁽⁸⁾	1,8 ± 0,4 ⁽⁸⁾
4	2	11,82 ± 0,58 ⁽¹³⁾	11,37 ± 0,55 ⁽¹³⁾	3,8 ± 1,0 ⁽¹³⁾
5	1	12,40 ± 0,53 ⁽⁷⁾	12,22 ± 0,52 ⁽⁷⁾	1,5 ± 0,5 ⁽⁷⁾
6	0,5	12,44 ± 0,65 ⁽⁷⁾	11,94 ± 0,45 ⁽⁷⁾	5,9 ± 1,6 ⁽⁷⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 14 - Boxplot da remoção média de DQO em função dos TDH aplicados no RALF-H₂.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

As concentrações dos sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) verificadas no efluente do RALF-H₂, encontram-se descritas na Tabela 26.

Tabela 26 - Concentrações dos SST, SSF e SSV em função dos TDH aplicados do RALF-H₂.

Fase	TDH (h)	SST ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	SSF ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	SSV ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	SSF (%)	SSV (%)
1	8	$0,16 \pm 0,04^{(9)}$	$0,04 \pm 0,03^{(9)}$	$0,12 \pm 0,03^{(9)}$	23,4	76,6
2	6	$0,13 \pm 0,02^{(8)}$	$0,04 \pm 0,02^{(8)}$	$0,09 \pm 0,02^{(8)}$	31,6	68,4
3	4	$0,14 \pm 0,01^{(8)}$	$0,05 \pm 0,01^{(8)}$	$0,09 \pm 0,01^{(8)}$	35,6	64,4
4	2	$0,16 \pm 0,02^{(6)}$	$0,06 \pm 0,01^{(6)}$	$0,13 \pm 0,02^{(6)}$	39,2	60,8
5	1	$0,19 \pm 0,02^{(7)}$	$0,06 \pm 0,01^{(7)}$	$0,13 \pm 0,01^{(7)}$	32,7	67,3
6	0,5	$0,15 \pm 0,02^{(7)}$	$0,06 \pm 0,02^{(7)}$	$0,09 \pm 0,02^{(7)}$	41,5	58,5

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

A concentração de sólidos suspensos totais no RALF-H₂ apresentou-se muito baixa e foi composta majoritariamente pela fração de SSV, cuja concentração apresentou constância mediante a variação do TDH, com valores mínimo e máximo de 0,09 e 0,13 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Tal fração de SSV é utilizada como referência para se determinar o fluxo de biomassa microbiana no reator, sendo atribuída a sua predominância o fenômeno de arraste da biomassa. Sendo assim, as porcentagens expressivas de SSV, variando de 58,5 a 76,6 %, podem ser indícios de lavagem da biomassa, uma vez que a porcentagem de SSF variou de 23,4 a 41,5 %.

5.1.7 Balanço de DQO

O balanço de DQO foi realizado com base na diferença entre a DQO teórica total e a DQO medida. A DQO teórica total é composta pela DQO teórica dos metabólitos solúveis no efluente, pelo glicerol remanescente no efluente e pela DQO dos SSV. Já a DQO medida se refere à DQO aferida no efluente do reator. Os resultados para todas as fases operacionais do RALF-H₂ estão apresentados na Tabela 27.

Pode-se observar que a diferença percentual encontrada entre as DQO analisadas é positiva para todas as fases, e que para as fases de 1 a 4 (TDH de 8 a 2 h) e a fase 6 (TDH de 0,5 h) essa diferença foi intermediária, variando de 13,5 a 30,7 %. Já na fase 5 (TDH de 1 h) tal diferença foi mínima, 1,3 %, chegando a ser desprezível.

O fato da diferença percentual ser positiva indica que podem ter ocorrido erros ou imprecisões na amostragem dos metabólitos.

Tabela 27 - Balanço de DQO para as seis condições operacionais realizadas em RALF-H₂.

Fase operacional	DQO (mgDQO.L ⁻¹)															
	1,3-PDO	MeOH	BuOH	HAc	HPr	HIsoBu	HBu	HIsoVa	HVa	HCa	Glicerol _{efluente}	SSV	DQO _{teórica total}	DQO _{medida}	DQO _{teórica total} – DQO _{medida}	Diferença (%)
1	3104,6	102,1	284,8	0,0	483,3	57,1	1898,7	10,7	195,6	1790,5	7381,0	1,61.10 ⁻⁴	15308,3	12390,9	2917,4	+23,5
2	1573,1	110,6	285,6	0,0	521,1	45,4	1330,9	7,9	220,7	2316,4	7055,0	1,16.10 ⁻⁴	13466,7	11040,4	2426,3	+22,0
3	2113,2	121,0	318,4	164,7	582,8	25,8	1416,7	8,9	333,3	2422,6	7001,4	1,21.10 ⁻⁴	14508,7	11100,1	3408,5	+30,7
4	2070,9	125,9	312,9	407,1	718,1	25,8	1635,1	13,0	471,5	1960,0	6513,1	1,30.10 ⁻⁴	14253,3	11368,9	2884,4	+25,4
5	1440,1	119,3	290,7	800,4	1685,4	25,8	578,7	10,3	584,7	54,0	6791,8	1,71.10 ⁻⁴	12381,2	12219,7	161,5	+1,3
6	2206,3	239,4	832,8	677,3	996,7	51,5	1749,3	17,0	44,0	0,0	6733,9	1,18.10 ⁻⁴	13548,1	11936,3	1611,8	+13,5

1,3-PDO: 1,3-propanodiol; MeOH: metanol; BuOH: butanol; HAc: ácido acético; HPr: ácido propiônico; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HIsoVa: ácido isovalérico; HVa: ácido valérico; HCa: ácido capróico; SSV: sólidos suspensos voláteis.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

5.2 RESULTADOS DO REATOR RALF-CH₄

Operado em sistema aberto (modo contínuo) o RALF-CH₄ foi submetido a seis fases operacionais (com aumento progressivo da TCO) cujas durações estão descritas na Tabela 28.

Tabela 28 - Descrição e duração das fases do RALF-CH₄.

Fase	TDH (h)	Conc _{glicérol} (g.L ⁻¹)	TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	Duração da fase (d)
1	24	1	1	22
2		2	2	21
3		3	3	38
4		4	4	38
5		5	5	26
6		7	7	29

Conc_{glicérol}: concentração afluyente de glicérol.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

5.2.1 Conversão de glicérol

A Tabela 29 apresenta os valores médios da concentração de glicérol (afluyente e efluyente) para o RALF-CH₄, assim como a porcentagem de conversão desse parâmetro. Observa-se que o glicérol afluyente ficou muito próximo do valor teórico estipulado de 1, 2, 3, 4, 5 e 7 g.L⁻¹ nas fases executadas, a fim de garantir a TCO de 1, 2, 3, 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

Tabela 29 - Concentração e conversão média de glicérol em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fase	TCO _{aplicada} (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	G _{aflu} (g.L ⁻¹)	G _{eflu} (g.L ⁻¹)	Conversão (%)
1	1	0,95 ± 0,04 ⁽⁸⁾	0,04 ± 0,00 ⁽⁸⁾	95,8 ± 0,3 ⁽⁸⁾
2	2	1,89 ± 0,04 ⁽¹³⁾	0,04 ± 0,01 ⁽¹³⁾	97,7 ± 0,5 ⁽¹³⁾
3	3	2,95 ± 0,13 ⁽¹⁷⁾	0,04 ± 0,00 ⁽¹⁷⁾	98,6 ± 0,1 ⁽¹⁷⁾
4	4	3,82 ± 0,15 ⁽¹⁶⁾	0,04 ± 0,00 ⁽¹⁶⁾	99,0 ± 0,1 ⁽¹⁶⁾
5	5	4,95 ± 0,13 ⁽¹²⁾	0,04 ± 0,01 ⁽¹²⁾	99,1 ± 0,2 ⁽¹²⁾
6	7	6,80 ± 0,11 ⁽¹⁰⁾	0,04 ± 0,00 ⁽¹⁰⁾	99,4 ± 0,0 ⁽¹⁰⁾

G_{aflu}: concentração afluyente de glicérol, G_{eflu}: concentração efluyente de glicérol.

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

A biomassa anaeróbia presente no reator RALF-CH₄ apresentou-se eficiente na digestão do glicérol, visto que sua conversão manteve-se acima de 95 % em todas as fases,

indicando adaptação da comunidade microbiana acidogênica com a solução de glicerol. A Figura 15 apresenta o gráfico boxplot dessa conversão, na qual pode-se observar pequena dispersão entre os pontos, confirmando assim a boa adaptação da biomassa. Além disso, pelos resultados apresentados pode-se concluir que o glicerol utilizado apresenta boa biodegradabilidade, para as condições operacionais aplicadas.

Figura 15 - Boxplot da conversão média de glicerol em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Alguns trabalhos na literatura destacam suas conversões elevadas, como as encontradas neste estudo. Phukingngam et al. (2011), utilizando água residuária do processo de produção do biodiesel, em reator ABR (27 °C), verificaram que a operação nas TCO de 0,5 até 1,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e TDH de 10 dias, forneceram eficiência de conversão de glicerol igual a 100 %. Tais autores justificaram a conversão alcançada pelo fato do glicerol servir como fonte de carbono para o crescimento microbiano e também como fonte de energia. Entretanto, a elevação da TCO para 2,1 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e posteriormente para 3,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, resultou na diminuição da conversão de glicerol para cerca de 80 % e 70 %, respectivamente. Salienta-se que a queda verificada pelos autores não foi constatada na presente pesquisa, que operou com TCO superiores.

Vlassis et al. (2013) operando um CSTR, ao redefinir a TCO para o valor inicial de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e atingir novamente o estado estacionário, observaram uma conversão maior que 99 %. Os mesmos autores, operando um PABR, na TCO de 0,30 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, também verificaram comportamento semelhante, com conversão superior a 99 %. Salienta-se

que as TCO aplicadas pelos autores são baixas quando comparadas as utilizadas na presente pesquisa.

5.2.2 Remoção de DQO

A Tabela 30 apresenta a DQO média afluyente e efluente para cada fase operacional do RALF-CH₄, assim como sua remoção, em função do aumento da TCO aplicada. A Figura 16 apresenta o gráfico boxplot para a remoção de DQO, na qual se observa que nas TCO de 2 e 3 kg_{glicero}.m⁻³.d⁻¹ os pontos apresentaram uma dispersão maior que os demais, entretanto, essa dispersão ainda não é capaz de interferir na interpretação dos resultados.

Tabela 30 - Concentração e conversão média da DQO em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fase	TCO _{aplicada} (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	DQO _{afluente} (g.L ⁻¹)	DQO _{efluente} (g.L ⁻¹)	Remoção (%)	TCO _{removida} (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)
1	1	1,14 ± 0,09 ⁽⁹⁾	0,07 ± 0,03 ⁽⁹⁾	93,6 ± 2,6 ⁽⁹⁾	1,07 ± 0,09 ⁽⁹⁾
2	2	2,13 ± 0,19 ⁽¹²⁾	0,16 ± 0,12 ⁽¹²⁾	92,9 ± 5,1 ⁽¹²⁾	1,97 ± 0,12 ⁽¹²⁾
3	3	3,45 ± 0,24 ⁽¹⁷⁾	1,65 ± 0,16 ⁽¹⁷⁾	52,2 ± 4,3 ⁽¹⁷⁾	1,81 ± 0,23 ⁽¹⁷⁾
4	4	4,44 ± 0,17 ⁽⁹⁾	2,31 ± 0,23 ⁽⁹⁾	48,0 ± 3,7 ⁽⁹⁾	2,12 ± 0,13 ⁽⁹⁾
5	5	6,24 ± 0,18 ⁽¹²⁾	3,27 ± 0,15 ⁽¹²⁾	47,6 ± 1,9 ⁽¹²⁾	2,97 ± 0,15 ⁽¹²⁾
6	7	7,53 ± 0,32 ⁽¹¹⁾	4,87 ± 0,47 ⁽¹¹⁾	35,5 ± 4,7 ⁽¹¹⁾	2,67 ± 0,31 ⁽¹¹⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 16 - Boxplot da remoção média da DQO em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Observa-se que durante as duas primeiras fases a remoção de DQO apresentou-se elevada e com comportamento estável, com valores médios de 93,6 % e 92,9 %. Entretanto, o aumento para a TCO de $3 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ proporcionou uma diminuição acentuada desse parâmetro, o qual apresentou remoção de DQO de 52,2 %. Esse resultado aponta uma fragilidade da biomassa metanogênica em responder positivamente ao aumento da carga orgânica, visto que, o acúmulo na concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) ocorreu com o aumento da TCO (discussão dos AGV será apresentada no item 5.2.4). Mesmo com a diminuição da remoção de DQO e acúmulo de ácidos no sistema, a TCO continuou sendo elevada gradativamente, visto que, buscou-se verificar maiores TCO a fim de alcançar uma máxima quantidade de glicerol a ser tratada.

O aumento da TCO para 4 e $5 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ não teve interferência significativa na remoção de DQO em relação a TCO de $3 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, visto que os valores alcançados foram de 48,0 % e 47,6 %, bem próximos a 52,2 %, remoção alcançada na fase anterior. Quando a TCO foi aumentada ainda mais, agora para $7 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, verificou-se que a remoção de DQO apresentou novamente uma diminuição, entretanto menos acentuada que na TCO de $3 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Assim, a remoção de DQO verificada na TCO de $7 \text{ kg}_{\text{glicerol}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ foi de 35,5 %, 12 % menor que a remoção da fase anterior.

Comportamento de diminuição da remoção de DQO em função do aumento da TCO aplicada foi verificado por Yang, Tsukahara e Sawayama (2008), que operando um reator de leito fixo mesofílico (35 °C), alimentado com água residuária sintética contendo glicerol, constataram diminuição da remoção de DQO de 73,8 % para 50,5 %, quando a TCO foi aumentada de 0,25 para $0,7 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$.

Phukingngam et al. (2011) investigando o desempenho de um ABR (27 °C), utilizando água residuária do biodiesel, sob variação da TCO, verificaram que a operação na TCO de $1,5 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ e TDH de 10 dias forneceu a melhor eficiência de remoção de DQO, igual a 99 %. Com o aumento da TCO para $3,0 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ a eficiência de remoção de DQO diminuiu para aproximadamente 80 %. Observa-se que na TCO de $3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ a conversão na presente pesquisa também apresentou diminuição, embora para um valor ainda menor.

Lovato et al. (2012) operando um AnSBBR mesofílico (30 °C), utilizando efluente oriundo da produção de biodiesel como substrato, alcançou o melhor resultado de remoção de DQO não filtrada de 85 %, quando $4,5 \text{ gDQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ foi aplicada, no tempo de alimentação de 4 h. Essa remoção elevada para a TCO aplicada pode ser explicada pelas características do reator utilizado.

Vlassis et al. (2012) em um reator CSTR mesofílico (35 °C), aplicando-se diferentes TCO (0,25; 0,375 e 0,50 gDQO.L⁻¹.d⁻¹) observaram que na TCO inicial de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, a DQO removida foi de 95 %. Com o aumento da TCO para 0,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, uma acumulação de AGV (cerca de 3 gDQO.L⁻¹) foi verificada, com diminuição na conversão de DQO, assim como na produção de metano, o que levou a redefinição da condição inicial de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, na qual alcançou remoção de DQO de 94 %.

Vlassis et al. (2013) verificaram que o reator PABR mesofílico (35 °C), sob variação de TCO, quando operado em 3 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ apresentou remoção de DQO de 95 %. Nesta mesma TCO, a presente pesquisa apresentou queda acentuada da remoção de DQO, justificada pela acumulação de AGV no sistema.

Boonsawang et al. (2015), em reator ASBR metanogênico, considerando fase única, operado na TCO de 8,8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e TDH de 46 h, alcançaram remoção de DQO de 87,1 %. Nota-se que a TCO aplicada pelos autores foi elevada, mas a configuração de reator utilizada e principalmente o elevado TDH favoreceram a remoção de DQO, visto que um maior tempo de contato entre substrato e microrganismos, favorece a remoção de DQO

Observa-se ainda na Tabela 30 os valores do parâmetro TCO removida para todas as fases operacionais e na Figura 17 o gráfico boxplot dessa variável em função da TCO aplicada.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Tem-se que, o comportamento gráfico ideal da relação das variáveis TCO aplicada e TCO removida é um comportamento linear, em que a TCO removida é diretamente proporcional a TCO aplicada, ou seja, toda matéria orgânica aplicada é removida (pontos cheios na Figura 17). Verifica-se na Figura 17 que, para as TCO aplicadas de 1 e 2 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ esse comportamento é verificado, entretanto, a partir da TCO de 3 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ essa relação passa a não ser proporcional, sendo a TCO removida inferior a aplicada, o que indica início de desequilíbrio do reator em função da sobrecarga orgânica. Na TCO aplicada de 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ observa-se claramente o distanciamento da TCO removida ideal do valor real, confirmando a sobrecarga orgânica no sistema e indicando inibição cinética e alto desequilíbrio do reator.

5.2.3 Variação do pH

A Tabela 31 apresenta os valores médios de pH afluyente e efluente, para todas as fases realizadas no RALF-CH₄. Observa-se que, tanto o pH afluyente, como o efluente, apresentaram-se praticamente constantes. O pH afluyente variou de 7,81 a 8,18, enquanto o pH efluente de 7,94 a 8,26.

Tabela 31 - Valores médios de pH afluyente e efluente do RALF-CH₄.

Fase	TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	pH _{afluyente}	pH _{efluente}
1	1	7,81 ± 0,13 ⁽¹¹⁾	7,94 ± 0,11 ⁽¹¹⁾
2	2	7,96 ± 0,10 ⁽¹⁵⁾	7,99 ± 0,12 ⁽¹⁵⁾
3	3	8,13 ± 0,09 ⁽³⁰⁾	8,12 ± 0,13 ⁽³⁰⁾
4	4	8,19 ± 0,05 ⁽¹⁹⁾	8,24 ± 0,12 ⁽¹⁹⁾
5	5	8,18 ± 0,05 ⁽²³⁾	8,26 ± 0,10 ⁽²³⁾
6	7	8,13 ± 0,09 ⁽²⁴⁾	8,23 ± 0,18 ⁽¹⁸⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

O pH tem influência direta no processo da digestão anaeróbia, sendo utilizado para controlar o metabolismo e selecionar os microrganismos com maior resistência a condição estabelecida (TEMUDO et al., 2008). De acordo com Van Haandel (1994) a faixa de pH ideal para os sistemas anaeróbios está entre 6,3 e 7,8. Speece (1996) define faixa de pH ótima de 6,5 a 8,3, enquanto Zhu et al. (2008) aborda que a produção de metano ocorre com melhores resultados em pH entre 6,8 e 7,5. Verifica-se que a faixa de valores encontrada no presente trabalho está de acordo com o mencionado por Speece (1996) e acima das demais referências.

Tem-se que, os valores um pouco superior a 8,00 podem ser justificados pela dosagem do tampão NaHCO_3 ($1 \text{ gNaHCO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ glicerol} \cdot \text{L}^{-1}$ nas fases 1 e 2, e $2 \text{ gNaHCO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ glicerol} \cdot \text{L}^{-1}$ nas fases 3, 4, 5 e 6), utilizado com o intuito de controlar os ácidos graxos voláteis (AGV) no sistema e evitar a diminuição do parâmetro pH. Vale salientar que nenhum tipo de problema envolvendo o “excesso” de NaHCO_3 e do pH acima de 8,00 foi verificado.

De maneira semelhante à adição de NaHCO_3 realizada nesta pesquisa, Yang, Tsukahara e Sawayama (2008), operando reator de leito fixo mesofílico, ao verificarem diminuição no pH para 5,4 durante os dias iniciais de operação, adicionaram $4,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de NaHCO_3 ao sistema para aumentar a capacidade tampão do mesmo. A partir daí, o pH manteve-se próximo a 7 até o fim da operação.

Lovato et al. (2012) operando um AnSBBR mesofílico (30°C), com efluente oriundo da produção de biodiesel como substrato, realizou a suplementação de alcalinidade afluenta, com adição de $1,30 \text{ gNaHCO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$, a qual foi suficiente para manter o pH próximo de 7 e controlar os ácidos.

A importância em se adicionar um agente tampão a um sistema degradando glicerol residual também foi constatada por Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013) e Hutňan et al. (2013), que adicionaram NaHCO_3 para aumentar o pH até próximo ao valor 7,0 ao degradar glicerol residual utilizando reator anaeróbico de mistura e UASB, mostrando assim a incapacidade do glicerol residual em neutralizar os ácidos produzidos pelas bactérias acidogênicas.

A adição do tampão NaHCO_3 , fonte externa de alcalinidade, contribui para o parâmetro alcalinidade a bicarbonato (AB), que tem relação direta com o controle do pH quando da presença de AGV. Destaca-se que a concentração de AGV é um parâmetro eficiente para sugerir instabilidade do processo anaeróbico, pois o acúmulo destes ácidos no sistema indica que eles não estão sendo convertidos a metano na mesma proporção em que estão sendo produzidos pela comunidade acidogênica (AHRING; SANDBERG; ANGELIDAKI, 1995; WANG et al., 1999).

5.2.4 Ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato

A Tabela 32 apresenta os valores médios de ácidos graxos voláteis (AGV) afluentes e efluentes, em função da crescente TCO aplicada no RALF- CH_4 . Já a Tabela 33 apresenta a alcalinidade a bicarbonato média, afluenta e efluente, aplicada no sistema, também em função do aumento da TCO.

Tabela 32 - Concentração média de AGV em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fase	TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	AGV _{afluente} (mg HAc.L ⁻¹)	AGV _{efluente} (mg HAc.L ⁻¹)
1	1	49,3 ± 4,5 ⁽⁴⁾	45,1 ± 4,4 ⁽⁸⁾
2	2	47,0 ± 3,3 ⁽³⁾	156,0 ± 43,5 ⁽⁸⁾
3	3	67,6 ± 9,9 ⁽⁴⁾	1295,2 ± 200,2 ⁽¹⁰⁾
4	4	63,5 ± 2,0 ⁽³⁾	1654,7 ± 93,8 ⁽⁷⁾
5	5	76,3 ± 2,0 ⁽³⁾	2342,9 ± 87,5 ⁽⁸⁾
6	7	65,3 ± 1,7 ⁽³⁾	3235,2 ± 122,9 ⁽¹⁴⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Tabela 33 - Alcalinidade a bicarbonato média em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fase	TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	AB _{afluente} (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	AB _{efluente} (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)
1	1	611,6 ± 20,7 ⁽⁴⁾	777,9 ± 19,8 ⁽⁸⁾
2	2	1194,2 ± 6,1 ⁽³⁾	1129,6 ± 74,2 ⁽⁸⁾
3	3	3466,0 ± 124,3 ⁽⁴⁾	2395,5 ± 200,5 ⁽¹⁰⁾
4	4	4518,0 ± 56,6 ⁽³⁾	3076,9 ± 193,7 ⁽⁷⁾
5	5	5626,8 ± 28,3 ⁽³⁾	3615,6 ± 117,3 ⁽⁸⁾
6	7	7718,3 ± 44,5 ⁽³⁾	4577,0 ± 222,1 ⁽¹⁴⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

De acordo com os resultados apresentados, nas TCO de 1 e 2 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, ou seja, nas duas primeiras fases de operação, a concentração efluente dos AGV apresentou-se baixa 45,1 e 156,0 mgHAc.L⁻¹, respectivamente. Entretanto, na terceira fase (TCO de 3 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) a concentração dos ácidos sofreu um aumento significativo para 1295,2 mgHAc.L⁻¹, indicando desequilíbrio no processo de digestão anaeróbia, explicitado pela diminuição na remoção de DQO observada nessa fase, assim como na diminuição do conteúdo de CH₄ no biogás (discutido posteriormente). Dessa forma, o acúmulo de AGV se mostrou relacionado com a remoção de matéria orgânica, ou seja, com a queda da TCO removida (item 5.2.2). Com o aumento da TCO para 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, a acumulação de AGV continuou crescente, apresentando, para as TCO mencionadas, valores de 1654,7; 2342,9 e 3235,2 mgHAc.L⁻¹, respectivamente. Essa acumulação sugere que as arqueias metanogênicas não conseguiram converter esses intermediários químicos a metano, na mesma taxa em que estavam sendo produzido pelos organismos acidogênicos.

A Figura 18 apresenta o gráfico boxplot da acumulação de ácidos no RALF-CH₄ em função do aumento da carga orgânica. Verifica-se que as dispersão dos pontos é muito baixa, permitindo concluir que, com a aplicação da TCO de 3 kg_{glicérol}.m⁻³.d⁻¹ e a partir dela, o aumento na acumulação dos AGV apresentou-se linear. Vale salientar que, mesmo com a acumulação de AGV mediante a aplicação da TCO de 3 kg_{glicérol}.m⁻³.d⁻¹ e diminuição da performance do reator, o aumento da TCO continuou a ser executado com o objetivo de caracterizar o comportamento em maiores TCO, a fim de alcançar uma condição de máxima quantidade tratada de glicérol. Além disso, o trabalho desenvolvido no grupo de pesquisa LCAII/DEQ/UFSCar por Siqueira, Damiano e Silva (2013), com o objetivo de produção de metano em reator RALF mesofílico utilizando vinhaça como substrato orgânico, aplicou TCO elevadas no sistema (3,33 a 26,19 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) e, mesmo com acúmulo de ácidos, verificou produção de metano.

Figura 18 - Boxplot da concentração dos AGV efluente em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Vale salientar que Aguilar, Casas e Lema (1995) comprovaram que é possível a operação de sistemas anaeróbios em concentrações elevadas de AGV, desde que haja alcalinidade suficiente para manter o pH próximo a neutralidade. Vale destacar que, o pH permaneceu constante durante todo o experimento realizado na presente pesquisa, devido ao tamponamento conseguido pelo NaHCO₃.

Em relação à AB, observa-se na Tabela 33, que seu valor afluente apresentou comportamento crescente com o aumento da TCO. Tal AB tem origem na adição de NaHCO₃,

o qual foi adicionado ao sistema na relação de $1 \text{ gNaHCO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ glicerol} \cdot \text{L}^{-1}$ nas TCO de 1 e $2 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Quando a TCO de $3 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ foi aplicada, a relação aumentou para $2 \text{ gNaHCO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ glicerol} \cdot \text{L}^{-1}$, com o intuito de controlar os AGV formados (que apresentavam tendência de elevação) e não permitir o colapso do sistema. Essa última relação continuou sendo aplicada até o fim da operação do RALF-CH₄.

A Figura 19 apresenta o gráfico da AB afluyente e efluente em função das TCO aplicadas. Observa-se que, com o início do acúmulo de AGV no sistema, na TCO de $3 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, a AB passa a ser consumida e que, a partir dessa TCO, o seu consumo continua a ser verificado, apresentando-se de forma mais expressiva na TCO de $7 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, com o intuito de controlar a instabilidade do sistema.

Figura 19 - Alcalinidade a bicarbonato em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Destaca-se que, mesmo com a estabilidade verificada no pH, a adição de AB foi incapaz de evitar o acúmulo de ácidos no sistema e a queda na remoção de DQO. Entretanto, não houve consumo máximo de AB que justificasse outro aumento na relação de NaHCO₃ adicionada no afluyente.

Outro parâmetro de monitoramento de reatores metanogênicos é a relação AI/AP (alcalinidade intermediária / alcalinidade parcial), que é definida como a alcalinidade relativa à ácidos voláteis em sua forma ionizada, pela alcalinidade devido principalmente à bicarbonatos (FORESTI, 1994). Ripley, Boyle e Converse (1986) elucidaram que quanto

maior for o valor dessa razão, maior o desbalanceamento ocasionado pela elevada produção de AGV e que, o valor da relação AI/AP próxima a 0,3 é um indicador de estabilidade do processo, embora Foresti (1994) ressalte 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.

A Tabela 34 apresenta os valores médios da relação AI/AP afluente e efluente em função dos aumentos da TCO. Observa-se que a relação AI/AP afluente permaneceu baixa, variando de 0,11 a 0,23, confirmando a presença de bicarbonato adentrando ao sistema (introduzido pela adição de NaHCO_3). O comportamento da relação AI/AP efluente pode ser verificado no gráfico boxplot apresentado na Figura 20, na qual, mesmo considerando a dispersão dos pontos em algumas fases, observa-se uma tendência de aumento em função do acréscimo da TCO.

Tabela 34 - Relação AI/AP em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fase	TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	AI/AP _{afluente}	AI/AP _{efluente}
1	1	0,22 ± 0,03 ⁽⁴⁾	0,33 ± 0,04 ⁽⁸⁾
2	2	0,23 ± 0,03 ⁽³⁾	0,39 ± 0,04 ⁽⁸⁾
3	3	0,22 ± 0,09 ⁽⁴⁾	0,50 ± 0,06 ⁽¹⁰⁾
4	4	0,22 ± 0,01 ⁽³⁾	0,47 ± 0,06 ⁽⁷⁾
5	5	0,15 ± 0,01 ⁽³⁾	0,53 ± 0,05 ⁽⁸⁾
6	7	0,11 ± 0,02 ⁽³⁾	0,56 ± 0,02 ⁽¹⁴⁾

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 20 - Boxplot da relação AI/AP efluente em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Tem-se que os valores de AI/AP efluentes variaram de 0,33 na TCO de $1 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a 0,56 na TCO de $7 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Somente o valor encontrado na fase 1 (0,33) encontra-se próximo ao ótimo mencionado na literatura (0,3). Na TCO de $2 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, o valor verificado (0,39), embora já considerado elevado em relação a literatura, não foi indicativo de desequilíbrio no sistema, visto que, somente pequenas variações nos demais parâmetros analisados foram verificadas nessa TCO, indicando estabilidade do sistema em valor diferente no proposto na literatura, conforme mencionado por Foresti (1994).

Comparando-se os resultados de AGV, AB e relação AI/AP obtidos nesta pesquisa com a literatura, observa-se que alguns sistemas apresentaram comportamento semelhante ao conseguirem operar em altas concentrações de AGV, enquanto outros tenderam ao colapso.

Phukingngam et al. (2011) investigando o desempenho de um ABR mesofílico (27°C), alimentado com água residuária proveniente do biodiesel, ao variarem a TCO de 0,5 para $2,1 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, observaram que a concentração de AGV apresentou um aumento de 12 para 64 mgHAc.L^{-1} , com valores de pH entre 7,07 e 7,51. Entretanto, uma elevação na TCO para $3,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ elevou os AGV para 410 mgHAc.L^{-1} , resultando em acúmulo de AGV no sistema, com queda do pH para 6,07, o qual não é favorável à metanogênese. Observa-se que o desequilíbrio no sistema ocorreu em concentrações de AGV baixas quando comparadas as concentrações observadas no RALF-CH₄.

Lovato et al. (2012) operando um AnSBBR mesofílico (30°C), na TCO de $4,5 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e tempo de alimentação de 2 h (melhor condição para produção de metano), observaram concentração de ácidos voláteis totais de $174,5 \text{ mgHAc.L}^{-1}$ e AB afluente de $2631 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$. Nota-se que quando uma TCO próxima foi aplicada na presente pesquisa ($4 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$) o RALF-CH₄ apresentou concentrações de ácidos mais elevadas ($1654,7 \text{ mgHAc.L}^{-1}$), assim como de AB afluente ($4518,0 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$).

Vlassis, Antonopoulou e Lyberatos (2012) operando um reator CSTR (35°C), sob diferentes TCO (0,25; 0,375 e $0,50 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$), verificaram que o acúmulo de AGV na TCO de $0,5 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ provocou uma queda de pH abaixo de 6,7, causando a inibição da metanogênese e cessando a produção de metano. Na tentativa de reverter essa situação, a TCO foi redefinida para o valor inicial de $0,25 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e o reator foi operado nesta condição, na qual a AB verificada foi de $3,98 \text{ gCaCO}_3.\text{L}^{-1}$, ocorrendo assim consumo dos AGV. Novamente a TCO foi ajustada a $0,375 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ acreditando-se que a cultura bem adaptada conseguisse agora suportar uma TCO superior. No entanto, este aumento na TCO foi

acompanhado por uma elevação nas concentrações de DQO efluente e AGV, esse último superior a 2 gDQO.L^{-1} .

Vlassis et al. (2013) operando um PABR, verificaram que a aplicação da TCO até o valor de $2,5 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ levou a um comportamento estável do reator. Entretanto, ao aumentar a TCO para $3,75 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ houve acumulação dos AGV no sistema, atingindo concentração de 15 gDQO.L^{-1} , resultando na queda do pH (5,22). Tais evidências levaram a considerar o reator acidificado e de modo a contornar essa situação os pesquisadores cessaram a operação contínua do reator e o mesmo passou a operar em modo batelada.

Watanabe et al. (2013) ao aplicarem a maior TCO estipulada ($2,17 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) em um biorreator controle, verificaram durante o período do 50° ao 60° dia de operação uma diminuição na produção de metano, justificada pelo aumento dos níveis de ácido propiônico. Tal ácido foi detectado em uma concentração de 490 mg.L^{-1} após o 53° dia de operação, valor esse aumentado para 4510 mg.L^{-1} no 81° dia.

Tangkathitipong, Intanoo e Chavadej (2014) verificaram que a concentração total de AGV no ASBR_{CH₄} alcançou um valor máximo de aproximadamente $1750 \text{ mgHAc.L}^{-1}$ na máxima TCO ($14,06 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), sendo os principais componentes verificados os ácidos acético, propiônico, butírico e valérico, uma concentração significativa de 1,3-propanodiol e muito pequena de etanol. O comportamento verificado pelos autores foi a elevação dos ácidos com o aumento da TCO ($5,63$ a $14,06 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), o que também foi verificado na presente pesquisa.

Dinh et al. (2014) utilizou lodo granular de cultura mista como inóculo para o tratamento de glicerol em reatores bateladas em escala laboratorial, na temperatura de 39°C . Aplicando TCO constante de $2,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, sob alimentação composta totalmente por glicerol, a concentração total de AGV foi menor que 200 g.L^{-1} (calculado pela soma dos ácidos acético, propiônico, butírico e isobutírico), permanecendo estável até o final da operação. Tal estabilidade se deve a baixa TCO aplicada.

5.2.5 Quantificação dos metabólitos produzido

Como mencionado no item anterior, durante a aplicação das TCO de 3, 4, 5 e $7 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, houve acumulação de AGV no sistema. Assim, a fim de quantificar tais ácidos e verificar a possível presença de outros compostos, os efluentes das fases em que essas TCO mencionadas foram aplicadas, foram submetidos à análise cromatográfica, por meio do cromatógrafo Shimadzu GC-17A. Os metabólitos produzidos estão mencionados na

Tabela 35, a qual apresenta sua concentração média, assim como sua porcentagem molar. Os metabólitos verificados foram: metanol (MeOH), butanol (BuOH), ácido acético (HAc), ácido propiônico (HPr), ácido isobutírico (HIsobu), ácido butírico (HBu); ácido isovalérico (HIsVa) e ácido valérico (HVa). A Figura 21 apresenta graficamente a distribuição molar desses metabólitos.

Tabela 35 - Concentração (mg.L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados no RALF-CH₄.

Metabólitos		TCO ($\text{kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$)			
		3	4	5	7
mg.L^{-1}	MeOH	$8,6 \pm 0,6^{(9)}$	$6,5 \pm 0,3^{(9)}$	$0,0 \pm 0,0^{(11)}$	$23,9 \pm 0,3^{(9)}$
%		1,5	0,8	0,0	1,8
mg.L^{-1}	BuOH	$12,5 \pm 0,0^{(11)}$	$12,5 \pm 0,0^{(11)}$	$0,0 \pm 0,0^{(11)}$	$37,3 \pm 0,0^{(10)}$
%		0,9	0,7	0,0	1,2
mg.L^{-1}	HAc	$736,7 \pm 141,7^{(7)}$	$1032,4 \pm 86,3^{(5)}$	$1325,7 \pm 165,9^{(5)}$	$1358,5 \pm 104,7^{(5)}$
%		67,4	70,3	70,1	54,5
mg.L^{-1}	HPr	$324,4 \pm 24,1^{(7)}$	$434,1 \pm 79,0^{(6)}$	$614,1 \pm 41,2^{(8)}$	$1154,5 \pm 122,2^{(5)}$
%		24,1	24,0	26,3	37,5
mg.L^{-1}	HIsobu	$29,5 \pm 3,7^{(8)}$	$29,5 \pm 2,5^{(7)}$	$31,2 \pm 4,2^{(7)}$	$31,9 \pm 1,5^{(5)}$
%		1,8	1,4	1,1	0,9
mg.L^{-1}	HBu	$34,2 \pm 5,3^{(5)}$	$14,4 \pm 2,7^{(6)}$	$13,5 \pm 3,0^{(9)}$	$36,5 \pm 7,2^{(7)}$
%		2,1	0,7	0,5	1,0
mg.L^{-1}	HIsVa	$29,3 \pm 3,9^{(8)}$	$34,2 \pm 3,2^{(7)}$	$41,5 \pm 2,1^{(6)}$	$40,7 \pm 3,6^{(6)}$
%		1,6	1,4	1,3	1,0
mg.L^{-1}	HVa	$10,5 \pm 1,0^{(8)}$	$21,5 \pm 5,4^{(7)}$	$22,3 \pm 3,5^{(7)}$	$91,2 \pm 8,6^{(4)}$
%		0,6	0,9	0,7	2,2
mg.L^{-1}	SOMA	1185,7	1585,1	2048,3	2774,5
%		100	100	100	100

MeOH: metanol; BuOH: butanol; HAc: ácido acético; HPr: ácido propiônico; HIsobu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HIsVa: ácido isovalérico; HVa: ácido valérico.

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Observa-se que o principal metabólito detectado foi o HAc, cuja sua concentração crescente em função do aumento da TCO variou de 736,7 a 1558,5 mg.L^{-1} . O segundo metabólito de maior expressividade foi o HPr, cuja concentração, também crescente com a elevação da TCO, apresentou variação de 324,4 a 1154,5 mg.L^{-1} . Os demais metabólitos tiveram pequena expressividade, como por exemplo, o HBu (13,5 a 36,4 mg.L^{-1}).

Figura 21 - Fração molar dos principais metabólitos detectados no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

De acordo com Foresti (1994) a sobrecarga em processos anaeróbios pode ocorrer por acumulação de HAc, HBu e HPr. Em situação de sobrecarga orgânica em que a produção de ácido acético é intensa (denominada sobrecarga de ácido acético), as arqueias metanogênicas acetoclásticas não perdem o controle da fermentação, apenas a taxa de produção das bactérias formadoras de ácidos é superior à taxa de consumo das arqueias metanogênicas acetoclásticas. Já a sobrecarga de ácido propiônico, representa uma situação de colapso, quando as arqueias metanogênicas acetoclásticas perdem o controle do processo e H₂ é transferido (a fim de diminuir a pressão parcial de H₂) às bactérias acidogênicas para produção de HPr, que ocorre em grandes quantidades.

Acredita-se, pela elevada produção de HAc nas TCO de 3, 4, 5 e 7 kgDQO m⁻³.d⁻¹ (67,4 %, 70,3 %, 70,1 % e 54,5%, respectivamente), que a sobrecarga de ácido acético foi responsável pela diminuição do desempenho do reator a medida que a carga orgânica foi aumentada. A elevação de HPr na TCO de 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ (37,5 %) também foi indicativo de uma sobrecarga de ácido propiônico nessa TCO e possivelmente em TCO superiores, caso a mesma continuasse a aumentar. Esse resultado, somado ao baixo desempenho de remoção de carga orgânica no reator indicam uma situação de colapso no mesmo.

Uma questão levantada por Viana (2011) para justificar a elevação de AGV em sistema operacional foi a adição de nutrientes em quantidades insuficientes. Esse autor,

operando um reator UASB verificou acumulação de AGV e perturbação no sistema, quando a TCO aplicada aumentou para cerca de $6 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Substituindo a solução nutriente por uma mais concentrada, o reator apresentou melhoras e operou sob condição estável até a TCO de $10 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Assim, Viana (2011) concluiu que a quantidade de nutrientes a ser adicionada a um sistema degradando glicerol residual, deve ser proporcional à carga orgânica aplicada. Essa é uma hipótese que pode ser a causa da acumulação de AGV no sistema do presente estudo, uma vez a solução nutriente foi preparada tomando por base o volume de alimentação e não a TCO aplicada.

Outro fator de grande importância em sistemas metanogênicos é o controle da vazão afluente, visto que, estando acima do valor estipulado proporciona aumento de carga orgânica no meio reacional. Salienta-se que, na presente pesquisa a vazão foi rigorosamente controlada a fim de que a carga presente no sistema fosse igual ou próxima a determinada.

5.2.6 Composição do biogás

A produção de metano em sistema de digestão anaeróbia é um indicativo do bom desempenho do processo, pois confirma a presença de organismos metanogênicos e a aplicação de condições ideais para o desenvolvimento dos mesmos. A composição média de CH_4 no biogás em função da variação da TCO é apresentada na Tabela 36. Verifica-se que tal composição se restringiu apenas a CH_4 e CO_2 em todas as fases.

Tabela 36 - Composição média de CH_4 e CO_2 no biogás RALF- CH_4 .

TCO ($\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$)	CH_4 (%)	CO_2 (%)
1	$83,0 \pm 1,4^{(9)}$	$17,0 \pm 1,4^{(9)}$
2	$70,8 \pm 2,0^{(7)}$	$29,2 \pm 2,0^{(7)}$
3	$54,2 \pm 4,8^{(20)}$	$45,8 \pm 4,8^{(20)}$
4	$51,3 \pm 2,0^{(11)}$	$48,7 \pm 2,0^{(11)}$
5	$48,6 \pm 1,7^{(11)}$	$51,4 \pm 1,7^{(11)}$
7	$37,8 \pm 1,5^{(14)}$	$62,2 \pm 1,5^{(14)}$

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Verifica-se na primeira fase operacional, cuja TCO aplicada foi de $1 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, a máxima porcentagem de metano obtida (83,0 %). Na TCO de $2 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ verificou-se uma porcentagem menor (70,8 %), mas ainda considerada satisfatória. Com a aplicação da

TCO de $3 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ observou-se um decréscimo acentuado da porcentagem de CH_4 (54,2 %), em função do acúmulo de AGV no sistema. Nas TCO de 4 e $5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ observou-se certa constância em relação ao valor obtido na TCO de $3 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, uma vez que as porcentagens verificadas foram 51,3 % e 48,6 %, respectivamente. Já na máxima TCO aplicada, uma nova diminuição foi verificada, com porcentagem de 37,8 %, resultado que expressa o desequilíbrio da digestão anaeróbia com o aumento da carga orgânica aplicada, mas que indica que a metanogênese não foi inibida por completa.

A Figura 22 apresenta o boxplot do conteúdo de metano no biogás em função da diminuição da TCO. Verifica-se que a dispersão dos dados foi baixa em todas as fases executadas, o que permite concluir que o aumento da TCO, de modo especial a TCO de $3 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, afetou de forma significativa o conteúdo de CH_4 no biogás, proporcionando um decréscimo desse parâmetro. Vale destacar que, a constância nas fases 3, 4 e 5 do conteúdo de CH_4 , pode ter ocorrido pela aclimação da biomassa as condições específicas de mudança para as TCO referidas, mesmo ocorrendo elevação das concentrações de AGV.

Figura 22 - Boxplot do conteúdo de CH_4 no biogás em função das TCO aplicadas no RALF- CH_4 .

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

Destaca-se que a redução da produção de metano em função do aumento da carga orgânica, reforça a ideia da limitação da capacidade metabólica das arqueias metanogênicas frente à acumulação de AGV, não conseguindo manter seu poder de conversão da matéria orgânica afluyente em metano.

Valores de conteúdo de metano elevados, como o verificado na primeira fase operacional do RALF-CH₄ (83,0 %), são encontrados na literatura quando glicerol é utilizado como substrato, como os obtidos por Yang, Tsukahara e Sawayama (2008), que operando um reator de leito fixo semi-contínuo (35 °C), sob variação de TCO de 0,25 a 0,7 g.L⁻¹.d⁻¹, alcançaram porcentagem de metano entre 40 a 82 %.

Phukingngam et al. (2011), variando a TCO de 0,5 a 3,0 kg.m⁻³.d⁻¹ em um reator ABR mesofílico (27 °C) obtiveram porcentagens variando entre 64 a 74 %. Lovato et al. (2012) encontrou em um AnSBBR mesofílico (30 °C), porcentagem de metano no biogás de 75 %, no tempo de alimentação de 2 h e TCO de 4,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Já Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013) em reatores anaeróbios de mistura (37 °C), variando a TCO de 6 até 8,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ no reator com glicerol bruto (GB_{NT}), alcançou conteúdo médio de metano no biogás de 61,1 %. No reator com glicerol bruto pré-tratado (GB_{PT}), variando a TCO de 1,2 a 3,6 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, a concentração média de metano foi de 57,5 %.

Conteúdo de metano entre 59 % e 64 % foi alcançado por Dinh et al. (2014) em reatores batelada mesofílicos (39 °C), sob TCO de 2,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Já Boonsawang et al. (2015), operando um reator metanogênico em fase única, submetido à TCO de 8,8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ alcançaram conteúdo de metano de 59,7 %.

Analisando os resultados dos trabalhos apresentados anteriormente, observa-se que um valor muito próximo ao máximo conteúdo de metano encontrado nesta pesquisa (83,0 %, na TCO de 1 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) foi conseguido por Yang, Tsukahara e Sawayama (2008), 82 %, também operando sob uma condição de baixa TCO (0,25 a 0,7 kg.m⁻³.d⁻¹). Os demais trabalhos conseguiram porcentagens menores, mas ainda satisfatórias, alguns sob TCO maiores, como Boonsawang et al. (2015).

5.2.7 Produção volumétrica e rendimento de metano

A Tabela 37 apresenta os valores médios da produção volumétrica de metano (PVCH₄) e o rendimento de metano (YCH₄) em função do aumento da TCO de 1 a 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Observa-se que a máxima PVCH₄ foi verificada na TCO de 5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, com valor de 2,26 L.d⁻¹.L⁻¹ e o máximo YCH₄ foi encontrado na TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, com valor de 0,77 molCH₄.mol⁻¹glicerol_{consumido} ou 0,19 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}.

A Figura 23 apresenta o gráfico boxplot do comportamento da PVCH₄ com a variação da TCO. Observa-se uma tendência de aumento da PVCH₄ até a aplicação da TCO de

5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, na qual o valor máximo é atingido. Já na TCO de 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ a PVCH₄ apresenta uma diminuição considerável. Supõe-se que, a elevação da porcentagem de HPr no sistema, na máxima TCO (quando comparada com as TCO mais baixas) tenha desequilibrado o sistema, provocado diminuição na PVCH₄ e afetando os demais parâmetros já discutidos.

Tabela 37 - PVCH₄ e YCH₄ no RALF-CH₄ em função das TCO aplicadas.

TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	PVCH ₄ (L.d ⁻¹ .L ⁻¹)	YCH ₄ (molCH ₄ .molglicerol _{consumido})	Y'CH ₄ (m ³ CH ₄ .kg ⁻¹ DQO _{aplicada})
1	0,08 ± 0,05 ⁽⁵⁾	0,16 ± 0,09 ⁽⁵⁾	0,04 ± 0,02 ⁽⁵⁾
2	0,24 ± 0,05 ⁽⁶⁾	0,19 ± 0,04 ⁽⁶⁾	0,05 ± 0,01 ⁽⁶⁾
3	1,11 ± 0,15 ⁽¹²⁾	0,51 ± 0,08 ⁽¹²⁾	0,12 ± 0,02 ⁽¹²⁾
4	2,08 ± 0,28 ⁽⁸⁾	0,77 ± 0,12 ⁽⁸⁾	0,19 ± 0,03 ⁽⁸⁾
5	2,26 ± 0,22 ⁽⁶⁾	0,66 ± 0,08 ⁽⁶⁾	0,15 ± 0,02 ⁽⁶⁾
7	1,72 ± 0,25 ⁽¹³⁾	0,41 ± 0,06 ⁽¹³⁾	0,10 ± 0,02 ⁽¹³⁾

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

Figura 23 - Boxplot da PVCH₄ em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

A Figura 24 apresenta o gráfico boxplot do Y'CH₄ (em virtude da DQO aplicada), variando em função da TCO. Observa-se que, mesmo considerando a dispersão dos pontos, pode-se afirmar que o Y'CH₄ apresentou-se crescente até a aplicação da TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, na qual obteve-se o máximo valor. A partir daí, com a aplicação das TCO

de 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ verificou-se uma diminuição nesse parâmetro, caracterizando assim, um comportamento bem definido de ponto máximo na TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

Vale salientar que, o comportamento do YCH₄ em glicerol consumido é o mesmo apresentado na Figura 24, com tendência de crescimento até a TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e decréscimo posteriormente, por isso não foi apresentado graficamente. Entretanto, o valor do YCH₄ nessa unidade é útil para a comparação com os valores teóricos elucidados na literatura.

Figura 24 - Boxplot do rendimento de metano em função das TCO aplicadas no RALF-CH₄.

De acordo com a equação 18 (apresentada no item 3.3.1), quando a digestão anaeróbia é completa e satisfatória o máximo rendimento de metano é 1,75 mols por 1 mol de glicerol consumido. Entretanto, de acordo com a equação 19 (também apresentada no item 3.3.1), quando ocorre desequilíbrio no sistema e acumulação de ácido acético, o rendimento encontrado passa a ser de até 0,75 mol de metano por 1 mol de glicerol consumido. Destaca-se que, o máximo rendimento encontrado na presente pesquisa (0,77 molCH₄.mol⁻¹glicerol_{consumido}) foi obtido na TCO de 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, na qual o sistema apresentou instabilidade e acumulação de ácido acético (como discutido no 5.2.5), sendo assim, condizente com o apresentado pela equação 19, visto que, ao considerar o desvio padrão do máximo Y'CH₄, 0,77 molCH₄.mol⁻¹glicerol_{consumido} é igual ao máximo de 0,75 molCH₄.mol⁻¹glicerol_{consumido} descrito.

Na literatura, alguns trabalhos utilizando glicerol como substrato, expõem seus valores máximos dos parâmetros (PVCH₄ e YCH₄), assim como o comportamento obtido. Phukingngam et al. (2011), variando a TCO de 0,5 a 3,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ em um reator ABR

(27 °C), verificaram que a taxa de produção de biogás aumentou de 2,1 L.d⁻¹ para 12,4 L.d⁻¹ quando a TCO foi aumentada de 0,5 para 1,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, permanecendo constante quando os reatores foram operados em TCO mais elevadas, 2,1 a 3,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

Lovato et al. (2012) operando um AnSBBR, mesofílico (30 °C), com cubos de espuma de poliuretano como material suporte, alcançou o melhor resultado de rendimento de metano de 5,28 mmolCH₄.g⁻¹DQO_{removida} no tempo de alimentação de 2 h e TCO de 4,5 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Tal valor foi inferior ao máximo encontrado na presente pesquisa (14,93 mmolCH₄.g⁻¹DQO_{removida}), em condições de TCO aplicadas semelhantes (4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹).

Vlassis, Antonopoulou e Lyberatos (2012) analisando um reator CSTR (35 °C), alcançaram na TCO de 0,25 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ o maior rendimento de metano, igual a 0,30 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}. Vlassis et al. (2013) operando um PABR, apresentou o máximo rendimento de metano de 0,33 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada} e maior PVCH₄ de 0,993 LCH₄.d⁻¹.L⁻¹, ambos verificados na TCO de 3 gDQO.L⁻¹.d⁻¹.

Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013) avaliaram o tratamento de glicerol bruto (GB_{NT}) e glicerol bruto pré-tratado por processo de acidificação (GB_{PT}) para produção de metano, em reatores anaeróbios de mistura mesofílicos (37 °C). O reator GB_{NT} com variação de TCO de 1,6 a 8,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, apresentou produção de metano média de 0,328 L.g⁻¹DQO e rendimento de 0,328 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}. Já o reator GB_{PT}, com variação de TCO de 1,2 a 3,6 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, apresentou produção de metano média de 0,345 L.g⁻¹DQO e rendimento de 0,328 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}. Os resultados de Y'CH₄ alcançados pelos autores foram superiores ao máximo encontrado nesta pesquisa, quando se analisa a DQO aplicada no sistema (0,19 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}).

Hutňan et al. (2013) avaliaram a operação de três reatores UASB, inoculados com biomassa suspensa ou granular, no tratamento de glicerol bruto não-diluído e diluído, sob condições mesofílicas (37 °C). Os rendimentos de metano encontrados foram UASB₁= 0,29 L.g⁻¹DQO_{aplicada}, UASB₂= 0,31 L.g⁻¹DQO_{aplicada} e UASB₃=0,27 L.g⁻¹DQO_{aplicada}.

Dinh et al. (2014) avaliando reatores bateladas em escala laboratorial, na temperatura de 39 °C, sob variação de TCO de 2,05 a 8,22 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ verificou uma produção de gás metano média de 0,58 L.d⁻¹.L⁻¹.

Tangkathitipong, Intanoo e Chavadej (2014) verificaram em um reator ASBR, sob variação de TCO de 4,82 a 12,05 gDQO.L⁻¹, operado considerando fase única, PVCH₄ máxima de 0,355 L.d⁻¹.L⁻¹ e rendimentos máximo de 6,11 mLCH₄.g⁻¹DQO_{aplicada} ou 78,81 mL CH₄.g⁻¹DQO_{removida}. Já Boonsawanget al. (2015), em reator metanogênico

considerando fase única, sob TCO de 8,8 g DQO.L⁻¹.d⁻¹, alcançaram rendimento de metano de 0,032 LCH₄.g⁻¹DQO_{removida}. Observa-se que as TCO aplicadas nos dois trabalhos foram mais elevadas em comparação as aplicadas na presente pesquisa, podendo justificar os menores rendimentos e produção volumétrica de metano.

A Tabela 38 apresenta um resumo da literatura mencionada, com resultados de reatores que objetivaram a produção de metano, utilizando glicerol como substrato. Nota-se que os resultados alcançados na presente pesquisa foram satisfatórios, com destaque para o parâmetro porcentagem de metano no biogás (83,0 %), o qual, comparado com os reatores mesofílicos foi o maior valor reportado e muito próximo ao encontrado no reator operado por Yang, Tsukahara e Sawayama (2008). Entretanto, o reator termofílico operado por esses autores apresentou porcentagem de metano de 90,0 %. Em relação à PVCH₄, o máximo valor encontrado (2,26 LCH₄.d⁻¹.L⁻¹) foi superior a todos os resultados reportados nessa mesma unidade (LCH₄.d⁻¹.L⁻¹) nos trabalhos descritos. Já o Y'CH₄, é inferior a maioria dos trabalhos mencionados, entretanto, apresenta-se numa faixa possível de comparação.

Tabela 38 - Comparação do desempenho de reatores mesofílicos com objetivo de produção de CH₄.

Reator	T (°C)	Glicerol (g.L ⁻¹)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	Inóculo	CH ₄ (%)	PVCH ₄ (LCH ₄ . d ⁻¹ .L ⁻¹)	Rendimento de CH ₄	Referência
Leito fixo Semi-contínuo	35	GP: 4,03	0,25-0,70	Misto	40-82 (TCO=0,7)	-	0,370 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} .* (TCO = 0,25)	Yang, Tsukahara e Sawayama (2008)
	55		0,25-1,00		70-90 (TCO=0,7)		0,451 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} . (TCO = 0,70)	
ABR	27	GB: 5-30 gDQO.L ⁻¹	0,5-3,0	Misto	64-74	-	0,28 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} * (TCO = 1,5)	Phukingngam et al. (2011)
AnSBBR	30	GB: 3- 5 gDQO.L ⁻¹	4,5 - 7,5	Misto	75 (TCO = 4,5)	-	5,28 mmol.g ⁻¹ DQO _{Rem} (TCO = 4,5)	Lovato et al. (2012)
Reator anaeróbio de mistura	37	GB _{NT}	1,6 - 8,0	Misto	61,1	-	0,328 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap}	Hutňan, Kolesárová e Bodík (2013)
		GB _{PT}	1,2 - 3,6		57,5		0,345 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap}	
UASB1	37	GB _{NT}	1,30-4,32	Misto	-	-	0,29 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} *	Hutňan et al. (2013)
UASB2			2,16-6,49				0,31 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap}	
UASB3			0,50-3,90				0,27 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap}	
CSTR	35	GP: 5 -10	0,25 - 0,50	Misto	-	0,074 (TCO=0,25)	0,30 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} (TCO = 0,25)	Vlassis, Antonopoulou e Lyberatos (2012)
PABR		GP: 10-37,5	1,00 - 3,75		-	0,993 (TCO=3,00)	0,33 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} (TCO = 3)	Vlassis et al. (2013)
Batelada	39	GP: 2,05-8,22	2,5	Misto	59 - 64	0,58	-	Dinh et al. (2014)
ASBR CH ₄ (fase única)	37	GB: 45,0 gDQO.L ⁻¹	4,82 - 12,05	Misto	38,42 (TCO=9,64)	0,355 (TCO=9,64)	6,11x10 ⁻³ m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} (TCO = 9,64)	Tangkathitipong, Intanoo e Chavadej (2014)
ASBR CH ₄ (duas fases)			5,63 - 14,06		74,76 (TCO=11,25)	0,673 (TCO=11,25)	-	
Reator 1 CH ₄ (fase única)	30	GB: 10,0 gDQO.L ⁻¹	8,8	Misto	59,7	-	0,032 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Rem}	Boonsawang et al. (2015)
Reator 2 CH ₄ (duas fases)			4,0 - 8,0		66 (TCO = 6,10)	-	0,143 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Rem} (TCO = 6,10)	
RALF	30	GB: 1,0 - 7,0	1,0 - 7,0	Misto	83,0 (TCO = 1)	2,26 (TCO = 5)	0,19 m ³ .kg ⁻¹ DQO _{Ap} (TCO = 4)	Este estudo

GP: glicerol puro; GB: glicerol bruto; GB_{NT}: glicerol puro sem tratamento; GB_{PT}: pré-tratado por processo de acidificação; Ap: aplicada; Rem: removida.

* Calculado com base em informações apresentadas no artigo ou verificado graficamente.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

5.2.8 Sólidos suspensos e balanço de DQO

As concentrações dos sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV), verificadas no efluente do RALF-CH₄, encontram-se descritas na Tabela 39.

Tabela 39 - Concentração dos SST, SSF e SSV em função das TCO aplicadas do RALF-CH₄.

TCO (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	SST (µg.L ⁻¹)	SSF (µg.L ⁻¹)	SSV (µg.L ⁻¹)	SSF (%)	SSV (%)
1	0,05 ± 0,02 ⁽⁷⁾	0,03 ± 0,01 ⁽⁷⁾	0,03 ± 0,01 ⁽⁷⁾	50,6	49,4
2	0,05 ± 0,01 ⁽⁷⁾	0,03 ± 0,01 ⁽⁷⁾	0,02 ± 0,01 ⁽⁷⁾	52,7	47,3
3	0,07 ± 0,01 ⁽⁶⁾	0,03 ± 0,01 ⁽⁶⁾	0,04 ± 0,01 ⁽⁶⁾	43,7	56,3
4	0,15 ± 0,02 ⁽⁸⁾	0,06 ± 0,04 ⁽⁸⁾	0,09 ± 0,05 ⁽⁸⁾	37,5	61,5
5	0,21 ± 0,01 ⁽⁷⁾	0,09 ± 0,01 ⁽⁷⁾	0,12 ± 0,01 ⁽⁷⁾	41,8	58,2
7	0,42 ± 0,04 ⁽⁶⁾	0,14 ± 0,04 ⁽⁶⁾	0,28 ± 0,04 ⁽⁶⁾	32,5	67,5

Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras utilizadas para o cálculo das médias.

Fonte: Elaborada pela Autora, 2017.

A concentração de sólidos suspensos totais no RALF-CH₄ apresentou-se crescente com o aumento da TCO, entretanto seus valores ainda são considerados baixos. Nas TCO de 1, 2, 3 e 5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ houve um equilíbrio entre as frações de SSF e SSV, já nas TCO de 4 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ ocorreu a predominância da fração de SSV.

Em relação ao balanço de DQO, esse foi realizado com base na diferença entre a DQO teórica total e a DQO medida. A DQO teórica total é composta pela DQO teórica dos metabólitos solúveis no efluente, pelo glicerol remanescente no efluente e pela DQO dos SSV. Já a DQO medida se refere à DQO aferida no efluente do reator. Os resultados para as fases operacionais com aplicação das TCO 3, 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, estão apresentados na Tabela 40. Somente o balanço dessas fases foi realizado, pelo fato de terem apresentado acúmulo de AGV no sistema, indicando que a digestão anaeróbia não foi satisfatória.

Pode-se observar que a diferença percentual encontrada entre as DQO analisadas é negativa para todas as fases, chegando a ser desprezível na fase 3 (-4,8 %), quando a TCO de 3 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ é aplicada. Nas TCO de 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ (fases 4, 5 e 6 respectivamente) essa diferença é baixa, de 11,7 a 22,5 %. O fato das diferenças serem negativas pode ser atribuído à presença de metabólitos no efluente que não foram quantificados na metodologia empregada.

Tabela 40 - Balanço de DQO para as condições operacionais no RALF-CH₄ que foram aplicadas as TCO de 3, 4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

Fase operacional	DQO (mgDQO.L ⁻¹)													
	MeOH	BuOH	HAc	HPr	HIsoBu	HBu	HIsoVa	HVa	Glicerol _{efluente}	SSV	DQO _{teórica total}	DQO _{medida}	DQO _{teórica total} – DQO _{medida}	Diferença (%)
3	12,9	32,3	785,8	491,0	53,6	62,1	59,8	21,3	48,8	0,5.10 ⁻⁴	1567,7	1646,9	- 79,2	- 4,8
4	9,8	32,4	1101,2	657,1	53,7	26,2	69,8	43,9	47,5	1,3.10 ⁻⁴	2041,6	2312,2	- 270,7	- 11,7
5	0,0	0,1	1414,1	929,5	56,7	24,5	84,7	45,5	52,5	1,6.10 ⁻⁴	2607,5	3268,1	- 660,6	- 20,2
6	35,9	96,9	1449,1	1747,3	57,9	66,3	83,0	186,0	50,4	3,8.10 ⁻⁴	3773,0	4867,4	- 1094,5	- 22,5

MeOH: metanol; BuOH: butanol; HAc: ácido acético; HPr: ácido propiônico; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HIsoVa: ácido isovalérico; HVa: ácido valérico; HCa: ácido capríco; SSV: sólidos suspensos voláteis.

Fonte: Elaborado pela Autora, 2017.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nas fases operacionais estabelecidas de RALF-H₂ e RALF-CH₄, pode-se concluir que:

- RALF-H₂

A produção de hidrogênio no RALF-H₂ foi influenciada positivamente pela diminuição do TDH e consequentemente pelo aumento da carga orgânica, visto que no menor TDH aplicado (0,5 h) o conteúdo máximo de hidrogênio no biogás (69,2 %), a máxima produtividade volumétrica (1,90 L.h⁻¹.L⁻¹) e o maior rendimento de hidrogênio (0,28 molH₂.mol⁻¹glicerol_{consumido}) foram obtidos.

Verificou-se também que a variação do TDH pode conduzir a rotas metabólicas contrárias a produção de hidrogênio ou rotas de consumo do mesmo, como aquelas de formação do 1,3-PDO e do ácido capróico, em TDH mais elevados (8, 6 e 4 h), afetando negativamente o acúmulo de hidrogênio no sistema ou contribuindo para sua ausência. Assim, o 1,3-PDO, metabólito de maior expressividade, teve seu máximo rendimento (0,57 mol1,3-PDO.mol⁻¹glicerol_{consumido}) obtido no maior TDH aplicado (8 h), ou seja, na mesma condição em que não houve produção de hidrogênio.

- RALF-CH₄

Verificou-se instabilidade na digestão anaeróbia e por consequente, na produção de metano no RALF-CH₄, mediante aumento da TCO aplicada. O máximo conteúdo de metano no biogás (83,0 %), a máxima produtividade volumétrica (2,26 L.d⁻¹.L⁻¹) e o maior rendimento de metano (0,19 m³CH₄.kg⁻¹DQO_{aplicada}) foram obtidos nas TCO de 1, 5 e 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, respectivamente.

A aplicação da TCO de 3 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ levou a um acúmulo de AGV no sistema, que elevou-se com a aplicação das maiores TCO (4, 5 e 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹). Entretanto, embora o desempenho do reator tenha diminuído, verificou-se que a atividade metanogênica não foi completamente inibida, mesmo em altas concentrações de AGV (3235,22 mgHAc.L⁻¹) quando a TCO de 7 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ foi aplicada. A sobrecarga de ácido acético pode ter levado ao desequilíbrio do sistema, visto que, esse ácido foi o principal metabólito verificado no efluente durante as fases em que os AGV foram verificado com maior expressividade.

7 SUGESTÕES

Diante dos resultados obtidos nesse estudo, sugere-se para pesquisas subsequentes e complementares:

i. Verificar a viabilidade da produção de H_2 utilizando o glicerol bruto como substrato, mas aplicando concentrações mais elevadas que a utilizada na presente pesquisa, com as seguintes estratégias operacionais:

(a) mantendo a concentração constante e variando o TDH;

(b) mantendo o TDH constante e variando a concentração;

ii. Avaliar a produção contínua de H_2 e CH_4 em sistema sequencial (RALF acidogênico associado a um RALF metanogênico) em temperatura mesofílica;

iii. Verificar a adaptação de diferentes fontes de inóculo na produção de H_2 e CH_4 , utilizando glicerol bruto como substrato, na temperatura mesofílica;

iv. Avaliar a co-fermentação do glicerol bruto com efluente doméstico ou resíduos agroindustriais com objetivo de melhor adaptação do inóculo ao substrato e utilização de menor quantidade de meio nutriente.

REFERÊNCIAS

- ABAD, S.; TURON, X. Valorization of biodiesel derived glycerol as a carbon source to obtain added-value metabolites: Focus on polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 733–741, 2012.
- 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.
- ALBUQUERQUE, M. F. G. **Tratamento do glicerol bruto proveniente da produção de biodiesel visando a geração de metano**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Biotecnologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.
- AMORIM, N. C. S. et al. Biohydrogen production from cassava wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 3, p. 603–612, 2014.
- AMORIM, E. L. C. DE et al. Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 783–790, 2009.
- ANDALIB, M. et al. Treatment of thin stillage in a high-rate anaerobic fluidized bed bioreactor (AFBR). **Bioresource Technology**, v. 121, p. 411–418, 2012.
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2016.
- APHA - American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20 ed., Washington DC, USA, 1998.
- AQUINO, S.; CHERNICHARO, C. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.
- BARBIRATO, F. et al. Glycerol fermentation by a new 1,3-propanediol-producing microorganism: *Enterobacter agglomerans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 786–793, 1995.
- BARBIRATO, F.; BORIES, A. Relationship between the physiology of *Enterobacter agglomerans* CNCM 1210 grown anaerobically on glycerol and the culture conditions. **Res. Microbiol.**, v. 148, p. 475–484, 1997.
- BARBIRATO, F.; CHEDAILLE, D.; BORIES, A. Propionic acid fermentation from glycerol: Comparison with conventional substrates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 47,

n. 4, p. 441–446, 1997.

BARROS, A. R. **Influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

BARROS, A. R. et al. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 8, p. 3379–3388, 2010.

BARROS, A. R.; SILVA, E. L. Hydrogen and ethanol production in anaerobic fluidized bed reactors: Performance evaluation for three support materials under different operating conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 61, p. 59–65, 2012.

BIEBL, H. et al. Glycerol conversion to 1,3-propanediol by newly isolated clostridia. **Applied Microbiology and ...**, v. 36, n. 1992, p. 592–597, 1992.

BIEBL, H. et al. Microbial production of 1,3-propanediol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 289–297, 1999.

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.; PFENNIG, N. Isolation of Members of the Family *Rhodospirillaceae*. In: **The Prokaryotes**, vol. 1, p. 267–273. Edited by STARR, M. P. et al. New York: Springer, 1981.

BRASIL. Lei nº 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 União**, Brasília, DF, 14 jan. 2005.

BRASIL. Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014. Dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, e 8.723, de 28 de outubro de 1993; revoga dispositivos da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 nov. 2014.

BRASIL. Resolução APN nº 7, de 19 de março de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 mar. 2008.

BONDIOLI, P.; DELLA BELLA, L. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 3, p. 153–157, 2005.

BOONSAWANG, P. et al. Effect of nitrogen and phosphorus on the performance of acidogenic and methanogenic reactors for treatment of biodiesel wastewater. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 36, n. 6, p. 643–649, 2014.

BOSIO, M. **Produção de Hidrogênio e Metabólitos em Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado e em Reator de Leito Granular Expandido a partir de glicerol**. 2014. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

CARMONA, M. et al. Purification of glycerol/water solutions from biodiesel synthesis by ion exchange: Sodium and chloride removal. Part II. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 8, p. 1130–1135, 2009.

CHENG, K. K. et al. Pilot-scale production of 1,3-propanediol using *Klebsiella pneumoniae*. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 740–744, 2007.

CHOOKAEW, T.; O-THONG, S.; PRASERTSAN, P. Biohydrogen production from crude glycerol by immobilized *Klebsiella* sp. TR17 in a UASB reactor and bacterial quantification under non-sterile conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9580–9587, 2014a.

CHOOKAEW, T.; O-THONG, S.; PRASERTSAN, P. Statistical optimization of medium components affecting simultaneous fermentative hydrogen and ethanol production from crude glycerol by thermotolerant *Klebsiella* sp. TR17. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 2, p. 751–760, 2014b.

DA SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 30–39, 2009.

DANIEL, R.; BOENIGK, R.; GOTTSCHALK, G. Purification of 1,3-Propanediol Dehydrogenase from *Citrobacter freundii* and Cloning, Sequencing, and Overexpression of the Corresponding Gene in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 177, n. 8, p. 2151–2156, 1995.

DE SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia - aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 857–867, 2014.

DELFORNO, T. P. **Degradação de surfactante aniônico em reator EGSB sob condição metanogênica e ferro redutora com água residuária de lavanderia comercial**. 2014. 204 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos 2014.

DEL NERY, V. **Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo da partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo**. 1987. 187 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1987.

DHARMADI, Y.; MURARKA, A.; GONZALEZ, R. Anaerobic Fermentation of Glycerol by *Escherichia coli*: A New Platform for Metabolic. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 94, n. 5, p. 821–829, 2006.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids by Direct Titration. **Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 356–365, 1961.

DING, H. B.; TAN, G. Y. A.; WANG, J. Y. Caproate formation in mixed-culture fermentative hydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 24, p. 9550–9559, 2010.

DINH, N. T. et al. Changes in the microbial community during the acclimation stages of the methane fermentation for the treatment of glycerol. **Biomass and Bioenergy**, v. 68, p. 240–249, 2014.

DOUNAVIS, A. S.; NTAIKOU, I.; LYBERATOS, G. Production of biohydrogen from crude glycerol in an upflow column bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 701–708, 2015.

EDWARDS, V. H. The influence of high substrate concentrations on microbial kinetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 12, p. 679–712, 1970.

FAN, X.; BURTON, R.; ZHOU, Y. Glycerol (Byproduct of Biodiesel Production) as a Source for Fuels and Chemicals - Mini Review. **The Open Fuels & Energy Science Journal**, v. 3, n. 1, p. 17–22, 2010.

FERNÁNDEZ, N. et al. Real evidence about zeolite as microorganisms immobilizer in anaerobic fluidized bed reactors. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 721–728, 2007.

FERREIRA, J. dos S. **Produção de Hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado a partir de glicerol bruto sob condições termofílicas**. 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

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

FORREST, A. K.; SIERRA, R.; HOLTZAPPLE, M. T. Effect of biodiesel glycerol type and fermentor configuration on mixed-acid fermentations. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 9185–9189, 2010.

FORSBERG, C. W. Production of 1,3-Propanediol from Glycerol by *Clostridium acetobutylicum* and Other *Clostridium* Species. v. 53, n. 4, p. 639–643, 1987.

FUENTES, M. et al. Global modeling and simulation of a three-phase fluidized bed bioreactor. **Computers and Chemical Engineering**, v. 33, n. 1, p. 359–370, 2009.

GALLARDO, R. et al. Anaerobic granular sludge as a biocatalyst for 1,3-propanediol production from glycerol in continuous bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 28–33, 2014.

GARCÍA ENCINA, P. A.; HIDALGO, M. D. Influence of substrate feed patterns on biofilm development in anaerobic fluidized bed reactors (AFBR). **Process Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 2509–2516, 2005.

GE, S. et al. Long-Term n-Caproic Acid Production from Yeast-Fermentation Beer in an Anaerobic Bioreactor with Continuous Product Extraction. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 13, p. 8012–8021, 2015.

GONEN, C.; GUNGORMUSLER, M.; AZBAR, N. Comparative evaluation of pumice stone as an alternative immobilization material for 1,3-propanediol production from waste glycerol by immobilized *Klebsiella pneumoniae*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 8, p. 2136–2147, 2012.

GONEN, C.; GUNGORMUSLER, M.; AZBAR, N. Continuous production of 1,3-propanediol using waste glycerol with *Clostridium beijerinckii* NRRL B-593 immobilized on glass beads and glass rushing rings. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 27, n. 2, p. 227–234, 2013.

GONZÁLEZ-PAJUELO, M.; ANDRADE, J. C.; VASCONCELOS, I. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 using a synthetic medium and raw glycerol. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 442–446, 2004.

GONZÁLEZ-PAJUELO, M.; ANDRADE, J. C.; VASCONCELOS, I. Production of 1,3-Propanediol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 in continuous cultures with high yield and productivity. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 9, p. 391–396, 2005.

GUNGORMUSLER, M.; GONEN, C.; AZBAR, N. Continuous production of 1,3-propanediol using raw glycerol with immobilized *Clostridium beijerinckii* NRRL B-593 in comparison to suspended culture. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 34, p. 727–733, 2011.

HÁJEK, M.; SKOPAL, F. Treatment of glycerol phase formed by biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 9, p. 3242–3245, 2010.

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, p. 585 – 602, 1986.

HIMMI, E. H. et al. Propionic acid fermentation of glycerol and glucose by *Propionibacterium acidipropionici* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp *shermanii*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, n. 4, p. 435–440, 2000.

HOMANN, T. et al. Fermentation of glycerol to 1,3-propanediol by *Klebsiella* and *Citrobacter* strains. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 33, p. 121–126, 1990.

HULSHOFF POL, L. W. et al. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. **Biodegradation**, v. 9, n. 3/4, p. 213–224, 1998.

HUTŇAN, M. et al. Long-term monodigestion of crude glycerol in a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 88–96, 2013.

HUTŇAN, M.; KOLESÁROVÁ, N.; BODÍK, I. Anaerobic digestion of crude glycerol as sole substrate in mixed reactor. **Environmental Technology**, v. 34, n. 13–14, p. 2179–2187, 2013.

ITO, T. et al. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 3, p. 260–265, 2005.

JARVIS, G. N.; MOORE, E. R. B.; 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, n. 2, p. 166–174, 1997.

KIM, S. H.; HAN, S. K.; SHIN, H. S. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p.199-207, jan. 2006.

KIM, J. et al. Common key acidogen populations in anaerobic reactors treating different wastewaters: Molecular identification and quantitative monitoring. **Water Research**, v. 45, n. 8, p. 2539–2549, 2011.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V. Produção de biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de Biodiesel**. São Paulo: Edgard Blücher, 2006. p. 29-54.

LAZARO, C. Z. et al. Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: The effects of temperature and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 12, p. 6407–6418, 2014.

LEE, K. S.; LIN, P. J.; CHANG, J.S. Temperature effects on biohydrogen production in a granular sludge bed induced by activated carbon carriers. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 465-472, 2006.

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.; VAN VELSEN, A. F. M.; 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.

LIU, F.; FANG, B. Optimization of bio-hydrogen production from biodiesel wastes by *Klebsiella pneumoniae*. **Biotechnology Journal**, v. 2, n. 3, p. 374–380, 2007.

LO, Y. C. et al. Dark fermentative hydrogen production with crude glycerol from biodiesel industry using indigenous hydrogen-producing bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 35, p. 15815–15822, 2013.

LOVATO, G. et al. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 8, p. 2007–2029, 2012.

LULLIO, T. G. et al. Biomethane Production in an AnSBBR Treating Wastewater from Biohydrogen Process. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, n. 5, p. 1873–1896, 2014.

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

MA, J. et al. Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB reactor by co-digestion with glycerol. **Biotechnology Letters**, v. 30, n. 5, p. 861–867, 2008.

MANGAYIL, R.; KARP, M.; SANTALA, V. Bioconversion of crude glycerol from biodiesel production to hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 17, p. 12198–12204, 2012.

MARÇON, R. O. **Pré-tratamento da glicerina bruta gerada na produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais e gordura animal**. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2010.

MENDES, A. A. et al. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v. 28, p. 296 – 305, 2005.

MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 4, p. 506–515, 2007.

MOON, C. et al. Bioresource Technology Optimization of medium compositions favoring butanol and 1,3-propanediol production from glycerol by *Clostridium pasteurianum*. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10561–10568, 2011.

MOSEY, F. E. Mathematical modeling of the anaerobic process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose.. In: **Water Sci. Tech.** 15, 1983, p. 209–232.

MOSEY, F. E. New developments in the anaerobic treatment of industrial wastes. In: **Water Pollut. Contr.** 81 (4), 1982, p. 540–552.

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

MUÑOZ-PÁEZ, K. M. et al. Comparison of biohydrogen production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35 °C. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 28, p. 12570–12579, 2013.

NAZARETH, T. C. **Produção microbiológica de ácido propiônico, 1,3-propanodiol e hidrogênio a partir de glicerol bruto em reator anaeróbio de leito fluidizado**. 2015. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

NICIURA, C. L. **Avaliação do uso da banda de rodagem de pneus inservíveis triturada como suporte ao desenvolvimento de biofilmes em um reator anaeróbio de leito expansível**. 2005. 179 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos 2005.

O-THONG, S. et al. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by *Thermoanaerobacterium*-rich

sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p.1221-31, 2008.

OTTAVIANO, L. M. et al. Continuous thermophilic hydrogen production from cheese whey powder solution in an anaerobic fluidized bed reactor: Effect of hydraulic retention time and initial substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.11.168>

PACHAURI, N.; HE, B. Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Production : A Survey of Current Research Activities. **American Society of Agriculture and Biological Engineers**, v. 300, n. 6, p. 1–16, 2006.

PARANHOS, A. G. de O. **Produção otimizada de 1, 3-propanodiol , ácido glicérol bruto e cultura mista , em reator propiônico , etanol e hidrogênio , a partir de glicérol bruto e cultura mista , em reator anaeróbio de leito fluidificado**. 2016. 142 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

PHUKINGNGAM, D. et al. Anaerobic baffled reactor treatment of biodiesel-processing wastewater with high strength of methanol and glycerol: reactor performance and biogas production. **Chemical Papers**, v. 65, n. 5, p. 644–651, 2011.

RAMOS, L. R.; SILVA, E. L. Continuous Hydrogen Production from Agricultural Wastewaters at Thermophilic and Hyperthermophilic Temperatures. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2016. doi:10.1007/s12010-016-2366-3

REIS, C. M. et al. Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane vinasse in an anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 27, p. 8498–8509, 2015.

REIS, C. M.; SILVA, E. L. Effect of upflow velocity and hydraulic retention time in anaerobic fluidized-bed reactors used for hydrogen production. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 1, p. 28–36, 2011.

REGO, G. C. **Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos da indústria sucroalcooleira**. 2016. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos 2016.

REUNGSANG, A.; SITTIJUNDA, S.; O-THONG, S. Bio-hydrogen production from glycerol by immobilized *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 on heat-treated UASB granules as affected by organic loading rate. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 17, p. 6970–6979, 2013.

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

RIVALDI, J. D. et al. Glicérol de biodiesel: Estratégias Biotecnológicas para o Aproveitamento do Glicérol Gerado da Produção de Biodiesel. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 37, p. 44–51, 2007.

ROSA, P. R. F. et al. Hydrogen production from cheese whey with ethanol-type fermentation: Effect of hydraulic retention time on the microbial community composition. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 10–19, 2014.

SAMUL, D.; LEJA, K.; GRAJEK, W. Impurities of crude glycerol and their effect on metabolite production. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 891–898, 2014.

SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M. T.; BUSTAMANTE, M. Residual Glycerol from Biodiesel Manufacturing, Waste or Potential Source of Bioenergy: A Review. **Chilean journal of agricultural research**, v. 71, n. 3, p. 469–475, 2011.

SANTOS, S. C. et al. Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9599–9610, 2014.

SARMA, S. J. et al. Microbial hydrogen production by bioconversion of crude glycerol: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 8, p. 6473–6490, 2012.

SELEMBO, P. A. et al. Enhanced hydrogen and 1,3-propanediol production from glycerol by fermentation using mixed cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 104, n. 6, p. 1098–1106, 2009.

SHIDA, G. M. **Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fluidificado**. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Ambiental, Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

SHIDA, G. M. et al. Long-term stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat treated anaerobic sludge inoculum. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 9, p. 3679–3688, 2009.

SHIDA, G. M. et al. Performance and composition of bacterial communities in anaerobic fluidized bed reactors for hydrogen production: Effects of organic loading rate and alkalinity. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 16925–16934, 2012.

SILVA, G. P. DA et al. 1,3-Propanediol: production, applications and biotechnological potential. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 527–534, 2014.

SIQUEIRA, L. M.; DAMIANO, E. S. G.; SILVA, E. L. Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogás production in fluidized bed reactor. **Journal Of Environmental Science And Health**, v. 48, n. 13, p.1707-1716, 2013.

SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnonology for industrial wastewater. 1 ed. Archae Press, Tennessee, USA, 394 p.

TANGKATHITIPONG, P.; INTANOO, P.; CHAVADEJ, S. Hydrogen and Methane Production from Biodiesel Wastewater with Added Glycerine by Using Two-Stage Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR). **Chemical Engineering Transactions**, v. 39, p. 1723–1728, 2014.

TEMUDO, M. F. et al. Diversity of microbial communities in open mixed culture fermentations: Impact of the pH and carbon source. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 6, p. 1121–1130, 2008.

THAUER, R. K. et al. The Energy Metabolism of *Clostridium kluyveri*. **European Journal of Biochemistry**, v. 4, n. 2, p. 173–180, 1968.

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.

VACCARI, G.; TAMBURINI, E.; SGUALDINO, G.; URBANIEC, K.; KLEMES, J. Overview of the environmental problems in beet sugar processing: possible solutions. **Journal of Cleaner Production**, v. 13, p. 499–507, 2005.

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

VIANA, M. B. **Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Ambiental, Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

VLASSIS, T.; ANTONOPOULOU, G.; LYBERATOS, G. Anaerobic treatment of glycerol for methane and hydrogen. **Global Nest Journal**, v. 14, n. 2, p. 149–156, 2012.

VLASSIS, T. et al. Methane production via anaerobic digestion of glycerol: A comparison of conventional (CSTR) and high-rate (PABR) digesters. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 88, n. 11, p. 2000–2006, 2013.

WALKER, M. et al. Potential errors in the quantitative evaluation of biogas production in anaerobic digestion processes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6339–6346, 2009.

WANG, Q. et al. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, v. 16, n. 6, p. 407–416, 1999.

WANG, Z. et al. Glycerol production by microbial fermentation: A review. **Biotechnology Advances**, v. 19, n. 3, p. 201–223, 2001.

WANG, Z.; YANG, S. T. Propionic acid production in glycerol/glucose co-fermentation by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 116–123, 2013.

WATANABE, R. et al. Enhancing methane production during the anaerobic digestion of crude glycerol using Japanese cedar charcoal. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 387–392, 2013.

WEIMER, P. J.; NERDAHL, M.; BRANDL, D. J. Bioresource Technology Production of medium-chain volatile fatty acids by mixed ruminal microorganisms is enhanced by ethanol in co-culture with *Clostridium kluyveri*. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 97–101, 2015.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S. Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactors. **Biotechnology Progress**, v. 19, n. 3, p. 828–832, 2003.

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.

YESHANEW, M. M. et al. Start-up of an anaerobic fluidized bed reactor treating synthetic carbohydrate rich wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 456–464, 2016.

YONG, K. et al. Refining of crude glycerine recovered from glycerol residue by simple vacuum distillation. **Journal of Oil Palm Research**, v. 13, n. 2, p. 39–44, 2001.

ZENG, A. P. A new balance equation of reducing equivalents for data consistency check and bioprocess calculation. **Journal of Biotechnology**, v. 43, n. 2, p. 111–124, 1995.

ZENG, A. P.; MENZEL, K.; DECKWER, W. D. Kinetic, dynamic, and pathway studies of glycerol metabolism by *Klebsiella pneumoniae* in anaerobic continuous culture: IV. Enzymes and fluxes of pyruvate metabolism. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 52, n. 5, p. 561–571, 1996.

ZHANG, F. et al. Simultaneous production of acetate and methane from glycerol by selective enrichment of hydrogenotrophic methanogens in extreme-thermophilic (70 °C) mixed culture fermentation. **Applied Energy**, v. 148, p. 326–333, 2015.

ZHANG, G. et al. Fast conversion of glycerol to 1,3-propanediol by a new strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, p. 256–260, 2007.

ZHANG, Z. et al. Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 185–191, 2007.

ZHU, H. et al. Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource**, v. 99, p. 5078–5084, 2008.