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

Caroline de Cassia Banci Garcia

Codigestão anaeróbia de glicerol residual com esgoto sanitário em
reator híbrido visando ao aumento da produção de biogás

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2019

CAROLINE DE CASSIA BANCİ GARCIA

**Codigestão anaeróbia de glicerol residual com esgoto sanitário em reator híbrido em
escala piloto visando otimização da produção de biogás**

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^o Dr^o Eugenio Foresti

São Carlos

2019

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

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues
Fontes da EESC/USP

G216c Garcia, Caroline de Cassia Banci
 Codigestão anaeróbia de glicerol residual com esgoto
 sanitário em reator híbrido visando ao aumento da produção
 de biogás / Caroline de Cassia Banci Garcia; orientador
 Eugenio Foresti. -- São Carlos, 2019.

 Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
 Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração
 em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São
 Carlos da Universidade de São Paulo, 2019.

 1. Esgoto sanitário. 2. Glicerol. 3. Reator híbrido.
 4. Codigestão anaeróbia. 5. Produção de biogás. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **CAROLINE DE CÁSSIA BANCÍ GARCIA**.

Título da dissertação: "Codigestão anaeróbia de glicerol residual com esgoto sanitário em reator híbrido visando ao aumento da produção de biogás".

Data da defesa: 12/04/2019.

Comissão Julgadora:

Prof. Titular **Eugenio Foresti**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Dr. **Moacir Messias de Araújo Júnior**
(BIOPROJ Tecnologia Ambiental)

Prof. Dr. **Ariovaldo José da Silva**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Resultado:

APROVADA

APROVADO

Aprovado

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

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todo sustento e bênçãos durante toda minha vida, e por ter me conduzido a lugares que jamais imaginei. Agradeço aos meus pais, Zilda e Marcos, e as minhas irmãs Fernanda e Nathália por todo apoio e suporte durante a graduação e a pós-graduação. Por me apoiarem em todas as minhas ideias e desejos, e por serem a minha base.

Agradeço ao meu orientador Prof. Foresti pela dedicação, paciência e carinho comigo, além de todo conhecimento que me ensinou. Muito obrigada por tudo! Agradeço também à professora Márcia que foi uma segunda orientadora no meu mestrado, sempre muito carinhosa e atenciosa. Agradeço ao Lucas Fuess, que me acompanhou de perto e tem grande parte na realização desse trabalho.

Agradeço ao meu amor Paulo Henrique, por toda a força, apoio, companheirismo e compreensão durante o mestrado, especialmente nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos meus amigos do coração Agostinho, Felipe Augusto, Jamille, Lucas Fuess, Franciele, Henrique, Marina, Schay, Marie, Lili, Jeny, Felipe e Thiago (Cebola) por toda parceria e ajuda na vida e laboratório. Sentirei falta de vocês!

Agradeço às técnicas do laboratório Carol, Janja, Isabel e Eloisa, porque sem elas não seria possível a realização dos trabalhos. E agradeço às funcionárias do departamento de Hidráulica e Saneamento Sá, Priscila e Rose por todo atendimento prestado.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), em especial, pela concessão da bolsa de mestrado e por todo financiamento da pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

RESUMO

GARCIA, C.C.B. **Codigestão anaeróbia de glicerol residual com esgoto sanitário em reator híbrido visando ao aumento da produção de biogás.** 2019. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Em muitas Estações de Tratamento de Esgoto Sanitário (ETE) no Brasil, reatores anaeróbios de manta de lodo (UASB) têm sido utilizados para tratamento de esgoto doméstico, embora apresentem baixa eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO) e alta quantidade de sólidos no efluente para esse substrato. Ademais, a digestão anaeróbia do esgoto sanitário em reatores UASB tem apresentado baixa produção do biogás, em razão da baixa concentração de matéria orgânica no afluente. No entanto, a produção de biogás pode ser aumentada pelo processo de codigestão anaeróbia, com a adição de um cossustrato para aumentar a concentração inicial de matéria orgânica. O glicerol tem se destacado como cossustrato de elevado potencial de geração de metano devido à sua alta concentração de matéria orgânica prontamente biodegradável. Nesse trabalho foi avaliada a possibilidade de utilização do potencial de produção de metano de reatores UASB já instalados no Brasil, por meio da adição de glicerol ao esgoto afluente. A pesquisa foi realizada em duas etapas, usando reatores UASB híbrido, com volumes de 24,75 L na primeira etapa, e 1,46 L na segunda etapa. Os reatores alimentados com esgoto sanitário e efluente de reator UASB, respectivamente, mantendo-se o tempo de detenção hidráulica (TDH) constante em 8 horas e variando-se a dosagem de glicerol afluente. A melhor fase de operação considerando eficiência de remoção de DQO, produção de metano e estabilidade do sistema biológico, foi operada com COV de $2,09 \pm 0,22 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e rendimento de metano de $75 \pm 68 \text{ mLCH}_4.\text{gDQOremovida}^{-1}$.

Palavras-chave: Esgoto sanitário. Glicerol. Reator híbrido. Codigestão anaeróbia. Produção de biogás.

ABSTRACT

GARCIA, C.C.B. **Anaerobic co-digestion of residual glycerol with sanitary sewage in a pilot scale hybrid reactor aiming at enhancement of biogas production.** 2019. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

In many sewage treatment plants in Brazil, up-flow sludge blanket (UASB) reactors have been used to treat domestic sewage, although they have a low removal efficiency of chemical oxygen demand (COD) and high amount of solids in the effluent for this substrate. In addition, most of the installed UASB reactors has presented small biogas production due to the low influent organic matter concentration. However, biogas production can be increased by the anaerobic codigestion process, by adding a co-substrate to increase the influent organic matter concentration. Glycerol has been highlighted as a co-substrate for high methane generation potential due to its high concentration of readily biodegradable organic matter. It is intended to evaluate the possibility of using the methane production potential of UASB reactors already installed in Brazil, through the addition of glycerol to the influent sewage. The research was conducted in two stages, using UASB hybrid reactors, with volumes of 24.75 L in the first stage, and 1.46 L in the second stage. They were fed with sanitary sewage and UASB reactor effluent, respectively, maintaining the hydraulic holding time (TDH) constant at 8 hours and varying the dosage of affluent glycerol. The best phase of operation considering COD removal efficiency, methane production and biological system stability was operated with OLR of $2.09 \pm 0.22 \text{ kg CODm}^3.\text{d}^{-1}$ and methane yield of $75 \pm 68 \text{ mLCH}_4.\text{gCODremoved}^{-1}$.

Key words: Sanitary sewage. Glycerol. Hybrid reactor. Anaerobic codigestion. Biogas production.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ROTA METABÓLICA E GRUPOS MICROBIANOS ENVOLVIDOS NA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE MATÉRIA ORGÂNICA.	29
FIGURA 2 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DE TRIGLICERÍDEO COM FORMAÇÃO DE GLICEROL.	34
FIGURA 3 – ROTAS METABÓLICAS DA FERMENTAÇÃO DO GLICEROL.	36
FIGURA 4 - OFERTA INTERNA DE ENERGIA NO BRASIL EM 2017.	42
FIGURA 5 – DISTRIBUIÇÃO DE FONTES DE PRODUÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA NO BRASIL EM 2017.	43
FIGURA 6 - REATOR UTILIZADO NA PARTE 1 DO EXPERIMENTO, COM DESENHO ESQUEMÁTICO (A), E O REATOR JÁ CONFECCIONADO, O CORPO PRINCIPAL (B) E O SEPARADOR TRIFÁSICO (C).	47
FIGURA 7 – MATERIAL PARA IMOBILIZAÇÃO DA BIOMASSA.	48
FIGURA 8 – DESENHO ESQUEMÁTICO DA INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL DA PARTE 1 DO PROJETO.	49
FIGURA 9 - REATOR UTILIZADO NA PARTE 2 DO EXPERIMENTO, COM DESENHO ESQUEMÁTICO (A), E O REATOR EM OPERAÇÃO (B).	50
FIGURA 10 - DESENHO ESQUEMÁTICO DA INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL DA PARTE 2 DO PROJETO.	51
FIGURA 11 – LODO GRANULAR DE REATOR UASB UTILIZADO NA INOCULAÇÃO DO SISTEMA.	52
FIGURA 12 - GLICEROL UTILIZADO NA PESQUISA.	54
FIGURA 13 – MEDIDOR DE GÁS RITTER® (A) E SISTEMA DE MEDIÇÃO DE VOLUME DE GÁS COM RITTER® ACOPLADO AO SELO HÍDRICO (B).	55
FIGURA 14 – CONCENTRAÇÕES AFLUENTE E EFLUENTE DE DQO TOTAL AO LONGO DO TEMPO DE OPERAÇÃO.	65
FIGURA 15 - CONCENTRAÇÕES AFLUENTE E EFLUENTE DE DQO SOLÚVEL AO LONGO DO TEMPO DE OPERAÇÃO.	65
FIGURA 16 – PH AFLUENTE E EFLUENTE AO SISTEMA.	67
FIGURA 17 - ALCALINIDADE INTERMEDIÁRIA AFLUENTE E EFLUENTE.	68
FIGURA 18 - ALCALINIDADE PARCIAL AFLUENTE E EFLUENTE.	68
FIGURA 19 – ÁCIDOS INTERMEDIÁRIOS DA DIGESTÃO ANAERÓBIA DURANTE A OPERAÇÃO COM REATOR ÚNICO.	71
FIGURA 20 – PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA E RENDIMENTO DE METANO.	73
FIGURA 21 - CONCENTRAÇÕES AFLUENTE E EFLUENTE DE DQO TOTAL (A) E DISSOLVIDA (B) AO LONGO DO TEMPO DE OPERAÇÃO.	75
FIGURA 22 - PH AFLUENTE E EFLUENTE AO SISTEMA.	78
FIGURA 23 - ALCALINIDADE INTERMEDIÁRIA AFLUENTE E EFLUENTE.	78
FIGURA 24 - ALCALINIDADE PARCIAL AFLUENTE E EFLUENTE.	79
FIGURA 25 - PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA E RENDIMENTO DE METANO MÉDIOS DURANTE A OPERAÇÃO COM DOIS REATORES.	83
FIGURA 26 – BALANÇO DE MASSA PARA O REATOR HÍBRIDO.	84
FIGURA 27 – COMUNIDADE MICROBIANA DO INÓCULO VISTO EM MICROSCOPIA ÓPTICA.	85
FIGURA 28 - COMUNIDADE MICROBIANA DO MANTA DE LODO DE REATOR METANOGÊNICO COM OPERAÇÃO COM DOIS REATORES VISTO EM MICROSCOPIA ÓPTICA.	86
FIGURA 29 - COMUNIDADE MICROBIANA DA ESPUMA DO REATOR METANOGÊNICO COM OPERAÇÃO COM DOIS REATORES VISTO EM MICROSCOPIA ÓPTICA.	87
FIGURA 30 - DENDROGRAMAS DO PERFIL DE BANDAS EM DGGE PARA OS DOMÍNIOS BACTERIA (A) E ARCHEA (B).	88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – TRABALHOS REALIZADOS SOBRE CODIGESTÃO COM GLICEROL	41
TABELA 2 - ASPECTOS FÍSICOS DO REATOR UTILIZADO NA PRIMEIRA PARTE DO EXPERIMENTO	46
TABELA 3 – ASPECTOS FÍSICOS DO REATOR HÍBRIDO UTILIZADO NA PARTE 2 DO EXPERIMENTO	50
TABELA 4 - CARACTERIZAÇÃO DO ESGOTO SANITÁRIO QUE FOI UTILIZADO NA PESQUISA	53
TABELA 5 - CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO DE GLICEROL BRUTO (~5,0 G.L ⁻¹).....	54
TABELA 6- ANÁLISES, MÉTODOS E FREQUÊNCIAS DE MONITORAMENTO DO REATOR	57
TABELA 7 – EQUAÇÕES UTILIZADAS NO CÁLCULO DAS VARIÁVEIS PARA AVALIAÇÃO DO MONITORAMENTO DO REATOR	61
TABELA 8 – VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO PARA A DQO AFLUENTE E EFLUENTE, PORCENTAGEM DE REMOÇÃO DE DQO E CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA APLICADA AO REATOR.	64
TABELA 9 - PH, ALCALINIDADE PARCIAL, INTERMEDIÁRIA E TOTAL DO AFLUENTE E EFLUENTE AO REATOR DURANTE OPERAÇÃO COM REATOR ÚNICO.....	67
TABELA 10 – CONCENTRAÇÕES MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS ANALISADOS PARA OPERAÇÃO COM REATOR ÚNICO	70
TABELA 11 – PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA E RENDIMENTO DE METANO MÉDIOS DURANTE A OPERAÇÃO COM REATOR ÚNICO	72
TABELA 12 - VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO PARA A DQO AFLUENTE E EFLUENTE, PORCENTAGEM DE REMOÇÃO DE DQO E CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA APLICADA AO REATOR HÍBRIDO.....	74
TABELA 13 - PH, ALCALINIDADE PARCIAL, INTERMEDIÁRIA E TOTAL DO AFLUENTE E EFLUENTE AO REATOR DURANTE OPERAÇÃO COM DOIS REATORES METANOGÊNICOS. ..	77
TABELA 14 - CONCENTRAÇÕES MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS ANALISADOS PARA A PRIMEIRA OPERAÇÃO	81
TABELA 15 - PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA E RENDIMENTO DE METANO MÉDIOS DURANTE A OPERAÇÃO COM DOIS REATORES.....	82
TABELA 16 - ÍNDICES DE DOMINÂNCIA, DIVERSIDADE DE SHANNON E RIQUEZA (CHAO-1) PARA OS DOMÍNIOS BACTERIA E ARCHEA.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,3-PDO: 1,3 propanodiol

ANP: Agência nacional de petróleo

AGV: ácido graxo volátil

AI: alcalinidade intermediária

AI/AP: relação alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial

AME: atividade metanogênica específica

AP: alcalinidade parcial

APHA: American Public Health Association (Associação Americana de Saúde Pública)

AT: alcalinidade total

COV: carga orgânica volumétrica

CNTP: Condições normais de temperatura e pressão

CSTR continuously stirred-tank reactor (reator anaeróbio continuamente agitado)

DQO: demanda química de oxigênio

DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante)

DQOt: demanda química de oxigênio total

DQOs: demanda química de oxigênio solúvel

EESC: Escola de Engenharia de São Carlos (USP)

EPE: Empresa de Pesquisa Energética

PU: espuma de poliuretano

ETE: Estações de Tratamento de Esgoto Sanitário

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

AF: Anaerobic Filter (Filtro Anaeróbio)

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

LCA: Laboratório de Controle Ambiental

LPB: Laboratório de Processos Biológicos

LPB - Laboratório de Processos Biológicos

pH: potencial hidrogeniônico

PVM: produção volumétrica de metano

UASB: upflow anaerobic sludge blanket reactor (reatores anaeróbios de manta de lodo)

Rpm: rotação por minuto

SST: sólidos suspensos totais

SSV: sólidos suspensos voláteis

SSV: sólidos suspensos voláteis

TDH: tempo de detecção hidráulica

USP: Universidade de São Paulo

Ufscar: Universidade Federal de São Carlos

LISTA DE SÍMBOLOS

%: porcentagem

%CH₄: teor de metano no biogás

V_{Ritter} : valor apresentado no visor do Ritter®, que corresponde ao número de pulsos registrados.

$Vol_{biogás}$: volume de biogás medido no Ritter® (mL)

A: coeficiente angular que representa a relação de volume por pulso

Atm : atmosferas

CH₄:- gás metano

cm: centímetro

CO₂: gás dióxido de carbono

d: dia

Ef_{DQO}: eficiência de remoção de DQO total e solúvel

g: grama

h: hora

H₂: Gás hidrogênio

H₂S: sulfeto de hidrogênio

kg: quilograma

L: litro

m. metro

m³: metro cúbico

metano (CH₄)

mL mililitro

nCH₄ : número de mols de metano (mols)

ntotal : número de mols total no biogás incluindo metano, hidrogênio e gás carbônico

°C: graus Celsius

Q: vazão

Q_{biogás}: vazão de biogás

SO₄²⁻ : sulfato

v/v: percentual volume/volume

V_{reator}: volume útil do reator

Y_{metano}: rendimento de metano

SUMÁRIO

1. Introdução.....	21
1.1. Estrutura da dissertação	23
2. Objetivos	25
2.1. Objetivo Geral.....	25
2.2. Objetivos específicos	25
3. Revisão Bibliográfica.....	27
3.1. Digestão Anaeróbia	27
3.1.1 Digestão em duas etapas	30
3.2. Reatores anaeróbios.....	30
3.3. Glicerol.....	34
3.3.1. Fermentação do glicerol	35
3.4. Codigestão.....	37
3.4.1 Codigestão com glicerol	38
3.5. Cenário energético brasileiro.....	42
4. Metodologia.....	45
4.1. Instalações experimentais.....	45
4.2. Inoculação	51
4.3 Substratos	52
4.3.1 Esgoto Sanitário.....	52
4.3.2 Glicerol	53
4.4. Calibração do Ritter®	54
4.5. Procedimento experimental	55
4.6. Métodos analíticos.....	56
4.7. Caracterização microbiana	58
4.8 Análise de dados.....	59
5. Resultados	63
5.1. Parte I – Operação com reator único.....	63
5.1.1. Remoção de matéria orgânica	63
5.1.2. Alcalinidade total e a bicarbonato	65
5.1.3. Produtos intermediários	69
5.1.4. Produção de biogás	72
5.2. Parte II– Operação com dois reatores	73
5.2.3. Remoção de matéria orgânica	74
5.2.4. Alcalinidade total e a bicarbonato	76
5.2.5. Produtos intermediários	79
5.2.6. Produção de biogás	81
5.3. Análises microbiológicas	84
5.3.1. Atividade metanogênica específica	84

5.3.2. Microscopia óptica	85
5.3.3. PCR/DGGE.....	88
5.4. Análise de viabilidade no uso do biogás oriundo da codigestão de glicerol e esgoto sanitário	90
6. Conclusão	92
6.1 Recomendações para pesquisas futuras.....	93
7. Referências	94

1. Introdução

A pesquisa aborda questões referentes ao tratamento dos efluentes residuais, esgoto sanitário e glicerol, com objetivo de estudar uma maneira de gerenciar o tratamento combinado de ambos os efluentes, com geração de energia, aproveitando o potencial instalado nas estações de tratamento de esgoto sanitário no Brasil.

Muitas estações de tratamento de esgoto em operação no nosso país utilizam o reator UASB (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, do inglês upflow anaerobic sludge blanket reactor) como principal unidade de tratamento biológico (CHERNICHARO et al., 2015). A biodigestão anaeróbia do esgoto sanitário produz biogás, o qual tem sido queimado em “flare” ou simplesmente liberado para a atmosfera, contribuindo para aumento dos gases de efeito estufa. Além da poluição atmosférica, a liberação desses gases se apresenta como um desperdício de energia, uma vez que o biogás tem elevado potencial energético devido ao metano presente na mistura gasosa.

Estações municipais com tratamento anaeróbio do esgoto sanitário têm potencial para serem consideradas como usinas geradoras de energia, pois a energia gerada pode ser utilizada na estação de modo a tornar a ETE (estação de tratamento de esgoto) autossuficiente.

A produção de energia a partir de resíduos biodegradáveis tem ganhado destaque no desenvolvimento de pesquisas, devido ao potencial energético e disponibilidade dessas fontes de energia renovável. Tal opção pode ser uma estratégia eficiente de gestão e utilização de resíduos indesejáveis e de difícil disposição no meio ambiente. Nesse contexto, a produção de biogás na digestão anaeróbia é um processo biotecnológico importante que trata resíduos biodegradáveis, enquanto gera energia pela produção do gás. Além disso, o metano derivado de digestão anaeróbia pode ser competitivo em eficiência e custo com outras formas de energia de biomassa (CHYNOWETH; OWENS; LEGRAND, 2001).

Em estações de tratamento de esgoto sanitário, reatores UASB são muito utilizados como primeira etapa do tratamento biológico. O Brasil se destaca no uso desses reatores para tratamento de esgoto sanitário (CHERNICHARO et al., 2015). O plano energético brasileiro visa utilizar o biogás gerado em estações de tratamento de esgotos para geração de energia como uma das práticas sustentáveis a ser implementada no país (PROBIOGÁS, 2015). No

entanto, o aproveitamento da capacidade instalada depende da superação de desafios como a elevada perda de sólidos no efluente e o baixo volume de biogás captado em reatores UASB tratando esgoto sanitário devido a perdas do metano dissolvido no efluente e no sistema de captação do biogás.

Dentre as dificuldades enfrentadas nas estações de tratamento de esgoto sanitário no Brasil, destacam-se a necessidade de ampliação dos sistemas de tratamento e o gerenciamento e a disposição do lodo biológico de forma adequada. Uma forma de reduzir a geração de lodo é a imobilização das células no interior do reator, que, além de reduzir a perda de sólidos no efluente, também aumenta a capacidade de tratamento devido ao aumento da concentração da biomassa (ARAUJO JUNIOR et al., 2011). Nesse cenário, reatores híbridos representam uma alternativa importante no aumento da capacidade de tratamento de esgoto sanitário, sem necessidade de alterações físicas nas ETEs.

Outro aspecto limitante à ampliação dos processos anaeróbios para águas residuárias de baixa concentração é a baixa produção de metano e perda do biogás no efluente. A fim de melhorar o desempenho de reatores anaeróbios no que se refere à produção de metano, a codigestão, ou seja, a digestão combinada de diferentes resíduos orgânicos tem sido uma prática buscada por pesquisadores da área. Além disso, a codigestão tem surgido como uma alternativa promissora não somente para otimização da produção de biogás, como também para destinação ambiental correta de rejeitos passíveis de serem utilizados como cossustratos (BUDYCH-GORZNA; SMOCZYNSKI; OLESKOWICK-POPIEL, 2016).

O uso de glicerol como cossustrato é uma estratégia interessante para destinação de tal resíduo. O glicerol bruto é um subproduto da produção de biodiesel, e tem sido um passivo ambiental pela dificuldade de disposição devido à elevada carga orgânica. Observando-se a tendência de aumento do uso de biocombustíveis, em um futuro próximo, a produção de glicerol tende a aumentar. Embora esse subproduto seja utilizado, especialmente em indústrias de cosméticos, o grau de pureza necessário para utilização é muito alto, fator esse que limita seu consumo para esse tipo de indústria (BABA et al., 2013; SANTOS, 2012).

Dessa forma, visando aproveitar a capacidade de produção de biogás já instalada no país e viabilizar o uso energético de metano em estações de tratamento de esgoto sanitário, o qual tem sido queimado em “flare”, esse trabalho foi formulado para testar duas hipóteses. A primeira é referente ao aumento na produção de biogás de reatores anaeróbios por meio da adição de glicerol como cossustrato ao esgoto sanitário afluente ao sistema biológico, desde

que respeitadas as cargas orgânicas assimiláveis pelos reatores e sem adição externa de álcali. A segunda hipótese diz respeito à melhoria no desempenho de reator UASB no que se refere à qualidade do efluente final, por meio da imobilização de parte da biomassa em reator híbrido.

1.1. Estrutura da dissertação

Nos capítulos introdutórios da dissertação estão apresentados tópicos relativos à contextualização do trabalho desenvolvido, incluindo a introdução (capítulo 1), os objetivos (capítulo 2), gerais e específicos, e revisão bibliográfica (capítulo 3) contendo embasamento teórico para entendimento do tema estudado. No tópico 3.1 estão abordados conceitos referentes à biodigestão anaeróbia. No tópico 3.2 há um breve histórico e fundamentos dos reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), Filtro Anaeróbio e reator híbrido. No tópico 3.3 há uma breve explicação do glicerol e sua fermentação biológica. No item 3.4 o assunto é a codigestão anaeróbia com glicerol para aumento na produção de biogás. E por fim no tópico 3.5 há um breve relato do cenário energético brasileiro e do biogás.

No capítulo 4 está descrita a metodologia (métodos analíticos e procedimentos) empregada nas etapas desenvolvidas. No capítulo 5 estão apresentados os resultados obtidos e discutidos. Por fim, no capítulo 6, estão descritas as conclusões do trabalho e sugestões para pesquisas posteriores.

Finalmente, no capítulo 7 estão indicadas as referências consultadas e apresentadas no texto.

2. Objetivos

O desenvolvimento desse trabalho foi fundamentado na proposição de que o uso combinado de glicerol e esgoto sanitário fornecerá condições nutricionais mais favoráveis à comunidade microbiana, e consequente aumento na produção de biogás. O glicerol como cossustrato contribui para o aumento da concentração orgânica prontamente biodegradável no afluente, enquanto que o esgoto sanitário contribui com os nutrientes necessários ao desenvolvimento da comunidade biológica.

2.1. Objetivo Geral

O objetivo principal do projeto é estudar a fração adequada de glicerol a ser adicionada como cossustrato para que um reator anaeróbio híbrido tratando esgoto sanitário tenha produção de biogás aumentada, mantendo-se sua estabilidade operacional sem adição de álcali externo ao processo.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos incluem:

- Avaliar a geração de biogás a partir do tratamento combinado de glicerol e esgoto sanitário, para cada porção de cossustrato aplicada;
- Quantificar a produção de metano por unidade de DQO adicionada e removida no reator;
- Obter a quantidade de glicerol afluente ao reator que é tóxica ou inibitória aos microorganismos;
- Realizar estudo de viabilidade do uso de glicerol para aumento de produção de biogás em reatores híbridos tratando esgoto sanitário.

3. Revisão Bibliográfica

Neste capítulo estão apresentadas informações consultadas na literatura de referência, formulando a base teórica para desenvolvimento da pesquisa, comparação e discussão dos resultados e formulação das conclusões.

3.1. Digestão Anaeróbia

Processos anaeróbios são relatados há muitos anos na literatura. No século XVIII, já era observada a formação de metano a partir da decomposição anaeróbia, e no século XIX, há descrição do envolvimento de bactérias no processo. Contudo, foi apenas no final do século XX que o tratamento de efluentes e resíduos a partir da digestão anaeróbia se destacou devido ao potencial energético do metano e ao ajustamento ambiental dos resíduos e efluentes tratados. Nessa época, o cenário econômico e energético impulsionou o desenvolvimento de novas tecnologias para tratamento de resíduos de diversas origens, como agrícolas, municipais, industriais e outros (MCCARTY, 1981).

O interesse na utilização da digestão anaeróbia no tratamento de resíduos e efluente foi, e ainda é, estimulado pelas vantagens que os sistemas anaeróbios têm sobre os sistemas aeróbios convencionais e processos físico-químicos. A digestão anaeróbia tem baixo consumo de energia, uma vez que não é necessária adição de oxigênio externo ao tratamento; apresenta baixa produção de lodo quando comparado com processos aeróbios tradicionais; permite a utilização do gás metano como fonte energética; e é muito mais econômica que tratamentos físico-químicos (FRANKIN, 2001). Embora processos anaeróbios sejam bastante sensíveis a mudanças nas condições ambientais, e dependentes de mecanismos intrínsecos que fazem a regulação do sistema, ainda assim, o balanço energético do processo anaeróbio é mais favorável que o do aeróbio.

Atualmente, a biodigestão tem sido estudada de forma abrangente, uma vez que há produtos intermediários e finais no processo de digestão anaeróbia que são de grande interesse para a área acadêmica, mas, sobretudo para a industrial. Dentre os produtos intermediários destacam-se os ácidos graxos voláteis na fase líquida; entre os possíveis produtos finais estão o gás hidrogênio na fase gasosa de reatores fermentativos e os sólidos biológicos estabilizados.

A digestão anaeróbia pode ser descrita como um processo biológico natural e autorregulado, em que diversas comunidades microbianas, na ausência de oxigênio livre, interagem sintroficamente convertendo matéria orgânica em biogás, com consequente síntese microbiana. O biogás resultante é uma mistura dos gases metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio (H_2) e sulfeto de hidrogênio (H_2S), sendo a proporção dos dois primeiros maiores que a dos outros constituintes. (MCCARTY, 1964;

MOSEY, 1983) Nesse processo biológico, compostos inorgânicos como sulfato (SO_4^{2-}) ou dióxido de carbono (CO_2) são usados como aceptores finais de elétrons durante a respiração celular.

A degradação biológica de compostos orgânicos, em condições de anaerobiose, pode ocorrer pelas vias metanogênica acetoclástica ou hidrogenotrófica. Na primeira via, arqueas metanogênicas acetoclásticas utilizam o acetato para formação de metano, correspondente a cerca de 60 a 70% de toda a produção desse gás na digestão anaeróbia (JERIS; MCCARTY, 1965), enquanto que as arqueas hidrogenotróficas produzem metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (LETTINGA; HULSHOFF POL; ZEEMAN, 1996; MOSEY, 1983; VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

Numa primeira etapa, comum às duas vias de degradação, compostos orgânicos mais complexos são hidrolisados em compostos mais simples e solúveis. Nessa fase, bactérias hidrolíticas e fermentativas transformam proteínas, lipídios e polissacarídeos em aminoácidos, ácidos graxos e açúcares, respectivamente. Os compostos hidrolisados são metabolizados por bactérias fermentativas acidogênicas em ácidos orgânicos, ácido láctico, álcoois, hidrogênio, gás carbônico, sulfeto de hidrogênio e amônia.

Na etapa de acetogênese, os produtos resultantes da etapa anterior (acidogênese) são oxidados em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono, substratos que serão metabolizados por bactérias metanogênicas. Durante a terceira fase da digestão anaeróbia, se as bactérias acetogênicas não converterem os produtos da hidrólise e da acidogênese em acetato, há acumulação de ácidos orgânicos que pode inibir a ocorrência da metanogênese.

Na última etapa da degradação anaeróbia, metano e dióxido de carbono são formados por arqueias metanogênicas. Em função do substrato utilizado para produção de metano, as arqueias se dividem em acetoclásticas e hidrogenotróficas. Arqueias metanogênicas acetoclásticas são aquelas que utilizam o acetato para formação de metano, enquanto que as hidrogenotróficas são arqueais que produzem metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono. Uma vez que 70% de todo metano presente no biogás é proveniente das arqueias metanogênicas acetoclásticas, a produção de metano é dependente da conversão de matéria orgânica em acetato na acidogênese (HARPER; POHLAND, 1986; MCCARTY, 1964; MOSEY, 1983; PARKIN; OWEN, 1986).

Como já mencionado anteriormente, a estabilidade da digestão anaeróbia é dependente da conversão de ácidos orgânicos. No entanto, para ácidos com mais de dois carbonos na cadeia, tal reação é termodinamicamente favorável apenas quando a pressão parcial de hidrogênio no meio for inferior à 10^{-4} atm (HARPER; POHLAND, 1986). Essa remoção de hidrogênio do meio ocorre por um mecanismo denominado Transferência de Hidrogênio Interspecies (THIELE; ZEIKUS, 1988). Arqueias metanogênicas hidrogênótóricas mantêm a pressão parcial de hidrogênio em baixos níveis, favorecendo a conversão de acetato em hidrogênio (H_2) e dióxido de carbono (CO_2), por exemplo. Essa relação sintrófica entre arqueias e bactérias é fundamental para a autorregulação da biodigestão anaeróbia (PARKIN; OWEN, 1986).

A figura 1 apresenta as rotas de degradação metanogênica da matéria orgânica e os microrganismos envolvidos em cada etapa.

Figura 1 – Rota metabólica e grupos microbianos envolvidos na biodegradação anaeróbia de matéria orgânica.

Fonte: Fuess (2017) baseado em McCarty e Smith (1986).

O biogás gerado em processos de digestão anaeróbia tem composição variável e dependente do efluente que está sendo tratado. Para esgoto doméstico, o biogás é uma mistura de metano (70-80%), nitrogênio (10-25%) e dióxido de carbono (5-10%) (NOYOLA; MORGAN-SAGASTUME; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, 2006). Segundo Cassini (2003), a concentração de metano e gás carbônico no biogás oriundo de digestão anaeróbia de esgoto sanitário é de 50 a 75% e 25 a 40%, respectivamente. A produção teórica de metano na digestão anaeróbia é de um mol de CH₄, para cada dois moles de DQO (demanda química de oxigênio) que é removida, ou seja, a cada grama de DQO que é removida, 0,25g de metano são formadas.

Isso corresponde a um volume de cerca de 350 mL de metano por grama de DQO removida, em condições de 1 atm de pressão e 0 °C de temperatura (MCCARTY, 1964).

3.1.1 Digestão em duas etapas

O processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em dois estágios, um acidogênio e um metanogênico. Essa configuração de tratamento anaeróbio com separação de fases fornece as melhores condições para os grupos microbianos envolvidos nas etapas acidogênica e metanogênica. Como expostos anteriormente, bactérias hidrolíticas e fermentativas tem cinética de crescimento mais rápida que as arqueias metanogênicas. Separando as duas comunidades há uma potencialização da atividade de cada comunidade devido à possibilidade de manutenção das melhores condições ambientais de crescimento para cada comunidade em seus respectivos reatores (INCE, 1998). Em 1971 houve o primeiro trabalho propondo a separação da digestão anaeróbia de acordo com as características de cinética de crescimento dos microrganismos envolvidos no processo (POHLAND; GHOSH, 1971).

Além da otimização das etapas limitantes da digestão anaeróbia, a pré-acidificação da matéria orgânica favorece a atuação de arqueias metanogênicas e auxilia na manutenção da estabilidade operacional devido à minimização de acúmulo de ácidos orgânicos e uso reduzido de alcalinizantes. Há, também, um aumento na eficiência de tratamento, o que facilita o aproveitamento energético dos resíduos tratados, uma vez que a disponibilidade de ácidos intermediários, em especial o acetato, favorece a atividade metanogênica e produção de metano. No entanto, apesar de todas as vantagens, a separação das etapas interrompe relações sintróficas entre os grupos microbianos. (AHRING; SANDBERG; ANGELIDAKI, 1995; HALLENBECK, 2009; KE; SHI; FANG, 2005; LIU et al., 2013; MARCHAIM; KRAUSE, 1993).

3.2. Reatores anaeróbios

Reatores anaeróbios são utilizados para tratamento dos mais diversos tipos de efluentes, como esgoto doméstico e águas residuárias industriais. Especialmente devido à enorme diversidade de efluentes que podem ser tratados pela digestão anaeróbia, o uso desses reatores

passou a ser mais efetivo na década de 80, com ênfase para reatores de manta de lodo de fluxo ascendente - UASB. Para regiões de clima tropical e subtropical, o uso de reatores anaeróbios é ainda mais interessante, devido à temperatura ambiental ser, em geral, favorável à ocorrência da digestão anaeróbia (FORESTI; ZAIAT; VALLERO, 2006; NOONE, 1990).

Até 1969, os sistemas anaeróbios eram utilizados para tratamento de efluentes com alta concentração de substrato, e requeriam elevado tempo de detenção hidráulica. Visando tratar biologicamente águas residuárias com baixa concentração de matéria orgânica, Young e McCarty (1969) desenvolveram o Filtro Anaeróbio (do inglês Anaerobic Filter, AF). Nesse reator, devido à imobilização da biomassa em um meio suporte, o tempo de retenção celular e a concentração de biomassa ativa no leito reacional são bastante elevados. Por consequência, tal configuração apresentou vantagens em relação aos tradicionais reatores existentes, como baixa concentração de sólidos suspensos no efluente, baixa produção de lodo, manutenção de elevada concentração de biomassa ativa no interior do reator, o que possibilitou o tratamento de efluentes diluídos, aplicação de elevada carga hidráulica sem comprometer a eficiência de tratamento, além da possibilidade de aproveitamento do metano produzido pela estabilização anaeróbia (CHUA et al., 1997; YOUNG; MCCARTY, 1969).

Em 1980, Lettinga e colaboradores (LETTINGA et al., 1980) apresentaram resultados sobre um reator com biomassa suspensa para tratamento de águas residuárias de elevada carga orgânica. Esse reator, denominado UASB, quando operado com efluentes com elevada concentração de substrato, a carga orgânica é o principal fator a ser considerado. Porém, para águas residuárias com baixa concentração de matéria orgânica, a carga hidráulica aplicada assume importância primordial no funcionamento do reator, uma vez que velocidades ascensionais elevadas promovem a perda de sólidos no efluente, e consequentemente na perda de biomassa do sistema (CHERNICHARO et al., 1999).

Atualmente, os reatores UASB têm sido amplamente utilizados para o tratamento de águas residuárias, com mais de 1.000 unidades operando em escala plena no mundo (TIWARI et al., 2006) e mais de 400 unidades no Brasil (CHERNICHARO, 2016). No entanto, apesar desse reator já estar estabelecido como unidade de tratamento anaeróbio de efluentes com relação custo/benefício favorável, o mesmo ainda apresenta limitações operacionais. A elevada perda de sólidos no efluente e a baixa produção de biogás são alguns dos desafios a serem superados a fim de tornar mais efetivo o uso de reatores UASB, especialmente para o tratamento de efluentes diluídos.

Reatores UASB tratando esgoto sanitário possuem baixa eficiência de remoção de demanda química de oxigênio e alta quantidade de sólidos no efluente, o que diminui a concentração do lodo no reator (UEMURA; HARADA, 2000). A eficiência de tratamento nesses reatores pode ser aumentada se a concentração de biomassa for mantida elevada no seu interior. Além disso, reatores UASB tratando águas residuárias contendo baixa concentração de matéria orgânica não propiciam a recuperação de energia gerada em processos anaeróbios, uma vez que a maior parte do metano produzido se encontra dissolvido no efluente (SINGH; HARADA; VIRARAGHAVAN, 1996).

As estações de tratamento de esgoto sanitário no Brasil têm, entre os desafios, promover o gerenciamento e a disposição do lodo biológico de forma adequada, e atender à necessidade de ampliação dos sistemas de tratamento. Segundo Araújo Junior et al. (2011), uma forma de minimizar o volume de lodo gerado é a imobilização das células no interior do reator, que, além de reduzir a perda de sólidos no efluente, também melhora a capacidade de tratamento devido ao aumento da concentração da biomassa. Embora reatores de leito fixo apresentem eficiências satisfatórias de remoção de matéria orgânica quando operados com alta carga orgânica volumétrica e baixo tempo de detenção hidráulica, as configurações tradicionais de leito fixo não são recomendadas para águas residuárias com média a alta concentração de sólidos suspensos. Isso porque esses sólidos podem causar problemas hidrodinâmicos no reator, com perda de eficiência e até colmatção do leito (ARAÚJO JÚNIOR et al., 2016; CHERNICHARO, 2016).

Em 1984, visando estudar a capacidade de retenção de biomassa e o desempenho de uma nova modalidade de reator, Guiot e van den Berg combinaram um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo com um filtro anaeróbio. Para imobilização da biomassa, anéis de plástico foram adicionados ao reator para servirem de material suporte à adesão microbiana (GUIOT; VAN DEN BERG, 1984). Essa configuração caracteriza-se por ter parte da biomassa suspensa e parte imobilizada, e é denominada de reator biológico híbrido.

Guiot e Van Den Berg (1984) constataram que, para efluentes com baixa concentração de substrato, a eficiência de remoção de demanda química de oxigênio e a eficiência na produção de metano foram altas no reator híbrido, quando comparado a outros reatores. Tal desempenho foi atribuído à capacidade de acumulação da biomassa ativa no interior do sistema, apesar das severas condições hidráulicas aplicadas. Os autores observaram que o aumento na velocidade ascensional no reator, de 1 até 4 m.h⁻¹, não causou mudanças significativas na concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente.

Ao submeterem um reator híbrido a condições limites, Kennedy e Guiot (1986) observaram que o sistema foi capaz de suportar elevada sobrecarga orgânica em virtude da produção de alcalinidade. Além disso, sob as mesmas condições de operação, o reator híbrido foi capaz de reter mais biomassa que o UASB. Concluíram, ainda, que a imobilização microbiana foi determinante para evitar a lavagem do reator pela flotação do lodo, devido à elevada produção de biogás.

Em estudos mais recentes empregando a configuração híbrida, Araujo (2014) e Gaudencio (2016) estudaram o aumento na capacidade de tratamento de reatores UASB tratando esgoto sanitário, por meio da adição de material suporte para adesão celular. Em ambos os estudos, 40% do volume do reator foi ocupado com o material suporte para imobilização celular, constituído de espuma de poliuretano (PU). Ambos os autores constataram a viabilidade técnica do uso de um reator anaeróbio híbrido como unidade principal no tratamento de esgoto sanitário, com aumento da capacidade de reatores UASB sem necessidade de ampliações físicas no reator.

Araujo (2014) observou que, no reator híbrido, a diminuição do TDH e aumento da carga orgânica aplicada resultaram no aumento da remoção de DQO e aumento na produção de biogás. Gaudencio (2016) analisou um reator anaeróbio de manta de lodo, em escala plena, que teve sua capacidade de tratamento dobrada quando operado como reator híbrido. Ademais, o reator UASB híbrido possibilitou a retenção da biomassa, inclusive nos horários de pico de vazão, em que, mesmo com elevada velocidade de escoamento, não houve arraste da biomassa.

Em sistemas de biomassa imobilizada, o reator é mais suscetível ao colapso pela sobrecarga orgânica, enquanto que em reatores com biomassa suspensa, o colapso é atribuído à sobrecarga hidráulica. Uma vez que reatores híbridos combinam as vantagens dos reatores UASB e filtro anaeróbio enquanto minimizam suas limitações, o desempenho de reatores híbridos tratando esgoto sanitário é melhor que em outros sistemas de tratamento (JIANLONG; HANCHANG; YI, 2000; KENNEDY; GUIOT, 1986; KENNEDY; VAN DEN BERG, 1982).

Outro aspecto limitante à ampliação dos processos anaeróbios para águas residuárias de baixa concentração é a produção de metano e perda do biogás no efluente. O biogás gerado em processos de digestão anaeróbia tem composição variável e é dependente do efluente que é tratado. Para esgoto doméstico, o biogás é uma mistura de metano (70-80%), nitrogênio (10-25%) e dióxido de carbono (5-10%) (NOYOLA; MORGAN-SAGASTUME; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, 2006). O metano derivado de digestão anaeróbia pode ser competitivo em

eficiência e custo com outras formas de energia de biomassa (CHYNOWETH; OWENS; LEGRAND, 2001).

No que se refere ao uso de reatores UASB como primeira unidade de tratamento biológico de esgoto sanitário, o Brasil se destaca como um dos países com maior número de unidades e capacidade de tratamento instalada no mundo (CHERNICHARO et al., 2015). Os reatores UASB, em sua maioria estão instalados nos estados do Paraná, da Bahia, de Minas Gerais e no Distrito Federal (CHERNICHARO, 2016). Assim sendo, o melhor aproveitamento da capacidade já instalada no nosso país depende da superação dos desafios apontados anteriormente.

3.3. Glicerol

O glicerol é um álcool oficialmente chamado de 1,2,3-propanotriol (nomenclatura IUPAC), que foi descoberto por Carl W. Scheele em 1779 durante a separação de uma mistura aquecida de óxido de chumbo com óleo de oliva (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009).

Naturalmente, o glicerol é encontrado na forma combinada com glicerídeos, que são óleos graxos animais e vegetais. Para produção de biodiesel, são realizadas reações de transesterificação desses óleos graxos com algum álcool. A cada 10 quilos de biodiesel formado, 1 quilo de glicerol é gerado como subproduto. Na figura 2 abaixo, é possível observar a reação de transesterificação de triglicerídeo comentada acima.

Fonte: Adaptado de Tan, Abdul Aziz e Aroua (2013).

A produção e consumo de biodiesel no Brasil tem crescido nos últimos tempos. Entre os anos de 2008 e 2010, a porcentagem em volume de biodiesel adicionada ao diesel subiu de 2% para 5%. De 2010 a 2013, essa porcentagem manteve-se nos 5% de acordo com a Lei nº

11.097/2005. Em julho de 2014, a Lei nº 13.033/2014 determinou aumento da porcentagem, em volume, de biodiesel a ser adicionado no diesel para 7%. Em 2017, essa proporção subiu para 8%, segundo a Lei nº 13.263/2016. Nesse ano, a produção de biodiesel foi de 4,3 milhões de m³, e a produção de glicerol residual foi de 374,5 mil m³. Esse valor de produção de biodiesel representa apenas 56,2% da capacidade total de produção nacional (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP, 2018).

Esse cenário legal além de impulsionar o aumento da produção de biodiesel, consequentemente aumentou a geração de glicerol, culminando no acúmulo desse subproduto. Embora o glicerol possua várias aplicações industriais, os usos convencionais utilizam glicerina refinada (maior grau de pureza – mais que 95%) e não são capazes de absorver a disponibilidade da glicerina no mercado. Dessa forma, como a maior parte dos processos consumidores de glicerol o utilizam com grau de pureza maior que 95%, isso não corresponde com a glicerina subproduzida do biodiesel (PACHAURI; HE, 2006). A necessidade de purificação, torna o uso desse produto inviável economicamente (YAZDANI; GONZALEZ, 2007). Dessa forma, o uso do glicerol em processos biológicos anaeróbios tem sido uma alternativa bastante atraente tanto para destinação ambientalmente adequada e economicamente viável desse subproduto da produção do biodiesel, quanto para obtenção de subprodutos de valor agregado.

3.3.1. Fermentação do glicerol

O glicerol pode ser metabolizado biologicamente por duas rotas fermentativas, sendo elas a via redutora e a oxidativa. Na via redutora, o glicerol sofre desidratação e produz o 1,3-propanodiol (1,3 PDO). Pela rota oxidativa, o glicerol sofre desidrogenação, formando dihidroxiacetona, a qual é fosforilada e convertida a piruvato ou succinato, que posteriormente são convertidos a propionato (PAPANIKOLAOU et al., 2008; SILVA; MACK; CONTIERO, 2009; TEMUDO et al., 2008; YAZDANI; GONZALEZ, 2007). As rotas metabólicas de fermentação do glicerol até compostos mais simples está representado na figura 3.

Diversos pesquisadores têm estudado formas de utilizar o glicerol bruto, agregando valor a ele. Uma das alternativas é o uso da digestão biológica desse resíduo para produção de produtos bioquímicos de valor agregado. Isso é facilitado porque o glicerol é uma fonte de carbono altamente assimilável pelas bactérias sob condições anaeróbias para obtenção de energia (ABAD; TURON, 2012). Kósmider; Katarzyna e Katarzyna (2011) descrevem que a

fermentação do glicerol pode gerar os metabólitos como 1,3-propanodiol, ácido propiônico, ácido succínico, ácido cítrico, dihidroxicetona, biohidrogênio, etanol e biosurfactantes.

Figura 3 – Rotas metabólicas da fermentação do glicerol.

Fonte: Carneiro¹ (2015) *apud* Papanikolaou et al. (2008), Silva et al. (2009) e Temudo et al. (2008).

¹ CARNEIRO (2015) – CARNEIRO, R. B. **Utilização de glicerol como fonte de carbono para desnitrificação e remoção biológica de fósforo em reator submetido à aeração intermitente.** 2015. 106p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São

Além da geração de produtos químicos, biohidrogênio, alcoóis como etanol e metanol, e outros metabólitos, o glicerol bruto tem sido estudado como cossustrato em processos de digestão anaeróbia (LEONETI; ARAGÃO-LEONETI; OLIVEIRA, 2012). Codigestão do glicerol será tratada no tópico 3.4.1.

3.4. Codigestão

O metano derivado de digestão anaeróbia pode ser competitivo em eficiência e custo com outras formas de energia de biomassa (CHYNOWETH; OWENS; LEGRAND, 2001). Porém, a viabilidade do uso do biogás deve levar em conta, além de fatores ambientais, aspectos relacionados à equivalência energética do biogás e do combustível que será substituído, mecanismos de purificação desse gás, implantação e operação do sistema de geração de energia (JORDÃO; PESSOA, 2014).

A fim de melhorar o desempenho de reatores anaeróbios para aumento na produção de metano, a digestão anaeróbia combinada com resíduos orgânicos tem sido uma prática buscada por pesquisadores da área. A codigestão anaeróbia consiste na mistura de dois ou mais substratos com características complementares, empregada como uma opção para o aumento da produção de metano, sem prejuízos para a estabilidade dos reatores. (NARTKER et al., 2014). Além disso, a codigestão tem surgido como uma alternativa promissora não somente para otimização da produção de biogás, como também para destinação ambiental correta de rejeitos passíveis de serem utilizados como cossustratos (BUDYCH-GORZNA; SMOCZYNSKI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2016).

Nos últimos anos, o uso de glicerol como cossustrato na codigestão anaeróbia tem se destacado. Como explicado no item 3.3., glicerol é um subproduto da geração de biodiesel e tem elevada concentração de matéria orgânica, com valores médios de DQO em torno de 1.260 (CHI et al., 2007).

3.4.1 Codigestão com glicerol

Alguns estudos foram feitos com uso de glicerol como cossustrato (tabela 1). A maioria dos experimentos utilizou lodos de estações de tratamento ou efluentes concentrados, com elevado tempo de detenção nos reatores.

Siles et al. (2010) avaliaram a codigestão anaeróbia de glicerol com águas residuárias de indústria de biodiesel, sob aplicação de carga orgânica volumétrica (COV) de $4,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. O experimento foi desenvolvido em escala laboratorial, em três reatores com volumes de 1 L cada, operados em batelada em temperatura mesofílica, em torno de 35°C . A produção de metano observada foi de $310 \text{ mLCH}_4.(\text{gDQO removida})^{-1}$ (1 atm, 25°C).

Athanasoulia et al. (2014) estudaram a codigestão de lodo de estação de tratamento de esgoto sanitário e glicerol em reatores anaeróbios de mistura completa sob condições mesofílicas. A temperatura foi mantida em 37°C e o pH era controlado e mantido na faixa de 6,8 a 7,2. Os pesquisadores variaram as porcentagens de glicerol no afluente e os tempos de detenção hidráulica. A concentração limite de glicerol observada foi de 4% (v/v), equivalente a $2,4 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, condição em que foi detectado acúmulo de ácidos intermediários no reator. Para as concentrações de glicerol correspondente a $1,7 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, os reatores apresentaram melhor condição de produção de biogás e manutenção da estabilidade biológica. Os autores relatam que com COV de $2,4 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, e TDH de 19,7 dias, houve um aumento quase que imediato na produção de biogás, porém o sistema se desestabilizou. Esse rápido aumento na produção de biogás deve-se ao consumo da DQO solúvel prontamente biodegradável no glicerol, porém, a manutenção da elevada carga orgânica afluente culminou no acúmulo de ácidos graxos voláteis intermediários (mais de 10.000 mg.L^{-1}), que levou à redução do pH para 5,8, inibindo a atividade metanogênica.

Baba et al. (2013) avaliaram o metano produzido a partir de glicerol bruto em processo de codigestão com lodo de estação de tratamento de efluente de indústria de macarrão instantâneo. O reator tinha 30 m^3 de volume útil, e a carga de glicerol bruto foi aumentada progressivamente. A produção ótima de metano foi alcançada com taxa de carregamento orgânico de glicerol de $1,48 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, que resultou em $358 \text{ mLCH}_4.(\text{gDQOremovida})^{-1}$. Por outro lado, para a condição de COV de $3,69 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ houve redução significativa do pH de tal modo que a produção de metano diminuiu, e a operação foi finalizada. Diferentemente dos outros autores, Baba e colaboradores analisaram a produção de metano a partir de

codigestão com glicerol em escala plena. Os autores desenvolveram o experimento por dezoito meses, mantendo a temperatura de operação a 35°C e tempo de detenção hidráulica de 7 dias. Baba e os colaboradores constataram que a produção de metano foi aumentada com o aumento da quantidade de glicerol adicionada.

Castrillón et al. (2013) estudaram a otimização da produção de biogás a partir da adição de glicerol residual de indústria de biodiesel em estrume bovino. A operação foi realizada em reator CSTR, em temperatura constante de 55 oC. A melhor situação de operação foi com TDH de 20 dias, carga orgânica volumétrica afluyente de 5,41 kg DQO.m³.d⁻¹ com produção de biogás de 350 mLCH₄.(gDQOremovida)⁻¹, e porcentagem de metano no biogás de 67%.

Nartker et al. (2014) avaliaram o aumento na produção de biogás e do teor de metano na mistura gasosa, a partir da codigestão anaeróbia de lodo de esgoto sanitário com glicerol bruto residual de indústria de biodiesel em reatores mesofílicos. O glicerol foi adicionado gradativamente, de modo que a carga orgânica volumétrica com adição de glicerol foi de 1,39 a 4,10 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. O reator utilizado era CSTR (contínuo) com TDH de 32 dias e volume reacional de 4 L. O reator cessou a produção de gás quando a adição de glicerol atingiu COV de 3,44 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Os reatores foram operados a 37°C por 9 meses. Durante o experimento, o pH médio foi mantido em torno de 7,29. As condições ótimas observadas foram referentes à adição de glicerol na quantidade correspondente à COV de 2,97 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ e produção de 728 mLCH₄.L⁻¹.d⁻¹ equivalente a 434 mLCH₄.(gDQOremovida)⁻¹ (1 atm, 0 °C), situação em que o teor de metano no biogás era cerca de 56%.

Em trabalho de mestrado desenvolvido por Danilo Nagata Ayabe no Laboratório de Processos Bioórgânicos, glicerol residual foi adicionado ao esgoto sanitário afluyente em reator UASB visando aumento na produção de metano. A carga volumétrica foi aumentada de 1,74 até 6,92 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, com operação em TDH de 8 h. A COV estável para o processo foi de 5,68 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, quando a porcentagem de metano no biogás foi de 95% e a eficiência de remoção de DQO atingiu 85%.

Embora a codigestão anaeróbia de lodo de estações de tratamento com diversos resíduos orgânicos de elevada concentração já seja uma prática amplamente difundida e consolidada, estudos de processos de codigestão com águas residuárias ainda são limitados, e por isso a necessidade de execução de projetos nessa área (XIE et al., 2016).

Dessa forma, o uso de glicerol como cossustrato no tratamento anaeróbio de águas residuárias é atrativo porque, embora o glicerol não tenha quantidade adequada de nutrientes demandada pela comunidade microbiana, esse resíduo possui alta concentração orgânica prontamente biodegradável. Com o excesso de nutrientes presentes no esgoto, o glicerol adicionado pode proporcionar o aumento da produção de metano em reatores convencionais de tratamento de esgoto existentes. Além disso, apesar de o glicerol conter constituintes tóxicos e inibidores da digestão anaeróbia, a mistura com águas residuárias diminui a toxicidade ou inibição por efeito de diluição (BABA et al., 2013; VIANA, 2011).

Tabela 1 – Trabalhos realizados sobre codigestão com glicerol.

Referência	Cossustrato	Condições operacionais	COV ótima (kg DQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	COV "colapso" (kg DQO. m ⁻³ .d ⁻¹)	Desempenho do sistema
		Regime de operação Volume reacional Temperatura TDH			Produção de metano (mL CH ₄ /g DQO removida) - 1 atm, 0°C % remoção de DQO
Siles et al. (2010)	Água residuária de indústria de Biodiesel	Batelada	4,5	informação não disponível	284
		1 L			80 - 90%
		35 °C 18 a 45 h			
Athanasoulia et al. (2014)	Lodo de Estação de tratamento de esgoto sanitário	Contínuo	1,7	2,4	343
		40 e 60 L			96,40%
		37 °C 12,3 a 19,7 dias			
Baba et. al. (2013)	Lodo ativado de Estação de tratamento de efluente de indústria de macarrão instantâneo	Contínuo	1,48	3,69	328
		30 m ³			39,1% (90,4% da fração solúvel da DQO)
		35 °C 7 dias			
Castrillón et al. (2013)	Estrume bovino	Contínuo	5,41	informação não disponível	350
		5 L			80,7%
		55 °C 20 dias			
Nartker et al. (2014)	Lodo de Estação de tratamento de esgoto sanitário	Contínuo	2,97	3,44	434
		4 L			informação não disponível
		37 °C 32 dias			

Fonte: Elaboração própria.

3.5. Cenário energético brasileiro

Na maioria dos países, a produção e consumo de energia são baseados em combustíveis fósseis. Essas fontes, além de serem não renováveis, são altamente poluentes devido a liberação de gases de efeito estufa durante sua queima. Daí a necessidade de exploração de fontes renováveis de energia. Nesse sentido, o Brasil é um país privilegiado, uma vez que a oferta interna de energia é diversificada, com várias fontes renováveis, como indicado na figura 4 referente ao ano de 2017.

Figura 4 - Oferta Interna de Energia no Brasil em 2017.

Fonte: Empresa De Pesquisa Energética - EPE (2018)

No entanto, embora a oferta seja diversificada, sabe-se que a matriz energética do nosso país prioriza a energia hidráulica na produção de energia elétrica, o que nos torna bastante dependente do regime hídrico, como apresentado na figura 5.

Figura 5 – Distribuição de fontes de produção de energia elétrica no Brasil em 2017.

Fonte: EPE (2018)

No ano de 2017, a geração de eletricidade no país foi de 588.10^{12} Wh e as importações foram equivalentes a $36,4.10^{12}$ Wh, resultando numa disponibilidade de energia elétrica de $624,4.10^{12}$ Wh. O consumo total de eletricidade nesse ano foi de $526,2. 10^{12}$ Wh. (EPE, 2018)

Nesse contexto de diversificação da matriz energética, a produção de energia a partir de resíduos biodegradáveis tem ganhado destaque no desenvolvimento de pesquisas por diversos motivos, principalmente devido ao potencial energético e disponibilidade desses resíduos, muitos dos quais são gerados diariamente e em grandes quantidades. E também porque o uso desses resíduos como fonte de energia tem funcionado como uma estratégia eficiente de gestão e utilização de resíduos indesejáveis e de difícil disposição no ambiente. (MAMEDE, 2013).

Dessa forma, a produção de biogás na digestão anaeróbia é um processo biotecnológico importante que trata resíduos biodegradáveis ao mesmo tempo que produz biogás passível de ser utilizado para geração de energia. Em 2011, a União Européia produziu 10.858 milhões de toneladas equivalentes em óleo de biogás, dos quais 66,5% foram provenientes da digestão de resíduos de agricultura, 23,6% de aterros e 9,9% de lodos de estação

de tratamento de esgoto (BUNDESMINISTERIUM FÜR UMWELT, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT - BMU, 2011). Na Europa, o biogás é utilizado majoritariamente como energia térmica e secundariamente como combustível veicular.

Nesse âmbito de matriz de energia, o plano energético brasileiro tem como uma das estratégias utilizar o biogás gerado nas ETEs para geração de energia elétrica. O Plano Nacional de Saneamento Básico no Brasil, aprovado em 2013, prevê o aproveitamento energético do biogás a partir do tratamento de esgoto sanitário. Além de impactos positivos para o meio ambiente e economia, o uso do biogás apresenta uma oportunidade de diversificação da matriz energética brasileira (PROBIOGÁS, 2015).

4. Metodologia

Neste capítulo estão descritas as instalações experimentais, os substratos utilizados, os procedimentos metodológicos, e a metodologia de análise de dados.

Resumidamente, o trabalho foi dividido em etapas de acordo com a quantidade de glicerol adicionada aos reatores. Na primeira parte da primeira operação, o reator foi operado com esgoto sanitário bruto. Na segunda parte, com esgoto sanitário tratado como efluente de um reator UASB. Nas etapas seguintes de cada operação, o glicerol foi adicionado na alimentação dos reatores progressivamente, aumentando a carga orgânica volumétrica afluyente.

O projeto foi desenvolvido em duas partes. Na primeira, foi utilizado um reator anaeróbio híbrido em escala piloto, com uma parcela da biomassa suspensa e uma parcela aderida em material suporte. Tal sistema foi alimentado com esgoto sanitário e glicerol por meio de uma bomba de alimentação. O material suporte utilizado para adesão microbiana foi constituído de espuma de poliuretano envolta por uma estrutura de polipropileno. Na segunda parte, o reator piloto utilizado na primeira etapa funcionou como tratamento preliminar para o esgoto sanitário bruto, e ao efluente desse reator operado como UASB foi adicionado o glicerol. Essa mistura do efluente com glicerol foi tratada em um outro reator híbrido.

4.1. Instalações experimentais

O estudo foi realizado em duas etapas. Na primeira, foi utilizado um reator UASB com parte da biomassa imobilizada, caracterizando o reator híbrido. O reator de manta de lodo foi projetado de acordo com a concepção descrita por Cavalcanti (2003), cujo diferencial para o reator UASB tradicional é o separador trifásico. Tal configuração foi escolhida devido ao sucesso de trabalhos realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) utilizando esses reatores para aplicação de elevada carga orgânica afluyente, nos quais o separador trifásico em questão teve bom desempenho.

O reator utilizado na primeira parte da pesquisa foi projetado com diâmetro de 150 mm. A altura total, de 1,4 m, foi dividida em quatro zonas, ou câmaras superpostas. A zona de entrada era constituída de PVC e continha 20 cm de altura. Nessa região, a vazão afluyente entrava no sistema através de tubo com bocal voltado para o fundo do reator, o qual era levemente convexo, com um relevo cujo cume central recebia o esgoto promovendo a dispersão

do afluente e evitando caminhos preferenciais no escoamento do líquido. A segunda câmara, nomeada zona de biomassa suspensa ou manta de lodo, foi constituída de um cilindro de acrílico de 40 cm de altura. A terceira câmara constituiu a zona de biomassa imobilizada, consistiu também de um cilindro de acrílico de 40 cm de altura. Nessa região, foi adicionado o material suporte para imobilização da biomassa. E por fim, a quarta zona, que era o separador trifásico, foi feito de PVC e continha 40 cm de altura. Nesse separador, havia um tubo principal e um braço lateral com um defletor, constituindo a separação das fases sólida, líquida e gasosa. O efluente tratado era coletado na lateral, enquanto o biogás saía pela parte superior, sendo encaminhado a um selo hídrico e um medidor de vazão de gás.

As dimensões e características do reator em questão estão apresentadas na tabela 2 e figura 6 abaixo.

Tabela 2 - Aspectos físicos do reator utilizado na primeira parte do experimento

Zonas	Altura (m)	Volume (L)
Zona de entrada	0,2	3,54
Zona de biomassa suspensa (manta de lodo)	0,4	7,07
Zona de biomassa imobilizada (espuma)	0,4	7,07
Separador trifásico	0,4	7,07
Total	1,4	24,75

Fonte: Elaboração própria.

Figura 6 - Reator utilizado na parte 1 do experimento, com desenho esquemático (a), e o reator já confeccionado, o corpo principal (b) e o separador trifásico (c)

Fonte: Elaboração própria.

O material para imobilização da biomassa foi confeccionado utilizando espuma de poliuretano e uma estrutura de polipropileno (PP) - bob de cabelo, como apresentado na figura 7. A espuma foi cortada em tiras e introduzida dentro dos bobs. A espuma de poliuretano foi escolhida como material suporte, por ser de baixo custo, inerte à biodigestão anaeróbia e processos físico-químicos, e com elevada porosidade que permite aderência e alta concentração de biomassa, em especial arqueas metanogênicas (SILVA et al., 2006). A estrutura externa com bob é necessária para evitar compressão da espuma e colmatagem dos poros, o que diminui a porosidade.

Figura 7 – Material para imobilização da biomassa

Fonte: Elaboração própria.

Portanto, o reator tinha volume total de 24,75 L, e possuía separador bifásico de gás-sólido (CAVALCANTI et al., 1999) e sistema de coleta do efluente através de um tubo seguido de um reservatório coletor. Além disso, também continha um sistema para coleta de biogás na parte superior do reator. Para a alimentação, foi utilizada uma bomba dosadora conectada à base do reator, de modo a promover a entrada do afluente na parte inferior do reator.

Durante a operação, o reator foi operado com 8h de tempo de detenção hidráulica e o sistema foi mantido à temperatura ambiente. Para essa operação, o glicerol foi adicionado ao

esgoto sanitário por porcentagem de volume (v/v). Na figura 8 está apresentado o desenho esquemático da instalação experimental utilizada na primeira parte do projeto.

Figura 8 – Desenho esquemático da instalação experimental da parte 1 do projeto

Fonte: Elaboração própria.

Na segunda etapa de operação, dois reatores metanogênicos foram operados. O esgoto sanitário bruto foi tratado em um reator UASB, e ao efluente do reator foi adicionado glicerol. Essa mistura foi encaminhada a um reator híbrido com volume de 1,46 L. Para essa etapa de operação, o tempo de detenção hidráulica foi mantido em 8h. Os volumes de biomassa imobilizada e manta de lodo eram de 0,38 L e 0,46 L, e o sistema passou a ser aquecido em uma câmara de aquecimento, mantendo a temperatura de operação de 25°C. O aquecimento do sistema foi necessário devido às baixas temperaturas no período de inverno e às grandes variações térmicas entre dias e noites. Nessa etapa de operação a estratégia de adição de glicerol foi feita por carga orgânica volumétrica (COV).

Na tabela 3 estão apresentados os aspectos físicos do reator híbrido utilizado na segunda etapa do experimento. Na figura 9 estão apresentados o desenho esquemático do reator híbrido e foto deste em operação.

Tabela 3 – Aspectos físicos do reator híbrido utilizado na parte 2 do experimento

Zonas	Altura (cm)	Volume (L)
Zona de entrada	8	0,20
Zona de biomassa suspensa (manta de lodo)	22	0,46
Zona de biomassa imobilizada (espuma)	18	0,38
Separador trifásico	20	0,42
Total	68	1,46

Fonte: Elaboração própria.

Figura 9 - Reator utilizado na parte 2 do experimento, com desenho esquemático (a), e o reator em operação (b)

Fonte: Elaboração própria.

Na figura 10 está apresentado o esquema da instalação experimental utilizada na segunda parte do projeto.

Figura 10 - Desenho esquemático da instalação experimental da parte 2 do projeto

Fonte: Elaboração própria.

4.2. Inoculação

Com objetivo de diminuir o tempo de partida do sistema, em ambas as etapas, os reatores foram previamente inoculados com lodo proveniente de reator UASB da Avícola Ideal na cidade de Pereiras-SP, o qual tem sido utilizado no Laboratório de Processos Biológicos.

Nas duas etapas, o lodo granular foi introduzido, o reator foi preenchido com esgoto sanitário e deixado em recirculação alguns dias, segundo procedimento realizado no Laboratório de Processos Biológicos. Nesse período de recirculação, a biomassa se fixou na espuma e o excesso de sólidos foi lavado do sistema.

Em relação aos sólidos, o lodo tinha concentração de sólidos totais (ST) de 63,33 g.L⁻¹, e 54,67 g.L⁻¹ de sólidos voláteis (SV), com relação SV/ST de 0,86. Na primeira etapa, o reator foi inoculado com 5 L de lodo correspondentes à adição de 273,35 gSV. O volume de lodo em excesso na inoculação foi introduzido com objetivo de facilitar a fixação da biomassa no meio suporte. Na segunda etapa, o reator híbrido foi inoculado com 300 mL correspondente a 16,4 gSV e o procedimento de partida foi o mesmo da primeira inoculação.

A Figura 11 mostra o aspecto físico do lodo granular usado no experimento.

Figura 11 – Lodo granular de reator UASB utilizado na inoculação do sistema

Fonte: Elaboração própria.

4.3 Substratos

4.3.1 Esgoto Sanitário

O esgoto sanitário utilizado na pesquisa foi proveniente de uma derivação do coletor de esgoto municipal que passa pela Área 2 da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP). Essa derivação localiza-se próxima ao Laboratório de Processos Biológicos (LPB), local de instalação do experimento. A caracterização do esgoto sanitário em questão está apresentada na Tabela 4.

O esgoto sanitário utilizado na pesquisa apresenta composição muito variável, especialmente em relação à carga orgânica e de sólidos. Para evitar muita variação no afluente ao reator, o esgoto era previamente sedimentado, e o sobrenadante desse tanque era utilizado no projeto.

Tabela 4 - Caracterização do esgoto sanitário que foi utilizado na pesquisa

Parâmetro	Concentração (mg/L)
DQO	493 ± 154
Alcalinidade	177,4 ± 41,5
pH	7,0 ± 0,2
NTK	45 ± 13
N-NH ₄ ⁺	31,9 ± 10,6
N-NO ₂ ⁻	0,4 ± 0,8
N-NO ₃ ⁻	0,5 ± 1,3
P-PO ₄ ⁻	4,0 ± 2,1
Sólidos Totais	574,0 ± 130,6

Fonte: Moura (2014).

4.3.2 Glicerol

O glicerol utilizado na pesquisa é produto residual da Biobrotas Oleoquímica, indústria localizada em Brotas (SP).

Esse composto tem elevada DQO - cerca de 1.300.000 mg.L⁻¹, densidade de 1,26 g.cm⁻³, e é altamente viscoso. A caracterização de uma solução de 5 g.L⁻¹ de glicerol, e o resíduo utilizado na pesquisa foram fornecidos pelo Laboratório de Controle Ambiental da Ufscar e estão apresentados, respectivamente na tabela 5 e na Figura 12.

A adição de glicerol foi feita diretamente no tanque de alimentação com esgoto sanitário e efluente de reator UASB. A quantidade de glicerol adicionada era dependente da fase de operação do reator, que indica a proporção em volume de esgoto e glicerol.

Tabela 5 - Caracterização da solução de glicerol bruto ($\sim 5,0 \text{ g.L}^{-1}$)

Parâmetros	Glicerol Bruto (mg.L^{-1})
Teor de Glicerol (%)	82,6
DQO	5330
Carbono Orgânico Total	Não Medido
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

Fonte: Laboratório de Controle Ambiental, Ufscar São Carlos (2019).

Figura 12 - Glicerol utilizado na pesquisa

Fonte: Elaboração própria.

4.4. Calibração do Ritter®

O medidor de gás Ritter® foi calibrado com utilização de um bolhometro a fim de comparar o volume de gás medido a cada acionamento do mecanismo de medida do aparelho.

Para comparar o volume de gás medido a cada gangorrada no medidor, foi utilizado o bolhometro. Nesse bolhometro, foi contabilizado o tempo para que a bolha formada pela introdução de gás no medidor percorresse uma distância equivalente ao volume de 1 mL. Concomitantemente, a introdução de gás no medidor promovia batidas da gangorra medidora. O intervalo de tempo entre essas batidas foi contabilizado para diferentes vazões. Para o bolhometro, a manipulação dos dados forneceu uma relação de tempo.mL⁻¹ enquanto que das gangorras foi obtido o tempo.batida⁻¹. Portanto, fazendo a divisão dos resultados, obteve-se a relação de volume por pulso, descrita por uma equação linear.

$$Vol_{biogás} = a * V_{Ritter}$$

Em que, $Vol_{biogás}$ é o volume de biogás medido (mL); a é o coeficiente angular que representa a relação de volume por pulso, e V_{Ritter} é o valor apresentado no visor do Ritter®, que corresponde ao número de pulsos registrados.

Figura 13 – Medidor de gás Ritter® (a) e sistema de medição de volume de gás com Ritter® acoplado ao selo hídrico (b)

Fonte: Elaboração própria.

4.5. Procedimento experimental

O experimento foi projetado para ser executado em fases contínuas, nas quais o glicerol seria adicionado gradualmente na corrente de alimentação. O tempo de detenção hidráulica foi mantido constante em 8 horas. A carga orgânica foi aumentada progressivamente de modo a permitir a adaptação da biomassa no sistema, evitando sobrecargas orgânicas. Na primeira fase das operações, a DQO afluente foi proveniente apenas do esgoto sanitário, com cerca de 400 mgO₂.L⁻¹ na primeira etapa de operação. Já para a segunda parte do experimento,

a DQO afluyente foi proveniente do esgoto sanitário tratado em reator UASB com cerca de 120 mgO₂.L⁻¹. Nas fases seguintes de cada etapa, o glicerol foi adicionado na corrente de alimentação, aumentando a DQO e COV afluyente.

Para a primeira etapa do experimento, a adição de glicerol foi feita por estratégia de volume percentual (v/v), e as quantidades de glicerol adicionadas foram estipuladas com base nos trabalhos de revisão bibliográfica e em dados previamente obtidos por Danilo Nagata Ayabe em pesquisa em escala de bancada realizado no Laboratório de Processos Biológicos, sob orientação do Prof. Dr. Eugenio Foresti. Para a segunda etapa, a adição do cossustrato passou a ser feita por COV.

Na primeira etapa do projeto, o reator metanogênico híbrido foi operado em duas fases. Na fase I, o reator foi operado apenas com esgoto sanitário por um período de 30 dias. Na fase II, o glicerol foi adicionado por volume percentual ao esgoto sanitário, e essa operação foi mantida por 20 dias. Na segunda parte do projeto, o reator foi operado por cinco fases. Na fase I, em que a operação do reator híbrido foi realizada apenas com efluente de esgoto sanitário e o tempo de duração foi de 22 dias. Nas fases seguintes, o glicerol foi adicionado segundo a COV, considerando a DQO definida para o afluyente do reator híbrido, a DQO do efluente do primeiro reator metanogênico e a DQO do glicerol. A duração das fases II, III, IV e V foram respectivamente de 18, 22, 26 e 14 dias. O monitoramento dos reatores foi realizado por meio das análises descritas a seguir.

4.6. Métodos analíticos

O desempenho do sistema biológico foi verificado efetuando-se análises de monitoramento nas correntes líquidas, afluyente e efluente ao reator, e no biogás. Para isso, os seguintes parâmetros foram monitorados: demanda química de oxigênio total (DQOt) e solúvel (DQOs); pH, alcalinidade parcial, intermediária e total; concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs); teor de sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV); produção volumétrica e composição do biogás. Os tipos de análises de monitoramento do reator híbrido para as duas operações, assim como os métodos e as frequências de análises a serem realizadas, estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6- Análises, métodos e frequências de monitoramento do reator

Análise	Frequência		Método
Vazão	diariamente		-
Demanda química de oxigênio (DQO)	3 vezes por semana		APHA/AWWA/WEF (2005)
pH	3 vezes por semana		APHA/AWWA/WEF (2005)
Alcalinidade parcial, intermediária e total	3 vezes por semana		Ripley et al. (1986)
Ácidos voláteis	2 vezes por semana	Cromatografia gasosa/titulação	Penteado (2012)/Dilallo e Albertson (1961)
Série de sólidos	1 vez por semana		APHA/AWWA/WEF (2005)
Produção de biogás	diariamente	Vazão Volumétrica	-
Composição do biogás	2 vezes por semana	Cromatografia gasosa	Perna et al. (2013)
Atividade Metanogênica Específica	2 vezes no experimento	Manométrico com Oxitop®	Martins et al. (2015.)

Fonte: Elaboração própria.

A vazão afluyente ao reator foi avaliada por medição volumétrica, a qual considera o volume em um tempo observado.

Os ensaios de Demanda Química de Oxigênio (DQO) foram feitos para as amostras de afluyente e efluente, nas formas bruta e filtrada, conforme os procedimentos de “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, 2005).

O pH foi determinado pelo método potenciométrico conforme o método 4500-H+ (APHA, 2005).

A medição de alcalinidade parcial (AP), alcalinidade intermediária (AI) e total (AT) foi realizada pelo método de Ripley, Boyle e Converse (1986).

Para as análises de ácidos orgânicos voláteis, utilizou-se cromatógrafo HPLC Shimadzu® com sistema de bombeamento (LC-10AD), forno (CTO-20A), controlador (SCL-10A) e um fotodetector de matriz de diodo (PDA- Photo Diode Array), com leitura em comprimentos de onda entre 190 a 380 nm (UV) com passo de 1 nm (PENTEADO et al., 2012). Nessa análise, foram obtidas, para cada uma das amostras, as concentrações de glicose, frutose,

ácidos cítrico, láctico, fórmico, acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capróico, furfural e 5-hidroximetil-furfural. As análises de ácidos voláteis totais foram obtidas pelo método de Dilallo e Albertson (1961), o qual é determinado pela redução do pH da amostra até 3,30, fervura por cerca de 3 minutos, e titulação com solução de hidróxido de sódio do pH 4 até 7.

A determinação gravimétrica de sólidos totais foi realizada de acordo com o método 2540B (APHA, 2005).

Para medição da vazão de gás produzido foi utilizado o medidor volumétrico MilligasCounter da Ritter®.

Em relação ao biogás, as concentrações de hidrogênio, nitrogênio, dióxido de carbono e metano presentes na fase gasosa foram determinadas por análises de cromatografia gasosa, através de um cromatógrafo Shimadzu® GC-2010, de acordo com Perna et al. (2013). O gás nitrogênio foi sempre detectado nas análises, porém sua presença foi desconsiderada uma vez que se admitiu a ocorrência de contaminação devido à abundância do mesmo na atmosfera, e por não ser resultado de via de degradação anaeróbia.

Para o teste de atividade metanogênica específica (AME) foi utilizando o método manométrico com Oxitop®, descrito por Martins et al. (2015). O sistema Oxitop® é constituído por frascos de vidro com aberturas laterais e um cabeçote no qual as pressões da fase gasosa são averiguadas. Conforme a metodologia, os frascos são mantidos sob temperatura controlada de 30 °C e agitação de 200 rpm. A sobrepressão devido a acumulação de biogás no headspace dos frascos é medida automaticamente pelos cabeçotes de medição. O cálculo da AME é feito a partir dos resultados de pressão, do volume de headspace, da temperatura e da equação dos gases ideais. O teste foi realizado com a biomassa na manta de lodo e na espuma de poliuretano presentes no reator metanogênico na segunda parte da operação. Para o lodo de inóculo, o teste foi realizado por Inaê Alves, e os resultados obtidos foram utilizados nesse trabalho.

4.7. Caracterização microbiana

As comunidades microbianas da o inóculo, e da manta de lodo e da espuma de poliuretano do reator híbrido da segunda parte do projeto, foram comparadas através do perfil de bandas do DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante). Por meio do software BioNumerics versão 7.0, com o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with

Arithmetic Averages), foi obtido o agrupamento do dendograma para verificação de similaridade entre as bandas, segundo o coeficiente de Pearson.

Para extração de DNA das amostras, foram utilizadas “glass beads” (150-212 μm Sigma) e fenol-clorofórmio de acordo com o protocolo de Griffiths et al. (2000) modificado. Para a PCR, a região de rRNA correspondente ao gene 16S dos microorganismos foram amplificadas usando o set primer 968FGC – 1401R, para o Domínio Bacteria (NUBEL et al., 1996), e o 1100FGC-1400R para o Domínio Archaea (KUDO et al., 1997).

Durante a realização da eletroforese do DGGE, as condições de trabalho foram de 75V a 60°C por 16 horas. Em seguida, o gel passou em Brometo de Etídeo para ser corado. Por fim, a leitura do perfil padrão das bandas do DGGE foi feita no Sistema de Fotodocumentação (L.PixTouch – Locus Biotechnology) sob a radiação de 254 nm UV. Os fragmentos amplificados foram purificados com o kit Illustra GFX PCR

Os índices ecológicos foram calculados pelo programa Past. Os índices obtidos foram Dominância e Diversidade de Shannon para verificação da diversidade das comunidades, e o Índice de Chao-1 para observação da riqueza das comunidades. Os valores do índice Dominância variam de 0 a 1, de forma que quanto mais próximo de 0, mais igualitário é a presença dos táxons, e quanto mais próximo de 1 mais dominante é um determinado táxon naquela comunidade. Em relação ao Índice de Shannon, os valores variam de 0 a infinito, e quanto maior o índice, maior é a quantidade de táxons na comunidade estudada. O Índice de Chao-1 representa uma estimativa da riqueza total da comunidade, relacionando o número de espécies com apenas um indivíduo na amostra e o número de espécies com apenas dois indivíduos na amostra (DELFORNO, 2014).

4.8 Análise de dados

Os resultados obtidos das análises descritas no tópico 4.6 foram utilizados para monitoramento da codigestão anaeróbia e do funcionamento operacional dos reatores híbridos. Além disso, os parâmetros auxiliaram no desenvolvimento do estudo, conduzindo a introdução de glicerol.

As variáveis utilizadas para avaliação do desempenho do reator foram: eficiência de remoção de DQO total e solúvel (EfDQO); relação alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI/AP); produção volumétrica de metano (PVM); rendimento de metano (Y_{metano}); e teor de metano no biogás (%). A avaliação do biogás foi feita nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), isto é, 1 atm e 0°C.

Na tabela 7, estão indicadas as equações utilizadas nos cálculos realizados para monitoramento do reator.

Tabela 7 – Equações utilizadas no cálculo das variáveis para avaliação do monitoramento do reator

Variável	Unidade	Equação	Parâmetros de cálculo
Eficiência de remoção de DQO (Ef _{DQO})	%	$Ef_{DQO} = \left(\frac{DQO_{afluente} - DQO_{efluente}}{DQO_{afluente}} \right) \cdot 100$	DQO _{afluente} = DQO afluente ao reator (mgO ₂ .L ⁻¹) DQO _{efluente} = DQO efluente ao reator (mgO ₂ .L ⁻¹)
Relação alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI/AP)	adimensional	$\frac{AI}{AP}$	AI = Alcalinidade Intermediária (mgCaCO ₃ .L ⁻¹) AP = Alcalinidade Parcial (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)
Produção volumétrica de metano (PVM)	mLCH ₄ .L ⁻¹ .d ⁻¹	$PVM = \frac{Q_{biogás} \cdot \%CH_4}{V_{reator}}$	Q _{biogás} = vazão de biogás (mLbiogás.d ⁻¹) %CH ₄ = teor de metano no biogás V _{reator} = volume útil do reator (L)
Rendimento de metano (Y _{metano})	mLCH ₄ .gDQOremovida ⁻¹	$Y_{metano} = \frac{Q_{biogás} \cdot \%CH_4}{Q_{afluente} \cdot DQO_{removida}}$	Q _{biogás} = vazão de biogás (mLbiogás.d ⁻¹) %CH ₄ = teor de metano no biogás Q _{afluente} = vazão afluente ao reator (L.d ⁻¹) DQO _{removida} = DQO _{afluente} – DQO _{efluente} (mgO ₂ .L ⁻¹)

Fonte: Elaboração própria

Tabela 7 – Equações utilizadas no cálculo das variáveis para avaliação do monitoramento do reator (continuação)

Variável	Unidade	Equação	Parâmetros de cálculo
Teor de metano no biogás (%CH ₄).	%	$\%CH_4 = \frac{nCH_4}{ntotal}$	nCH ₄ = número de mols de metano (mols) ntotal = número de mols de todos os componentes do biogás (metano, hidrogênio e gás carbônico (mols))
Carga orgânica volumétrica (COV)	kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹	$COV = \frac{DQO_{afluente} \cdot Q_{afluente}}{V_{reator}} \cdot 10^{-6}$	DQO _{afluente} = DQO afluente ao reator (mgO ₂ .L ⁻¹) Q _{afluente} = vazão afluente ao reator (L.d ⁻¹) V _{reator} = volume útil do reator (m ³)

Fonte: Elaboração própria

5. Resultados

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos com o monitoramento do sistema biológico e discussão acerca desses dados, tendo em vista os objetivos definidos para o projeto. O capítulo foi dividido em quatro partes, a parte I a respeito da operação do sistema com um único reator, a parte II a respeito da operação do sistema com dois reatores metanogênicos, um UASB e um híbrido, o tópico III são análises microbiológicas das comunidades, e por fim, na parte IV há um breve estudo de viabilidade do uso de glicerol em reatores híbridos tratando esgoto sanitário.

5.1. Parte I – Operação com reator único

5.1.1. Remoção de matéria orgânica

Nessa etapa experimental, o reator foi operado com fase 1 e fase 2, correspondentes a 0% e 0,03% de glicerol, respectivamente. As fases tiveram duração de 30 e 20 dias, respectivamente.

Na fase 1, o reator foi alimentado apenas com esgoto sanitário. Durante 35 dias de operação, com TDH de 8h, a carga orgânica volumétrica média afluyente ao sistema biológico foi de $1,13 \pm 0,16 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, DQOt de $378 \pm 45 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ e DQOs $153 \pm 30 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Para essa fase, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de $60 \pm 11,6 \%$ para DQOt e $55,7 \pm 8,4\%$ para DQOs. Reatores híbridos em escala plena tratando esgoto sanitário apresentaram remoção de DQOt de $60 \pm 9 \%$ (GAUDENCIO, 2016) e $61 \pm 12 \%$ (ARAÚJO, 2014). Comparando com os resultados obtidos na fase 1 da operação, os resultados se assemelham, com remoção de DQOt média em torno de 60 %.

Durante essa primeira operação, a adição de glicerol foi introduzida com a porcentagem em volume de 0,05%. No entanto, cinco dias após a introdução do glicerol (dia 40), essa operação foi suspensa devido à instabilidade na biodigestão anaeróbia. O sistema apresentou redução de pH, aumento da relação AI/AP e o reator voltou a ser operado apenas com esgoto sanitário. A adição de glicerol passou a ser feita em doses ainda menores, até que o volume de 0,03% foi atingido.

A carga limitante foi de 0,03% em volume de glicerol, isto é, carga orgânica volumétrica de $2,32 \pm 0,36 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Após 20 dias com essa carga, o sistema apresentou baixo valor de pH e não havia produção de biogás. Na tabela 8, há o resumo dos valores

relativos à remoção de matéria orgânica durante a operação do reator. Nas figuras 14 e 15, estão apresentados os valores de DQO afluente e efluente, frações totais e solúveis.

Tabela 8 – Valores médios e desvio padrão para a DQO afluente e efluente, porcentagem de remoção de DQO e carga orgânica volumétrica aplicada ao reator.

		Fase I	Fase II
DQO Afluente (mgO₂.L⁻¹)	Total	378 ± 45	781 ± 113
	Dissolvida	153 ± 30	542 ± 73
DQO Efluente (mgO₂.L⁻¹)	Total	145 ± 31	571 ± 62
	Dissolvida	64 ± 11	420 ± 37
DQO removida (mgO₂.L⁻¹)	Total	247 ± 67	239 ± 118
	Dissolvida	94 ± 35	108 ± 80
Remoção (%)	Total	60 ± 11,6	23,4 ± 10,4
	Dissolvida	55,7 ± 8,4	19,6 ± 9,8
COV aplicada (kgDQO.m⁻³.d⁻¹)	Total	1,13 ± 0,16	2,30 ± 0,36
	Dissolvida	0,46 ± 0,1	1,60 ± 0,21

Fonte: Elaboração própria.

Observando os valores de DQO afluente para a fração dissolvida, é possível concluir que houve um choque de carga orgânica no sistema biológico, o que também pode ser justificado pelos valores de DQO efluente. Essa variação na carga orgânica afluente foi devido à estratégia de adição de glicerol, que não levou em consideração a COV afluente, e apenas o volume percentual. Além disso, durante a segunda fase de operação, a DQO do esgoto sanitário apresentou alguns picos que podem ter prejudicado o desempenho do sistema, porque o sistema de captação de esgoto utilizado na pesquisa não contém tratamento preliminar e primário. Por ter sido um período de seca, o esgoto ficou mais concentrado, o que aumentou a DQO e a quantidade de sólidos afluente. Parte desses sólidos são partículas inertes (sólidos totais fixos) que ficaram retidas nos poros da espuma de poliuretano. O monitoramento do esgoto sanitário afluente, nessas condições especiais, apresentou médias de DQO total e solúvel afluente de 755 ± 211 mgO₂.L⁻¹ e 203 ± 80 mgO₂.L⁻¹.

Figura 14 – Concentrações afluyente e efluente de DQO total ao longo do tempo de operação.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 15 - Concentrações afluyente e efluente de DQO solúvel ao longo do tempo de operação.

Fonte: Elaboração própria.

5.1.2. Alcalinidade total e a bicarbonato

A estabilidade de processos metanogênicos é dependente da manutenção de faixas específicas de pH no sistema. Se houver um desequilíbrio entre a produção e consumo de ácidos

orgânicos, há acúmulo desses ácidos provenientes da acidogênese, e consequente queda do pH, provocando colapso do reator.

Bactérias acidogênicas são menos sensíveis a valores de pH altos e baixos, de modo que, nessas condições de pH, a fermentação acidogênica prevalece sobre a metanogênese, resultando em acúmulo de ácidos no reator (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

Nesse sentido, a alcalinidade funciona como um agente tampão desses ácidos, mantendo o pH próximo a 7, que é a faixa ideal para atividade metanogênica. A alcalinidade a bicarbonato é responsável pelo efeito tampão dentro da faixa de pH em que se operam sistemas anaeróbios (entre 6 e 8). Ripley; Boyle e Converse (1986) obtiveram estabilidade na digestão anaeróbia para valores de AI/AP de 0,3. Embora a relação AI/AP que permita ao sistema operar de maneira estável tenha que ser obtida para cada sistema, o valor de 0,3 tem sido considerado como referência.

Em relação à estabilidade do sistema, a relação AI/AP para a primeira fase de operação da primeira etapa do projeto foi de $0,41 \pm 0,16$ e pH médio do efluente foi de $7,23 \pm 0,11$. Para as situações em que o pH do efluente foi menor que 5,75, a relação AI/AP não pode ser calculada, uma vez que não há alcalinidade parcial nesse pH.

A faixa ideal de pH para ocorrência da digestão anaeróbia é em torno do pH neutro, próximo a 7. Valores de pH abaixo de 6,3 e acima de 7,8 diminuem a atividade metanogênica. Em geral, a composição de esgoto doméstico garante que o pH do sistema de tratamento esteja nessa faixa ótima, sem a necessidade de correção química.

Na tabela a seguir, estão apresentados os valores de pH, alcalinidade parcial, intermediária e total para as duas fases de operação nessa etapa.

Tabela 9 - pH, alcalinidade parcial, intermediária e total do afluente e efluente ao reator durante operação com reator único.

		Fase I	Fase II
pH	Afluente	$6,97 \pm 0,59$	$6,58 \pm 0,42$
	Efluente	$6,90 \pm 0,84$	$5,84 \pm 0,60$
Alcalinidade parcial ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	Afluente	92 ± 47	47 ± 18
	Efluente	104 ± 43	20 ± 27
Alcalinidade Intermediária ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	Afluente	57 ± 21	65 ± 26
	Efluente	45 ± 19	85 ± 20
Alcalinidade Total ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	Afluente	149 ± 23	112 ± 32
	Efluente	148 ± 56	105 ± 32

Fonte: Elaboração própria.

Nas figuras 17 e 18, estão apresentadas as variações temporais da alcalinidade intermediária, devida a ácidos orgânicos e da alcalinidade parcial, devida a bicarbonato.

Figura 16 – pH afluente e efluente ao sistema

Fonte: Elaboração própria.

Figura 17 - Alcalinidade intermediária afluente e efluente

Fonte: Elaboração própria.

Figura 18 - Alcalinidade parcial afluente e efluente

Fonte: Elaboração própria.

Na operação, as médias de alcalinidade parcial e intermediária no efluente para a primeira fase (0% glicerol) foram de $104 \pm 43 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$ e $45 \pm 19 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$, e para a operação com 0,03% (v/v) de glicerol, as alcalinidades a bicarbonato (parcial) e a ácidos (intermediária) foram $20 \pm 27 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$ e $85 \pm 20 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$. Durante a fase em que o reator foi operado com adição de glicerol, foram observadas várias ocorrências de ausência de alcalinidade parcial, uma vez que o pH do efluente estava abaixo de 5,75, como pode ser constatado no gráfico da figura 16.

Comparando-se as duas fases de operação do reator, conclui-se que o aumento da COV devido à introdução de glicerol reduziu a alcalinidade a bicarbonato no sistema, com aumento da relação AI/AP e consequente queda de pH. Esses parâmetros indicam a ocorrência de instabilidade do sistema biológico, devido ao aumento de carga orgânica e da atividade acidogênica, e possível deficiência na atividade metanogênica.

5.1.3. Produtos intermediários

Durante a operação, na etapa cuja alimentação era apenas esgoto sanitário, nenhuma concentração de ácidos orgânicos foi detectada. No entanto, com a adição de glicerol, foram detectados os ácidos acético, propiônico, isobutírico e butírico, tanto no efluente quanto no afluente ao reator.

Na tabela 10, apresenta-se a síntese das análises de ácidos para as duas fases de operação do reator. Observa-se que, para a etapa de alimentação com esgoto e glicerol, a quantidade de ácidos aumentou tanto no efluente quanto no afluente. As concentrações presentes no afluente são justificadas pela pré-fermentação do glicerol no tanque de alimentação, de modo que a concentração de ácidos totais afluente ao reator foi de 160 mg.L^{-1} . Além disso, para os ácidos isobutírico e isovalérico, as concentrações afluentes foram maiores que as concentrações do efluente, confirmando consumo desses ácidos no reator, tanto para a concentração afluente quanto para o que foi formado durante a digestão anaeróbia.

O aumento na carga orgânica afluente, devido ao glicerol, aumentou a atividade acidogênica no tanque de alimentação e contribuiu para introdução de ácidos orgânicos na corrente de alimentação. Porém, o baixo TDH e a baixa temperatura resultaram em condições inadequadas para a atividade metanogênica. Com isso, o ácido acético não foi convertido a metano e gás carbônico e saiu com o efluente do sistema. O desequilíbrio entre as populações

de microrganismos acidogênicos e metanogênicos levou ao acúmulo dos ácidos intermediários, que não foram convertidos e saíram no efluente.

Tabela 10 – Concentrações médias e desvios padrão dos ácidos orgânicos analisados para operação com reator único

(mg/L)	Fase I		Fase II	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
Glicose	16 ± 2,7	13,8 ± 1,3	17 ± 2	14,4 ± 2
Frutose	nd	nd	nd	nd
Ácido cítrico	nd	nd	5,1 ± 3	5,1 ± 3
Ácido láctico	0,9 ± 1,3	1,6 ± 2,3	nd	nd
Ácido fórmico	4,3 ± 4,8	nd	nd	nd
Ácido acético	56,8 ± 11,1	nd	63,1 ± 15	74,1 ± 4
Ácido propiônico	8 ± 6,7	nd	52,4 ± 26	86,8 ± 12
Ácido butírico	5 ± 7,1	nd	29 ± 9	26,9 ± 7
Ácido Isovalérico	nd	nd	6,4 ± 8	nd
Ácido valérico	nd	nd	nd	nd
5-HM-furf	nd	nd	nd	nd
Ácido capróico	nd	nd	nd	nd
Furfural	nd	nd	4,1 ± 1	1,5 ± 2
Ácidos totais	75,1 ± 16	1,6 ± 2,3	160,1 ± 54,3	194,3 ± 21

Fonte: Elaboração própria.

*nd: não detectado

A instabilidade no reator acontece quando a produção de ácidos graxos voláteis é maior que sua utilização pelas metanogênicas. Dessa forma, a concentração dos ácidos, em especial acetato e propionato aumenta, causando diminuição do pH caso não haja alcalinidade suficiente para tamponar o sistema. A utilização de ácidos graxos voláteis por bactérias metanogênicas diminui com a redução do pH, com consequente acúmulo de AGV e queda da atividade metanogênica. Nesse acúmulo de ácidos, o ácido butírico se acumula e o reator tem operação inibida. Além disso, a atividade metanogênica é inibida por alterações de temperatura, o que aconteceu diariamente durante a operação do reator, e pela presença de substâncias inibidoras (METCALF; EDDY, 2016).

Figura 19 – Ácidos intermediários da digestão anaeróbia durante a operação com reator único

Fonte: Elaboração própria.

5.1.4. Produção de biogás

Durante a operação de digestão com reator único, observou-se elevado teor de metano no biogás (na ordem de 96%). No entanto, a produção de biogás e o rendimento de metano foram abaixo do esperado. A produção volumétrica de metano para a alimentação com esgoto sanitário foi de $71 \pm 15 \text{ mLCH}_4\text{.L}^{-1}\text{.d}^{-1}$ e o rendimento de metano foi de $92 \pm 23 \text{ mLCH}_4\text{.gDQOremovida}^{-1}$, nas condições normais de temperatura e pressão (1 atm e 0°C), bem abaixo do rendimento teórico de $350 \text{ mLCH}_4\text{.gDQOremovida}^{-1}$.

A baixa produção volumétrica de metano, bem como o baixo rendimento do gás foram outros indícios da instabilidade do sistema biológico, uma vez que não houve atividade metanogênica estável. Isso é observado pelo gráfico 20, em que, mesmo com menor COV, a fase 1 (esgoto sanitário na alimentação) produziu maior quantidade de biogás devido à manutenção de estabilidade na biodigestão no reator. Com aumento da COV e queda na estabilidade do reator, a produção de gás diminui até cessar, indicando colapso do sistema biológico.

Nas análises de composição do biogás, em nenhuma amostra foram detectados os gases hidrogênio, carbônico e metano juntos. Na maioria das amostras, os gases presentes eram metano e gás carbônico, nas proporções de 98 e 2%. Poucas vezes foi observado o gás hidrogênio no conteúdo da amostra. Nas vezes que esse gás foi detectado, ele foi o único componente do biogás, e foram episódios em que as análises gasosas ocorreram em menos de 8h após adição de glicerol na corrente de alimentação.

Na figura 20 estão apresentados os gráficos de produção volumétrica e rendimento de metano para o reator operando com apenas um reator.

Tabela 11 – Produção volumétrica e rendimento de metano médios durante a operação com reator único

	Fase I	Fase II
Produção volumétrica de metano (mLCH₄.(L.d)⁻¹)	71 ± 15	38 ± 21
Rendimento de metano (mLCH₄.(gDQOremovida)⁻¹)	92 ± 23	64 ± 45

Fonte: Elaboração própria.

Figura 20 – Produção volumétrica e rendimento de metano

Fonte: Elaboração própria.

Duas observações foram feitas durante o projeto. Uma é a de aumento na vazão de biogás produzido e outra é a alteração na composição do biogás devida à adição de glicerol no esgoto sanitário. Quanto à composição do biogás, foi constatado que a adição de glicerol juntamente com o esgoto sanitário favorece o aumento do teor de metano no biogás.

Devido às dificuldades na operação, o reator teve condições operacionais modificadas. Uma das alternativas foi a adoção de operação da digestão anaeróbia em duas etapas, uma acidogênica e uma metanogênica, e a outra foi o controle da temperatura operacional em 25°C. Os resultados dessas modificações estão apresentados na Parte II.

5.2. Parte II – Operação com dois reatores

Devido às variações de DQO no esgoto afluente, a estratégia de adição de glicerol por porcentagem em volume foi substituída pela adição segundo a COV. Dessa forma, a quantidade de glicerol afluente foi variada de acordo com o efluente do reator UASB piloto. Como o esgoto era pré tratado, a variação no volume de glicerol era quase que insignificante, devido à constância nos valores de DQO do efluente.

5.2.3. Remoção de matéria orgânica

Nessa etapa experimental, o reator foi operado por cinco fases. Para essa operação, o glicerol foi adicionado progressivamente, aumentando a COV afluyente ao sistema.

A carga máxima que o sistema suportou, correspondente a fase V, foi de $2,48 \pm 0,19$ kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Com a aplicação dessa carga orgânica, o sistema biológico apresentou sobrecarga de ácidos, queda de remoção de matéria orgânica, aumento da relação AI/AP, e queda de pH.

Na fase I, o reator foi alimentado apenas com efluente de reator UASB tratando esgoto sanitário, e nas fases seguintes, o glicerol foi adicionado a esse efluente e introduzido no reator metanogênico.

Na tabela 12, há o resumo dos valores relativos à remoção de matéria orgânica durante a operação do reator. Na figura 21, estão apresentados os valores de DQO afluyente e efluente, frações totais e solúveis, durante a operação com dois reatores metanogênicos.

Tabela 12 - Valores médios e desvio padrão para a DQO afluyente e efluente, porcentagem de remoção de DQO e carga orgânica volumétrica aplicada ao reator híbrido.

		Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Fase V
DQO Afluyente (mgO₂.L⁻¹)	Total	239 ± 53	359 ± 73	550 ± 74	697 ± 74	826 ± 63
	Dissolvida	178 ± 63	305 ± 103	412 ± 151	584 ± 151	608 ± 236
DQO Efluente (mgO₂.L⁻¹)	Total	118 ± 32	114 ± 50	117 ± 82	159 ± 82	200 ± 31
	Dissolvida	74 ± 25	81 ± 26	99 ± 60	122 ± 60	132 ± 54
DQO removida (mgO₂.L⁻¹)	Total	120 ± 74	245 ± 80	433 ± 107	537 ± 107	626 ± 80
	Dissolvida	104 ± 55	224 ± 93	313 ± 142	461 ± 142	476 ± 202
Remoção (%)	Total	47 ± 24	68 ± 16	78 ± 12	77 ± 12	76 ± 5
	Dissolvida	54 ± 19	71 ± 10	75 ± 12	78 ± 12	76 ± 9
COV aplicada (kgDQO.m⁻³.d⁻¹)	Total	0,72 ± 0,16	1,08 ± 0,22	1,65 ± 0,22	2,09 ± 0,22	2,48 ± 0,19
	Dissolvida	0,53 ± 0,19	0,92 ± 0,31	1,24 ± 0,45	1,75 ± 0,45	1,83 ± 0,71

Fonte: Elaboração própria.

Figura 21 - Concentrações afluente e efluente de DQO total (a) e dissolvida (b) ao longo do tempo de operação

a)

b)

Fonte: Elaboração própria.

Como observado pelos gráficos acima, a maior eficiência de remoção de matéria orgânica correspondente à DQO total ocorreu na fase III, com eficiência média de $78 \pm 12\%$.

No entanto, considerando estabilidade do processo e as frações total e dissolvida, a fase IV apresentou melhor desempenho, com porcentagens de $77 \pm 12\%$ em relação à DQOt e $78 \pm 12\%$ em relação à DQOs. Embora as fases IV e V tenham sido bastante parecidas em termos de remoção de DQO, a diferença entre ambas foi evidenciada pela alcalinidade do processo biológico, como apresentado no tópico 5.2.4.

As variações de DQO afluente e efluente nos gráficos foram principalmente devido à degradação do glicerol no tanque de alimentação, especialmente em períodos de elevada temperatura. Embora o reator metanogênico tenha sido mantido à temperatura constante de 25°C , o tanque de alimentação foi mantido à temperatura ambiente, propiciando a acidificação do glicerol, e reduzindo a DQO afluente. Os períodos de maiores quedas na DQO afluente ocorreram em fins de semana, e episódios em que a alimentação ficava com mais de 2 dias sem ser renovada.

O valor da COV para a melhor fase de operação $2,09 \pm 0,22 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, foi maior que os valores de carga orgânica volumétrica ótima obtidos nos trabalhos de Athanasoulia et al. (2014) e Baba et. al. (2013), respectivamente 1,7 e 1,48 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. E a COV nesse trabalho foi menor que os valores obtidos de 4,5, 5,41 e 2,97 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ obtidos respectivamente por Siles et al. (2010), Castrillón et al. (2013) e Nartker et al. (2014).

Na fase V, observa-se que houve queda na remoção de DQO, indicando início do colapso do sistema.

Comparando a parte I do experimento, relativa à operação da digestão com um único reator, e a parte II, correspondente à operação com dois reatores, a utilização de um reator metanogênico amortecendo as variações do esgoto sanitário favoreceu a aplicação de maior COV. Também é importante levar em consideração as estratégias de adição de glicerol utilizadas, e a ausência de tratamento preliminar e primário na instalação experimental utilizada. A parte I do experimento pode ter sido prejudicada pela grande variação no esgoto afluente, tanto em sólidos quando em DQO. Na parte II, a presença do reator UASB amorteceu essas variações, contribuindo para que o afluente ao reator metanogênico tivesse carga de DQO e sólidos mais constante, evitando choques na comunidade microbiana.

5.2.4. Alcalinidade total e a bicarbonato

Durante a digestão anaeróbia, o gás carbônico é gerado, e grande parte desse gás fica dissolvida na fase líquida. Para balancear a elevada concentração de ácido carbônico devido ao

CO₂, é necessário alcalinidade a bicarbonato (parcial) para manter o pH do processo em torno de 7 (METCALF; EDDY, 2016). Como o objetivo do projeto é aplicação real, optou-se por não adicionar alcalinidade externa ao sistema devido à inviabilidade econômica.

Tabela 13 - pH, alcalinidade parcial, intermediária e total do afluente e efluente ao reator durante operação com dois reatores metanogênicos

		Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Fase V
pH	Afluente	7,57 ± 0,27	7,43 ± 0,26	7,28 ± 0,35	7,06 ± 0,51	7,36 ± 0,48
	Efluente	7,79 ± 0,27	7,82 ± 0,17	7,29 ± 0,28	7,36 ± 0,35	6,87 ± 0,87
Alcalinidade parcial (mgCaCO₃.L⁻¹)	Afluente	83 ± 42	105 ± 24	99 ± 33	79 ± 34	117 ± 33
	Efluente	98 ± 43	109 ± 41	85 ± 28	104 ± 32	83 ± 47
Alcalinidade Intermediária (mgCaCO₃.L⁻¹)	Afluente	31 ± 12	35 ± 14	35 ± 8	40 ± 14	47 ± 17
	Efluente	35 ± 9	30 ± 7	32 ± 11	35 ± 16	64 ± 48
Alcalinidade Total (mgCaCO₃.L⁻¹)	Afluente	114 ± 51	140 ± 27	134 ± 37	119 ± 38	164 ± 35
	Efluente	133 ± 48	139 ± 47	117 ± 27	138 ± 35	136 ± 19

Fonte: Elaboração própria.

Observando os valores médios de pH no efluente, há uma queda significativa de pH da fase IV para a fase V, indicando instabilidade no sistema biológico.

Durante as quatro primeiras fases de operação, não foi observado nenhum episódio de ausência de alcalinidade parcial, ou a bicarbonato. Apenas na fase V da operação houve episódios em que o pH do efluente esteve abaixo de 5,75 e, portanto, a alcalinidade parcial foi inexistente. As fases II e IV apresentaram maiores valores de alcalinidade parcial no efluente, sendo, respectivamente, 109 ± 41 e 104 ± 32 mgCaCO₃.L⁻¹.

Em relação à alcalinidade intermediária, ou a ácidos orgânicos, os valores foram aumentando durante as fases, de modo que na fase V, o efluente apresentou maior valor de alcalinidade intermediária (64 ± 48 mgCaCO₃.L⁻¹).

Figura 22 - pH afluente e efluente ao sistema

Fonte: Elaboração própria.

Figura 23 - Alcalinidade intermediária afluente e efluente

Fonte: Elaboração própria.

Figura 24 - Alcalinidade parcial afluente e efluente

Fonte: Elaboração própria.

5.2.5. Produtos intermediários

Durante a segunda etapa de operação do projeto, a quantidade de ácidos totais efluente foi menor do que na operação em apenas um reator. Esse resultado afirma a efetividade do controle das variações do esgoto sanitário por meio da utilização de um reator UASB metanogênico.

Dentre os produtos da degradação do glicerol, encontram-se o butirato, acetato, propionato, ácido propiônico e lactato. Analisando os dados de ácidos orgânicos afluentes, é possível observar a presença dos ácidos láctico, fórmico, acético, propiônico e isobutírico, o que indica a ocorrência de degradação do glicerol previamente à introdução no reator metanogênico híbrido.

Em relação ao efluente do reator, o ácido fórmico foi detectado no início da operação e na última fase. Infere-se que a presença desse ácido nessas duas condições de operação indica a instabilidade no sistema biológico, inicialmente por ter ocorrido no período de adaptação da

biomassa e, na última fase, devido ao comprometimento irreversível da metanogênese, que resultou no colapso do processo.

O ácido acético foi detectado apenas no efluente da primeira fase, quando o reator híbrido era operado apenas com efluente de esgoto sanitário tratado. A adição de glicerol não influenciou no acúmulo de ácido acético no sistema, concluindo-se que este composto foi bem consumido pela comunidade microbiana.

Quanto ao ácido propiônico, este foi detectado em baixas concentrações, tanto no afluente, quanto no efluente do sistema. Na fase IV de operação, observa-se que o reator produziu o ácido, com concentração na ordem de $0,9 \pm 1,9 \text{ mg.L}^{-1}$.

O ácido butírico foi observado em todas as fases de operação, com exceção da fase II (menor quantidade de glicerol adicionada ao sistema). Para as fases III, IV e V, o ácido esteve presente tanto no efluente quanto no afluente. Nas fases III e IV, o reator biológico foi capaz de consumir a carga de ácido afluente e a que foi produzida no interior do reator, enquanto que na fase V, a concentração na saída do reator foi significativa.

Em relação aos ácidos totais, obtidos por titulação, há um aumento na concentração efluente a partir da fase III. Para as fases I, II e IV o reator foi capaz de reduzir a concentração de ácidos afluentes, além de consumir os ácidos orgânicos produzidos pela fermentação do glicerol e outros constituintes orgânicos. Nas fases III e V, a produção de ácidos pelo sistema biológico não foi totalmente convertida em outros produtos finais.

Observa-se que o aumento do volume de glicerol adicionado à alimentação do reator resultou no aumento da concentração de ácidos orgânicos no afluente, resultando no aumento da carga orgânica aplicada no reator metanogênico híbrido. A fermentação do glicerol segue diferentes caminhos, dependendo dos microorganismos envolvidos e das condições ambientais impostas ao sistema (BIEBL, 2001). Como o inóculo é de cultura mista e o cosubstrato é esgoto sanitário, era esperado que vários subprodutos das cadeias de fermentação do glicerol fossem encontrados nas análises. No entanto, nas análises de efluente do reator não houve valores de concentração significativos para os ácidos acético, propiônico, fórmico e butírico, não sendo detectado nenhum deles em diversas amostras. Tais resultados permitem inferir que o reator consumiu bem esses subprodutos, não havendo acúmulo significativo dos mesmos. O aumento nos ácidos observado na operação foi relativo aos ácidos totais.

Como o glicerol é um substrato que está prontamente disponível para bactérias acidogênicas, e é de fácil degradação, admite-se que a metanogênese foi a etapa limitante na digestão anaeróbia. Isso porque a produção de ácidos por bactérias fermentativas é mais rápida que o consumo dos ácidos pelas bactérias metanogênicas. Isso ocorre porque o coeficiente de produção celular das bactérias fermentativas é maior do que das bactérias metanogênicas (METCALF; EDDY, 2016). Para manutenção da estabilidade da digestão anaeróbia seria necessário adicionar alcalinidade para manter o pH na faixa de interesse para a metanogênese, dado o desbalanceamento nos processos de produção e consumo dos ácidos. Como o projeto visou estudar a possibilidade da adição de glicerol em estações de tratamento de esgoto, era inviável a adição de alcalinidade externa ao processo. Dessa forma, a presença de ácidos orgânico inibiu a atividade metanogênica na fase V, como pode ser comprovado pelo aumento na concentração efluente de ácidos totais. Na tabela 14, estão indicadas as concentrações médias obtidas nas amostras estudadas.

Tabela 14 - Concentrações médias e desvio padrão dos ácidos orgânicos analisados para a primeira operação

		Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Fase V
Ácidos totais (mg/L)	Afluente	36,1 ± 14,7	37,6 ± 26,6	30,3 ± 20,1	44,2 ± 36,1	58,2 ± 36,2
	Efluente	32,5 ± 18,5	21,6 ± 6,3	34,6 ± 24,9	37,0 ± 26,7	104,1 ± 113

Fonte: Elaboração própria.

5.2.6. Produção de biogás

Assim como na operação com apenas um reator, a adição de glicerol ao efluente de reator UASB tratando esgoto sanitário favoreceu o aumento do teor de metano no biogás (média de 92%). Portanto, a adição de glicerol contribui para variação na composição do biogás.

Ao contrário do que foi observado na primeira parte do projeto, não foi detectada a presença de gás hidrogênio em nenhuma amostra. Durante essa operação com dois reatores, em algumas amostras não foi detectado a presença de gás carbônico, sendo que o biogás era composto exclusivamente por metano. Isso pode ser um indício de que o CO₂ ficou dissolvido ou que houve consumo desse gás por bactérias autotróficas. A redução de dióxido de carbono em acetato é denominado homoacetogênese. Nessa reação, bactérias homoacetogênicas consomem hidrogênio e dióxido de carbono produzindo água e acetato. Esses microorganismos competem pelo hidrogênio com metanogênicas hidrogenotróficas. E embora produzam acetato, a ocorrência da homoacetogênese não reflete em aumento do acetato no efluente, uma vez que esse subproduto é prontamente convertido em gás metano.

Em geral, quanto maior a carga orgânica do afluente, maior a quantidade de metano produzido por volume tratado. No entanto, a fase V, de maior carga orgânica, foi a etapa de declínio da atividade metanogênica e instabilidade do sistema biológico. Observa-se um aumento no rendimento de metano nas fases II, III e IV, conforme o glicerol foi sendo adicionado. É interessante observar que o rendimento de metano para a fase I foi muito próximo do rendimento de metano para a fase IV. É possível deduzir que a comunidade microbiana precisou de um tempo longo para se adaptar ao novo substrato adicionado, por isso as fases II e III tiveram rendimento menor que a fase I.

A produção de biogás e o rendimento de metano também foram abaixo do esperado, como na primeira parte de operação do projeto. Na fase IV, a produção volumétrica de metano foi de $126 \pm 125 \text{ mLCH}_4.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e o rendimento de metano foi de $75 \pm 68 \text{ mLCH}_4.\text{gDQOremovida}^{-1}$, nas condições normais de temperatura e pressão (1 atm e 0°C). Embora o rendimento de metano tenha sido bem abaixo do rendimento teórico de $350 \text{ mLCH}_4.\text{gDQOremovida}^{-1}$, essa fase apresentou os maiores valores de rendimento observados.

Os baixos valores observados em relação aos valores estimados de produção de metano a partir da DQO degradada são indícios de dificuldade no sistema de medição de biogás ou perda de metano dissolvido no efluente. Além disso, pode ter ocorrido perda de biogás no sistema, o qual não foi mensurado.

Na tabela 15 e no gráfico da figura 25, estão apresentados, respectivamente, os valores de produção volumétrica e rendimento de metano médio para cada uma das fases, e a evolução temporal desses dois parâmetros.

Tabela 15 - Produção volumétrica e rendimento de metano médios durante a operação com dois reatores.

	Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV	Fase V
Produção volumétrica de metano ($\text{mLCH}_4.(\text{L.d})^{-1}$)	26 ± 12	23 ± 13	69 ± 61	126 ± 125	92 ± 81
Rendimento de metano ($\text{mLCH}_4.(\text{gDQOremovida})^{-1}$)	72 ± 46	36 ± 23	52 ± 47	75 ± 68	49 ± 52

Fonte: Elaboração própria.

Figura 25 - Produção volumétrica e rendimento de metano médios durante a operação com dois reatores

Fonte: Elaboração própria.

Com os resultados obtidos na fase IV dessa operação com dois reatores, foi realizado um balanço de massa simples (figura 26) com os valores de DQO e vazão de metano diária. Pelo balanço de massa, é possível observar que praticamente toda a carga orgânica afluyente proveniente do glicerol foi convertida em biogás, de modo que a DQO efluente ao reator é remanescente da matéria orgânica presente no efluente do reator UASB tratando esgoto sanitário.

A partir do volume de metano medido no biogás, foi observado que cerca de 552 mL de metano eram medidos por dia, e portanto, $220 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{d}^{-1}$ foram perdidos no efluente, nesse caso, desconsiderou-se perdas no sistema de coleta do biogás. Dessa forma, aproximadamente 28% de todo o metano produzido estava dissolvido no efluente do reator.

Figura 26 – Balanço de massa para o reator híbrido.

Fonte: Elaboração própria.

5.3. Análises microbiológicas

Nessa etapa do experimento, foram realizadas análises de atividade metanogênica, microscopia e PCR/DGGE

5.3.1. Atividade metanogênica específica

A atividade metanogênica específica do lodo utilizado como inóculo era de $0,4204 \text{ gDQOCH}_4\text{.gSSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$. Ao final do experimento com operação utilizando dois reatores, os valores observados foram $0,2135 \text{ gDQOCH}_4\text{.gSSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$ para a manta de lodo e $0,108 \text{ gDQOCH}_4\text{.gSSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$ para a biomassa na espuma no reator metanogênico. Os baixos valores de AME também são indícios da instabilidade no sistema biológico, uma vez que a comunidade microbiana não estava tão apta para produção de metano, refletindo o que foi observado na fase V da segunda operação do experimento.

5.3.2. Microscopia óptica

Para microscopia, as análises foram realizadas com as comunidades microbianas do inóculo e do reator metanogênico híbrido na segunda etapa do projeto, tanto para a comunidade na manta de lodo, quanto para a obtida da espuma de poliuretano.

Na microscopia óptica, foi observada a morfologia das comunidades. No lodo de inóculo, a comunidade era bastante diversa, com a presença em maior quantidade de formas similares a metanosaetas, bacilos de formas variadas, bactérias redutoras de sulfato, bacilos hidrogenotróficos, e em menor quantidade morfologias similares a metanosarcinas. A microscopia do inóculo está apresentada na figura 27.

Figura 27 – Comunidade microbiana do inóculo visto em microscopia óptica.

Fonte: Elaboração própria.

Com relação à comunidade da manta de lodo do reator metanogênico com operação com dois reatores, observou-se diminuição na diversidade de espécies com predomínio de morfologias similares a bacilos hidrogênotróficos. Nessa comunidade, os bacilos se apresentaram mais ativos do que no inóculo. Algumas formas parecidas com bactérias redutoras de sulfato e metanosaeta foram observadas. Além disso, morfologia similares a bactérias acidogênicas foram verificadas, e esses representantes foram exclusivos da amostra da manta de lodo. Na figura 28 está apresentado imagens de microscopia da comunidade observada na manta de lodo do reator metanogênico com operação em duas etapas.

Figura 28 - Comunidade microbiana do manta de lodo de reator metanogênico com operação com dois reatores visto em microscopia óptica

Fonte: Elaboração própria.

Na microscopia da comunidade presente na espuma de poliuretano, foi observado a presença de morfologias similares a protozoários, indicando baixa concentração de O₂ nos poros do meio suporte. Além disso, formas morfológicas de bacilos hidrogênotróficos e metanosaeta também foram observados, algumas inclusive com vacúolos. Nas figuras 29 estão apresentadas as imagens de microscopia da comunidade obtida da espuma de poliuretano.

Figura 29 - Comunidade microbiana da espuma do reator metanogênico com operação com dois reatores visto em microscopia óptica

Fonte: Elaboração própria.

Com a microscopia é possível concluir que a diversidade morfológica diminuiu com o uso de glicerol, indicando uma seleção da comunidade microbiológica inoculada no reator. Em todas as amostras houve predomínio de formas morfológicas parecidas com bactérias hidrogênitróficas na forma de bacilos, e pouca representatividade de morfologias de bactérias acetoclásticas. A presença de formas similares bacilos hidrogênitróficos os quais consomem H_2 e CO_2 , pode justificar a ausência desses dois gases, em especial o gás carbônico, nas análises de composição gasosa do biogás.

5.3.3. PCR/DGGE

A variação das comunidades microbianas do inóculo e do reator metanogênico de duas fases foi analisada por meio da técnica de PCR/DGGE. Para o reator, a manta de lodo e a comunidade aderida a espuma foram estudadas.

De acordo com os dendrogramas que relacionam os perfis das bandas, é possível inferir que o glicerol foi responsável pela seleção das comunidades microbianas, tanto para o Domínio Bacteria quanto para o Domínio Archea, como apresentado na figura 30 (a) e (b), respectivamente.

Figura 30 - Dendrogramas do perfil de bandas em DGGE para os Domínios Bacteria (a) e Archea (b) construídos com base na correlação de Pearson.

Fonte: Elaboração própria.

Observa-se que no Domínio Bactéria, houve 90% de similaridade entre os perfis nos ensaios com as comunidades presentes na manta de lodo e na espuma de poliuretano. Essas duas comunidades do reator metanogênico apresentaram cerca de 35% de similaridade com o

inóculo, indicando que o uso do glicerol resultou em seleção da comunidade inicialmente introduzida no reator. Isso pode ser mais claramente observado pelo dendograma, com a diminuição na intensidade ou no desaparecimento de diversas bandas presentes no inóculo. Em contrapartida, algumas bandas foram intensificadas quando o glicerol esteve presente na alimentação do reator, indicando que esse produto favoreceu essas bactérias.

Em relação ao Domínio Archea, a similaridade entre as comunidades na manta de lodo e na espuma de poliuretano foi de 85%, e desses dois ensaios com o inóculo foi de cerca de 65%. Nesse Domínio, é possível observar a persistência de uma banda em todos os perfis, indicando que esse grupo microbiano resistiu bem ao glicerol. Nota-se também a intensificação de uma banda nas comunidades presentes no reator, em relação ao inóculo. Dessa forma, é possível inferir que o glicerol favoreceu o desenvolvimento desse grupo. Além disso, observa-se também um intenso enfraquecimento de uma das bandas presentes no inóculo, indicando que esse grupo microbiano não suportou a presença do glicerol.

Em relação aos índices de diversidade, comparando com as comunidades bacterianas da manta de lodo e espuma de poliuretano, a dominância aumentou e a diversidade diminuiu. Isso evidencia o favorecimento de espécies mais resistentes ao glicerol, contribuindo para diminuição na diversidade microbiana.

Para as archeas, é possível observar que no inóculo, a dominância foi menor que na manta de lodo, e maior que na espuma. Isso indica que na manta de lodo a comunidade foi menos diversa que na espuma. Pode-se inferir que a adição de glicerol é responsável por tal configuração, uma vez que a manta de lodo recebe a maior carga desse composto que contém diversas substâncias tóxicas à comunidade. Ao ponto que a comunidade presente na espuma é responsável pelo polimento do efluente, não recebendo a carga inicial de glicerol.

Em relação ao índice de Chao-1, observa-se uma riqueza maior para as bactérias na manta que na espuma, enquanto que para as archeas, o índice foi o mesmo. Interessante observar que esse índice foi maior para as comunidades alimentadas com glicerol em comparação com o inóculo.

Tabela 16 - Índices de dominância, diversidade de Shannon e riqueza (Chao-1) para os Domínios Bacteria e Archea.

	Bactéria			Archea		
	Dominância	Diversidade de Shannon	Índice de Chao-1	Dominância	Diversidade de Shannon	Índice de Chao-1
Inóculo	0,076	2,766	21	0,317	1,29	5
Manta de lodo	0,087	2,698	24	0,371	1,262	7
Espuma de poliuretano	0,092	2,632	22	0,228	1,632	7

Fonte: Elaboração própria.

5.4. Análise de viabilidade no uso do biogás oriundo da codigestão de glicerol e esgoto sanitário

A análise de viabilidade no uso de biogás em estações de tratamento de esgoto através da adição de glicerol em reatores híbridos foi feita com a melhor fase de operação observada no experimento. Concluiu-se que a melhor etapa foi a fase IV relativa a operação com dois reatores, em que a remoção de matéria orgânica, a produção volumétrica e rendimento de metanos apresentaram os maiores valores, e a estabilidade do sistema biológico foi mantida.

Considerando, hipoteticamente, uma cidade com 200.000 habitantes, com geração média de 160 L de esgoto por dia (NBR 7229, 1997), DQO média de $400 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$, e com a estação municipal de tratamento de esgoto operando com reator UASB como unidade biológica de tratamento, com eficiência média de remoção de matéria orgânica na forma de DQO de 65%. Para esse cenário, a produção teórica de metano nas condições normais de temperatura e pressão é de $2.910 \text{ m}^3\text{CH}_4$ por dia.

Se essa estação adotar reator híbrido e suplementar o esgoto afluyente com glicerol, a carga de DQO afluyente e a eficiência de tratamento serão alterados. Considerando os resultados obtidos na melhor fase desse projeto, em que a quantidade média de glicerol adicionado ao afluyente do reator era de 0,48 ml para cada litro de efluente de reator UASB, a DQO afluyente à ETE passaria a ser de $975 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$, e devido à introdução de material de imobilização celular, a eficiência de remoção de DQO do reator passaria a ser de 77%. Com esse novo cenário, a produção teórica de metano nas condições normais de temperatura e pressão seria de $8.403 \text{ m}^3\text{CH}_4$ por dia. A modificação do reator UASB em híbrido e a suplementação de glicerol,

resultariam em aumento na produção de metano de 2,8 vezes a produção teórica do cenário inicial.

Portanto, o aproveitamento da capacidade de produção de biogás já instalada no país e o uso energético de metano em estações de tratamento de esgoto sanitário, podem ser viabilizados por meio da adição de glicerol como cossustrato ao esgoto sanitário afluyente ao sistema biológico, e pela melhoria no desempenho de reator UASB devido à imobilização de parte da biomassa em reator híbrido.

6. Conclusão

O experimento foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira, a digestão anaeróbia foi realizada com reator único, e na segunda etapa, o sistema foi operado com dois reatores metanogênicos. A mudança foi feita devido a dificuldades operacionais enfrentadas na primeira etapa, e com objetivo de melhorar a eficiência do sistema biológico.

Na primeira parte de operação do projeto, o reator híbrido operado com 8h de tempo de detenção hidráulica, mantido à temperatura ambiente, não apresentou bom desempenho, com queda de pH e baixa produção de biogás com pouco tempo de operação. O reator foi operado com COV limitante de $2,2 \pm 0,81 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e levado ao colapso. Para promover a recuperação da atividade metanogênica, o efluente do reator foi recirculado algumas vezes.

Na operação em duas fases, o reator híbrido também foi operado com 8h de tempo de detenção hidráulica, com manutenção da temperatura operacional em 25°C. O desempenho do reator foi melhor do que na primeira experiência, com COV ótima de $2,09 \pm 0,22 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e limitante de $2,48 \pm 0,19 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

As comunidades microbianas do inóculo e do reator metanogênico híbrido da segunda etapa do experimento foram analisadas por meio de ensaios de AME, microscopia óptica e PCR/DGGE. Concluiu-se que o glicerol promoveu seleção da comunidade, intensificando a presença de alguns táxons, e impedindo o desenvolvimento de outros. Em relação à caracterização, formas similares a bacilos hidrogenotróficos consumidores de H_2 e CO_2 foram a morfologia dominante nas comunidades do interior do reator operado com esgoto e glicerol.

Considerando a eficiência de remoção de matéria orgânica, produção de ácidos orgânicos, produção de biogás e estabilidade do sistema biológico devido a alcalinidade, a melhor fase de operação foi a fase IV relativa à operação com dois reatores metanogênicos. Para essa fase, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de $77 \pm 12\%$ para a DQO total e $78 \pm 12\%$ para a DQO solúvel. Nessas condições o rendimento de metano nas condições normais de temperatura e pressão foi de $75 \pm 68 \text{ mLCH}_4.\text{gDQOremovida}^{-1}$. Embora essa produção tenha sido bem abaixo da produção teórica ($350 \text{ mLCH}_4.\text{gDQOremovida}^{-1}$), o teor de metano no biogás foi na ordem de 92%, com ocorrência episódios de ausência de gás carbônico e hidrogênio. O baixo valor medido no experimento pode ter sido devido à vazamentos de gás e metano dissolvido no efluente.

Com os dados de remoção de matéria orgânica e rendimento de metano para a melhor fase de operação, foi possível fazer um breve estudo de viabilidade do uso de glicerol em estações de tratamento de esgoto sanitário visando aumento na produção de biogás. O estudo indicou que a modificação de um reator UASB em reator híbrido e a adição de glicerol ao esgoto sanitário afluente ao sistema biológico pode resultar em um aumento de 2,8 vezes na produção teórica de metano na estação.

Embora a produção de biogás tenha sido abaixo da esperada no experimento, o uso do glicerol em estações de tratamento de esgoto utilizando reatores híbridos pode ser uma alternativa de aumento na produção de metano.

6.1 Recomendações para pesquisas futuras

Com o objetivo de aprofundar os resultados obtidos com esse trabalho, recomenda-se:

- Realizar estudos com codigestão de esgoto sanitário e glicerol em reatores com TDH menor, favorecendo maior mistura.
- Avaliar a carga orgânica aplicada ao lodo.

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.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**: 2014. Rio de Janeiro, 2018.
- AHRING, B. K.; SANDBERG, M.; ANGELIDAKI, I. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digesters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 559–565, 1995.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington, DC: APHA/AWWA/WEF, 2005.
- ARAÚJO, T. L. S. **Desempenho de reator anaeróbio híbrido (leito fixo e manta de lodo) tratando esgoto sanitário em escala piloto**. 2014. 125p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- ARAÚJO JÚNIOR, M. M. et al. Evaluation of an innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for brewery wastewater treatment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 33, n. 4, p. 733–741, 2016.
- ARAÚJO JUNIOR, M. M. et al. Estudo do efeito da adição de material suporte para adesão celular em reator de lodos ativados tipo Cass ® (Cyclic Activated Sludge System) tratando esgoto sanitário municipal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 26., 2011, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo:ABES, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7229**: Projeto , construção e operação de sistemas de tanques sépticos. Rio de Janeiro, 1997.
- ATHANASOULIA et al. A. Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol from biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 62, p. 73–78, 2014.
- BABA, Y. et al. Bioresource Technology Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel manufacturing using a large-scale pilot plant : Methane production and application of digested sludge as fertilizer. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 342–348, 2013.
- BIEBL, H. Fermentation of glycerol by clostridium pasteurianum - batch and continuous culture studies. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 18–26, 2001.
- BUDYCH-GORZNA, M.; SMOCZYNSKI, M.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Enhancement of biogas production at the municipal wastewater treatment plant by co-digestion with poultry industry waste. **Applied Energy**, v. 161, p. 387–394, 2016.

BUNDESMINISTERIUM FÜR UMWELT, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT (ATUAL BMUB), ERNEUERBARE ENERGIEN IN ZAHLEN, NATIONALE UND INTERNATIONALE ENTWICKLUNG. Erfurt, 2011. Disponível em:<http://www.erneuerbare-energien.de/files/pdfs/allgemein/application/pdf/broschuere_ee_zahlen_bf.pdf>. Acesso em: 17 de dezembro de 2018.

CARNEIRO, R. B. **Utilização de glicerol como fonte de carbono para desnitrificação e remoção biológica de fósforo em reator submetido à aeração intermitente**. 2015. 106p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

CASSINI, S. T. (Coord.). **Digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento de Biogás**. Vitória: PROSAB/FINEP, 2003.

CASTRILLÓN, L. et al. Methane production from cattle manure supplemented with crude glycerin from the biodiesel industry in CSTR and IBR. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 312–317, 2013.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated application of the UASB reactor and ponds for domestic sewage treatment in tropical regions**. Wageningen: Wageningen University, 2003. Disponível em:<<http://library.wur.nl/WebQuery/wda/1679354>>. Acesso em: 02 de novembro de 2018.

CAVALCANTI, P. F. F. et al. Excess sludge discharge frequency for UASB reactors. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 211–219, 1999.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2.ed. Belo Horizonte: UFMG, 2016. (Princípios do Tratamento biológico de Águas Residuárias, 5).

CHERNICHARO, C. A. L. et al. Configuração de reatores anaeróbios. In: CAMPOS, J. R. **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo (PROSAB)**. São Carlos: Rima, 1999. p. 155–198.

CHERNICHARO, C. A. L. et al. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 649–679, 2015.

CHI, Z. et al. A Laboratory study of producing docosahexaenoic acid from biodiesel-waste glycerol by microalgal fermentation. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 11, p. 1537–1545, 2007.

CHUA, H. et al. Responses of an anaerobic fixed-film reactor to hydraulic shock loadings. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 1, p. 79–83, 1997.

CHYNOWETH, D. P.; OWENS, J.; LEGRAND, R. Renewable energy from anaerobic digestion of biomass. **Renewable Energy**, v. 22, p. 1–8, 2001.

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

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 356–365, Apr. 1961.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Balanco energético nacional.** Rio de Janeiro, 2018.

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

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

FUESS, L. T. **Biodigestão anaeróbia termofílica de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração.** 2017. 344 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

GAUDENCIO, B. O. **Reator anaeróbio híbrido (leito fixo e manta de lodo) em escala plena tratando esgoto sanitário: avaliação da nova configuração.** 2016. 106 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

GRIFFITHS, R. I. et al. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA - and rRNA-based microbial community composition. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5488–5491, 2000.

GUIOT, S. R.; VAN DEN BERG, L. Performance and biomass retention of an upflow anaerobic reactor combining a sludge blanket and a filter. **Biotechnology Letters**, v. 6, n. 3, p. 161–164, 1984.

HALLENBECK, P. C. Fermentative hydrogen production: principles, progress, and prognosis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7379–7389, 2009.

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, n. 4, p. 585–602, 1986.

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

JERIS, J. S.; MCCARTY, P. L. The Biochemistry of methane fermentation using C¹⁴ tracers. **Water Pollution Control Federation**, v. 37, n. 2, p. 178–192, 1965.

JIANLONG, W.; HANCHANG, S.; YI, Q. Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates. **Process Biochemistry**, n. 36, p. 297–303, 2000.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 6ª Edição. Rio de Janeiro, 2014.

KE, S.; SHI, Z.; FANG, H. H. P. Applications of two-phase anaerobic degradation in industrial wastewater treatment. **International Journal of Environment and Pollution**, v. 23, n. 1, p. 65 - 80, 2005.

KENNEDY, K. J.; GUIOT, S. R. Anaerobic upflow bed-filter - Development and application. **Water Science and Technology**, v. 18, n. 12, p. 71–86, 1986.

KENNEDY, K. J.; VAN DEN BERG, L. Stability and performance of anaerobic fixed film reactors during hydraulic overloading at 10–35 C. **Water Research**, v. 16, n. 9, p. 1391–1398, 1982.

KÓSMIDER, A.; KATARZYNA, L.; KATARZYNA, C. Improved utilization of crude glycerol by-product from biodiesel production. In: MONTERO, G.; STOYTCHIEVA, M. (Ed.). **Biodiesel-quality, emissions and by-products**. London: InTech Open, 2011. Cap.19, p. 341–357.

KUDO, Y. et al. Methanogen flora of paddy soils in Japan. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 22, p. 39–48, 1997.

LABORATÓRIO DE CONTROLE AMBIENTAL DA UFSCar. 2019.

LEONETI, A. B.; ARAGÃO-LEONETI, V.; OLIVEIRA, S. V. W. B. Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil: alternatives for the use of unrefined glycerol. **Renewable Energy**, v. 45, p. 138–145, 2012.

LETTINGA, G.; HULSHOFF POL, L. W.; ZEEMAN, G. **Biological wastewater treatment**. Part II: anaerobic wastewater treatment. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1996.

LETTINGA, G. et al. 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, Z. et al. States and challenges for high-value biohydrogen production from waste biomass by dark fermentation technology. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 292–303, 2013.

MAMEDE, M. C. S. **Avaliação econômica e ambiental do aproveitamento energético de resíduos sólidos no Brasil**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2013.

MARCHAIM, U.; KRAUSE, C. Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic

digestion. **Bioresource Technology**, v. 43, n. 3, p. 195–203, 1993.

MARTINS, T. H. et al. Rapid specific methanogenic activity tests using a manometric system. In: WORLD CONGRESS ON ANAEROBIC DIGESTION, 14., 2015, Vina del Mar. **Proceedings.**, 2015.

MCCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals. **Chemistry and Microbiology**, v. 95, n. 9, p. 107–112, 1964.

MCCARTY, P. L. One hundred years of anaerobi treatment. In: HUGHES, D. E. (Ed.). **Anaerobic digestion**. Amsterdam: Elsevier Biochemical, 1981. p.3-22

MCCARTY, P. L.; SMITH, D. P. Anaerobic wastewater treatment. **Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 12, p. 1200–1206, 1986.

METCALF, E.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 5thed. New Dlhi: McGraw-Hill, 2016. Disponível em:<<http://www.lavoisier.fr/notice/fr097556.html>>. Acesso em: 02 de novembro de 2018.

MOSEY, F. E. Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 8-9, p. 209–232, Aug. 1983.

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

MOURA, R. B. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de esgoto sanitário em reator de leito estruturado submetido à aeração intermitente e recirculação do efluente**. 2014. 132 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

NARTKER, S. et al. Increasing biogas production from sewage sludge anaerobic co-digestion process by adding crude glycerol from biodiesel industry. **Waste Management**, v. 34, n. 12, p. 2567–2571, 2014.

NOONE, G. P. The Treatment of domestic wastes. In: WHEATLEY, A. (Ed.). **Anaerobic digestion: a waste treatment technology**. London: Elsevier Applied Science, 1990. p. 139–170.

NOYOLA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. E. Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: odor control and energy/resource recovery. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 93–114, 2006.

NUBEL, U. et al. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in paenibacillus polymyxa detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 19, p. 5636–5643, 1996.

PACHAURI, N.; HE, B. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production : a survey of current research activities. In: ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, Oregon, 2006. Paper number: 066223.

PAPANIKOLAOU, S. et al. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 1, p. 60–71, 2008.

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

PENTEADO, E. D. et al. **Simple and accurate method for determination of fatty acids, alcohols and carbohydrates by HPLC with UV/DAD and RID detectors**. In: HPLC 2012: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HIGH PERFORMANCE LIQUIDE PHASE SEPARATIONS AND RELATED TECHNIQUES, 38., 2012, Anaheim Marriot. **Proceedings**, 2012.

PERNA, V. et al. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 54–62, 2013.

POHLAND, G. F.; GHOSH, S. Developments in an- aerobic treatment process. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 2, p. 85–106, 1971.

PROBIOGÁS. **Tecnologias de digestão anaeróbia com relevância para o Brasil:** substratos, digestores e uso de biogásBrasil. Secretaria Nacional de Samenamento Ambiental. Brasília, DF: Ministério das Cidades, 2015. (Coletânea de Publicações Probiogás. Série Desenvolvimento do Mercado de Biogás). Disponível em:<<http://www.cidades.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/probiogas/probiogas-tecnologias-biogas.pdf>>. Acesso em: 20 de janeiro de 2019.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986.

SANTOS, V. F. Biodiesel: O combustível ecológico. Bolsista de Valor. **Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobrás e IF Fluminense**, v.2, n.1, p 215-219, 2012.

SILES, J. A. et al. Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 16, p. 6315–6321, 2010.

SILVA et al. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 30–39, 2009.

SILVA, A. J. et al. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. **Anaerobe**, v. 12, n. 2, p. 93–98, 2006.

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.

SINGH, K. S.; HARADA, H.; VIRARAGHAVAN, T. Low-strength wastewater treatment

by a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 55, n. 3, p. 187–194, 1996.

TAN, H. W.; ABDUL AZIZ, A. R.; AROUA, M. K. Glycerol production and its applications as a raw material: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 118–127, 2013.

TEMUDO, M. F. et al. Glycerol fermentation by (open) mixed cultures: a chemostat study. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, n. 6, p. 1088–1098, 2008.

THIELE, J. H.; ZEIKUS, J. G. Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 20–29, Jan. 1988.

TIWARI, M. K. et al. Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, n. 2, p. 145–154, 2006.

UEMURA, S.; HARADA, H. Treatment of sewage by a UASB reactor under moderate to low temperature conditions. **Bioresource Technology**, v. 72, n. 3, p. 275–282, 2000.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate**. Chichester: John Wiley, 1994.

VIANA, M. B. **Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. 130 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

XIE, S. et al. Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. **Bioresource Technology**. v. 222, p. 498-512. 2016.

YAZDANI, S. S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 3, p. 213–219, 2007.

YOUNG, J. C.; MCCARTY, P. L. The Anaerobic filter for waste treatment. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 41, n. 5, p.R160-R173, May 1969. Research Supplement to: 41,5, Part II.