

**MARIANA FURTADO GRANATO DE ALBUQUERQUE**

**TRATAMENTO DO GLICEROL BRUTO PROVENIENTE DA PRODUÇÃO DE  
BIODIESEL VISANDO A GERAÇÃO DE METANO.**

Ouro Preto, MG

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**TRATAMENTO DO GLICEROL BRUTO PROVENIENTE DA PRODUÇÃO DE  
BODIESEL VISANDO A GERAÇÃO DE METANO.**

**AUTORA:** Mariana Furtado Granato de Albuquerque

**ORIENTADORA:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvana de Queiroz Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Ouro Preto, MG.

2014

A345t      Albuquerque, Mariana Furtado Granato de.  
Tratamento do glicerol bruto proveniente da produção de biodiesel visando a geração de metano [manuscrito] / Mariana Furtado Granato de Albuquerque  
-  
2014.  
xi, 80f.: il.,;color.; graf.; tab.  
  
Orientadores: Profa. Dra. Silvana de Queiroz Silva  
  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto.  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.  
Área de concentração: Biotecnologia aplicada a processos e ao tratamento de doenças.  
  
1. Álcoois – Teses. 2. Biodiesel – Teses. 3. Metano - Teses. 4. Biogás - Teses. I. Silva, Silvana de Queiroz. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.  
  
CDU: 606:577.12

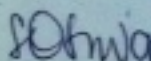
Catálogo: [sisbin@sisbin.ufop.br](mailto:sisbin@sisbin.ufop.br)

**Ata da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação Intitulada:**

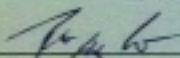
**"Tratamento do glicerol bruto proveniente da produção de Biodiesel visando a geração de metano"**

Aos dezessete dias do mês de fevereiro de 2014, às 13h00min, na Sala de Seminários do Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação da aluna **Mariana Furtado Granato de Albuquerque**. A defesa da dissertação iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por Aprovar a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

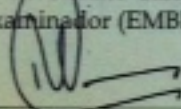
Membros da Banca Examinadora:



Prof. Dra. Silvana de Queiroz Silva  
Presidente




Prof. Dr. Renato Carrhá Leitão  
Examinador (EMBRAPA)



Prof. Dr. Rogelio Lopes Brandão  
Examinador (UFOP)

DATA DA DEFESA: 17/02/2014



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

NUPEB - ICEB II - sala 49 | Universidade Federal de Ouro Preto

Campus Universitário Morro do Cruzeiro | CEP 35.400-900 - Ouro Preto - MG - Brasil

Tel: 55 (31) 3559 1680 | E-mail: biotec@nupeb.ufop.br | www.nupeb.ufop.br/biotec

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, Ronaldo e Marúcia, e ao meu irmão Túlio, por sempre me incentivarem a alcançar meus sonhos, por me apoiarem financeiramente a continuar estudando e a seguir o caminho que escolhi para a minha vida: a carreira acadêmica.

Ao meu namorado, companheiro e melhor amigo Felipe, por sempre escutar meus desabafos, por me aturar nos momentos de estresse e por ser responsável pelo meu sorriso ao final de cada dia.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana de Queiroz Silva pela confiança em mim depositada para exercer este projeto de pesquisa, pelos ensinamentos e contribuições para que este trabalho fosse concluído.

Ao professor Dr. Sérgio Francisco de Aquino, por me acompanhar de perto ao longo do mestrado, pela grande colaboração e paciência ao me ajudar a interpretar os dados e por compartilhar seus conhecimentos.

Ao Bruno Baêta, Diego, Aline e todos os alunos de iniciação científica por me ajudarem a operar os reatores utilizados neste trabalho e a lidar com os imprevistos no laboratório. Ao pessoal dos laboratórios de “Biologia e Tecnologia de Microrganismos” e de “Controle Ambiental” pelo convívio prazeroso e ensinamentos.

Às minhas amigas de Belo Horizonte por me mostrarem que amizade verdadeira vence tanto a distância quanto a escolha de caminhos diferentes.

Às irmãs da República Doce Mistura, pelo apoio, torcida e pelos momentos de diversão em Ouro Preto.

Aos professores Gustavo, Evandro e Arlete pelo apoio para que eu ingressasse no mestrado e para que eu siga na carreira acadêmica.

Aos professores do NUPEB que contribuíram para minha formação e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, permitiram que eu chegasse até aqui.

Finalmente, gostaria de agradecer aos órgãos de fomento: à CAPES pela bolsa de mestrado, ao CNPq por financiar este projeto e à PROPP-UFOP pelo auxílio à participação em eventos.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,  
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre  
aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer

## RESUMO

Tradicionalmente, o tratamento de efluentes com alto teor de matéria orgânica é realizado através da técnica de digestão anaeróbia, que por sua vez é capaz de transformar a matéria orgânica complexa em gases com alto poder calorífico, como o hidrogênio e o metano. O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho de reatores UASB no tratamento do glicerol bruto derivado da produção de biodiesel em diferentes condições de concentração de DQO inicial, temperatura e TDH, principalmente no que tange à remoção de DQO, produção de metano e acúmulo de AGV. Além disso, comparou-se a degradação anaeróbia do glicerol bruto com a da glicerina pura. Quatro reatores UASB foram operados em 2 fases: na primeira, foram testados dois substratos diferentes sob temperaturas diferentes, carga orgânica de 1 g DQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e TDH de 24 horas. Na Fase 2, a carga orgânica foi dobrada e sua influência na degradação do glicerol bruto em diferentes temperaturas foi avaliada. Os principais resultados do estudo podem ser resumidos como a seguir: i) O glicerol bruto demonstrou não ser tóxico à biomassa anaeróbia e possuir boa capacidade de produção a metano (AME = 0,51 gDQO<sub>metano</sub>/gSSV.d e PM = 0,96 gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>incubada</sub>); ii) Elevadas eficiências medianas de degradação (77-84% de remoção de DQO) foram acompanhadas por pequeno acúmulo de AGV( 112–170 mg DQO<sub>AGV</sub>/L) na Fase 1 após um longo período de adaptação dos microrganismos, sem diferença significativa entre os reatores alimentados com glicerina pura e àqueles alimentados com glicerol bruto; iii) Uma maior carga orgânica (2 g DQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) prejudicou a remoção de matéria orgânica (21-48% de eficiência) e aumentou o acúmulo de AGV (272-563 mg DQO<sub>AGV</sub>/L); iv) A baixa produção de metano na Fase 1, em comparação com a Fase 2, indica que a quantificação deste gás foi subestimada. Portanto, pode-se inferir que o efluente da produção de biodiesel pode ser utilizado na produção de metano, mas a eficiência do processo é fortemente dependente e sensível à carga orgânica. Dessa forma, este estudo contribui fortemente para o avanço do conhecimento nas áreas de degradação anaeróbia do glicerol bruto e implantação desta técnica nas indústrias de biodiesel.

**Palavras-chave:** glicerol bruto, biodiesel, degradação anaeróbia, metano, UASB, tratamento de efluente.

## ABSTRACT

Traditionally, treatment of effluents with a high content of organic matter is performed by anaerobic digestion technique, able to transform complex organic matter in gases with high calorific value such as hydrogen and methane. The purpose of this study was to evaluate the performance of UASB reactors to treat crude glycerol from biodiesel production in different conditions of initial DQO concentration, temperature and HRT, mainly regarding to the COD removal, methane production and accumulation of VFA. Moreover, a comparison between anaerobic degradation of crude glycerol and pure glycerol was taken. Four UASB reactors were operated in two phases: in the first two substrates, organic load of  $1 \text{ g DQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  and HRT of 24 hours were tested in different temperatures. In Phase 2, the organic load was increased and its influence in the crude glycerol degradation was investigated. The main results of the study can be summarized as follow: i) The crude glycerol was not toxic for anaerobic biomass and has good capacity for methane production ( $\text{SMA} = 0,51 \text{ gCOD}_{\text{methane}}/\text{gSSV.d}$  e  $\text{MP} = 0,96 \text{ gCOD}_{\text{CH}_4}/\text{gCOD}_{\text{incubated}}$ ); ii) High median degradation efficiencies (77-84% COD removal) were accompanied by small VFA accumulation ( $112\text{-}170 \text{ mg COD}_{\text{VFA}} / \text{L}$ ) in Phase 1 after a long period of adaptation of microorganisms, without significant difference between the reactors fed with pure glycerin and those fed crude glycerol; iii) A bigger organic load ( $2 \text{ g COD.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) decreased the organic material removal (21-48% of efficiency) and increased VFA accumulation ( $272\text{-}563 \text{ mg COD}_{\text{VFA}}/\text{L}$ ); iv) The low methane production in Phase 1 indicates that gas quantification was underestimated. Therefore, it can be inferred that the biodiesel production effluent can be used to methane production but the process efficiency is strongly dependent and sensitive to organic loading. Thus, this study contributes strongly to the advancement of knowledge in the areas of crude glycerol anaerobic degradation and implementation of this technique in the biodiesel industry.

**Keywords:** crude glycerol, biodiesel, anaerobic degradation, methane, UASB, effluent treatment.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1:</b> Reação de transesterificação para produção de biodiesel .....	06
<b>Figura 2.2:</b> Evolução da produção de biodiesel de 2005 à 2012 .....	08
<b>Figura 2.3:</b> Aplicações do glicerol.....	10
<b>Figura 2.4:</b> Vias metabólicas de assimilação do glicerol por microrganismos anaeróbios e seus possíveis produtos.....	13
<b>Figura 2.5:</b> Esquema ilustrativo da configuração de um reator UASB.....	17
<b>Figura 2.6:</b> Etapas da digestão anaeróbia e seus principais microrganismos atuantes.....	18
<b>Figura 4.1:</b> Glicerol bruto obtido da indústria de biodiesel Biominas.....	27
<b>Figura 4.2:</b> Respirômetro automatizado ANKOM <sup>RF</sup> GAS PRODUCTION SYSTEM.....	29
<b>Figura 4.3:</b> Esquema ilustrativo dos dois tipos de reatores UASB.....	33
<b>Figura 4.4:</b> Reatores UASB utilizados no presente estudo .....	33
<b>Figura 4.5:</b> Fluxograma para escolha do teste estatístico adequado.....	41
<b>Figura 5.1:</b> Variação temporal da eficiência de remoção de DQO.....	49
<b>Figura 5.2:</b> Box-plot da eficiência de remoção de DQO em todos os reatores.....	50
<b>Figura 5.3:</b> Variação temporal da concentração de $DQO_{AGV}$ presente no efluente dos reatores.....	53
<b>Figura 5.4:</b> Box-plot da concentração de $DQO_{AGV}$ presente no efluente dos reatores.....	54
<b>Figura 5.5:</b> Estratificação da produção de AGV e relação entre os ácidos acético e propiônico (A:P) nos reatores UASB nas diferentes fases de monitoramento.....	56
<b>Figura 5.6:</b> Conversão da DQO do afluente nos vários subprodutos da degradação anaeróbia nos quatro reatores durante a Fase 1.....	61
<b>Figura 5.7:</b> Conversão da DQO do afluente nos vários subprodutos da degradação anaeróbia em cada reator durante a Fase 2 .....	62

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1:</b> Evolução da utilização de diferentes matérias-primas para a produção de biodiesel.....	07
<b>Tabela 2.2:</b> Propriedades físico-químicas do glicerol.....	09
<b>Tabela 2.3:</b> Composição do glicerol bruto obtido durante a produção de biodiesel em função de diferentes matérias-primas.....	10
<b>Tabela 2.4:</b> Técnicas de purificação do glicerol bruto.....	11
<b>Tabela 2.5:</b> Produtos com valor agregado derivados da digestão anaeróbia do glicerol.....	14
<b>Tabela 2.6:</b> Entalpia de combustão padrão de um mol de vários combustíveis.....	15
<b>Tabela 2.7:</b> Comparação energética de algumas reações comuns da digestão anaeróbia.....	19
<b>Tabela 2.8:</b> Interferentes físico-químicos da digestão anaeróbia.....	21
<b>Tabela 2.9:</b> Utilização do glicerol bruto como substrato.....	22
<b>Tabela 2.10:</b> Estudos de co-digestão do glicerol bruto com outros substratos.....	23
<b>Tabela 4.1:</b> Metodologias empregadas na caracterização do glicerol bruto.....	28
<b>Tabela 4.2:</b> Condições de incubação dos frascos para determinação da AME e do efluente de biodiesel, glicerol e glicose.....	30
<b>Tabela 4.3:</b> Composição da solução nutriente.....	35
<b>Tabela 4.4:</b> Condições de monitoramento para cada um dos quatro reatores em todas as fases do estudo.....	36
<b>Tabela 5.1:</b> Composição físico-química do efluente da produção de biodiesel.....	43
<b>Tabela 5.2:</b> Resultados dos testes em triplicata de AME do inóculo e PM para os diferentes substratos.....	46
<b>Tabela 5.3:</b> Resultados dos testes em triplicata de AME dos lodos presentes no interior dos reatores ao final da Fase 2.....	47
<b>Tabela 5.4:</b> Produção de metano em cada fase operacional dos quatro reatores.....	57

<b>Tabela 5.5:</b> Percentual de recuperação de metano e produção de energia a partir da DQO degradada.....	59
---	----

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 2.1:</b> Combustão completa do metano.....	15
<b>Equação 2.2:</b> Combustão incompleta do metano (I) .....	15
<b>Equação 2.3:</b> Combustão incompleta do metano (II) .....	15
<b>Equação 4.1:</b> Conversão da pressão acumulada de metano produzido (psi) em volume deste gás – Lei dos gases ideias.....	30
<b>Equação 4.2:</b> Determinação do volume ocupado por 1 mol de gás nas condições do laboratório.....	31
<b>Equação 4.3:</b> Conversão do número de mols de metano em volume deste gás.....	31
<b>Equação 4.4:</b> Cálculo da AME.....	31
<b>Equação 4.5:</b> Cálculo do PM de um substrato.....	32
<b>Equação 4.6:</b> Cálculo da $DQO_{AGV}$ .....	38
<b>Equação 4.7:</b> Cálculo do número de mols de gás metano pela área dos picos obtidos por cromatografia gasosa.....	39
<b>Equação 4.8:</b> Conversão do número de mols de metano em volume deste gás.....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

- 3HPA:** 3-hidroxi propionaldeído
- Acetil-CoA:** Acetil Coenzima A
- AGCL:** Ácidos Graxos de Cadeia Longa
- AGV:** Ácidos Graxos Voláteis
- AME:** Atividade Metanogênica Específica
- ASBR:** Anaerobic Sequencing Batch Reactor (Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial)
- ASTM:** American Society for Testing and Materials
- ATP:** Adenosina Trifosfato
- CERH-MG:** Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado de Minas Gerais
- CNPE:** Conselho Nacional de Política e Energética
- CO:** Carga Orgânica
- CONAMA:** Conselho Nacional do Meio Ambiente
- COPAM:** Conselho Estadual de Política Ambiental
- CSTR:** Continuous Flow Stirred-Tank Reactor (Reator Contínuo de Tanque Agitado)
- DA:** Digestão Anaeróbia
- DBO:** Demanda Biológica de Oxigênio
- DHA:** Dihidroxiacetona
- DQO:** Demanda Química de Oxigênio
- GB:** Glicerol Bruto
- GDHt:** Glicerol Desidratase
- GHD:** Glicerol Desidrogenase
- GP:** Glicerina Pura
- PM:** Potencial Metanogênico
- PROBIODIESEL:** Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel
- SSV:** Sólidos Suspensos Voláteis
- TAG:** Triacilglicerol
- TDH:** Tempo de Detenção Hidráulica
- UASB:** Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>6</b>
2.1. A produção de biodiesel e a geração de glicerol .....	6
2.2. Biodegradação do glicerol e geração de produtos com valor agregado.....	11
2.3. O Tratamento Anaeróbio.....	15
2.3.1. Microbiologia e Bioquímica da Digestão Anaeróbia .....	17
2.3.2. Fatores físico-químicos que interferem na digestão anaeróbia.....	20
2.4. Produção de metano a partir da degradação anaeróbia do glicerol .....	21
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
3.1. Objetivo Geral .....	25
3.2. Objetivos específicos .....	25
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
4.1. O substrato e sua caracterização físico-química .....	27
4.2. Medição da Atividade Metanogênica Específica (AME) do inóculo e Potencial Metanogênico (PM) do substrato.....	28
4.3. Confeção e inoculação dos reatores UASB .....	32
4.4. Preparo da solução de alimentação e acréscimo de nutrientes .....	34
4.4.1. Diluição do efluente da produção de biodiesel.....	34
4.4.2. Diluição da glicerina pura.....	34
4.4.3. Preparo da solução de nutrientes .....	34
4.4.4. Preparo da alimentação dos reatores.....	35
4.5. Monitoramento e operação dos reatores .....	36
4.5.1. Determinação do pH .....	36
4.5.2. Determinação da temperatura .....	37

4.5.3. Monitoramento da vazão .....	37
4.5.4. Determinação de sólidos suspensos voláteis (SSV) .....	37
4.5.5. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) .....	37
4.5.6 Determinação dos ácidos graxos voláteis (AGV).....	38
4.5.7. Análise do biogás e quantificação do metano.....	39
4.6. Cálculo da energia recuperada em forma de metano.....	40
4.7. Análise estatística .....	40
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
5.1. Caracterização físico-química do glicerol bruto:.....	43
5.2. Atividade metanogênica específica (AME) do lodo anaeróbio e potencial metanogênico (PM) do efluente oriundo da produção de biodiesel .....	45
5.3. Monitoramento dos reatores UASB.....	48
5.3.1. Remoção de matéria orgânica residual .....	48
5.3.2. Avaliação do acúmulo de AGV .....	52
5.3.3. Produção de biogás e metano.....	57
5.3.4. Balanço de Massa .....	60
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>7. PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

## *1 - Introdução*

---



## 1. INTRODUÇÃO

Em 1892, Rudolf Diesel criou um protótipo de motor capaz de funcionar a base de combustível renovável produzido a partir do óleo de amendoim e outros óleos vegetais. Entretanto, em 1900, os combustíveis destilados a partir do petróleo apresentaram-se como alternativa mais barata e facilmente disponível. Com isso, a indústria de combustível baseada em petróleo firmou-se no mercado mundial até os anos 70, época em que esse tipo de recurso não renovável tornou-se escasso, reacendendo o interesse nos combustíveis alternativos e renováveis (RUPPEL; HALL, 2007).

Nos dias de hoje, busca-se intensivamente por fontes alternativas de energia e processos sustentáveis, visando à redução da poluição ambiental e superaquecimento global do planeta. Ao mesmo tempo, a economia global está em crescimento e a necessidade por energia limpa e recursos renováveis encontra-se em contínuo aumento (RIVALDI et al., 2007), o que juntamente com as altas dos preços do petróleo incentiva o mercado mundial de combustíveis limpos (RUPPEL; HALL, 2007). Um bom exemplo de combustível ecologicamente correto é o biodiesel. (RUPPEL; HALL, 2007).

De acordo com a American Society for Testing and Materials (ASTM), o biodiesel é um éster monoalquilado obtido através da reação de transesterificação de ácidos graxos de cadeia longa (ZHANG et al., 2003), presentes em óleos vegetais ou gorduras animais, com um monoálcool, geralmente metanol, na presença de um catalisador.

Este estudo tem como tema uma questão de relevância mundial, principalmente no Brasil, o qual se refere ao excesso de glicerol, subproduto da reação de transesterificação empregada na produção de biodiesel. Segundo Xavier e colaboradores (2007), tanto os setores privados quanto os setores públicos estão envolvidos no descaso com a problemática do excesso de glicerol bruto, uma vez que a Política Nacional de Biodiesel não propõe alternativas para o excedente. Dessa forma, o controle e descarte

deste resíduo fica sob responsabilidade das Secretarias Estaduais do Meio Ambiente, que acabam por armazenar, despejar nos rios ou incinerar o mesmo (XAVIER et al., 2007).

O tratamento deste resíduo é essencial devido ao seu potencial poluidor, pois, caso não seja dada uma destinação adequada, ele pode poluir o solo, contaminar águas e até mesmo gerar um impacto ecológico ao ser lançado no ambiente. Em alguns casos, o meio aquático demonstra ter condições de receber e decompor os contaminantes até um nível que não cause alterações acentuadas que prejudiquem o ecossistema. Entretanto, nos casos de sobrecarga orgânica, o lançamento pode levar a uma degradação do ambiente em decorrência do consumo excessivo do oxigênio dissolvido por microrganismos heterótrofos aeróbios resultando em problemas em toda a cadeia trófica alimentar.

Devido ao alto teor de matéria orgânica presente no glicerol bruto, o tratamento biológico seria uma boa alternativa para evitar o seu descarte indevido, uma vez que grande parte deste resíduo é biodegradável e a digestão anaeróbia seria uma das opções de tratamento.

A biodegradação anaeróbia da glicerina pura (GP) é relativamente bem conhecida por se tratar de um produto intermediário da degradação anaeróbia de gorduras (NOVAK; CARLSON, 1970; WENG; JERIS, 1976). Da revisão de literatura feita, percebe-se que poucos estudos foram conduzidos para investigar a degradação do glicerol bruto (GB) sob condições anaeróbias. Apesar da degradação da GP ser modelo para compreensão da degradação anaeróbia do GB oriundo da produção de biodiesel, há de se considerar que este contém quantidades variáveis de sabão, álcool (metanol ou etanol), monoacilgliceróis, diacilgliceróis, oligômeros de glicerol, polímeros e água (OOI et al., 2004). Assim, considera-se que a geração de biogás a partir do resíduo em questão seja devido, não apenas ao glicerol, mas também aos demais compostos presentes no rejeito.

Acredita-se que esta tecnologia tem potencialidade de ser aplicada no Brasil para tratamento do resíduo da produção de biodiesel, porém há necessidade de estudos que forneçam informações acerca das melhores condições nutricionais e operacionais do sistema biológico de tratamento. Além disso, não há muitas informações sobre o

tratamento de resíduo de glicerol em reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) operados em condições mesofílicas (próximas à temperatura ambiente) com quantificação de metano no biogás visando seu aproveitamento energético.

Particularmente, a formação de biocombustíveis, tais como etanol de segunda geração e biodiesel, tem sido incentivada nacional e internacionalmente nos últimos anos (MASIERO; LOPES, 2008). Apesar da falta de incentivo, os processos biológicos envolvidos na produção de metano a partir de glicerol têm sido alvo de pesquisas no âmbito da biotecnologia industrial, cuja relevância situa-se no âmbito econômico (geração de gases combustíveis e sustentabilidade de processos industriais), e no âmbito da biotecnologia ambiental (redução de poluentes de rejeitos industriais).

## *2 - Revisão de literatura*

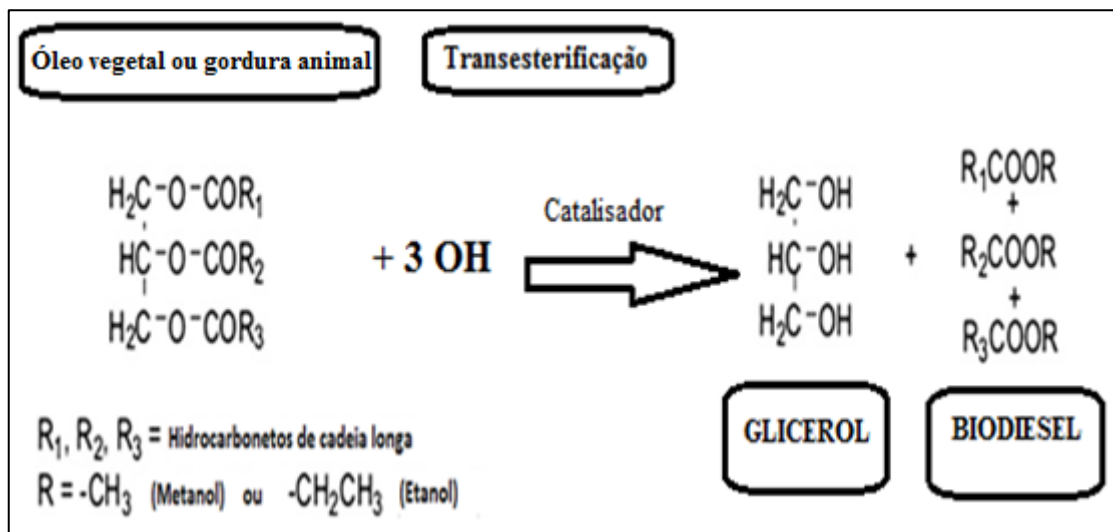
---

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A produção de biodiesel e a geração de glicerol

Biodiesel é uma alternativa ecológica de combustível para veículos, produzido pela transesterificação de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), presentes em gorduras vegetais e animais ou até mesmo em resíduos gordurosos.

A transesterificação é feita com um monoálcool, geralmente metanol ou etanol, na presença de um catalisador, ácido ou básico (FUKUDA et al., 2001; ZHANG et al., 2003; GONÇALVES et al., 2009), sendo a transesterificação etanólica a mais utilizada no Brasil (Figura 2.1). Os catalisadores alcalinos são mais comumente utilizados, dentre eles estão o hidróxido de sódio e hidróxido de potássio (GONÇALVES et al., 2009).



**Figura 2.1:** Reação de transesterificação para produção de biodiesel  
(Adaptada de LEONETI et al., 2012).

Ao final da etapa de transesterificação, o glicerol e ésteres formam uma massa líquida de duas fases que podem ser facilmente separáveis por decantação, centrifugação, dentre outras técnicas, sendo que, dependendo do processo de purificação do biodiesel, resíduos com diferentes composições são gerados. A fase superior, a mais leve ou menos densa, contém os ésteres metílicos ou etílicos constituintes do biodiesel.

A fase inferior ou pesada, também denominada fase g, é composta por GB e impurezas, resultantes tanto da transesterificação (água, sais, ésteres, álcool e óleo residual) quanto da formação de sabão devido à reação dos ácidos graxos livres com excesso de catalisador (RIVALDI et al., 2007).

O biodiesel feito a partir de óleo vegetal ou gordura animal funciona como se fosse diesel de petróleo, porém, lançando emissões muito menos tóxicas na atmosfera. A combustão do biodiesel procedente de óleos vegetais não acrescenta nenhum dióxido de carbono à atmosfera (RUPPEL; HALL, 2007).

O Brasil tem grande destaque no panorama mundial do biodiesel, devido a sua grande diversidade em grãos de onde é extraído o óleo vegetal, e sua extensa criação de animais bovinos que fornecem gordura animal ou sebo (GONÇALVES et al., 2009). A Tabela 2.1 ilustra a evolução da utilização das principais matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel.

**Tabela 2.1:** Evolução da utilização de diferentes matérias-primas para produção de biodiesel (ANP, 2013).

Matérias-primas	Produção de biodiesel (B100*) (m <sup>3</sup> )							
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Total	736	69.012	408.005	1.177.638	1.614.834	2.387.639	2.672.771	2.719.897
Óleo de soja	226	65.764	353.233	967.326	1.250.590	1.980.346	2.171.113	2.105.334
Óleo de algodão	-	-	1.904	24.109	70.616	57.054	98.230	116.736
Gordura animal <sup>1</sup>	-	816	34.445	154.548	255.766	302.459	358.686	458.022
Outros materiais graxos <sup>2</sup>	510	2.431	18.423	31.655	37.863	47.781	44.742	39.805

\*B100 = Biodiesel 100% puro

Frente a esse grande potencial de produção, ao final do século XX, o Governo Federal intensificou as discussões sobre a produção e uso do biodiesel, sendo efetuados vários estudos por comissões interministeriais em parceria com universidades e centros de pesquisa, e muitas estratégias foram traçadas pelo ministério brasileiro, dentre elas foi criado o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel

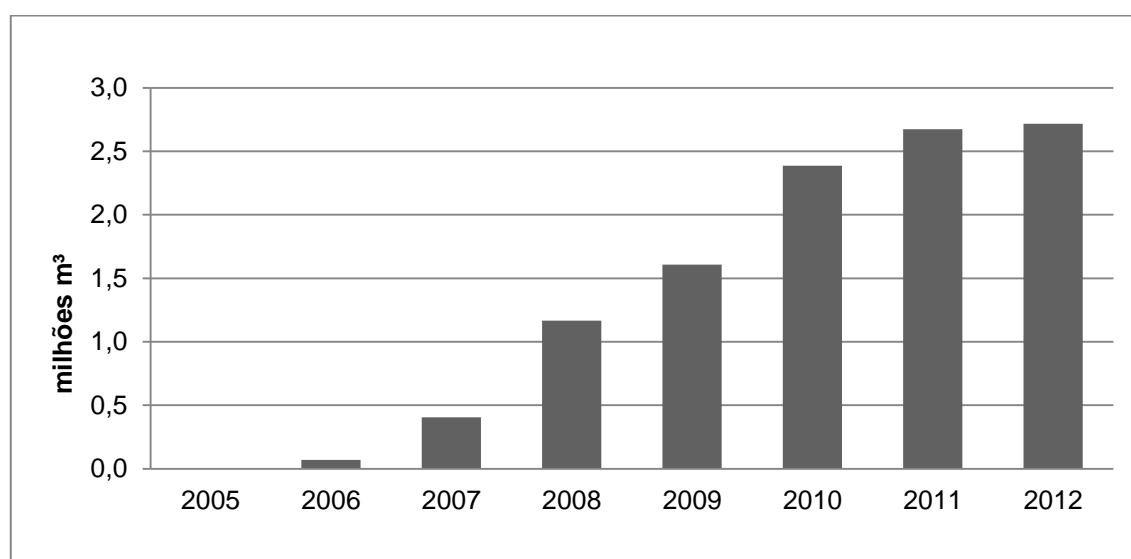
<sup>1</sup> Inclui gordura de porco, gordura de frango e gordura bovina.

<sup>2</sup> Inclui óleo de palma, óleo de amendoim, óleo de nabo forrageiro, óleo de girassol, óleo de mamona, óleo de sésamo, óleo de fritura usado e outros materiais graxos.

(PROBIODIESEL), programa que visa à gradual substituição do diesel proveniente do petróleo pelo biodiesel (GONÇALVES et al., 2009).

A produção nacional de biodiesel foi significativamente acelerada quando o governo brasileiro estabeleceu a obrigatoriedade da adição de, no mínimo, 4% de biodiesel ao combustível de petróleo até 2013 mediante a Lei 11097/2005 (ANP, 2010). Entretanto, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), por meio da Resolução nº 6/2009, reduziu este prazo e, desde o início de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta contínua e rápida elevação do percentual de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel e da experiência acumulada pelo Brasil na produção e no uso em larga escala de biocombustíveis (ANP, 2012).

A Figura 2.2, ilustra a falta de incentivo à produção de biodiesel no ano 2005, ano em que a lei acima citada foi criada e aprovada. Nota-se também forte aumento no volume total de biodiesel produzido a partir de 2008, ano em que a mistura de biodiesel ao diesel tornou-se obrigatória. Porém, em 2010 já se encontrava 5% de biodiesel associado ao diesel de petróleo no Brasil (ANP, 2010). Devido a este estímulo, atualmente o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2012, de 2,7 bilhões de litros e uma capacidade instalada, até este mesmo ano, para cerca de 20,5 bilhões de litros por dia (ANP, 2013).



**Figura 2.2:** Evolução da produção de biodiesel de 2005 à 2012 (ANP, 2013).

A inusitada e alta valorização do biodiesel acarretou uma pequena visibilidade para o GB, muitas vezes tratado como um subproduto sem valor econômico, mesmo sendo equivalente à cerca de 10% de toda a produção de biodiesel (DASARI et al., 2005; RIVALDI et al., 2007; ZHOU et al., 2008). Este cenário culminou em um notável crescimento da produção do biodiesel e, por consequência, numa elevada quantidade de GB formado, contudo sem uma destinação definida pelas plantas produtoras. Dessa forma, há uma maior disponibilidade deste resíduo do que a demanda nas suas atuais aplicações (Figura 2.3), reduzindo o seu valor e abrindo um novo leque de pesquisas devido à necessidade de novas utilizações deste subproduto (ZHOU et al., 2008). Esse quadro ocasionou uma queda nos preços internacionais (50% desde 1995), de US\$ 1,55 o quilograma para US\$ 0,75, em média (ANP, 2010).

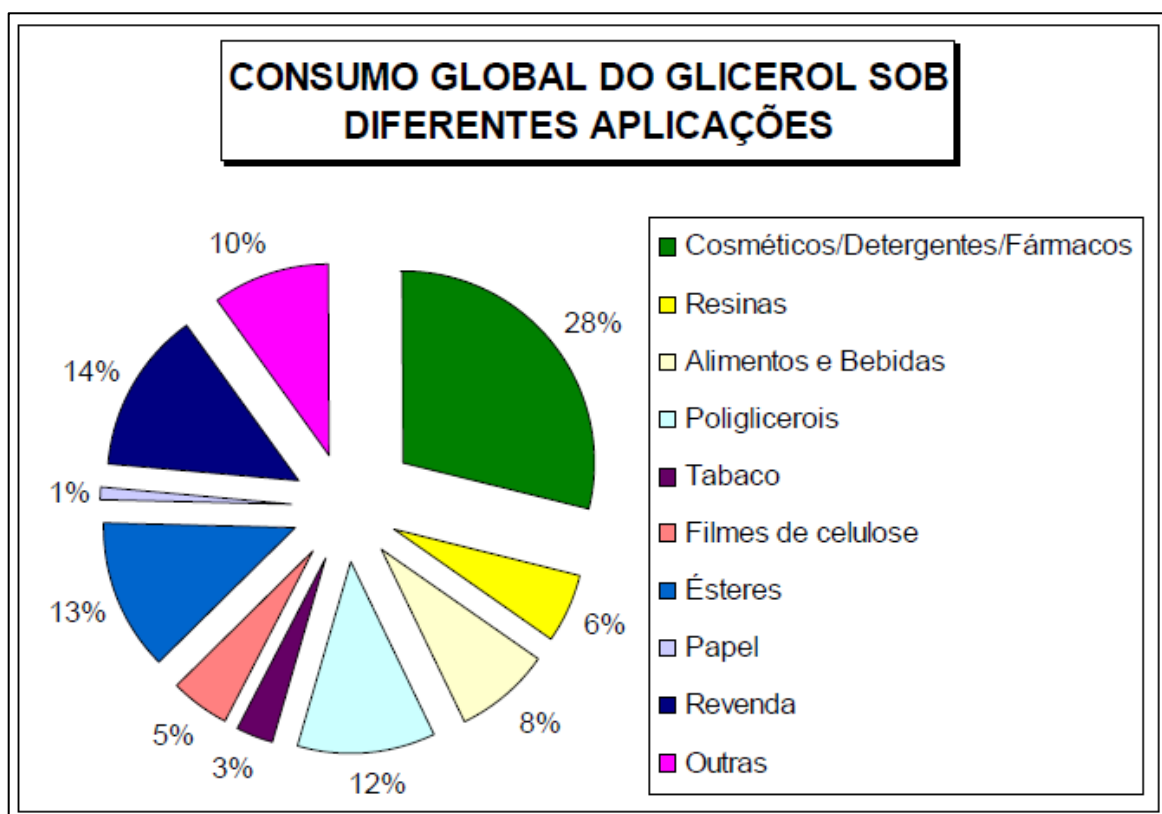
Apesar de o biodiesel ser o produto principal do processo de produção, o resíduo de glicerol também pode ser comercializado. Devido às suas características físicas e químicas (Tabela 2.2), e ao fato de ser inócuo, o glicerol possui inúmeras aplicações industriais, principalmente nas indústrias de cosméticos, farmacêutica, de detergentes; podendo ainda ser usado na fabricação de resinas e aditivos e na indústria de alimentos (Figura 2.3). Contudo, as impurezas presentes no glicerol da fase g reduzem seu custo, o que compromete sua comercialização (OOI et al., 2004).

**Tabela 2.2:** Propriedades físico-químicas do glicerol (ARRUDA et al., 2007).

Peso molecular	92,09
Densidade (glicerol 100%) 25°C	1,262 Kg/mG
Viscosidade 20 °C	939 cps
Ponto de ebulição (101,3KPa)	290°C
Ponto de fusão	18°C
Ponto de inflamação	177°C
Tensão superficial 20°C	63,4 mN/m
Calor específico (glicerol 99,94%) 26°C	2,435 J/g
Calor de evaporação 55°C	88,12 J/mol

As características físicas, químicas e nutricionais do GB dependem do tipo de matéria-prima, como pode ser observado na Tabela 2.3, e do tipo de catálise empregada na produção de biodiesel (RIVALDI et al., 2007).





**Figura 2.3:** Aplicações do glicerol (LOPES et al., 2011).

**Tabela 2.3:** Composição do glicerol bruto obtido durante a produção de biodiesel em função de diferentes matérias-primas (RIVALDI et al., 2007).

Composição	Matéria-prima					
	Mostarda*	Mostarda**	Canola	Soja	ROV	
ppm	Ca	11,7	23,0	19,7	11,0	ND
	K	ND	ND	ND	ND	ND
	Mg	3,9	6,6	5,4	6,8	0,4
	P	25,3	48,0	58,7	53,0	12,0
	S	21,0	16,0	14,0	ND	19,0
	Na	1,17	1,23	1,07	1,2	1,4
% (p/p)	C	24,0	24,3	26,3	26,0	37,7
	N	0,04	0,04	0,05	0,04	0,12

\*Ida Gold, \*\*Pac Gold, ROV: resíduos de óleo vegetal (óleo usado), ND: não detectado

Uma análise detalhada da fase g realizada por Siles et al. (2010), revela que o glicerol bruto contém elementos nutricionais, como, fósforo, enxofre, magnésio, cálcio, nitrogênio e sódio, e que são factíveis de serem utilizados por microrganismos para o seu crescimento durante processos fermentativos (THOMPSON; HE, 2006 apud RIVALDI et al., 2007).

Segundo Rivaldi et al. (2007), o excesso de glicerol proveniente da produção de biodiesel, associado à baixa demanda mundial (0,5 bilhões toneladas/ano) e ao baixo custo, projetam um desequilíbrio econômico nas indústrias oleoquímicas e de refino de glicerol, ao tempo de colocar em risco a sustentabilidade econômica de usinas de biodiesel no mundo. Além disso, o acúmulo crescente de glicerol proveniente da expansão da indústria de biodiesel corresponde também a um problema ambiental, no que se refere à disposição e lançamento deste resíduo.

O glicerol obtido resultante da transesterificação de triglicerídeos com álcool apresenta impurezas como água, sais, ésteres, álcool e óleo residual, que lhe conferem um baixo custo (OOI et al., 2004 apud RIVALDI et al., 2007). Existe um grande interesse na purificação do glicerol (Tabela 2.4) ou no seu reaproveitamento direto, sem tratamento, o que proporcionará a viabilização do processo de produção de biodiesel, permitindo que este se torne competitivo no crescente mercado de biocombustíveis. Tratamentos de purificação são de custo excessivamente elevados para pequenos e médios produtores nacionais de biodiesel. Devido a este fato, uma maior quantidade de efluentes contendo glicerol poderá ser descartada no meio ambiente sem nenhum tratamento, aumentando consequentemente os problemas e riscos ambientais (RIVALDI et al., 2007).

**Tabela 2.4:** Técnicas de purificação do glicerol bruto.

<b>Técnica</b>	<b>Objetivos</b>
Troca iônica	Remover íons $K^+$ e $Na^+$ utilizados como catalisadores
Destilação à vácuo	Remoção e recuperação de álcoois (etanol ou metanol)
Precipitação ácida (HCl, $H_2SO_4$ , $H_3PO_4$ )	Separar o glicerol e ácidos graxos do sabão formado pelo excesso de catalisador (precipitação de sais)

## **2.2. Biodegradação do glicerol e geração de produtos com valor agregado**

O glicerol é considerado uma fonte de carbono altamente reduzida e assimilável por bactérias e leveduras sob condições aeróbicas e anaeróbicas para a obtenção de energia metabólica, como regulador do potencial redox e para a reciclagem de fosfato inorgânico dentro da célula (DILLS et al., 1980 apud RIVALDI et al., 2007). A conversão microbiana de glicerol por processos biotecnológicos em produtos de maior valor agregado como biomassa e biomoléculas é uma alternativa relevante para a maior valorização da produção de biodiesel (ITO et al., 2005).

O glicerol entra na célula por difusão, sem a dependência de bactérias hidrolíticas. Estas sim teriam papel importante na etapa inicial da degradação de outros compostos presentes no resíduo, tais como óleos e graxas. Esses microrganismos hidrolíticos fermentativos são capazes de hidrolisar lipídeos e formar glicerol e ácidos graxos de cadeia longa pela ação de lipases extracelulares. Dentro das células microbianas, os ácidos são incorporados a complexos lipídicos, tais como a membrana plasmática, ou catabolizados para a formação de compostos de baixa massa molar (MENDES et al., 2005). Já o glicerol pode ser metabolizado por diferentes rotas metabólicas independentes representadas na Figura 2.4.

A primeira rota é a oxidação do glicerol pela desidrogenase (GDH) à dihidroxiacetona (DHA) com a geração de equivalentes redutores ( $\text{NADH}_2$ ), a qual é então fosforilada pela dihidroxiacetona quinase, dependente de ATP, e direcionada para o metabolismo central.

A dihidroxiacetona fosfato é considerada uma importante molécula intermediária para a gliconeogênese (síntese de hexoses), assim como para a obtenção de numerosos compostos através das vias oxidativas incluindo: ácido cítrico, ácido succínico, ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, etanol e outros compostos de interesse comercial (MOAT et al., 2002 apud RIVALDI et al., 2007).

Para tanto, a dihidroxiacetona fosfato é convertida a fosfoenolpiruvato, que pode dar origem aos ácidos succínico e propiônico ou ser convertido a piruvato. Este composto, por sua vez, pode originar acetilcoenzima A (Acetil-CoA), ácido láctico, butanodiol e ácido fórmico que posteriormente pode ser transformado em hidrogênio e dióxido de carbono. O Acetil-CoA é então convertido a ácido acético, ácido butírico, etanol ou ácido cítrico dependendo das condições de cultivo e dos microrganismos envolvidos. O  $\text{NADH}_2$  pode ser utilizado tanto na formação de ácido butírico quanto de etanol e o  $\text{NADH}_2$  residual pode ser oxidado e produzir hidrogênio. O hidrogênio e ácido acético produzidos na via oxidativa podem ser convertidos a metano através da ação de arqueas metanogênicas.



A segunda rota é a desidratação do glicerol a 3-hidroxi-propionaldeído (3HPA) pela glicerol desidratase (GDHt), o qual é convertido a 1,3-propanodiol pela enzima 1,3-propanodiol oxidoreductase (PDOR) com a oxidação do NADH<sub>2</sub>.

De acordo com Viana et al. (2012), atualmente, o glicerol bruto tem sido utilizado como substrato orgânico para síntese biológica de vários compostos com valor agregado (Tabela 2.5).

**Tabela 2.5:** Produtos com valor agregado derivados da digestão anaeróbia do glicerol.

Produtos	Emprego	Microrganismos produtores	Fontes
1,3-propanodiol	Produção de poliésteres, poliuretanos, tintas, lubrificantes, resinas, anticongelantes e cosméticos.	<i>Klebsiella</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Anaerobiospirillum</i>	Rivaldi et al. (2007)
Etanol	Produção de bebidas alcoólicas, de combustíveis e de biodiesel.	<i>Kluyvera cryocrescens</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>	Ito et al. (2005), Choi et al. (2011), Chatzifragkou; Papanikolaou (2012)
Hidrogênio	Geração de energia.	<i>Enterobacter Clostridium</i> , <i>Rhodopseudomonas Syntrophomonas</i>	Ito et al. (2005), Leoneti et al. (2012)
Ácidos orgânicos	Indústria de alimentos, indústria química e na produção de polímeros.	<i>Yarrowia lypolitica</i> , <i>Anaerobiospirillum succiniciproducens</i> , <i>Propionibacteria</i>	Papanikolaou et al. (2002), Bories et al. (2004), Rymowicz et al. (2006), Rivaldi et al. (2007)
Polihidroxi-alcanoatos	Produção de embalagens, na área médica, indústria farmacêutica e na agricultura.	<i>Pseudomonas</i>	Rivaldi et al. (2007), Chatzifragkou; Papanikolaou (2012)
Metano	Produção de energia.	<i>Methanoplanus</i> , <i>Methanosaeta</i> , <i>Methanosarcina</i> , <i>Methanobacterium</i>	Thompson; He (2006)

O gás metano é uma importante fonte de energia, conforme pode ser observado nas Equações 2.1 a 2.3:

- Combustão completa do metano:



- Combustão incompleta do metano:



É muito importante saber a quantidade de calor liberada pelos combustíveis para que seja possível comparar o valor energético de cada um deles. Na Tabela 2.6, são mostradas as entalpias de combustão ( $\Delta H^\circ$ ) para alguns combustíveis, isto é, a energia liberada na queima completa de um mol de cada um.

**Tabela 2.6:** Entalpia de combustão padrão de um mol de vários combustíveis (USP).

COMBUSTÍVEL	FÓRMULA MOLECULAR	$\Delta H^\circ(\text{kJ/mol})$
Carbono (carvão)	$\text{C}(\text{s})$	- 393,5
Metano (gás natural)	$\text{CH}_4(\text{g})$	- 802
Propano (componente do gás de cozinha)	$\text{C}_3\text{H}_8(\text{g})$	- 2.220
Butano (componente do gás de cozinha)	$\text{C}_4\text{H}_{10}(\text{g})$	- 2.878
Octano (componente da gasolina)	$\text{C}_8\text{H}_{18}(\text{l})$	- 5.471
Etino (acetileno, usado em maçarico)	$\text{C}_2\text{H}_2(\text{g})$	- 1.300
Etanol (álcool)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}(\text{l})$	- 1.368
Hidrogênio	$\text{H}_2(\text{g})$	- 286

O conteúdo energético do glicerol presente no resíduo de biodiesel situa-se em torno de 16,3 MJ/Kg de glicerol bruto, o que sugere uma alta capacidade de produção de biogás (THOMPSON; HE, 2006).

### 2.3. O Tratamento Anaeróbio

O tratamento de resíduos industriais é essencial devido ao seu potencial poluidor. Caso não seja dada uma destinação adequada, estes acabam poluindo o solo, contaminando águas superficiais e subterrâneas. Além disso, existe o risco do impacto ecológico ao serem lançados no ambiente. O meio aquático demonstra ter condições

de receber e decompor os contaminantes até um certo nível que não cause problemas ou alterações acentuadas que prejudiquem o ecossistema. Entretanto, nos casos de sobrecarga orgânica, o lançamento pode levar a uma degradação do ambiente em decorrência do consumo excessivo do oxigênio dissolvido no corpo d'água por microrganismos heterotróficos aeróbios, levando a problemas em toda a cadeia trófica alimentar. Um estudo conduzido por Fausto e colaboradores (2008) mostrou que uma água residuária típica do processo de produção de biodiesel apresenta diversos parâmetros químicos acima dos limites estabelecidos pela legislação CONAMA 357/2005 e CONAMA 430/2011, principalmente no que se refere às concentrações de óleos e graxas.

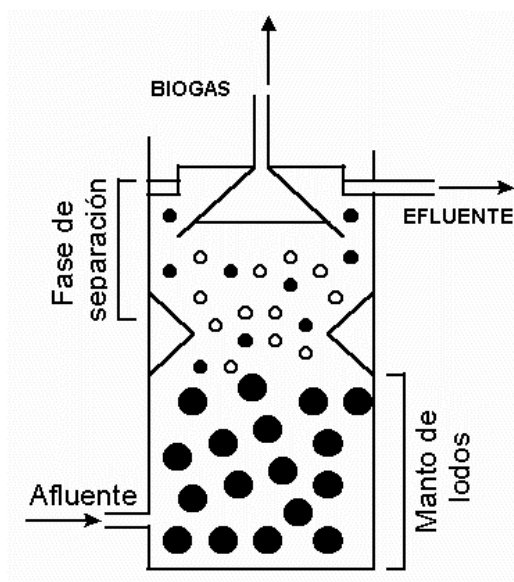
Apesar do CONAMA não estipular nenhum limite para Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) no que se refere ao lançamento de efluentes e apenas exigir uma eficiência mínima de tratamento (60%), o Conselho Estadual de Política Ambiental (COPAM) em conjunto com o Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado de Minas Gerais (CERH-MG) estabeleceram, em 2008, o limite de 60 mg DBO/L para lançamento de efluentes, concentração bem abaixo da encontrada em águas residuárias da produção de biodiesel.

Uma alternativa para o tratamento do resíduo de glicerol gerado na indústria de biodiesel se refere à aplicação do processo de digestão anaeróbia. Neste processo é possível reduzir a carga poluente presente no resíduo por meio da conversão biológica dos compostos orgânicos carbonáceos a gases combustíveis, o hidrogênio ( $H_2$ ) e metano ( $CH_4$ ).

As vantagens associadas à aplicação do processo anaeróbio ao tratamento do glicerol inclui: i) a adoção de um sistema de tratamento de efluente de baixo consumo energético e baixa produção de lodo, ii) elevada eficiência de degradação dos poluentes orgânicos presentes na água residuária e iii) geração de biogás, o qual pode ser usado como fonte energética *in situ* para geração de calor e eletricidade (CHERNICHARO et al., 2007; MENDES et al., 2005; FERNANDO et al., 2007; SILES et al., 2010).

Atualmente, os reatores UASB compreendem a tecnologia anaeróbia mais empregada no mundo e muito utilizada no tratamento de esgotos domésticos,

especialmente em regiões de clima quente e em muitos países em desenvolvimento, como o Brasil (CHERNICHARO, 2007). Segundo Aisse et al. (2000), tais reatores consistem basicamente de um tanque Imhoff de fluxo vertical, com câmaras de sedimentação e digestão anaeróbia, sobrepostas. O esgoto a ser tratado é distribuído uniformemente no fundo do reator e passa através de uma camada de lodo biológico, o qual transforma a matéria orgânica em biogás. Existe um perfil de sólidos, com grande concentração na parte inferior (leito de lodo), e mistura completa entre lodo, líquido e gás nas camadas acima do leito. Na parte superior do digestor existe um separador de gases (decantador), no qual o lodo retorna à câmara de digestão provocando, em contra corrente com o fluxo ascendente, uma mistura bem uniforme (Figura 2.5).



**Figura 2.5:** Esquema ilustrativo da configuração de um reator UASB.

### ***2.3.1. Microbiologia e Bioquímica da Digestão Anaeróbia***

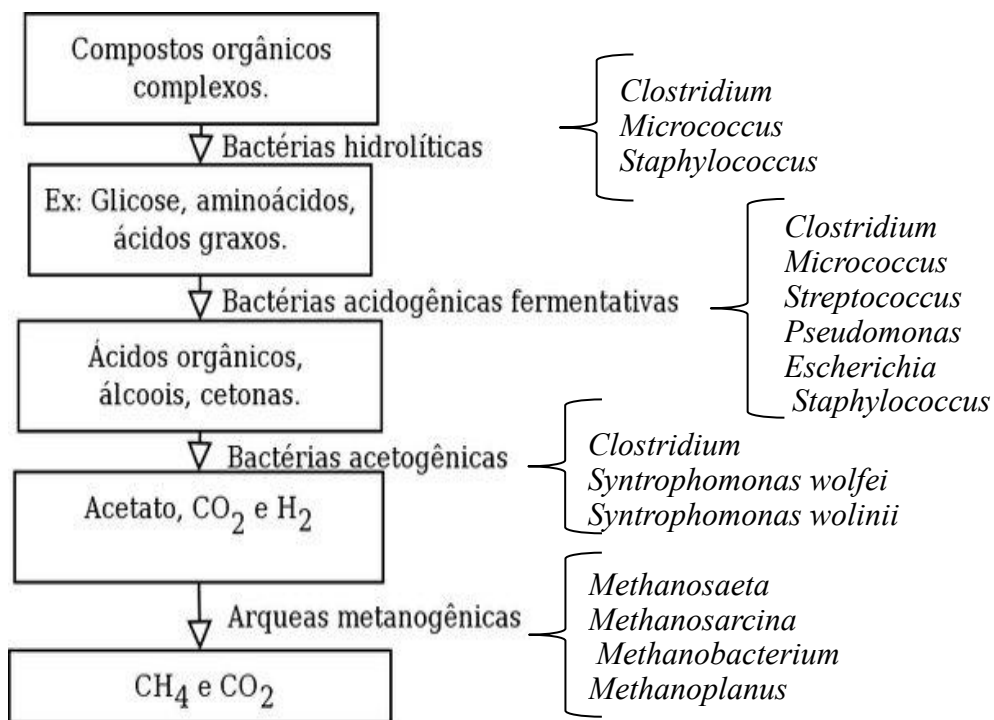
A digestão anaeróbia pode ser definida como a degradação da matéria orgânica complexa em compostos mais simples; como metano, dióxido de carbono, água, dentre outros; através da atividade conjunta de diversos tipos de microrganismos. Estes atuam de forma simbiótica e cada grande grupo exerce um papel essencial e específico, de forma que, se algum dos grupos for inibido ou prejudicado, a digestão anaeróbia não se completa.



A digestão anaeróbia pode ser dividida em 4 etapas, de acordo com a Figura 2.6. Entretanto, vale ressaltar que a eficiência global de conversão da matéria orgânica em produtos estabilizados depende da eficiência de cada reação e do equilíbrio entre as diversas espécies e entre os grupos de bactérias presentes no sistema anaeróbio (LEMA et al., 1991 apud MENDES et al., 2005).

Primeiramente, as bactérias fermentativas hidrolíticas ou acidogênicas hidrolisam polímeros complexos, tais como carboidratos, proteínas e lipídeos, transformando-os em compostos dissolvidos de menor peso molecular por meio de exoenzimas. As proteínas são degradadas em aminoácidos, os carboidratos em açúcares solúveis (mono e dissacarídeos) e os lipídeos, em ácidos graxos de cadeia longa (C15 a C17) e glicerol. Em certas situações, a alta complexidade do material orgânico pode resultar em uma baixa velocidade de hidrólise, tornando-a a etapa limitante de todo o processo de digestão.

Na segunda etapa, esse mesmo grupo de bactérias transformam essas moléculas menores em produtos intermediários como ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, dentre outros), álcoois (etanol), cetonas (acetona), dióxido de carbono e hidrogênio.



**Figura 2.6:** Etapas da digestão anaeróbia e seus principais microrganismos atuantes.

Os microrganismos fermentativos acidogênicos são os que mais se beneficiam energeticamente do processo, conforme demonstrado na Tabela 2.7, sendo um grupo que possui baixo tempo mínimo de geração e as maiores taxas de crescimento do consórcio (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

**Tabela 2.7:** Comparação energética de algumas reações comuns da digestão anaeróbia (Adaptado de AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

Etapa	Reação	$\Delta G_0$
Acidogênese	$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3COO^- + 2 CO_2 + 2H^+ + 4H_2$ Glicose $\rightarrow$ Acetato	- 206 kJ
	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2 CH_3CH_2COO^- + 2 H_2O + 2H^+$ Glicose $\rightarrow$ Propionato	- 358 kJ
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COO^- + 2 CO_2 + H^+ + 2H_2$ Glicose $\rightarrow$ Butirato	- 255 kJ
Acetogênese	$CH_3CH_2COO^- + 3 H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3 H_2$ Propionato $\rightarrow$ Acetato	+ 76,1 kJ
	$CH_3CH_2COO^- + 2 HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 3 HCOO^-$ Propionato $\rightarrow$ Acetato + Formiato	+ 72,2 kJ
	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$ Butirato $\rightarrow$ Acetato	+ 48,1 kJ
Metanogênese	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$ Acetato $\rightarrow$ Metano	- 31 kJ
	$H_2 + \frac{1}{4} HCO_3^- + \frac{1}{4} H^+ \rightarrow \frac{1}{4} CH_4 + \frac{3}{4} H_2O$ Hidrogênio $\rightarrow$ Metano	- 33,9 kJ
	$HCOO^- + \frac{1}{4} H_2O + \frac{1}{4} H^+ \rightarrow \frac{1}{4} CH_4 + \frac{3}{4} HCO_3^-$ Formiato $\rightarrow$ Metano	- 32,6 kJ

Na terceira etapa, as bactérias sintróficas fermentativas acetogênicas atuam sob os produtos da acidogênese, oxidando-os e transformando-os em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Na quarta e última etapa, as arqueias metanogênicas convertem, principalmente, o acetato e hidrogênio à metano e dióxido de carbono.

O metano é produzido pelas arqueias metanogênicas por duas vias metabólicas principais: hidrogenotrófica e acetotrófica (ou acetoclástica). As arqueias hidrogenotróficas são autótrofas, reduzindo  $CO_2$  a metano e usando  $H_2$  como doador de elétrons, liberando  $H_2O$ . As arqueias acetoclásticas são heterótrofas, produzindo o metano e  $CO_2$  a partir da redução do acetato produzido diretamente pelas bactérias acidogênicas ou pela ação sintrófica das bactérias acetogênicas. A metanogênese acetoclástica têm grande importância em reatores anaeróbios, já que cerca de 70% do

metano produzido nestes sistemas é resultante da degradação de acetato (CHERNICHARO, 2007; JETTEN et al., 1992; YU et al., 2005).

Os microrganismos metanogênicos são os mais sensíveis e facilmente inibidos do consórcio. Dentre eles, os acetocláticos são os mais importantes, uma vez que a remoção de DQO da fase líquida depende da conversão de acetato, composto no qual são canalizados cerca de 70% dos elétrons do substrato original (MCCARTY, 1971 apud AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Já os hidrogenotróficos são de rápido crescimento, com tempo de geração mínimo de 6 horas (MOSEY, 1983 apud AQUINO; CHERNICHARO, 2005) e, além de contribuir para cerca de 30% do metano formado, a presença deles ajuda a manter baixas concentrações de hidrogênio dissolvido em reatores anaeróbios, favorecendo a degradação de propionato e butirato (MOSEY, 1983; HARPER; POHLAND, 1986 apud AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

Os microrganismos produtores de metano são de difícil isolamento e identificação, e vários processos e métodos têm sido propostos para medir a sua atividade. Uma importante forma de monitoramento da eficiência do lodo anaeróbio é através da mensuração da atividade metanogênica específica (AME), que pode ser definida como a capacidade máxima de produção de metano (Ex. gDQO/gSSV.d) por consórcio de microrganismos anaeróbios, realizada em condições controladas de laboratório, para viabilizar a atividade bioquímica máxima de conversão de substratos a biogás. A determinação da capacidade do lodo anaeróbio em produzir metano é importante ainda para determinar o potencial metanogênico (PM) de um determinado efluente ou resíduo a ser tratado. O PM indica a quantidade do gás combustível metano que pode ser produzido a partir de uma determinada quantidade de efluente tratado (Ex.  $\text{Nm}^3 \text{CH}_4/\text{Kg}$  substrato inoculado) e é importante para avaliar o conteúdo energeticamente aproveitável de um efluente ou resíduo.

### ***2.3.2. Fatores físico-químicos que interferem na digestão anaeróbia***

Para que a degradação total da matéria orgânica na ausência de oxigênio ocorra de forma eficiente, é necessário, além de uma boa interação do consórcio microbiano, otimizar condições específicas de operação como temperatura, pH, carga orgânica,

tipo de substrato, dentre outros (CAMPOS et al., 2004), pois cada um desses parâmetros é capaz de interferir significativamente no desempenho do reator, como demonstrado na Tabela 2.8.

**Tabela 2.8:** Interferentes físico-químicos da digestão anaeróbia.

<b>Parâmetro</b>	<b>Efeitos</b>	<b>Fonte</b>
Temperatura	Afeta a velocidade do metabolismo dos microrganismos, o equilíbrio iônico e a solubilidade dos substratos.	Campos et al. (2004)
pH	Valores baixos <sup>3</sup> podem inibir determinados microrganismos, como as arqueias metanogênicas, que são mais sensíveis.	Campos et al. (1998)
Carga orgânica	Quando muito elevada, pode comprometer degradação do acetato e levar ao acúmulo de AGV.	Aquino; Chernicharo (2005)
Tempo de detenção hidráulica (TDH)	Se muito reduzido, pode levar ao “washout” <sup>4</sup> da biomassa do reator.	Aquino; Chernicharo (2005)
Disponibilidade de nutrientes <sup>5</sup>	Quando presentes na medida certa estimulam a degradação anaeróbia. Do contrário, o processo torna-se instável.	Schmitt et al. (2006)
Atividade Metanogênica Específica (AME) do lodo	Cada lodo possui uma AME específica e quanto maior ela é, maior a eficiência na produção de metano.	Aquino; Chernicharo (2007)
Potencial Metanogênico (PM) do efluente	Cada resíduo tem um PM específico, e quanto maior ele for maior será a quantidade de metano formada a partir de determinada massa de resíduo degradada.	Aquino; Chernicharo (2007)

#### **2.4. Produção de metano a partir da degradação anaeróbia do glicerol**

Da revisão de literatura feita, percebe-se que poucos estudos foram conduzidos para investigar a degradação do glicerol em condições anaeróbias (Tabela 2.9).

<sup>3</sup> Valores na escala de pH que são menores que 6,5.

<sup>4</sup> Saída da biomassa do interior do reator devido à alta velocidade de fluxo do efluente a ser tratado.

<sup>5</sup> Principais nutrientes são: nitrogênio, fósforo, cobalto, zinco, níquel e ferro.

**Tabela 2.9:** Utilização do glicerol bruto como substrato.

Trabalho	Reator	Condições	Remoção de matéria orgânica	Produção de CH <sub>4</sub>
Yang et al. (2008)	Leito fixo imobilizado com poliuretano	CO = 1Kg DQO/m <sup>3</sup> .d 55°C	87%	0,450 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /g DQO
Hutnan et al. (2009)	UASB	6,5 Kg DQO/m <sup>3</sup> .d	61%	0,513 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /Kg glicerol
	ASBR	5,6 Kg DQO/m <sup>3</sup> .d	90%	0,526 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /Kg glicerol
Leitão et al. (2011)	UASB	10 Kg DQO/m <sup>3</sup> .d	Mais de 90%	61,5 L de biogás/d com 60% de CH <sub>4</sub>
Viana (2011)	UASB	2 – 10 Kg DQO/m <sup>3</sup> .d 30°C	97,5%	0,380 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /Kg glicerol
Kolesárová et al. (2011)	CSTR	2,2 Kg DQO/m <sup>3</sup> .d	99%	0,415 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /Kg glicerol

Em um reator estável, operado sob condições ótimas de crescimento microbiano, e na ausência de fatores de estresse, as etapas acidogênica, acetogênica e metanogênica ocorrerão em passos similares, de forma a haver uma equalização nas taxas de produção e consumo dos compostos intermediários. Nesses casos não haverá acúmulo significativo de ácidos graxos voláteis (AGV) e o processo deveria operar próximo às condições de equilíbrio dinâmico. Entretanto, essa condição é raramente observada em estações de tratamento de esgoto, devido às variações na concentração, composição e vazão do afluente, e às mudanças de condições ambientais (temperatura, ausência temporária de nutrientes, presença temporária de compostos tóxicos) (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

O conhecimento sobre a degradação anaeróbia do glicerol baseia-se, em sua maioria, por resultados referentes à degradabilidade do glicerol puro, e somente recentemente atenção tem sido dada à investigação da sua degradabilidade na forma de resíduo de glicerol bruto (SILES et al., 2010).

De acordo com Bolzonella et al. (2006), a co-digestão de diferentes resíduos orgânicos levam a melhorias na eficiência dos sistemas de tratamento anaeróbios. Por esta razão, alguns estudos foram conduzidos para investigar a co-digestão do glicerol com outros resíduos presentes em efluentes líquidos, os quais mostraram a aplicabilidade do glicerol como co-substrato (Tabela 2.10).

**Tabela 2.10:** Estudos de co-digestão do glicerol bruto com outros substratos.

<b>Trabalho</b>	<b>Substrato</b>	<b>Teor de glicerol</b>	<b>Resultados</b>
Amon et al. (2006)	Resíduo de suinocultura e processamento de milho	6%	Aumento na produção de metano de 569 para 679 NL/Kg SSV.
Fountoulakis; Manios (2009)	Mistura de águas residuárias de um matadouro e de processamento de oliva	1%	Aumento na produção de metano de 0,479 para 1,210 L/d.
Siles et al. (2010)	Água de lavagem durante purificação do biodiesel	25 – 100%	100% de remoção de DQO e produção de metano de 310 mL CH <sub>4</sub> /g DQO removida (1 atm, 25° C).
Fountoulakis et al. (2010)	Água residuária de estação de tratamento de esgoto	1%	Aumento na produção de 1106 mL CH <sub>4</sub> /dia para 2353 mL CH <sub>4</sub> /dia.
Nuchdang; Phalakornkule (2012)	Dejetos suínos	80%	Produção de 0,24 L de biogás/g DQO removida com 62% metano.
Larsen et al. (2013)	Resíduo de fecularia	2%	1,97 L de biogás/L .d

Assim de acordo com informações da literatura especializada, o tratamento anaeróbio do glicerol presente na fase g residual da produção de biodiesel é tecnicamente viável tanto pelo alcance de boas eficiências de tratamento quanto pela geração de elevadas concentrações de metano. Desta forma, esta tecnologia tem potencialidade de ser aplicada no Brasil para tratamento do glicerol bruto, porém há necessidade de estudos que forneçam informações acerca das melhores condições nutricionais e operacionais.

### *3 - Objetivos*

---

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

O objetivo geral do presente estudo é avaliar, em diferentes condições experimentais, o tratamento do resíduo da produção de biodiesel e a geração de metano a partir do mesmo em reatores UASB.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar, por meio de análises físico-químicas, o glicerol bruto obtido de uma indústria produtora de biodiesel;
- Determinar o potencial metanogênico (PM) do glicerol bruto e compará-lo com o de substratos puros, tais como glicerina e glicose;
- Avaliar a degradação anaeróbia do glicerol bruto em comparação à glicerina pura, em reatores UASB, em relação à remoção de DQO, acúmulo de subprodutos e produção de metano;
- Avaliar o efeito do controle da temperatura na biodegradação do glicerol bruto e glicerina pura em reatores UASB operados à temperatura ambiente e à 35°C;
- Avaliar o efeito da carga orgânica aplicada na degradação anaeróbia do glicerol bruto.



## *4- Materiais e Métodos*

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. O substrato e sua caracterização físico-química

O glicerol bruto utilizado neste estudo (Figura 4.1) é proveniente da indústria de biodiesel Biominas, localizada no município de Itaúna, Minas Gerais.

No processo de produção de biodiesel e consequente geração do glicerol bruto nesta indústria, o óleo de cozinha residual, utilizado como matéria-prima, reage com o metanol, monoálcool de escolha, através da catálise básica obtida pelo emprego do metilato de sódio. Ao final deste processo produtivo, o glicerol bruto é separado do biodiesel por decantação e não é submetido a nenhum tipo de pré-tratamento como neutralização ácida, por exemplo.



**Figura 4.1:** Glicerol bruto obtido da indústria de biodiesel Biominas.

Foi feita uma caracterização físico-química do efluente da produção de biodiesel (Tabela 4.1) antes de iniciar a operação dos reatores UASB, a fim de verificar sua composição em termos de concentração de alguns nutrientes como nitrogênio e fósforo, conteúdo de alguns contaminantes, como óleos e graxas, teor de matéria orgânica e relação DQO/DBO<sub>5</sub>, por exemplo.

**Tabela 4.1:** Metodologias empregadas na caracterização do glicerol bruto.

<b>Componente</b>	<b>Método</b>	<b>Fonte</b>
Proteínas	Espectrofotométrico	Gornall et al. (1949)
Carboidratos	Colorimétrico	Dubois et al. (1956)
Lipídeos	Colorimétrico	Postma e Stroes (1968)
Fósforo	Colorimétrico	APHA/WER/WEF (2005)
Cloreto	Argentométrico	APHA/WER/WEF (2005)
Glicerol	Espectrofotométrico	Benassi et al. (1989)
Sólidos Totais	Gravimétrico	APHA/WER/WEF (2005)
Óleos e Graxas	Gravimétrico	APHA/WER/WEF (2005)
DQO	Colorimétrico	APHA/WER/WEF (2005)
DBO <sub>5</sub>	Eletroquímico	APHA/WER/WEF (2005)

#### **4.2. Medição da Atividade Metanogênica Específica (AME) do inóculo e Potencial Metanogênico (PM) do substrato**

Os testes em batelada para determinação da AME foram realizados em equipamento ANKOM<sup>RF</sup> GÁS PRODUCTION SYSTEM (Figura 4.2) que, de forma automatizada, faz o monitoramento da variação de pressão de gás dentro de vários módulos e, remotamente, faz o registro dos dados em planilhas eletrônicas. Este mecanismo permite determinar a variação de gás produzido em tempo real de incubação. No equipamento ANKOM<sup>RF</sup>, a absorção de gás carbônico é feita por pastilhas de NaOH inseridas nos cabeçotes, através do qual os gases são obrigados a passar antes de atingirem o transdutor de pressão. Cada módulo é acoplado a um frasco com volume total de 590 mL.

Durante o teste da AME, para que houvesse suficiente contato da biomassa com o substrato e para que não houvesse limitações de transferência de massa do substrato e nutrientes, os frascos foram inseridos em incubadora de bancada (Shaker Solab) com agitação orbital que, além de garantir a agitação constante, permitiu o controle da temperatura do teste.



**Figura 4.2:** Respirômetro automatizado ANKOM<sup>RF</sup> GÁS PRODUCTION SYSTEM.

Realizaram-se três testes em triplicata, com três fontes de carbono distintas, de modo que a relação alimento/microrganismo (A/M) fosse de 0,2 g DQO/g SSV, que segundo Aquino et al. (2007) está dentro da faixa de valores que maximiza a atividade metanogênica.

A Tabela 4.2 apresenta os volumes e as concentrações de lodo, solução nutriente e substrato contidos em cada frasco teste. Nas primeiras 24 horas de experimento, os frascos foram incubados a uma temperatura de 35 °C e com agitação constante de 120 rpm contendo apenas o lodo anaeróbico e a solução de nutrientes. Para purga do oxigênio contido no *headspace* dos frascos, injetou-se nitrogênio gasoso. De acordo com Aquino et al. (2007), esta etapa de aclimação é importante para minimizar a produção de metano de origem endógena.

Após 24 horas de adaptação, foram adicionados em cada frasco os volumes de glicose, glicerol e efluente de biodiesel indicados na Tabela 4.2. Os frascos passaram então por nova purga com nitrogênio gasoso e, posteriormente, foram incubados a 35 °C e 120 rpm durante mais 4 dias, dando início ao teste que determina a AME do lodo e o PM do efluente de biodiesel.

**Tabela 4.2:** Condições de incubação dos frascos para determinação da AME do efluente de biodiesel, glicerol e glicose.

Frascos	Substrato	Lodo (gSSV/L)	Volumes (mL)			Concentração Final	
			Lodo	Substrato	Sol. nutriente	Lodo (gSSV/L)	Substrato (gDQO/L)
1, 2 e 3	Glicose	20	75	75	150	5	1
4, 5 e 6	Glicerina	20	75	75	150	5	1
7, 8 e 9	Glicerol Bruto	20	75	75	150	5	1

O programa fornece a pressão (psi) exercida pelo metano produzido. Esta pressão mensurada durante o teste pode ser convertida em número de mols de gás produzido através da utilização da Lei dos Gases Ideais, expressa pela Equação 4.1:

- Lei dos Gases Ideais

$$n = p (V/ RT) \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Onde:

n = número de moles de gás produzido

p = pressão em kilopascal (kPa)<sup>6</sup>

V = volume do “headspace” do frasco (L)

T = temperatura em Kelvin (K)

R = constante dos gases (8.314472 L·kPa·K<sup>-1</sup>·mol<sup>-1</sup>)

Posteriormente, o número de mols de gás produzido foi convertido a volume, em mL, de metano através da Lei de Avogadro (Eq. 4.3).

<sup>6</sup> 1 psi = 6.894757293 kilopascal

- Lei de Avogadro

Pela utilização desta lei, 1 mol de gás vai ocupar 22,4 L nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP – 0°C ou 273 K e 1 atm ou 101,325 kPa). Como o teste não foi realizado nas CNTP, foi necessário adequar os cálculos em relação às condições do laboratório através da Equação 4.2. Dessa forma, 1 mol de gás passou a ocupar 28,71 L.

$$\left(\frac{P_1V_1}{T_1}\right)_{\text{CNTP}} = \left(\frac{P_2V_2}{T_2}\right)_{\text{LAB}} \quad (\text{Eq. 4.2})$$

$$\text{Volume de gás produzido (mL)} = n \times 28,71 \times 1000 \quad (\text{Eq. 4.3})$$

A AME do lodo foi calculada dividindo-se a quantidade de metano produzido (expresso em g DQO) pela massa de biomassa inoculada (expressa em g SSV) e pelo tempo de incubação (expresso em dias), de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{AME} = \text{Gp}/\text{SSV} \cdot t \quad (\text{Eq. 4.4})$$

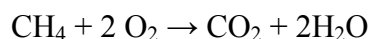
Onde:

Gp = gás produzido (gDQO)

SSV= sólidos suspensos voláteis (g)

t = tempo de incubação (por dia)

Desta forma, é preciso converter a produção volumétrica de metano, obtida normalmente em mL, em demanda química de oxigênio (DQO). Isso pode ser feito sabendo-se o coeficiente estequiométrico de oxidação do metano.



A reação química acima mostra que 1 mol de metano equivale a 2 mols de oxigênio ou 64 g de DQO. Como 1 mol de qualquer gás, na CNTP (0 °C e 1 atm), ocupa um volume de 22,4 L, pode-se dizer que 1 g de DQO destruída equivale, na CNTP, a 0,35 L de metano formado. Nas condições em que a produção de metano foi determinada, 1 mol de metano ocupa um volume de 28,71 L. Desta forma, é possível

dizer que a 35 °C e 0,88 atm (pressão atmosférica em Ouro Preto), 450 ml de metano produzido equivalem a 1 g de DQO destruída.

Ao final do teste de AME (após 4 dias), o potencial metanogênico do efluente de biodiesel foi calculado relacionando-se a produção acumulada de metano pela massa de DQO utilizada no teste, de acordo com a seguinte expressão:

$$PM = G_p / DQO_0 \quad (\text{Eq. 4.5})$$

Onde:

$G_p$  = total de gás produzido (em  $\text{Nm}^3$ )

DQO = DQO incubada (em Kg)

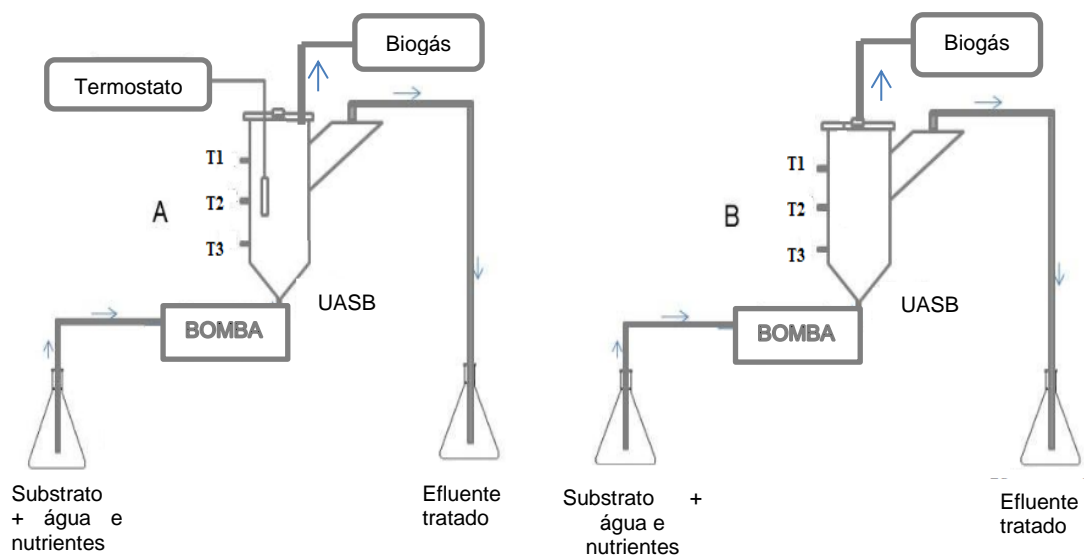
A degradabilidade anaeróbia do resíduo foi calculada através da relação entre a massa de DQO metano produzida e a massa de DQO total incubada.

### **4.3. Confeção e inoculação dos reatores UASB**

Quatro biorreatores UASB em escala de bancada foram construídos usando juntas e conexões de cloreto de polivinila (PVC), e cada um destes reatores apresentava um volume de trabalho de 3,4 L. Em cada reator foram colocadas três torneiras em diferentes alturas, para possibilitar amostragem do lodo anaeróbio ao longo do experimento; e um saco, na parte superior, para coletar o biogás produzido. As Figuras 4.3 e 4.4 ilustram os reatores.

Para dar início ao ensaio contínuo, cada reator UASB foi inoculado um lodo anaeróbio proveniente de um reator UASB que trata esgoto sanitário na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Arrudas, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. Foram utilizados 1,5 L de inóculo, com cerca de  $16 \text{ g SSV.L}^{-1}$ , em cada reator.

Ao final da Fase 1 e para dar início à Fase 2, os quatro reatores foram reinoculados com o mesmo volume de lodo que inicialmente.



**Figura 4.3:** Esquema ilustrativo dos dois tipos de reatores UASB (A – aquecido, B – não aquecido e T1, T2 e T3 - torneiras para amostragem de lodo de dentro dos reatores).



**Figura 4.4:** Reatores UASB utilizados no presente estudo.



#### **4.4. Preparo da solução de alimentação e acréscimo de nutrientes**

Em cada fase deste estudo, a alimentação dos reatores foi feita de uma maneira diferente para atender os valores necessários de DQO inicial e de nutrientes de acordo com o objetivo.

##### ***4.4.1. Diluição do efluente da produção de biodiesel***

Na Fase 1, 20 mL do efluente da produção de biodiesel foram adicionados a 20 litros de água destilada a fim de diluir 1000 vezes o efluente e atingir a DQO inicial desejada para teste (1 g DQO/L). A solução era homogeneizada manualmente e estocada em geladeira.

Na Fase 2, quando se tratava dos reatores UASB1 e 2, o glicerol bruto continuou sendo diluído da mesma forma que na Fase 1 por operarem com uma concentração inicial de DQO igual a 1 g.L<sup>-1</sup>. Já para os reatores UASB 3 e 4, operados com DQO inicial de 2 g.L<sup>-1</sup>, 40 mL de glicerol bruto eram diluídos em 20 L de água destilada. A homogeneização da solução era feita manualmente e a solução era estocada em geladeira.

##### ***4.4.2. Diluição da glicerina pura***

Na Fase 1, único período em que a glicerina pura foi utilizada, 23,75 g deste substrato eram pesados e diluídos em 20 L de água destilada de forma a igualar a concentração de DQO inicial desta solução com a solução de glicerol bruto diluído. A homogeneização da solução era feita manualmente e, quando pronta, era estocada em geladeira.

##### ***4.4.3. Preparo da solução de nutrientes***

A Tabela 4.3 mostra, detalhadamente, os reagentes e as concentrações utilizadas para o preparo da solução nutriente para uma DQO de 1000 mg.L<sup>-1</sup>, baseada no trabalho de Chernicharo (2007), que definiu as concentrações dos micro e macro nutrientes a fim de manter uma proporção de DQO: N: P próximo da relação ideal de 350: 5: 1. Vale ressaltar que, como esta solução era diluída 20 vezes quando adicionada

à solução substrato, o fator de diluição foi considerado no cálculo da massa de reagentes para preparo de 20 L de solução nutriente. A solução também era estocada em geladeira.

**Tabela 4.3:** Composição da solução nutriente (Adaptada de CHERNICHARO, 2007).

<b>Macro nutrientes</b>	<b>Concentração (mg/L) para tratar 1000 mg/L</b>	<b>Massa (g) para preparo de 20 L de solução</b>
NH <sub>4</sub> Cl	2224,00	88,96
(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	306,25	12,25
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	89,00	3,56
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1066,50	42,66
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	500,50	20,02
NaHCO <sub>3</sub>	5000,00	200,00
<b>Micronutrientes</b>	<b>Concentração (mg/L) para tratar 1000 mg/L</b>	<b>Massa (g) para preparo de 20 L de solução</b>
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	10,00	0,40
ZnCl <sub>2</sub>	0,25	0,01
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	2,50	0,10
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	3,25	0,13
AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	2,50	0,10
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	10,00	0,40
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	25,00	1,00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,00	0,24
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	16,00	0,64
HCl	0,2 % (v/v)	80(ml)

#### **4.4.4. Preparo da alimentação dos reatores**

Na Fase 1, pesava-se 0,20 g de extrato de levedura e este era solubilizado em 400 mL de solução nutriente e 1,6 L de água destilada. Após homogeneização em agitador magnético, esta solução era misturada com 6 L de substrato diluído (glicerol bruto ou glicerina pura, dependendo do reator) e, à nova solução, eram adicionados cerca de 22 g de bicarbonato de sódio para correção do pH. Após nova homogeneização, a solução era bombeada para o interior dos reatores.

Na Fase 2, a alimentação continuou sendo preparada da mesma forma que na Fase 1 quando se tratava dos reatores UASB 1 e 2. Já em relação aos reatores UASB 3 e 4, pesava-se 0,40 g de extrato de levedura e este era solubilizado em 800 mL de solução nutriente e 1,2 L de água destilada. Após homogeneização em agitador magnético, esta solução era misturada com 6 L de glicerol diluído à uma concentração de 2 mg DQO.L<sup>-1</sup> e à nova solução, eram adicionados cerca de 22 g de bicarbonato de sódio para correção do pH. Após nova homogeneização, a solução era bombeada para o interior dos reatores.

#### 4.5. Monitoramento e operação dos reatores

Ao longo de todo o experimento, foram testados, de maneira geral, diferentes substratos, cargas orgânicas, TDH, concentrações de DQO inicial e também diferentes temperaturas como resumido na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4:** Condições de monitoramento para cada um dos quatro reatores em todas as fases do estudo.

Fases	Parâmetros	Reatores			
		UASB1	UASB2	UASB3	UASB4
1	Carga orgânica		1 g DQO.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>		
	TDH		24 horas		
	DQO inicial		1000 mg.L <sup>-1</sup>		
	Temperatura	35°C	35°C	Ambiente	Ambiente
	Substrato	Glicerol bruto	Glicerina pura	Glicerol bruto	Glicerina pura
2	Carga orgânica		2 g DQO.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>		
	TDH		12 horas		24 horas
	DQO inicial		1000 mg.L <sup>-1</sup>		2000 mg.L <sup>-1</sup>
	Temperatura	Ambiente	35°C	Ambiente	35°C
	Substrato		Glicerol bruto		

##### 4.5.1. Determinação do pH

O pH dos reatores foi medido diariamente usando pHmetro da marca Analion, modelo PM 608, calibrado ao uso, com exatidão de ± 0,2. Esta medida era realizada com intuito de verificar a diferença do pH antes e após o tratamento anaeróbio e para certificar que os valores deste parâmetro estavam dentro da faixa considerada ideal (6,8 a 7,2) para uma boa atividade do consórcio microbiano.

#### ***4.5.2. Determinação da temperatura***

Para a verificação da temperatura dos reatores, utilizou-se um termostato em conjunto com um termômetro de mercúrio, graduado de 0°C a 110°C, que era inserido diariamente nos reatores.

#### ***4.5.3. Monitoramento da vazão***

A verificação da vazão foi feita diariamente, 2 vezes por dia, para certificar que o fluxo da solução de alimentação estava na velocidade desejada para teste. Para tanto, o volume de líquido que era bombeado para o interior dos reatores era medido durante 1 minuto e, quando a vazão não se encontrava dentro do intervalo de interesse, a bomba peristáltica era regulada para correção.

#### ***4.5.4. Determinação de sólidos suspensos voláteis (SSV)***

A análise de SSV foi realizada quinzenalmente através das orientações presentes no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA/WER/WEF, 2005), a fim de estimar a concentração de biomassa e o crescimento e morte da mesma no interior dos reatores. Para executar esta análise, amostras de dentro dos reatores eram coletadas manualmente pelas torneiras localizadas em diferentes locais dos mesmos. Posteriormente, as amostras eram centrifugadas, sendo o pellet (fração sólida) obtido na centrifugação ressuspenso em água destilada e encaminhado para análise gravimétrica.

#### ***4.5.5. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)***

Esta análise foi realizada três vezes por semana e tem o objetivo de estimar a concentração de matéria orgânica presente na fase líquida antes e depois do tratamento anaeróbio, possibilitando estimar a eficiência do tratamento através da diferença das concentrações final e inicial. Para tanto, as amostras foram previamente centrifugadas à 3.600 rpm por 20 minutos (Fanem Centrifuga Excelsa II 206 BL) para a remoção de sólidos suspensos.

As medidas de DQO foram realizadas de acordo com o método colorimétrico de refluxo fechado, como descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (AWWA/APHA/WEF, 2005).

#### **4.5.6 Determinação dos ácidos graxos voláteis (AGV)**

As análises dos AGV (fórmico-C1, acético-C2, propiônico-C3, butírico e isobutírico-C4 e valérico e isovalérico-C5) foram determinadas pela utilização de um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu, com detector DAD, sendo a análise realizada no  $\lambda = 210$  nm. A separação cromatográfica foi realizada em coluna de troca iônica Aminex HPX-874 (Bio-Rad), mantida a 55°C e utilizou-se como fase móvel uma solução de ácido sulfúrico 0,01 M com fluxo isocrático de 0,6 mL/min. As amostras foram previamente centrifugadas à 3.600 rpm por 20 minutos (Fanem Centrifuga Excelsa II 206 BL) e filtradas com filtro de 0,45  $\mu$ m de poro para remoção de partículas sólidas. O volume injetado foi de 10  $\mu$ L. O método foi devidamente validado segundo Mesquita et al. (2013). As concentrações de AGV foram usadas para estimar a fração de DQO gerada por compostos intermediários da digestão anaeróbia, de acordo com a Equação 4.6:

$$DQO_{AGV} = (0,35.[AF]) + (1,07.[AA]) + (1,50.[AP]) + (1,82.[AB+AIB]) + (2,04.[AV+AIV]) \quad (\text{Eq. 4.6})$$

Sendo:

AF = Ácido Fórmico

AA = Ácido Acético

AP = Ácido Propiônico

AB+AIB = Ácido Butírico + Ácido Isobutírico

AV+AIV = Ácido Valérico + Ácido Isovalérico

#### 4.5.7. Análise do biogás e quantificação do metano

O biogás foi coletado em sacos de 6 e 10 L (SUTEL TN, Supelco Analytica) e analisado semanalmente. Para tanto, foram necessários três frascos âmbar de 250 mL para cada saco, uma vez que a análise foi feita em triplicata. Os frascos foram tampados com tampas de borracha e hermeticamente lacrados. Em seguida, a purga dos mesmos foi feita com gás nitrogênio e a pressão do interior do frasco igualada à pressão atmosférica. Posteriormente, foram retiradas 3 alíquotas de 1,5 mL de biogás de cada saco, e injetou-se cada uma em um frasco âmbar para diluição da amostra antes de ser injetada no cromatógrafo gasoso para evitar saturação do detector.

Após a diluição da amostra, uma alíquota de 1mL era retirada do frasco e injetada no CG-FID (marca Varian, modelo CP 3380, coluna DB Wax (J8W) 30m x 0.25mm x 0,5 µm, hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, temperatura do detector igual a 280°C, temperatura da coluna e do injetor igual a 50°C), dando início à corrida. Por fim, foram obtidos valores de áreas que foram convertidos em mols de metano através da equação da reta obtida a partir da construção de uma curva padrão de gás metano 99,9998 % (Equação 4.7):

$$\text{Área} = 7 \times 10^{11} X + 1811,6 ; \quad (\text{Eq. 4.7})$$

Sendo X = número de moles de metano.

A conversão do número de mols de metano em volume de metano foi feita através da Equação 4.8.

$$PV = nRT \quad (\text{Eq. 4.8})$$

Sendo:

P = Pressão (atm)

V = Volume do gás (L)

n = número de moles

R = constante dos gases

T = temperatura (K)

Uma vez analisado o metano, o volume total de biogás em cada saco foi medido através do deslocamento de água contida em uma proveta, sendo o volume de água deslocado igual ao volume de biogás contido no saco. Sabendo-se o volume total de biogás e o volume de metano contido em 1 mL de biogás, por regra de três foi obtido o volume total de metano produzido.

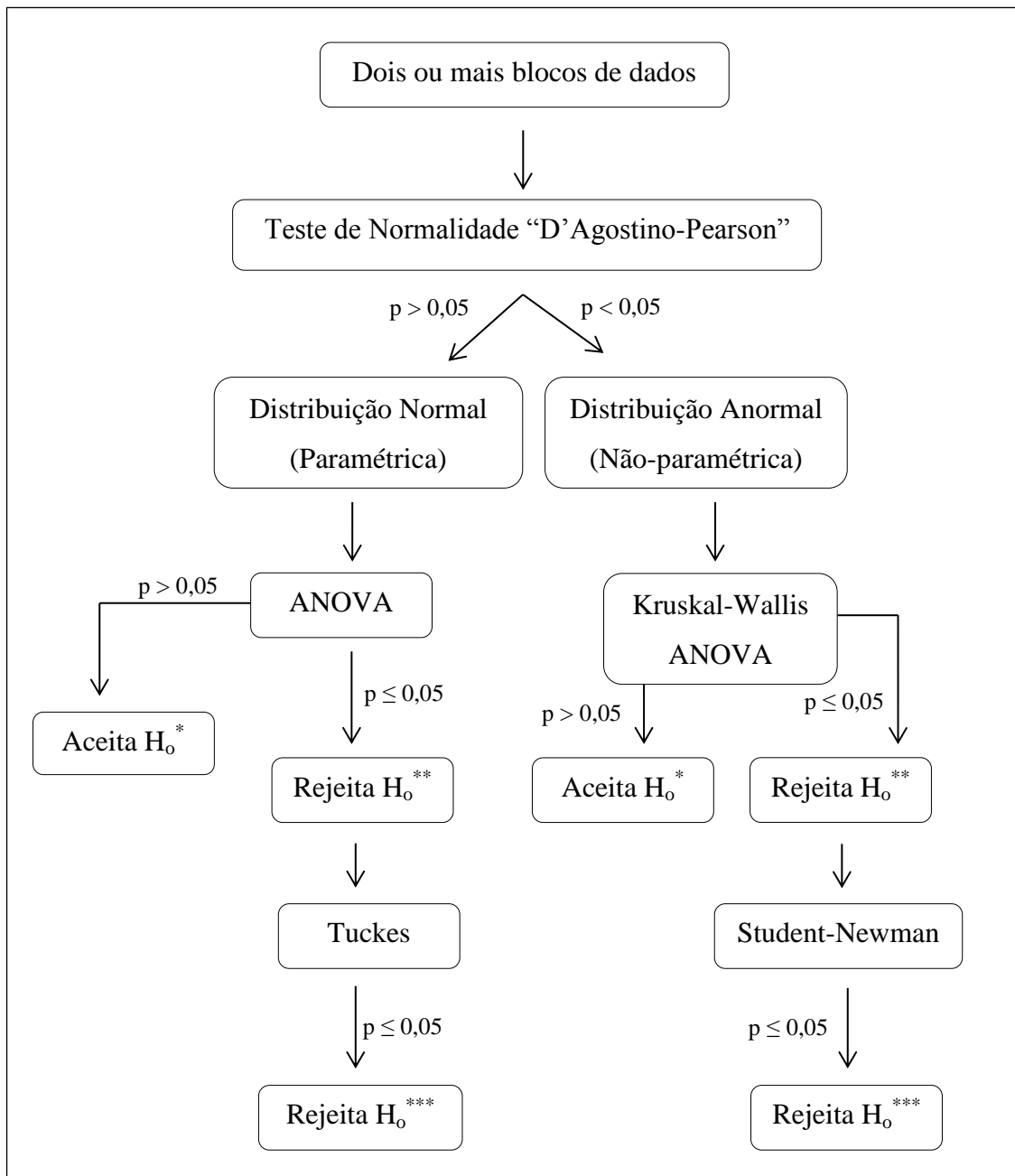
#### **4.6. Cálculo da energia recuperada em forma de metano**

Para a determinação da quantidade de energia equivalente ao metano, utilizou-se a média da massa de DQO removida por dia (gDQO/d) e calculou-se a produção máxima teórica (mol CH<sub>4</sub> por dia) considerando que 1 mol de CH<sub>4</sub> equivale a 64 g de DQO. Através deste valor e, assumindo que o poder calorífico do metano é de 191,5 Kcal/mol, foi possível calcular a quantidade máxima de energia gerada por dia (Kcal/d). Dividindo-se este valor pela quantidade de DQO que entra no reator por dia (DQO<sub>afluente</sub>/d) obteve-se a quantidade de energia específica potencialmente gerada (Kcal/KgDQO<sub>afluente</sub>).

#### **4.7. Análise estatística**

A fim de verificar diferenças significativas entre os parâmetros analisados em cada reator durante cada fase operacional, o software BioStat foi utilizado. Através do teste de normalidade de D'Agostino-Pearson foi possível observar qual o tipo de distribuição dos dados analisados e escolher o teste estatístico mais adequado, conforme Figura 4.5.

Quando os testes preliminares apontavam uma distribuição normal dos dados, era feita a análise de variância com o teste paramétrico ANOVA. Quando era observada distribuição anormal, os dados eram submetidos aos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis ANOVA, de Student-Newman e de Mann-Whitney. As comparações dos dados foram feitas avaliando-se os valores de p-valor. Quando o p-valor era < 0,05 a hipótese de igualdade entre as amostras podia ser rejeitada com 95 % de confiança.



\*  $H_0$  é a hipótese de igualdade ( $M_1 = M_2$ ); \*\* É a hipótese de desigualdade ( $M_1 \neq M_2$ ) em que os dados se diferem em pelo menos 1 ponto; \*\*\* É a hipótese de desigualdade em que os dados são diferentes entre si.

**Figura 4.5:** Fluxograma para escolha do teste estatístico adequado.



## *5 - Resultados e Discussão*

---

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização físico-química do glicerol bruto:

Sabe-se que a composição físico-química do resíduo da produção de biodiesel varia em função da natureza dos óleos vegetais e gorduras animais que podem ser utilizados como matéria-prima e também da rota de transesterificação empregada na produção de biodiesel (MA; HANNA, 1999; THOMPSON; HE, 2006; VIANA et al., 2012). As análises físico-químicas às quais o glicerol bruto utilizado neste estudo foi submetido apontaram a seguinte composição para o mesmo:

**Tabela 5.1:** Composição físico-química do efluente da produção de biodiesel.

Componente	Concentração (g/L)
Proteínas	23,20
Carboidratos	11,40
Lipídeos	612,10
Fósforo	2,02
Cloreto	5,01
Glicerol	634,86
Sólidos Totais	828,10
Óleos e graxas	89,90
DQO	1122,80
DBO <sub>5</sub>	975,20

De acordo com a Tabela 5.1, observa-se que o glicerol oriundo da produção de biodiesel possui 1122,80 g DQO/L, valor que se encontra dentro do esperado uma vez que, segundo Ma et al. (2008); Siles López et al. (2009), Hutnan et al. (2009) e Viana et al. (2012), a DQO do glicerol bruto varia de 925 e 1600 g/L. Entretanto, Viana et al. (2012) não recomenda a utilização direta de substratos com este conteúdo elevado de DQO, pois poderia causar sobrecarga orgânica, o que afetaria negativamente o consórcio microbiano.

Além da grande quantidade de matéria orgânica, pode-se afirmar que o efluente utilizado possui altos teores de lipídeos, glicerol, sólidos totais e óleos e graxas. Cerca

de 56% e 65% da DQO e DBO, respectivamente, correspondem ao glicerol, o que corrobora com o trabalho de Bodík et al. (2009).

O glicerol derivado da produção de biodiesel pode conter de 34 a 46 g  $\text{Cl}^{-1}/\text{L}$  (CARMONA et al., 2009 apud VIANA et al., 2012). Sabe-se que essa alta concentração de cloreto deve-se a utilização de ácido clorídrico em uma etapa de pré-tratamento do resíduo, na tentativa de neutralizar o seu pH, quando o biodiesel é produzido via catálise básica (com NaOH). Uma vez que o glicerol bruto estudado não foi pré-tratado com ácido, a concentração de cloreto do mesmo (5,01 g  $\text{Cl}^{-1}/\text{L}$ ) apresentou-se muito abaixo da faixa anteriormente citada. Apesar disto, ela ainda é capaz de causar forte inibição da metanogênese uma vez que concentrações entre 4 e 9 g  $\text{Cl}^{-1}/\text{L}$  são reportadas como inibitórias para a produção de metano (VIJAYARAGHAVAN; RAMANUJAM, 1999; VALLERO et al., 2003; RIFFAT; KRONGTHAMCHAT et al., 2006 apud VIANA et al., 2012).

Segundo Viana et al. (2012), o alto conteúdo de lipídeos, óleos e graxas oriundo do glicerol bruto pode ser prejudicial ao processo de degradação anaeróbia devido à ocorrência de flotação e “washout” da biomassa. Entretanto, esse problema pode ser resolvido através da adição de sais de magnésio, bentonita e sais de cálcio, com exceção do carbonato de cálcio devido à sua baixa solubilidade em água. Como não ocorreu flotação do lodo durante todo o experimento, a hipótese é de que a presença de cloreto de magnésio e cloreto de cálcio na solução nutriente contribuiu para evitar a toxicidade destes compostos.

Portanto, para evitar sobrecarga orgânica e diminuir possíveis efeitos tóxicos dos contaminantes presentes no glicerol bruto sobre os microrganismos utilizados, o substrato foi diluído 1000 vezes em água destilada. A diluição nesta proporção foi uma alternativa que possibilitou a geração de melhores resultados no presente estudo. Porém, vale ressaltar que a água é um insumo caro e que, se tratando da aplicação da digestão anaeróbia do glicerol bruto em larga escala, a diluição deve ser utilizada em menores proporções assim como foi feito por Viana (2011) e Siles López et al. (2009).

De acordo com Von Sperling (2005), no caso de efluentes industriais, uma relação DQO/DBO<sub>5</sub> baixa < 2,5 indica que a fração biodegradável presente no efluente é elevada e que o tratamento biológico é uma boa opção. Como a relação DQO/DBO<sub>5</sub> do

glicerol bruto é igual a 1,15; o efluente estudado pode ser considerado como facilmente biodegradado e a digestão anaeróbia uma forma correta de tratamento.

Além disso, assumindo que as proteínas possuem cerca de 15% de nitrogênio, o efluente da produção de biodiesel possui uma relação DQO:N:P igual a 350:1,1:0,6. A relação DQO:N:P ideal para lodos anaeróbios é 350:5:1 (CHERNICHARO, 2007) e, através da comparação desta relação com a obtida no glicerol bruto, percebe-se uma carência de nitrogênio e fósforo no efluente que foi suprida, nas duas fases experimentais, pela adição de solução de nutrientes conforme descrito anteriormente no Capítulo 4. Tal procedimento contribuiu para evitar dificuldade durante a fermentação do resíduo, demonstrada por Ito et al. (2005) quando utilizou glicerol proveniente da indústria de biodiesel como substrato sem adição sintética de nutrientes.

Assim como a água, a adição sintética de nutrientes encarece o processo e, conseqüentemente, diminui sua aplicabilidade em larga escala. Uma alternativa mais barata para compensar a carência nutricional observada no glicerol bruto seria promover a mistura de diferentes tipos de efluentes, como feito com sucesso por Amon et al. (2006) e Nuchdang e Phalakornkule (2012) que realizaram a co-digestão do glicerol bruto com resíduos de suinocultura, Larsen et al. (2013) que misturaram resíduo de fecularia ao glicerol oriundo da produção de biodiesel e ainda Fountoulakis et al. (2010) que promoveram a digestão anaeróbia combinada de glicerol bruto e água residuária de uma estação de tratamento de esgoto.

## **5.2. Atividade metanogênica específica (AME) do lodo anaeróbio e potencial metanogênico (PM) do efluente oriundo da produção de biodiesel**

A AME máxima foi obtida nas primeiras 24 horas em todos os testes, e de acordo com a Tabela 5.2, os resultados encontram-se dentro da faixa de valores típicos de AME de lodos anaeróbios, que variam de 0,001 a 1,50 gDQO/gSSV.d (FIELD et al., 1988 apud SILVA et al., 2005).

A AME do lodo exposto ao glicerol bruto foi ligeiramente maior do que a do lodo que foi exposto à glicerina pura, sugerindo que o efluente da produção de biodiesel e seus contaminantes não foram tóxicos à biomassa anaeróbia na concentração utilizada e no período de incubação. Esses resultados contradizem o trabalho de Freitas et al.

(2010), em que o glicerol bruto foi tóxico aos microrganismos metanogênicos que apresentaram AME médias de 1,2 g DQO/gSV.d e 0,6 g DQO/gSV.d nos frascos contendo glicose e glicerol como fonte de matéria orgânica, respectivamente.

**Tabela 5.2:** Resultados dos testes em triplicata da AME do inóculo e PM para diferentes substratos.

Substrato	AME <sub>média</sub> (gDQO <sub>metano</sub> /gSSV.d) ± DP	PM (Nm <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg substrato) ± DP
Glicose	0,68 ± 0,07	0,087 ± 0,07
Glicerina Pura	0,46 ± 0,11	0,097 ± 0,11
Glicerol Bruto	0,51 ± 0,06	0,093 ± 0,06

*DP = Desvio padrão*

Já em relação aos valores de PM obtidos em 4 dias de experimento, o teste que utilizou glicose como substrato apresentou um PM médio equivalente a 0,91 g DQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>incubada</sub>. Já a glicerina pura apresentou um PM médio equivalente a 0,90 gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>incubada</sub>, ao passo que o glicerol bruto apresentou PM médio equivalente a 0,96 gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>incubada</sub>. Tais valores indicam que 90% ou mais dos substratos submetidos ao teste foram biodegradados pelos microrganismos anaeróbios.

Viana (2011) encontrou, através da análise cromatográfica do biogás produzido, valores de PM de 0,196 a 0,285 Nm<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/Kg de glicerol residual proveniente da transesterificação de diferentes tipos de óleos, valores acima da faixa encontrada neste trabalho. É provável que o emprego de diferentes técnicas de quantificação de metano seja responsável pela diferença entre os resultados de PM para o glicerol bruto obtidos no presente estudo e por Viana (2011), pois é possível que a quantificação de metano pelo respirômetro tenha sido subestimada uma vez que neste método o dióxido de carbono é filtrado pela cápsula de NaOH, minimizando assim a produção de metano pela via hidrogenotrófica. Uma outra hipótese para tal disparidade pode estar relacionada aos diferentes tempos de duração dos ensaios, entre os dois estudos, para cálculo do PM.

O segundo teste, cujos resultados estão descritos na Tabela 5.3, foi realizado com o objetivo de investigar uma possível alteração da AME dos lodos após longo período de monitoramento em condições diferenciadas. Apesar de não haver na literatura especializada nenhum trabalho que relacione AME de um mesmo lodo anaeróbio antes e depois de sua inoculação, percebe-se que houve prejuízo da

capacidade de produção de metano dos microrganismos presentes em quase todos os reatores (desvio padrão dos resultados do UASB3 é muito alto), com exceção do UASB2, cuja biomassa parece ter permanecido ativa da mesma forma.

**Tabela 5.3:** Resultados do teste em triplicata da AME dos lodos presentes no interior dos reatores ao final da Fase 2.

Reator	AME <sub>média</sub> (gDQO <sub>metano</sub> /gSSV.d) dos lodos dos reatores ± DP	AME <sub>média</sub> (gDQO <sub>metano</sub> /gSSV.d) do inóculo ± DP
UASB1	0,20 ± 0,03	
UASB2	0,51 ± 0,08	0,51 ± 0,06
UASB3	0,84 ± 0,50	
UASB4	0,12 ± 0,02	

*Fase 2 (todos os reatores foram alimentados com glicerol bruto em uma carga orgânica 2gDQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>): UASB1 – TDH 12h T.A.; UASB2 – TDH 12h 35°C, UASB3 TDH 24h, T.A., UASB4 – TDH 24h 35°C, sendo T.A = temperatura ambiente, DP = desvio padrão*

A hipótese é de que, como o glicerol bruto demonstrou não ser tóxico para a biomassa no primeiro teste de AME em que o inóculo foi utilizado, a diminuição da AME dos lodos presentes no interior dos reatores tenha sido causada pela exposição dos microrganismos às condições de estresse causadas por parâmetros de monitoramento como TDH e concentração de DQO inicial.

O aumento da carga orgânica volumétrica promovido na Fase 2 fez com que a carga orgânica aplicada ao lodo (COL) aumentasse de 0,14 gDQO/gSSV.d (Fase 1) para 0,28 gDQO/gSSV.d (Fase 2). Segundo Viana (2011), se a COL for superior a AME máxima do lodo, este não seria capaz de suportar a carga orgânica aplicada. Como todos os valores de AME obtidos com o inóculo (Tabela 5.2) foram maiores que 0,14 gDQO/gSSV.d, pode-se dizer que a carga orgânica aplicada na Fase 1 foi bem suportada pelo lodo. Já na Fase 2, a COL igual a 0,28 gDQO/gSSV.d foi superior a AME obtida com os lodos presentes no interior do UASB 1 e 4 (Tabela 5.3), o que reforça a hipótese de que o aumento da carga orgânica durante a Fase 2 foi prejudicial para a biomassa anaeróbia.

### 5.3. Monitoramento dos reatores UASB

Em relação às análises diárias de monitoramento, a queima da resistência responsável pela manutenção da temperatura à 3 °C provocou desvios nos reatores aquecidos, o que fez com que a temperatura oscilasse de 16 °C a 45°C. Já naqueles operados sem aquecimento, a temperatura variou de 16°C a 37°C, de acordo com a época do ano em que os reatores estavam sendo monitorados (Anexo 1). Também ocorreram algumas oscilações do TDH ao longo do experimento devido à falta de energia ou até mesmo problemas de regulação das bombas peristálticas responsáveis pelo fluxo da solução de alimentação para o interior dos reatores (Anexo 2). Quanto ao pH, este foi mantido em torno de 7,0 através de adição diária de bicarbonato de sódio, o que impediu que um maior ou menor acúmulo de AGV influenciasse os valores deste parâmetro (Anexo 3).

#### 5.3.1. Remoção de matéria orgânica residual

A partir dos resultados mostrados na Figura 5.1, nota-se que durante os 335 dias de operação dos quatro reatores, a biomassa anaeróbia necessitou de um longo período de adaptação<sup>7</sup>, 97 dias em média, para alcançar a estabilidade.

No entanto, os reatores que foram aquecidos à 35°C durante a etapa de aclimação e Fase 1, UASB1 e UASB2, se estabilizaram um pouco mais rápido (88 dias) em comparação àqueles que foram operados à temperatura ambiente (106 dias) no mesmo período. Isto sugere que muito mais do que a característica do efluente (no caso glicerol bruto e glicerina pura), a temperatura controlada (35°C) foi um fator importante para acelerar o período de adaptação.

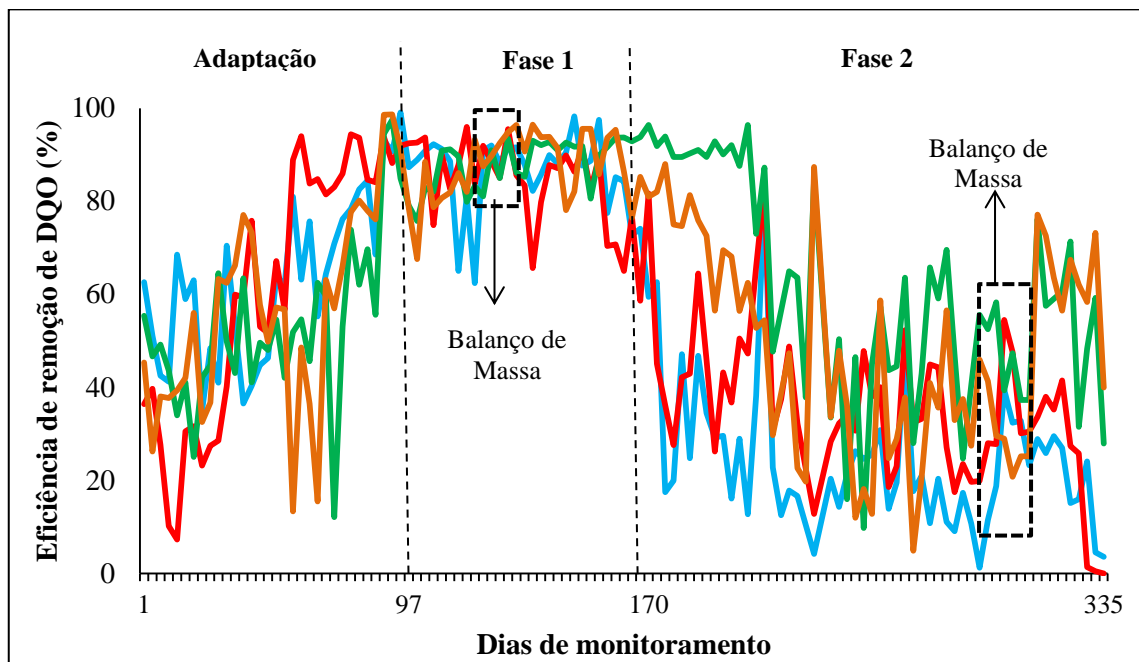
Ao se estabilizarem e darem início à Fase 1, os reatores mantiveram eficiências médias de remoção de DQO acima de 80% até que a Fase 2 fosse iniciada, período no qual a carga orgânica foi dobrada e a eficiência do processo foi enormemente prejudicada.

A comparação entre UASB 1 e 2 e entre UASB 3 e 4 durante a Fase 1 permite avaliar o efeito do substrato sobre a eficiência de remoção de DQO em condições

---

<sup>7</sup> Período de adaptação da biomassa ao resíduo.

diferenciadas de temperatura. De acordo com a Figura 5.2, a eficiência de remoção de DQO mediana do UASB 1 foi igual a 78% e a do UASB 2 de 83%. Para os reatores UASB 3 e 4, estes valores foram de 84% e 77%, respectivamente. Não foi observada diferença estatística significativa ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) em nenhuma das duas comparações, o que indica alta similaridade entre glicerina pura e glicerol bruto independentemente da temperatura, corroborando com a proximidade de valores obtidos de AME e PM para estes mesmos substratos neste estudo.



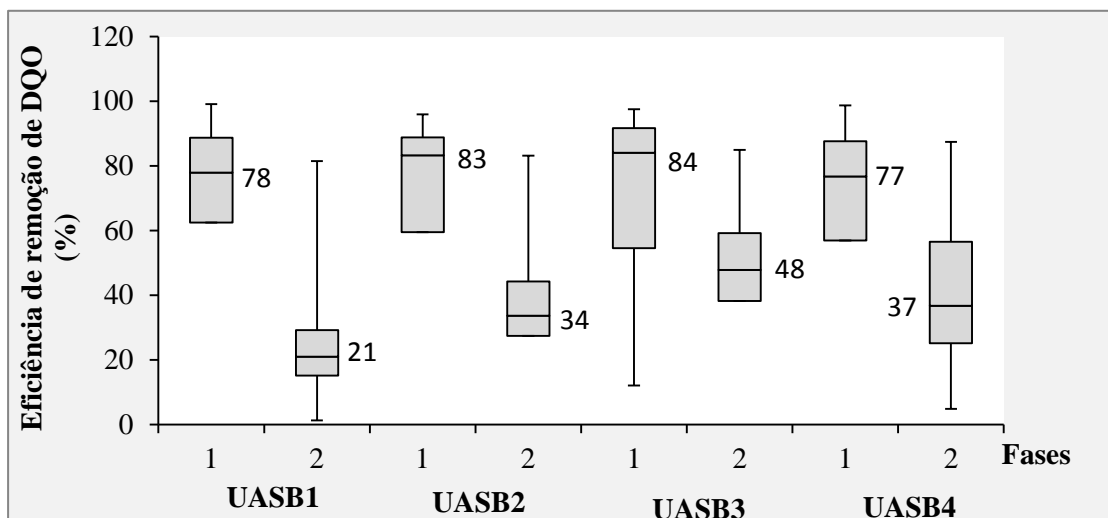
Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			
	S	T	TDH = 24 horas CO = 1 g DQO/L.d [DQO] <sub>0</sub> = 1 g/L	TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	
UASB1	GB	35°C			12	Amb	1 g/L
UASB2	GP	35°C	12		35°C	1 g/L	
UASB3	GB	Amb	24		Amb	2 g/L	GB em todos.
UASB4	GP	Amb	24		35°C	2 g/L	

**Figura 5.1:** Variação temporal da eficiência de remoção de DQO (Legenda: GB = glicerol bruto, GP = glicerina pura, T = temperatura, CO = carga orgânica, Amb = temperatura ambiente, [DQO]<sub>0</sub> = concentração de DQO inicial, TDH = tempo de detenção hidráulica).

O efeito da temperatura sobre a remoção de matéria orgânica foi avaliado durante a Fase 1 através da comparação entre UASB 1 e 3, ambos alimentados com



glicerol bruto, e entre UASB 2 e 4, ambos alimentados com glicerina pura. Não houve diferença estatística significativa ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) entre os reatores alimentados com o mesmo substrato e operados a temperaturas diferentes (Figura 5.2).



**Figura 5.2:** Box-plot da eficiência de remoção de DQO de todos os reatores.

Apesar disso, Yang et al. (2008) demonstraram que a temperatura exerce efeito sobre a degradação anaeróbia do glicerol, pois em condições termofílicas ( $55^{\circ}\text{C}$ ) obtiveram eficiência de remoção de DQO igual à 87% enquanto que em condições mesofílicas ( $35^{\circ}\text{C}$ ) a eficiência foi de 50%. A hipótese é de que o aumento de temperatura de cerca de  $25^{\circ}\text{C}$  para  $35^{\circ}\text{C}$  promovido neste estudo não tenha sido suficiente para que ela demonstrasse ser um fator diferencial no processo.

A Fase 2 se caracterizou pelo aumento da carga orgânica volumétrica aplicada (2 g/L.d), sendo que nos reatores UASB 1 e 2 este aumento foi promovido pela diminuição do TDH (12h) enquanto que no UASB 3 e 4 o aumento foi promovido pela dobro da concentração da DQO inicial (2g/L). Em função da não toxicidade do efluente de biodiesel comparado com a glicerina pura observada na Fase 1 e no teste de AME, o substrato controle não foi mais investigado e assim todos os reatores foram alimentados com glicerol bruto.

A fim de avaliar da redução do TDH sobre a degradação da matéria orgânica residual, comparou-se o desempenho dos reatores UASB 1 durante a Fase 1 e UASB 2 na Fase 2, ambos alimentados com glicerol bruto e aquecidos à  $35^{\circ}\text{C}$ , e UASB 3 na Fase 1 e UASB 1 na Fase 2, estes alimentados com glicerol bruto e mantidos à

temperatura ambiente. Nas duas situações, a diminuição do TDH de 24 para 12 horas foi capaz de prejudicar significativamente ( $p$ -valor  $\leq 0,05$ ) o desempenho dos reatores no que tange à remoção de DQO. Segundo a Figura 5.2, o prejuízo foi de 44% no primeiro caso e de 63% no segundo. Tal fenômeno também foi observado por Nuchdang e Phalakornkule (2012), que avaliaram o efeito do aumento da carga orgânica através da diminuição progressiva do TDH. Entretanto, neste caso, a diminuição da eficiência foi temporária, se reestabelecendo após alguns dias na nova situação.

Em relação ao efeito do aumento da concentração da DQO inicial sobre a remoção de matéria orgânica, a comparação entre os resultados obtidos no reator UASB 3 na Fase 1 e na Fase 2, como entre os do UASB1 na Fase 1 e UASB 4 na Fase 2 demonstrou que o desempenho dos reatores também foi afetado de forma negativa e significativa ( $p$ -valor  $\leq 0,05$ ). No primeiro caso, a eficiência diminuiu 36% e no segundo caso 41% (Figura 5.2). Selma e colaboradores (2010) também avaliaram, através de um experimento em batelada, o efeito do aumento da concentração de glicerol bruto em um mesmo intervalo de tempo. Os resultados obtidos por eles corroboram com o presente trabalho, uma vez que também observaram uma diminuição na eficiência de remoção de DQO de 81% para 66% quando aumentaram a concentração de DQO inicial de 1g/L para 2 g DQO/L.

Estes resultados apontam uma fragilidade da biomassa, possivelmente metanogênica, em responder ao aumento da carga orgânica, fato também observado por Bodik; Hutnan (2008) e Hutnan et al. (2009). Entretanto, a deterioração do processo parece ter sido mais influenciada pela diminuição do TDH para 12h (UASB1 e UASB2). Uma hipótese é de que o aumento da velocidade do fluxo do resíduo dentro dos reatores, ocasionado pela redução do TDH, pode ter provocado o “washout” ou lavagem da biomassa uma vez que a massa de SSV dentro dos reatores UASB1 e 2 ao final da Fase 2 foi menor do que a massa de SSV no fim da Fase 1 (Anexo 4).

Além disso, o controle da temperatura não favoreceu a biodegradação anaeróbia na condição de carga orgânica duplicada estabelecida através do aumento da DQO inicial. Uma hipótese seria que a solubilidade de alguns compostos presentes no efluente da produção de biodiesel tenha sido favorecida pelo aumento da temperatura. Dessa forma, a maior solubilidade de lipídeos, óleos e graxas que estão presentes em

grandes quantidades no glicerol bruto, por exemplo, pode ter dificultado a hidrólise tornando esta etapa limitante do processo.

De forma geral, pode-se dizer que as eficiências de remoção de DQO obtidas na Fase 1 foram altas. Yang et al. (2008) usou um reator anaeróbio de leito fixo empacotado com espumas de poliuretano para a remoção do glicerol de uma água residuária sintética alimentada de forma semi-contínua. Os melhores resultados obtidos neste estudo foram de 86,7% de remoção de carbono orgânico dissolvido sob uma carga orgânica de 1gDQO/L.d quando o reator foi operado em condições termofílicas (55°C).

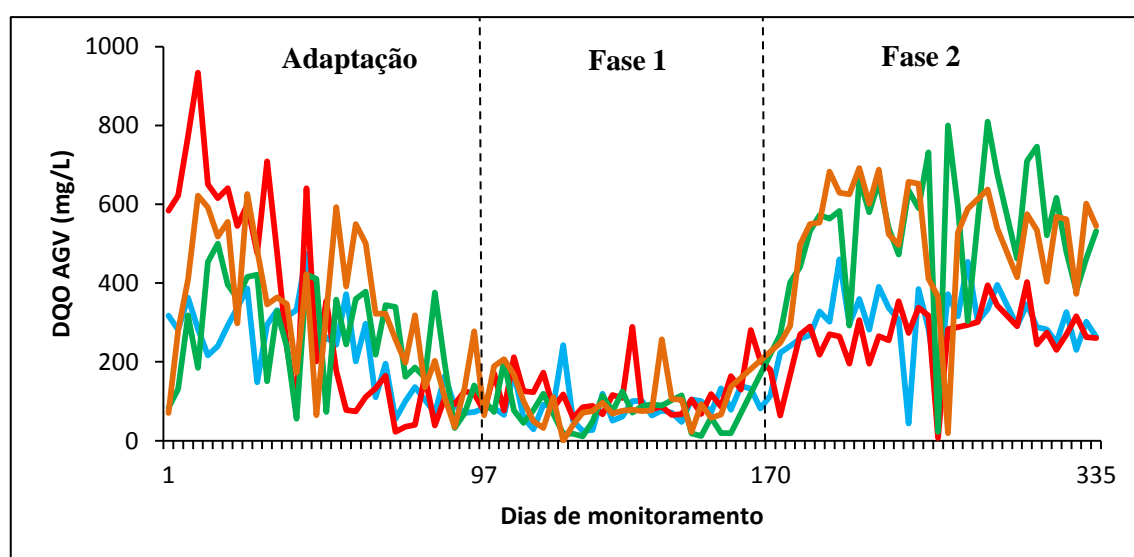
Entretanto, quando outros trabalhos são levados em consideração, percebe-se que as mesmas eficiências foram obtidas através da aplicação de cargas orgânicas mais altas, o que é, do ponto de vista econômico, mais interessante. Hutnan e colaboradores (2009), por exemplo, também observaram que a degradação anaeróbia do glicerol bruto é sensível a altas cargas orgânicas, mas ainda assim conseguiram obter bons resultados aplicando 6,5 g DQO/L.d. Outro exemplo seria Leitão et al. (2011), que conseguiu alcançar eficiências de remoção acima de 90% quando uma carga orgânica de 10 g DQO/L.d foi aplicada.

### ***5.3.2. Avaliação do acúmulo de AGV***

Segundo Aquino e Chernicharo (2005), o acúmulo de AGV é um indicador de que uma ou mais etapas do consórcio microbiano está sendo prejudicada. Como ilustrado na Figura 5.3, no período de adaptação houve um maior acúmulo de ácidos orgânicos em todos os reatores comparado com a Fase 1, como era esperado uma vez que a biomassa necessita de um tempo para se adaptar a degradar um novo substrato.

Nesta Fase 1, onde elevadas eficiências de remoção de DQO foram obtidas, observa-se baixa concentração de  $DQO_{AGV}$  no efluente, sugerindo que a degradação anaeróbia do resíduo e da glicerina pura ocorreu sobre as melhores condições. No entanto, o aumento da carga orgânica na Fase 2 promoveu um acúmulo dos AGVs, período em que a eficiência de remoção de DQO diminuiu. Logo, o acúmulo de AGV demonstrou estar relacionado diretamente com a eficiência de remoção de matéria orgânica.

A comparação entre UASB 1 e 2 e entre UASB 3 e 4, durante a Fase 1, possibilitou avaliar o acúmulo de AGV na degradação anaeróbia de diferentes substratos em condições diferenciadas de temperatura. De acordo com a Figura 5.4, a concentração mediana de  $DQO_{AGV}$  presente no efluente do UASB 1 foi 112,5 mg/L e a do UASB 2 124,4 mg/L, ambos aquecidos à 35°C. Para os reatores UASB 3 e 4, operados à temperatura ambiente, estes valores foram de 122,3 e 170,4 mg/L, respectivamente. Novamente, não foram observadas diferenças estatísticas significantes ( $p$ -valor > 0,05) em nenhuma das duas comparações.



Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			
	S	T		TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	
UASB1	GB	35°C	TDH = 24 horas CO = 1 g DQO/L.d	12	Amb	1 g/L	CO = 2 g DQO/L.d  GB em todos.
UASB2	GP	35°C		12	35°C	1 g/L	
UASB3	GB	Amb	24	Amb	2 g/L		
UASB4	GP	Amb	24	35°C	2 g/L		

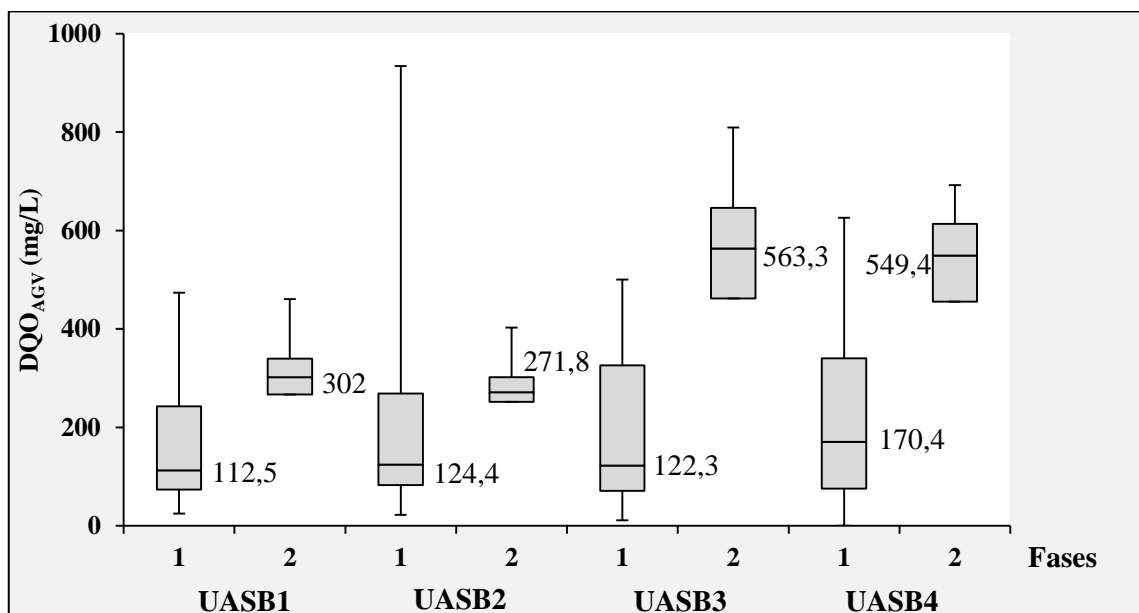
**Figura 5.3:** Variação temporal da concentração de  $DQO_{AGV}$  presente no efluente dos reatores (Legenda: GB = glicerol bruto, GP = glicerina pura, T = temperatura, CO = carga orgânica, Amb = temperatura ambiente,  $[DQO]_0$  = concentração de DQO inicial, TDH = tempo de detenção hidráulica).

Para verificar se a temperatura foi um fator importante no acúmulo destes subprodutos, comparações entre UASB 1 e 3 (aquecido e ambiente, alimentados com glicerol bruto) e UASB 2 e 4 (aquecido e ambiente, alimentados com glicerina pura)

operados durante a Fase 1 foram realizadas. Tal análise não apontou diferenças estatísticas significantes em nenhum dos dois casos, demonstrando que a temperatura não foi um interferente no acúmulo de AGV, assim como não foi na remoção de DQO.

O efeito da carga orgânica foi avaliado de duas maneiras. A primeira foi de acordo com a redução do TDH em diferentes temperaturas e para tanto os resultados obtidos nos reatores UASB 1 durante a Fase 1 e UASB 2 durante a Fase 2, assim como UASB 3 durante a Fase 1 e UASB 1 durante a Fase 2 foram comparados.

Notou-se que a redução do TDH para 12 horas foi capaz de aumentar significativamente ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ) a concentração de  $DQO_{AGV}$  dentro dos reatores. No primeiro caso, em que os reatores são mantidos a  $35^{\circ}\text{C}$ , o aumento na concentração de  $DQO_{AGV}$  foi de 159 mg/L. Já no segundo caso, com reatores mantidos à temperatura ambiente, esse aumento foi de 180 mg/L. Tais resultados corroboram com o trabalho de Nuchdang e Phalakornkule (2012), que também notaram o aumento da concentração de AGV propiciado pela redução do TDH.



**Figura 5.4:** Box-plot da concentração de  $DQO_{AGV}$  presente no efluente dos reatores.

A segunda maneira de avaliar o efeito da carga orgânica foi através do aumento da concentração de DQO inicial e para isso, os resultados obtidos com UASB 3 nas Fases 1 e 2 (ambos em temperatura ambiente), e UASB 1 na Fase 1 e UASB4 na Fase 2

(ambos aquecidos) foram comparados. Logo, observou-se um aumento estatisticamente significativo ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ) na concentração de  $DQO_{AGV}$  dentro dos reatores quando a concentração de DQO inicial foi dobrada. No primeiro caso, o aumento foi de 441 mg/L e no segundo de 437 mg/L. Wijekoon et al. (2011) também aumentaram a concentração de substrato, mantiveram o TDH e observaram que quanto maior a carga orgânica maior a concentração de AGV no efluente.

Frente a estes resultados, pode-se afirmar que o aumento da carga orgânica propiciou um maior acúmulo de ácidos orgânicos, assim como foi constatado também por Hutnan e colaboradores (2009). Além disso, o aumento da concentração de substrato foi mais impactante sobre o acúmulo de AGV em relação à redução do TDH. Este resultado indica que uma maior concentração de substrato leva a uma maior concentração de produtos da fermentação, mas não favorece o crescimento dos seus consumidores.

De forma geral, é possível que as inibições termodinâmicas ocasionadas pelo aumento da pressão de hidrogênio (devido ao aumento da atividade fermentativa acidogênica), em função da maior carga orgânica aplicada, sejam as responsáveis pelo maior acúmulo de AGV. Assim, sugere-se que a etapa limitante neste cenário seja a acetogênese e metanogênese, as quais ocorrem sabidamente sob pressões reduzidas de hidrogênio (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). A baixa atividade destes dois grupos favorece o versátil metabolismo das acidogênicas resultando em acúmulo de subprodutos como os ácidos orgânicos e solventes. Segundo Anderson e colaboradores (1998), uma alternativa para solucionar o problema apresentado por consórcios microbianos presentes em reatores UASB seria a utilização de reatores anaeróbios de duas fases, capazes de selecionar e enriquecer diferentes tipos de bactérias separadamente. Tal estratégia possibilitaria, ao mesmo tempo, uma alta produção de AGV e de metano.

Além de verificar o comportamento dos reatores em relação ao acúmulo de subprodutos em diferentes condições de temperatura, substrato e carga orgânica, é importante investigar a predominância dos ácidos orgânicos voláteis em cada situação.

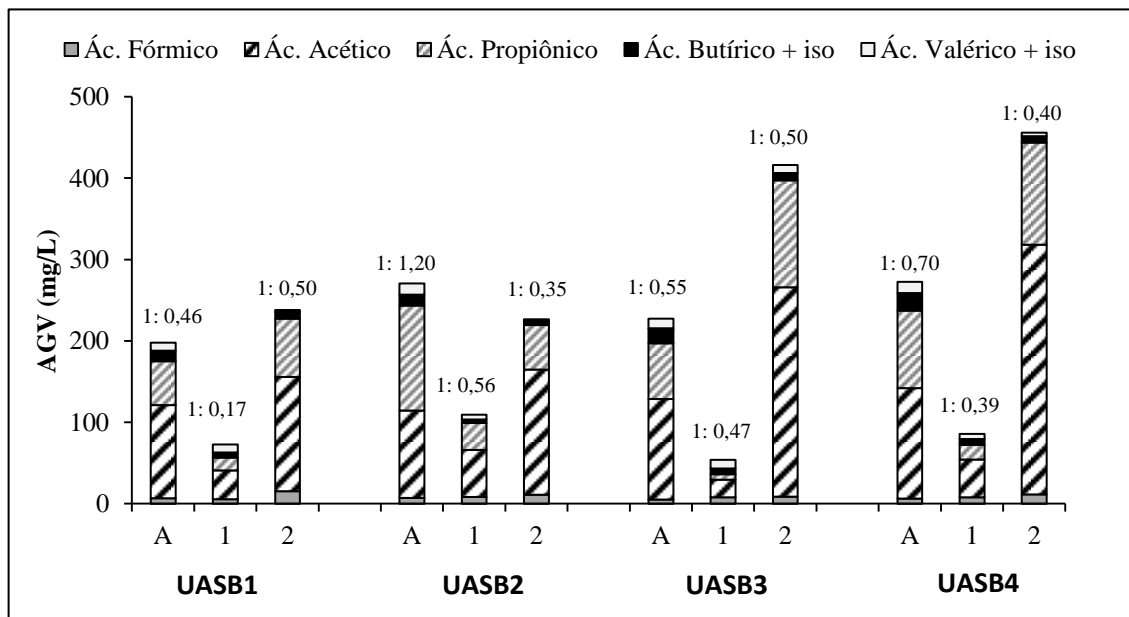
Na Figura 5.5, percebe-se que o ácido acético e ácido propiônico, nesta ordem de importância, foram os principais ácidos orgânicos acumulados durante todo o

experimento. O ácido acético é o AGV mais favorável à metanogênese enquanto que o ácido propiônico é considerado o mais tóxico (WIJEKOON et al., 2011).

Durante a aclimação, período de instabilidade de remoção de matéria orgânica, o ácido acético foi equivalente à 58%, 40%, 54% e 50% de todo o conteúdo de AGV presente no efluente dos reatores UASB1, 2, 3 e 4, respectivamente. Para o ácido propiônico, esses números foram iguais a 27%, 48%, 30% e 35% para os mesmos reatores.

Já na Fase 1, período em que os reatores estavam sendo operados em condições que propiciaram a estabilidade dos mesmos, o ácido acético correspondeu a 48%, 53%, 40% e 54% dos ácidos orgânicos acumulados nos reatores 1, 2, 3 e 4. Em relação ao ácido propiônico, tais valores foram de 22%, 30%, 13 e 21%, respectivamente.

Por fim, na Fase 2, período em que os reatores se mostraram frágeis ao aumento da carga orgânica, o UASB1 apresentou em seu efluente 59% de ácido acético e 30% de ácido propiônico. Esses números foram iguais à 68% e 24% para UASB2, 62% e 32% para UASB3, 67% e 27% para o UASB4.



**Figura 5.5:** Estratificação da produção de AGV e relação entre os ácidos acético e propiônico (A:P) nos reatores UASB nas diferentes fases de monitoramento (A = adaptação, 1 = fase 1 e 2 = fase 2).

Considerando que uma relação entre os ácidos acético:propiônico (A:P) maior

que 1:1,4 indica inibição do sistema (MARCHAIM; KRAUSE, 1993) e ainda que as arqueias metanogênicas podem ser inibidas quando ácido propiônico é encontrado em concentrações acima de 1-2 g/L, enquanto que em relação ao ácido acético são toleradas concentrações até 10 g/L (INAC et al., 1999 apud WIJEKOON et al., 2011), pode-se afirmar que não houve inibição direta da metanogênese pelo acúmulo de AGV.

### 5.3.3. Produção de biogás e metano

Os volumes totais de biogás e metano produzidos estão apresentados na Tabela 5.4, porém para fins de comparação, os valores foram convertidos em produção diária.

Na primeira fase, não houve diferença estatística significativa ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre nenhum dos reatores, o que ressalta que o substrato (glicerina pura e glicerol bruto) nem a temperatura interferiram na produção de metano, sendo o teor médio de metano presente no biogás igual a 53%.

Na segunda fase, a análise estatística também não apontou diferença significativa entre os reatores ( $p$ -valor  $> 0,05$ ), o que significa que não houve diferença entre as duas formas de aumentar a carga orgânica (redução do TDH e concentração de DQO inicial dobrada), sendo o teor médio de metano no biogás igual a 80%.

**Tabela 5.4:** Produção de metano em cada fase operacional dos quatro reatores.

Fases	Reatores	Biogás (L)	CH <sub>4</sub> (L)	CH <sub>4</sub> /Biogás (%)	PD* (mL.d <sup>-1</sup> )
1	UASB1	47	26	55	0,38 ± 0,3
	UASB2	50	29	57	0,34 ± 0,3
	UASB3	84	41	48	0,33 ± 0,3
	UASB4	94	51	54	0,40 ± 0,4
2	UASB1	54	39	72	0,31 ± 0,3
	UASB2	95	77	81	0,61 ± 0,3
	UASB3	69	57	83	0,44 ± 0,4
	UASB4	74	61	83	0,44 ± 0,4

\*Produção diária de metano

Quando o desempenho dos reatores nas Fases 1 e 2 são comparados o cenário é outro, pois existem diferenças estatísticas significativas ( $p$ -valor  $\leq 0,05$ ), o que aponta, mais uma vez, que a carga orgânica foi um fator importante no desempenho dos



reatores.

Para avaliar o efeito da redução do TDH, foi feita uma comparação dos resultados do UASB1 na Fase 1 e UASB 2 na Fase 2 (ambos aquecidos, alimentados com glicerol bruto) e também entre UASB 3 na Fase 1 e UASB 1 na Fase 2 (não aquecidos com glicerol bruto) e, de maneira surpreendente, a produção de metano e seu teor no biogás foram maiores quando a TDH foi de 12 horas.

Em relação ao efeito do aumento da DQO inicial, comparações entre UASB1 Fase 1 e UASB4 na Fase 2 e UASB3 entre Fases 1 e 2 mostraram que os melhores resultados em relação a produção de metano foram obtidos quando a DQO inicial foi dobrada (Tabela 5.4). Ou seja, o aumento da carga orgânica parece ter aumentado a produção de metano assim como foi observado por Nuchdang e Phalakornkule (2012), que observaram que a produção de metano diminuiu apenas momentaneamente, mas como a estabilidade do sistema era restabelecida em poucos dias, alcançaram boas eficiências de geração de metano para até  $5,4 \text{ g DQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

De forma contrária, Bodik e Hutnan (2008) observaram prejuízo na remoção de matéria orgânica, aumento do acúmulo de AGV e redução da produção de metano quando a carga orgânica foi aumentada. O melhor cenário foi com carga de  $4 \text{ g DQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , 980 mL biogás produzido por mL de substrato degradado e um conteúdo de metano no biogás igual a 61%.

Como a estabilidade de remoção de DQO não foi restabelecida, mesmo após cerca de 165 dias de monitoramento, uma hipótese para justificar tal incompatibilidade de resultados seria a grande perda de biogás durante a Fase 1, uma vez que foram constatados furos em alguns sacos de coleta durante esse período, inconveniente que fez com que novos sacos fossem comprados e utilizados na Fase 2.

Como a quantificação de metano durante a Fase 1 foi subestimada, os cálculos de produção de energia foram gerados a partir da DQO degradada pelos quatro reatores durante as duas fases experimentais. De acordo com a Tabela 5.5, observa-se que, apesar do cálculo teórico estar superestimado por não descontar a fração da DQO utilizada para geração de biomassa e de outros gases, a produção de metano real foi inferior à produção de metano teórica calculada tanto na Fase 1 quanto na Fase 2, sendo que a recuperação de metano na Fase 1 foi menor se comparada a Fase 2 devido a

perdas de gás durante a coleta e armazenamento.

No caso específico do UASB2, a produção diária real de metano foi bem próxima à estimada. Tal resultado pode ser justificado pela AME do lodo presente neste reator ao final da Fase 2 não ter tido prejuízo na sua atividade metanogênica específica, diferentemente dos demais reatores, como demonstrado anteriormente.

De qualquer forma, foi realizada uma estimativa teórica, a partir da DQO degradada, da quantidade de energia a ser gerada pela produção de metano oriunda da degradação anaeróbia do glicerol, e este valor variou de 2093 a 2222 Kcal de CH<sub>4</sub> por Kg de DQO<sub>afluente</sub> na Fase 1, e 685 a 1428 Kcal de CH<sub>4</sub> por Kg de DQO<sub>afluente</sub> na Fase 2 (Tabela 5.5). Como pode ser percebido, o potencial para geração de energia a partir da combustão do metano foi maior quando aplicada uma carga orgânica de 1 g DQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> devido às maiores eficiências de remoção de matéria orgânica durante este período.

A degradação do glicerol bruto e geração de biogás em reator do tipo UASB mostrou ser capaz de gerar até 2222 Kcal<sub>CH<sub>4</sub></sub>/KgDQO<sub>afluente</sub>, quando o reator foi operado a uma carga orgânica de 1 g DQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>.

**Tabela 5.5:** Percentual de recuperação de metano e produção de energia a partir da DQO degradada.

Reator	PMR (mol.d <sup>-1</sup> )	PMT (mol.d <sup>-1</sup> )	RM (%)	PE <sub>max</sub> (Kcal/d)	PT de energia específica por DQO aplicada (Kcal.KgDQO <sub>afluente</sub> )
Fase 1					
UASB1	0,009	0,036	25	6,89	2.153
UASB2	0,010	0,036	28	6,89	2.153
UASB3	0,009	0,036	25	6,89	2.222
UASB4	0,011	0,035	31	6,70	2.093
Fase 2					
UASB1	0,010	0,024	41	4,59	685
UASB2	0,030	0,036	83	6,89	1.013
UASB3	0,011	0,047	23	9,0	1.428
UASB4	0,016	0,041	39	7,85	1.208

Sendo: PMR = produção de metano real; PMT = produção de metano teórica, RM = recuperação de metano, PE<sub>max</sub> = produção máxima de energia, PT = Produção teórica.

Segundo o cálculo do PM do glicerol bruto e glicerina pura realizado no experimento em batelada, quando aquecido à 35°C, o glicerol bruto foi capaz de gerar 0,96 gDQO<sub>CH4</sub>/g DQO<sub>incubada</sub> enquanto a glicerina gerou 0,90 gDQO<sub>CH4</sub>/g DQO<sub>incubada</sub>. Nos reatores que foram aquecidos durante a Fase 1, UASB1 e UASB2, os PM teóricos para glicerol bruto e glicerina pura seriam 0,73 e 0,71 gDQO<sub>CH4</sub>/g DQO<sub>afluente</sub>, respectivamente. Nos dois momentos, os PM entre os dois substratos foram bem próximos, mas diminuíram no ensaio contínuo, o que já era esperado visto que o experimento em batelada foi feito em condições otimizadas e o ensaio contínuo é mais susceptível à interferência de fatores como alterações momentâneas no fluxo do afluente e leves oscilações na concentração de DQO inicial, como pode ser observado nos Anexos 6, 7, 8 e 9.

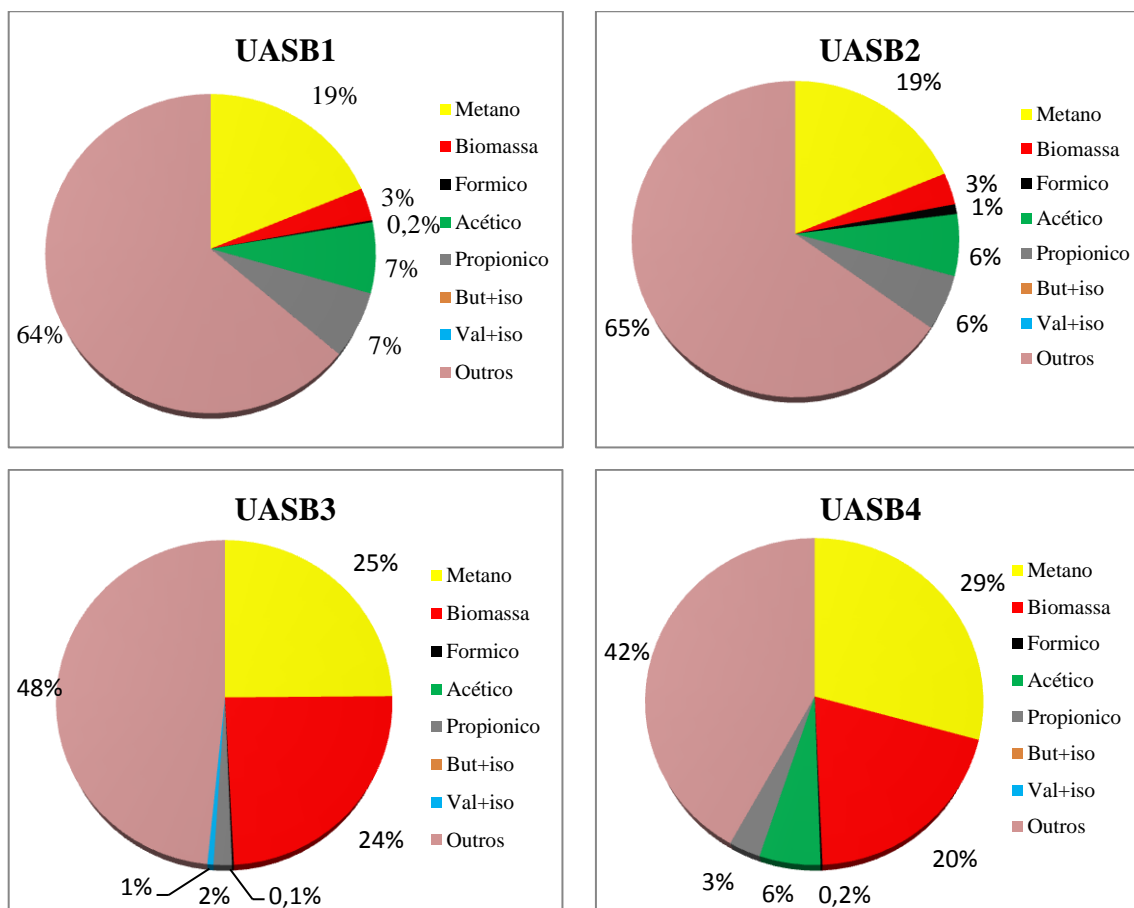
#### **5.3.4. Balanço de Massa**

A Figura 5.6 apresenta o balanço de massa da DQO total inserida nos quatro reatores operados na Fase 1. O balanço de massa considerou todas as análises do monitoramento de todos os reatores durante uma semana, do 115° ao 122° dia para os reatores UASB1 e UASB2 e do 163° ao 170° dia para os reatores UASB3 e UASB4.

Considerando os dois substratos investigados, não foram observadas diferenças significativas entre os reatores alimentados com glicerina pura e glicerol bruto nas mesmas condições de temperatura. Entretanto, percebem-se diferenças significativas quando reatores com o mesmo substrato em diferentes temperaturas são comparados. No caso daqueles com o resíduo de biodiesel, as maiores diferenças se referem ao maior crescimento da biomassa, maior produção de metano, menor geração de outros produtos e ausência de geração de ácido acético ocorridas no UASB3 em comparação ao UASB1.

É possível que o aumento da temperatura favoreça bactérias fermentativas e ou rotas metabólicas específicas relacionadas à geração de outros produtos da fermentação do glicerol, que não foram quantificados no presente trabalho. Tais produtos podem ser álcoois, solventes e outros produtos orgânicos tais como 1,2 e 1,3-propanodiol. De forma similar, os reatores alimentados com glicerina pura apresentaram uma composição distinta quando operados com e sem controle da temperatura, sendo este

último com maior geração de metano e biomassa e menor geração de outros produtos e de ácido propiônico.



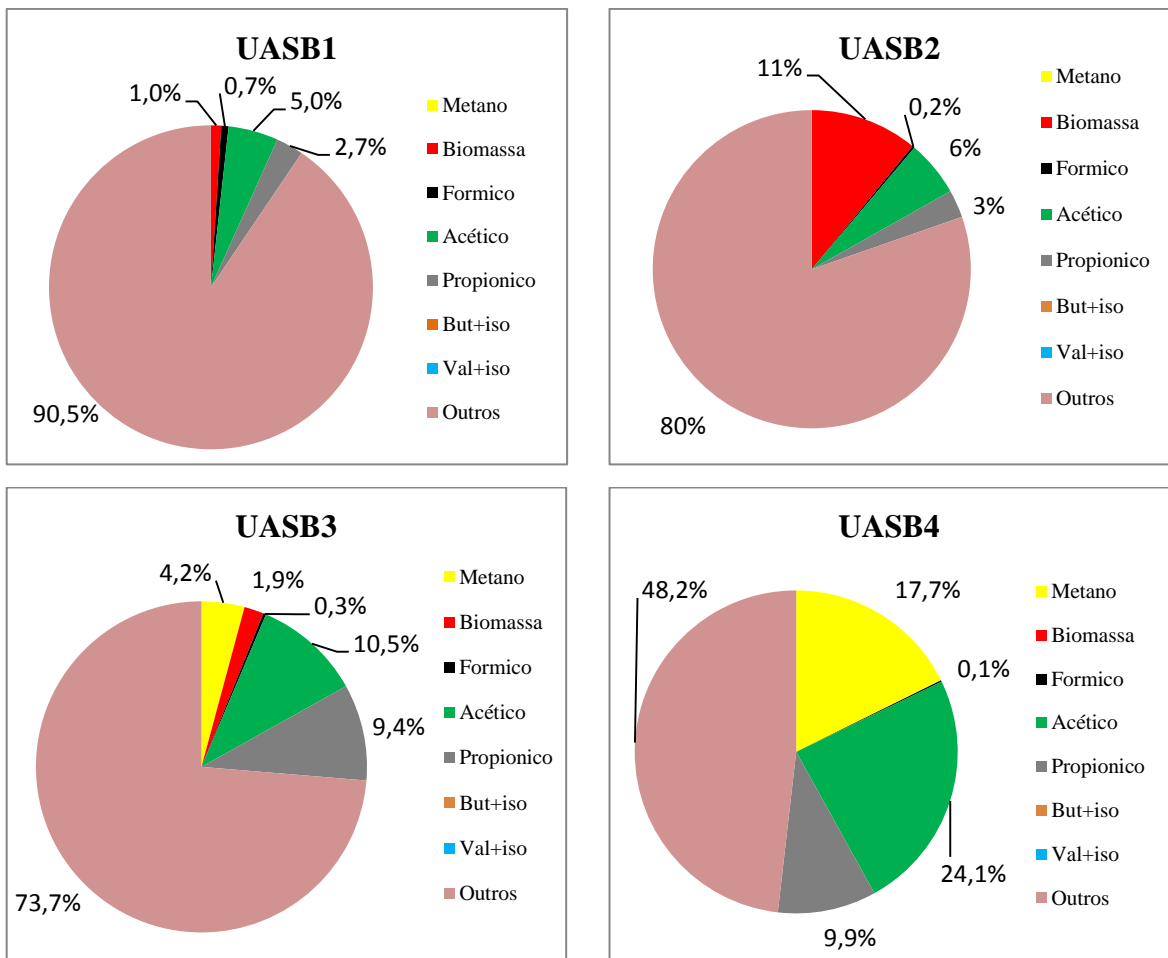
**Figura 5.6:** Conversão da DQO do afluente nos vários subprodutos da degradação anaeróbia nos quatro reatores durante a Fase 1 (carga orgânica de 1g/L/d; UASB1 – glicerol bruto 35°C; UASB2 – glicerina pura 35°C, UASB3 glicerol bruto T.A.; UASB4 – glicerina pura T.A.; sendo T.A = temperatura ambiente).

Considerando o balanço de massa da Fase 2 (Figura 5.7), pode-se observar que, assim como ocorreu na Fase 1, a maior parte da DQO degrada foi destinada a geração de outros produtos, com exceção do UASB4.

Apenas nos reatores alimentados com 2 g DQO/L (UASB3 e UASB4) parte dos elétrons foi destinada à produção de metano. Mesmo no caso destes reatores, a conversão da DQO em metano foi baixa, pois Hutnan et al. (2009), por exemplo, conseguiram obter 65% de conversão de matéria orgânica em metano na melhor condição e 32% no pior cenário experimental.

A baixa geração de biomassa apresentada pelo UASB 1, 3 e 4 mostra que poucos elétrons foram destinados para este fim e sugere que os microrganismos não obtiveram energia o suficiente para garantir o crescimento celular.

Diante do exposto sobre a baixa eficiência de formação de metano e biomassa, os outros produtos da fermentação do glicerol (acético, propiônico e outros não identificados) foram beneficiados pela maior parte do fluxo de elétrons proveniente do resíduo degradado



**Figura 5.7:** Conversão da DQO do afluente nos vários subprodutos da degradação anaeróbia em cada reator durante a Fase 2 (todos os reatores foram alimentados com glicerol bruto, com carga orgânica 2g/L.d, diferindo em: UASB1 – TDH 12h, T.A,  $DQO_0 = 1 \text{ g DQO/L.}$ ; UASB2 – TDH 12h, 35°C,  $DQO_0 = 1 \text{ g DQO/L.}$  UASB3 - TDH 24h, T.A.,  $DQO_0 = 2 \text{ g DQO/L.}$  e UASB4 – TDH 24h, 35°C,  $DQO_0 = 2 \text{ g DQO/L.}$ ).

Temudo et al. (2008) investigaram a degradação anaeróbia do glicerol (4g/L)

realizadas por uma cultura mista em reatores operados a 30°C, pH próximo de 8 e TDH de 8 horas. Obtiveram como principais subprodutos o etanol (46%) e o 1,3-propanodiol (28%). Logo, é provável que os outros componentes não identificados no balanço de massa dos reatores sejam etanol e/ou 1,3-propanodiol, subprodutos que também possuem valor agregado e interesse mercadológico, como mencionado no item 2.1.1 deste trabalho.

Acredita-se que a identificação dos microrganismos presentes nos reatores possa contribuir para o entendimento da biodegradação deste resíduo. Um estudo comparativo da estrutura da comunidade microbiana dos reatores encontra-se em andamento e fornecerá informações acerca de possíveis rotas metabólicas envolvidas na degradação do glicerol em reator UASB.

## *6 - Conclusões*

---

## 6. CONCLUSÕES

Conclui-se que a aplicação da tecnologia anaeróbia para degradação do glicerol bruto e geração de biogás em reator do tipo UASB é tecnicamente viável, com capacidade de gerar até  $2222 \text{ Kcal}_{\text{CH}_4}/\text{KgDQO}_{\text{afluente}}$ . Ainda nas condições estudadas, o controle da temperatura ( $35^\circ\text{C}$ ) não influenciou o desempenho dos reatores, sugerindo que os processos biológicos mesofílicos podem ser mantidos em reatores operados à temperatura ambiente. No entanto, o desempenho foi fortemente influenciado pelo aumento da carga orgânica, com acúmulo de ácidos graxos voláteis e outros produtos da degradação. Inibições termodinâmicas podem ter favorecido o versátil metabolismo de bactérias fermentativas culminando na geração de produtos que influenciaram negativamente a atividade dos microrganismos metanogênicos.

Desta forma, mais estudos necessitam ser conduzidos acerca das melhores condições de operação de reatores UASB afim de favorecer a atividade metanogênica e garantir que o tratamento do glicerol bruto seja eficiente a cargas orgânicas maiores e, conseqüentemente, possa gerar metano em concentrações que garantam a sustentabilidade da indústria de biodiesel.



*7 - Perspectivas futuras*

---

## **7. PERSPECTIVAS FUTURAS**

- Investigar possíveis alterações na comunidade microbiana durante a mudança da carga orgânica aplicada a fim de elucidar as rotas metabólicas bacterianas que são favorecidas nas condições experimentais estudadas;
- Investigar a influência da adição do carvão ativado em pó, em reatores UASB, na eficiência de remoção de DQO e na produção de metano durante o tratamento do resíduo da produção de biodiesel;
- Avaliar a viabilidade da recuperação de outros produtos de valor agregado produzidos no tratamento anaeróbio do resíduo de biodiesel, tais como ácidos orgânicos e outros produtos da fermentação do glicerol, a fim de garantir uma maior qualidade do efluente tratado;
- Investigar a degradação anaeróbia do glicerol bruto sem adição sintética de nutrientes e/ou promover a co-digestão deste substrato com outros resíduos;
- Promover a digestão anaeróbia do glicerol bruto em reatores UASB periodicamente reinoculados com microrganismos acetogênicos e metanogênicos mais resistentes;
- Avaliar a viabilidade da aplicação de maiores cargas orgânicas neste sistema através de uma menor diluição do efluente da produção de biodiesel;
- Investigar a degradação anaeróbia do glicerol bruto sob maiores temperaturas (55°C) e em diferentes configurações de reatores (com meio suporte, reatores em série, por exemplo).

## *Referências Bibliográficas*

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, K. G.; KASAPGIL, B.; INCE, O. Microbiological study of two-stage anaerobic digestion during start-up. *Water Research*. v.28, n. 11, p.2383-2392, 1994.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>>. Acesso em:dez.2013.

AISSE, M. M.; LOBATO, M. B.; BONA, A.; GARBOSSA, L. H. P. Estudo comparativo do reator UASB e do reator anaeróbico compartimentado sequencial no tratamento de esgoto sanitário. In: XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. **Anais...** p.1–9, 2000.

AMON, T.; AMON, B.; KRYVORUCHKO, V.; et al. Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. **International Congress Series**, v. 1293, p. 217–220, 2006.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Build up of volatile fatty acids (VFA) in anaerobic reactors under stress conditions: Causes and control strategies. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 02, p. 152–161, 2005.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. DE L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para Determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 02, 2007.

ARRUDA, P. V. de; RODRIGUES, R. de C. L. B.; FELIPE, M. das G. de A. Glicerol : um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, n. 26, p. 56–62, 2007.

AWWA – American Water Works Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 2005. 21st Ed.

BENASSI, V. L. R. M. A broca-do-café. *Boletim Técnico da EMCAPA*: 57. Vitoria, ES, 63p, 1989.

BODÍK, I.; BLSTÁKOVÁ, A; SEDLÁČEK, S.; HUTNAN, M. Biodiesel waste as source of organic carbon for municipal WWTP denitrification. **Bioresource technology**, v. 100, n. 8, p. 2452–6, 2009.

BODIK, I.; HUTNAN, M. Anaerobic treatment of biodiesel production waste. In: SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION. **Anais...** p.12–16, 2008.

BOLZONELLA, D.; PAVAN, P.; BATTISTONI, P.; CECCHI, F. Anaerobic co-digestion of sludge with other organic wastes and phosphorus reclamation in wastewater

treatment plants for biological nutrients removal. **Water science and technology**, v. 53, n. 12, p. 177–186, 2006.

BORIES, A.; HIMMI, E.; JAUREGUI, J. J. A.; PELAYO-ORTIZ, C.; GONZALES, V. A. Glycerol fermentation with *Propionibacteria* and optimisation of the production of propionic acid. **Sciences Des Aliments**, v. 24, n. 2, p. 121–135, 2004.

CAMPOS, C. M. M. **Reatores anaeróbios de última geração**. Lavras: UFLA, 1998. 59 p.

CAMPOS, C. M. M.; LUIZ, F. A. R. DE; BOTELHO, C. G.; DAMASCENO, L. H. S. Avaliação da eficiência do reator UASB tratando efluente de laticínio sob diferentes cargas orgânicas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 6, p. 1376–1384, 2004.

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

CHATZIFRAGKOU, A.; PAPANIKOLAOU, S. Effect of impurities in biodiesel-derived waste glycerol on the performance and feasibility of biotechnological processes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 95, p. 13–27, 2012.

CHERNICHARO, C. A. L. Princípio do tratamento biológico de águas residuárias – **Reatores anaeróbios**, v. 5, 2ª edição, Belo Horizonte: Ed. UFMG, 380 p., 2007.

CHOI, W. J.; HARTONO, M. R.; CHAN, W. H.; YEO, S. S. Ethanol production from biodiesel-derived crude glycerol by newly isolated *Kluyvera cryocrescens*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 89, n. 4, p. 1255–1264, 2011.

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente. Legislação Ambiental. Resolução Conama No 357, 2005.

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente. Legislação Ambiental. Resolução Conama No 430, 2011.

DASARI, M. A.; KIATSIMKUL, P.-P.; SUTTERLIN, W. R.; SUPPES, G. J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, v. 281, n. 1-2, p. 225–231, 2005.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

- DILLIS, S. S.; APPERSON, A.; SCHMIDT, M. R.; SAIER, M. H. Carbohydrate transport in bacteria. **Microbiological reviews**, v. 44, n. 3, p. 385–418, 1980.
- FAUSTO, G. L.; DRANKA, G. G.; BORGES, M. D. C.; RODRIGUES, M. B. Avaliação do potencial impactante de água residuária oriunda do processo de produção do biodiesel. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 03, n. 4, p. 3–4, 2008.
- FERNANDO, S.; ADHIKARI, S.; KOTA, K.; BANDI, R. Glycerol based automotive fuels from future biorefineries. **Fuel**, v. 86, p. 2806–2809, 2007.
- FIELD, J. A.; LEYENDECKERS, M. J. H.; SIERRA-ALVAREZ, R.; LETTINGA, G.; HABETS, L. H. A. Methanogenic toxicity of bark tannins and the anaerobic biodegradability of water soluble bark matter. **Water Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 219-240, 1988.
- FOUNTOULAKIS, M. S.; MANIOS, T. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. **Bioresource technology**, v. 100, n. 12, p. 3043–3047, 2009.
- FOUNTOULAKIS, M. S.; PETOUSHI, I.; MANIOS, T. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. **Waste Management**, v. 30, p. 1849–1853, 2010.
- FREITAS, A. V.; VIANA, M. B.; ALEXANDRE, L. C.; SANTAELLA, S. T.; LEITÃO, R. C. Toxicidade e Biodegradabilidade Anaeróbia do glicerol oriundo do biodiesel. ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. **Anais...**, 2010.
- FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405–16, 2001.
- GONÇALVES, B. R. L.; PEREZ, L.; ÂNGELO, A. C. D. Glicerol : Uma Inovadora Fonte de Energia Proveniente da Produção de Biodiesel. INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION. **Anais...** p.1–6, 2009.
- GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol. Chem.**, p. 177, 751, 1949.
- 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.
- HUTNAN, M.; KOLESÁROVÁ, N.; BODIK, I.; SPALKOVÁ, V.; LAZOR, M. Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production. 36<sup>TH</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE OF SSCHE. **Anais...** p.156 p, 2009.

INAC, B.; MATSUI, S.; IDE, S. Propionic acid accumulation in anaerobic digestion of carbohydrate: an investigation on the role of hydrogen gas. **Water Sci. Technol.** v. 40, p. 93–100, 1999.

ITO, T.; NAKASHIMADA, Y.; SENBA, K.; MATSUI, T.; NISHIO, N. Hydrogen and Ethanol Production from Glycerol-Containing Wastes Discharged after Biodiesel Manufacturing Process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 3, p. 260–265, 2005.

JETTEN, M. S. M.; STAMS, A J. M.; ZEHNDER, A J. B. Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanotheroxobacter* and *Methanosarcina* spp. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 88, n. 3-4, p. 181–197, 1992.

KOLESÁROVÁ, N.; HUTNAN, M.; BODÍK, I.; SPALKOVÁ, V. Utilization of biodiesel by products for biogas production. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p. 1-15, 2011.

LARSEN, A. C.; GOMES, B. M.; GOMES, S. D.; ZENATTI, D. C.; TORRES, D. G. B. Anaerobic co-digestion of crude glycerin and starch industry effluent. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 02, p. 341–352, 2013.

LEITÃO, R. C.; VIANA, M. B.; PINTO, G. A. S.; FREITAS, A. V.; SANTAELLA, S. T. Comunicado Técnico 180 - EMBRAPA, 2011.

LEMA, J. M., MENDEZ, R., IZA, J., GARCIA, P., FERNANDEZ-POLANCO, F. Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes. **Water Sci. Technol.** 24 (8), 79-86. 1991.

LEONETI, A.; LEONETI, V.; OLIVEIRA, S. 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.

LOPES, A. N.; CECHINEL, C. AN.; WENTZ, A. P. Co-produto do biodiesel: Novas aplicações para a glicerina. **Diálogos e Ciência**, v. 09, n. 27, p. 1–14, 2011.

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

MA, J.; WAMBEKE, M. VAN; CARBALLA, M.; VERSTRAETE, W. Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB reactor by co-digestion with glycerol. **Biotechnology letters**, v. 30, n. 5, p. 861–867, 2008.

MARCHAIM, U.; KRAUSE, C. Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 43, n. 3, p. 195–203, 1993.

MASIERO, G.; LOPES, H. Etanol e biodiesel como recursos energéticos alternativos : perspectivas da América Latina e da Ásia. **Rev. Bras. Polít. Int.**, v. 51, n. 2, p. 60–79, 2008.

MCCARTY, P. L. Energetics and bacterial growth. In: S. D. Faust; J. V. Hunter (Eds.); **Organic Compounds in Aquatic Environments**. p.495–531, 1971. Marcel Dekker, Inc.

MENDES, A. A.; CASTRO, H. F.; PEREIRA, E. B.; JÚNIOR, A. F. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 296–305, 2005.

MESQUITA, P. DA L.; AFONSO, R. J. DE C. F.; AQUINO, S. F. DE; LEITE, G. DE S. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 18, n. 04, p. 295–302, 2013.

MOAT, A. G., FOSTER, J.W., SPECTOR, M. P. Central pathways of carbohydrate metabolism. **Microbial physiology**. p. 363, 2002.

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

NOVAK, J.T., CARLSON, D.A. The kinetics of anaerobic long chain fatty acid degradation. **J. Water Pollut Contr. Fed.**, v. 42, p. 1932-194, 1970.

NUCHDANG, S.; PHALAKORNKULE, C. Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure. **Journal of Environmental Management**, v. 101, p. 164–172, 2012.

OOI, T. L.; YONG, K. C.; HAZIMAH, A. H.; DZULKEFLY, K.; WAN YUNUS, W. M. Z. Glycerol Residue-A Rich Source of Glycerol and Medium Chain Fatty Acids. **Journal of Oleo Science**, v. 53, n. 1, p. 29–33, 2004.

PAPANIKOLAOU, S.; MUNIGLIA, L.; CHEVALOT, I.; AGGELIS, G.; MARC, I. *Yarrowia lipolytica* as a potential producer of citric acid from raw glycerol. **Journal of applied microbiology**, v. 92, n. 4, p. 737–744, 2002.

POSTMA, T., STROES, J. A. P. Lipid screening in clinical chemistry. **Clin. Chim. Acta**. 22: 569-578, 1968.

RIFFAT, R., KRONGTHAMCHAT, K.. Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater. **Int. J. Environ. Sci. Technol**, vol. 2, p. 291–299, 2006.



RIVALDI, J. D.; SARROUB, B. F.; FIORILO, R.; SILVA, S. S. DA. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 37, p. 44–51, 2007.

RUPPEL, T.; HALL, G. Glicerina Livre e Total em Biodiesel B100 por Cromatografia a Gás. **Revista Analytica**, v. 30, p. 90–95, 2007.

RYMOWICZ, W.; RYWIŃSKA, A.; ŻAROWSKA, B.; JUSZCZYK, P. Citric acid production from raw glycerol by acetate mutants of *Yarrowia lipolytica*. **Chemical Papers**, v. 60, n. 5, p. 391–394, 2006.

SCHMITT, F.; WESCHENFELDER, S.; VIDY, T. M. **Tratamento anaeróbio de efluentes**, 2006.60 f. Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SELMA, V. C.; COTRIM, L. H. B.; RODRIGUES, J.A.D.; RATUSZINEI, S. M., ZAIAT, M.; FORESTI, E. ASBR applied to the treatment of biodiesel production effluent: Effect of organic load and fill time on performance and methane production. **Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 8, p. 2365-2380, 2010.

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

SILES LÓPEZ, J. A.; MARTÍN SANTOS, M. DE L. A.; CHICA PÉREZ, A. F.; MARTÍN MARTÍN, A. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource technology**, v. 100, n. 23, p. 5609–5615, 2009.

SILVA, A. L. B.; ANDRADE, M. C. F. E.; LOUZADA, A. G.; ROCHA, M. L. A. F.; GONÇALVES, R. F.; CASSINI, S. T. A. Avaliação da qualidade microbiológica da biomassa metanogênica de lodo proveniente de UASB digerindo lodo aeróbio de descarte, através do teste de atividade metanogênica específica In: SEMINÁRIO DE SANEAMENTO E MEIO AMBIENTE, Vitória, Anais. Espírito Santo: ABES, 2005.

TEMUDO, M. F.; POLDERMANS, R.; KLEEREBEZEM, R.; LOOSDRECHT, M. C. M. VAN. Glycerol fermentation by (open) mixed cultures: a chemostat study. **Biotechnology and bioengineering**, v. 100, n. 6, p. 1088–1098, 2008.

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

USP - Universidade de São Paulo, Laboratório de Química Ambiental. Disponível em: < [http://www.usp.br/qambiental/combustao\\_energia.html](http://www.usp.br/qambiental/combustao_energia.html) >. Acesso em: dez.2013.

VALLERO, M. V. G.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. Long-term adaptation of methanol-fed thermophilic (55 degrees C) sulfate-reducing reactors to NaCl. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 375–382, 2003.

VIANA, M.B. **Produção de biogás a partir do glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

VIANA, M. B.; FREITAS, A. V; LEITÃO, R. C.; PINTO, G. A. S.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. **Environmental Technology Reviews**, v. 1, n. 1, p. 37–41, 2012.

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

VON SPERLING, M. **Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**. Belo Horizonte. Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.

WENG, C. N., JERIS, J. S. Biochemical mechanisms in the methane fermentation of glutamic and oleic acids. **Water Res.** v. 10, p. 9-18, 1976.

WIJEKOON, K. C.; VISVANATHAN, C.; ABEYNAYAKA, A. Effect of organic loading rate on VFA production, organic matter removal and microbial activity of a two-stage thermophilic anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource technology**, v. 102, n. 9, p. 5353–5360, 2011. Elsevier Ltd.

XAVIER, D.; VALENÇA, M. B.; PASCOAL, E.; MEDEIROS, N.; LUCENA, S. Nova Aplicação da Glicerina a partir do Biodiesel: Processo de Gaseificação. II CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL. **Anais...** v. 2, p.2–5, 2007.

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

YU, Y.; LEE, C.; HWANG, S. Analysis of community structures in anaerobic processes using a quantitative real-time PCR method. **Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 52, n. 1-2, p. 85–91, 2005.

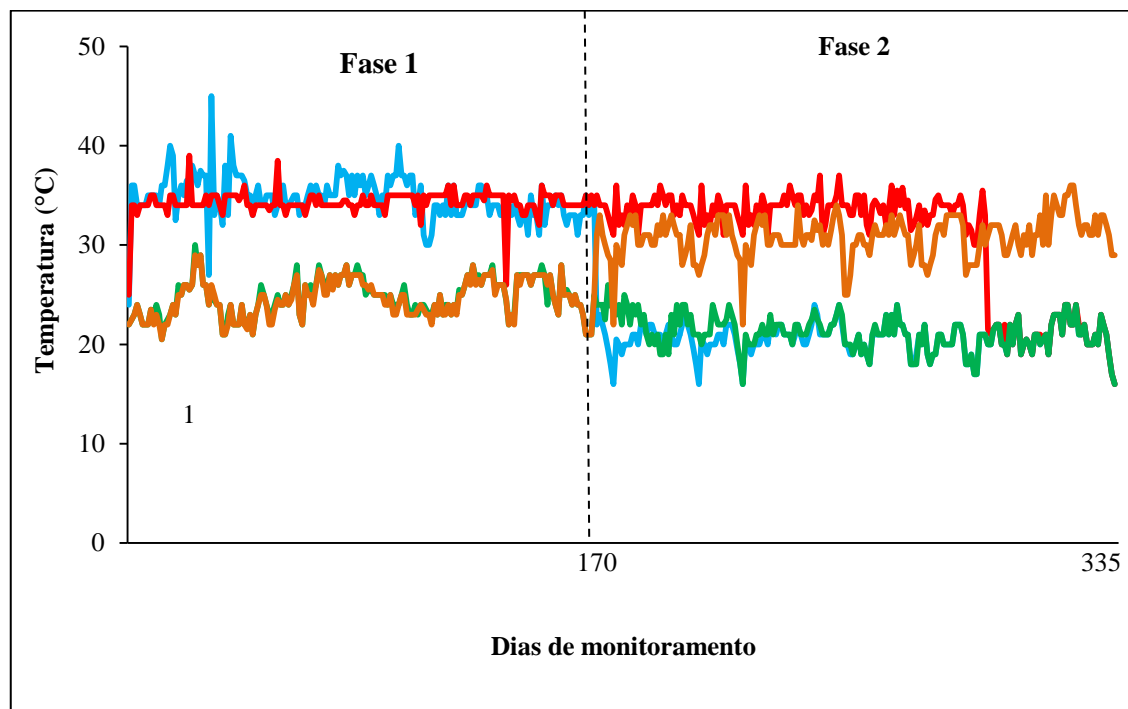
ZHANG, Y.; DUBÉ, M. A; MCLEAN, D. D.; KATES, M. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. **Bioresource technology**, v. 89, n. 1, p. 1–16, 2003.

ZHOU, C.-H. C.; BELTRAMINI, J. N.; FAN, Y.-X.; LU, G. Q. M. Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals. **Chemical Society reviews**, v. 37, p. 527–549, 2008.

*Anexos*

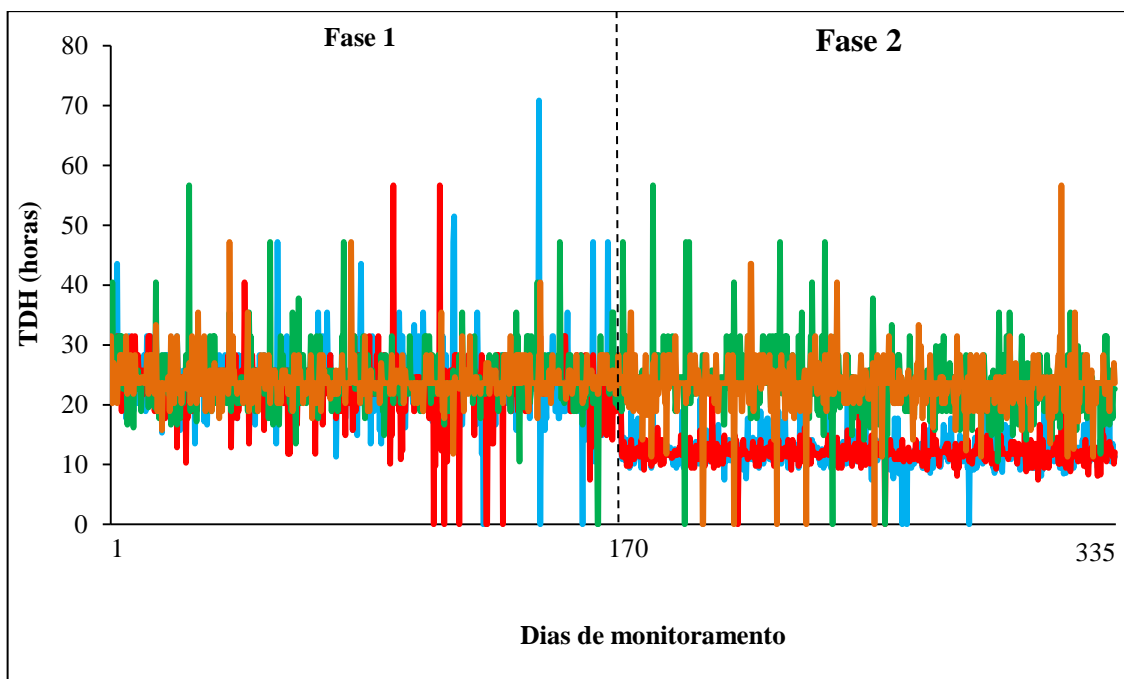
---

## ANEXOS



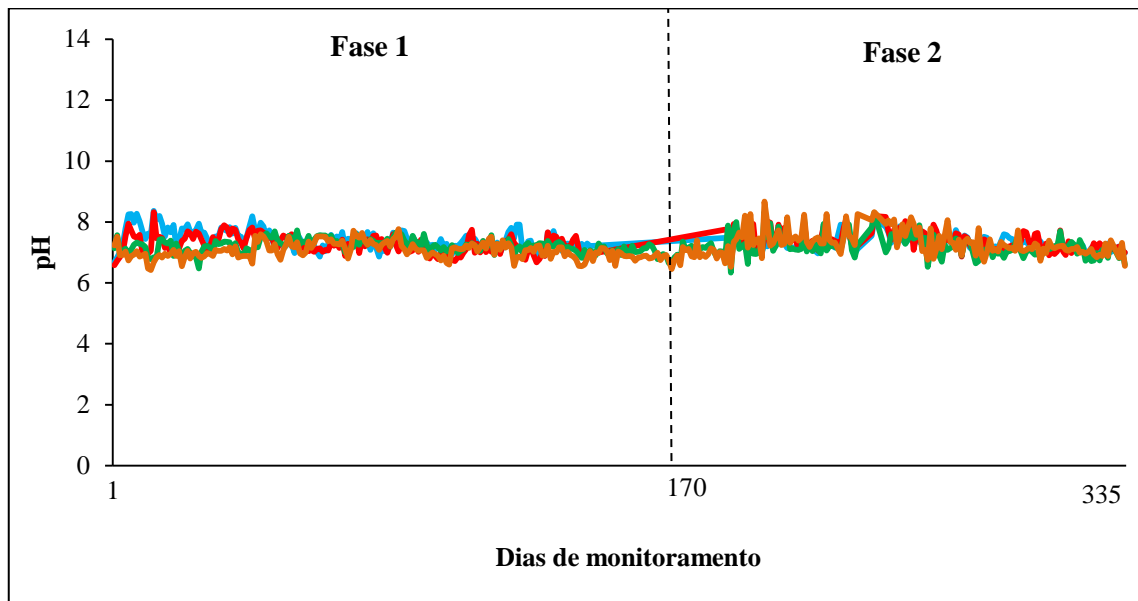
Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			CO = 2 g DQO/L.d  GB em todos.
	S	T	TDH = 24 horas	TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	
— UASB1	GB	35°C	CO = 1 g DQO/L.d  [DQO] <sub>0</sub> = 1 g/L	12	Amb	1 g/L	
— UASB2	GP	35°C		12	35°C	1 g/L	
— UASB3	GB	Amb		24	Amb	2 g/L	
— UASB4	GP	Amb		24	35°C	2 g/L	

**Anexo 1:** Monitoramento da temperatura nos quatro reatores durante 335 dias.



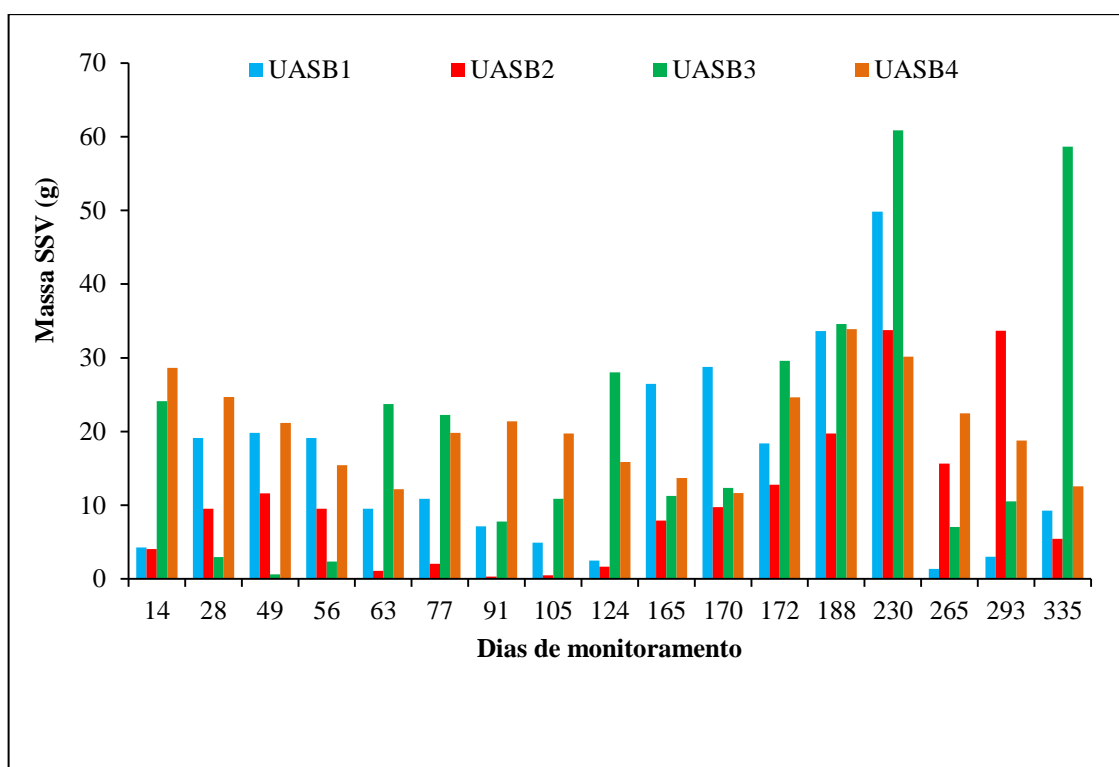
Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			CO = 2 g DQO/L.d  GB em todos.
	S	T	TDH = 24 horas	TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	
UASB1	GB	35°C	CO = 1 g DQO/L.d	12	Amb	1 g/L	GB em todos.
UASB2	GP	35°C		12	35°C	1 g/L	
UASB3	GB	Amb	[DQO] <sub>0</sub> = 1 g/L	24	Amb	2 g/L	
UASB4	GP	Amb		24	35°C	2 g/L	

**Anexo 2:** Monitoramento do TDH nos quatro reatores durante 335 dias.



Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			
	S	T	TDH = 24 horas	TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	CO = 2 g DQO/L.d  GB em todos.
UASB1	GB	35°C	CO = 1 g DQO/L.d	12	Amb	1 g/L	
UASB2	GP	35°C		12	35°C	1 g/L	
UASB3	GB	Amb	[DQO] <sub>0</sub> = 1 g/L	24	Amb	2 g/L	
UASB4	GP	Amb		24	35°C	2 g/L	

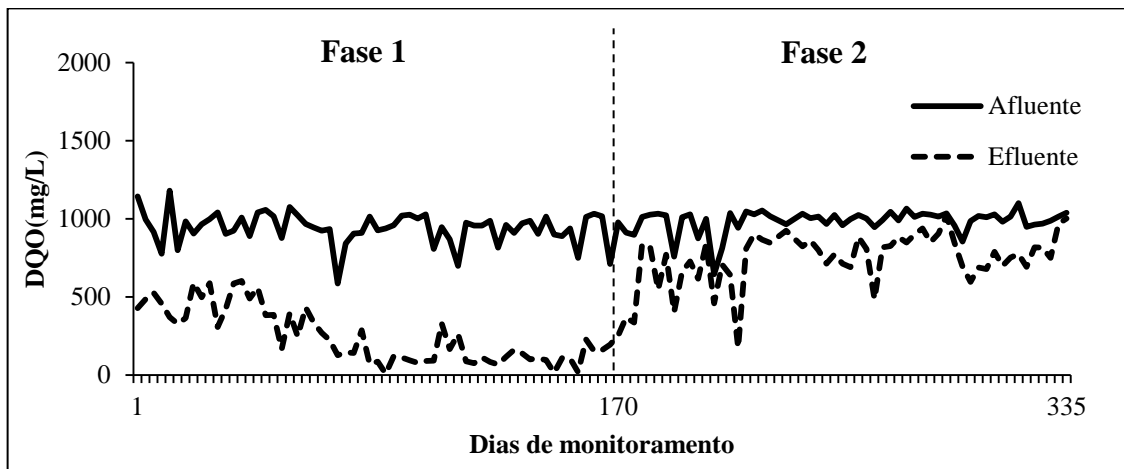
**Anexo 3:** Monitoramento do pH nos quatro reatores durante 335 dias.



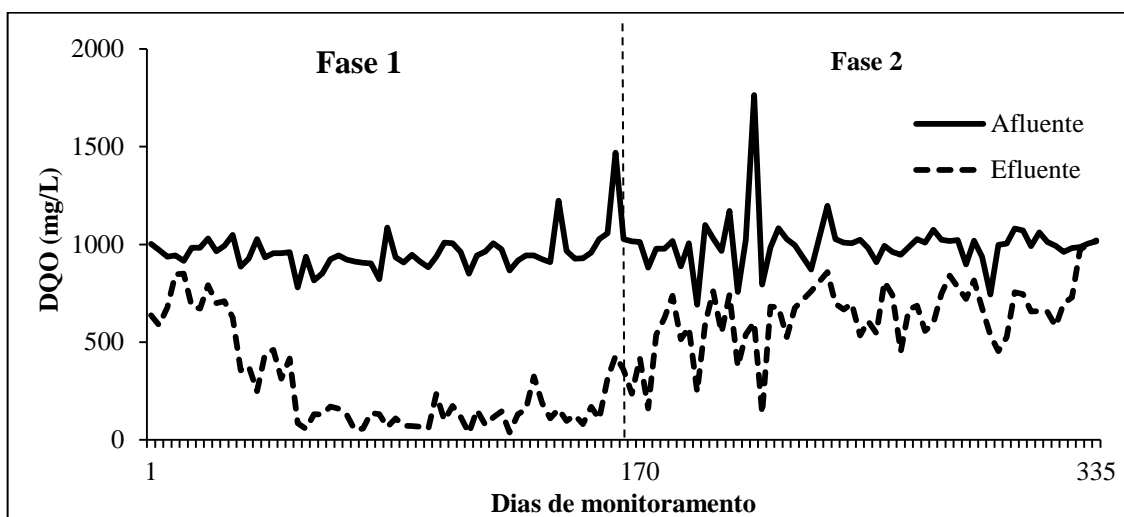
Reatores	Adaptação e Fase 1			Fase 2			CO = 2 g DQO/L.d GB em todos.
	S	T	TDH = 24 horas	TDH (h)	T	[DQO] <sub>0</sub>	
UASB1	GB	35°C	CO = 1 g DQO/L.d	12	Amb	1 g/L	
UASB2	GP	35°C		12	35°C	1 g/L	
UASB3	GB	Amb	24	Amb	2 g/L		
UASB4	GP	Amb	[DQO] <sub>0</sub> = 1 g/L	24	35°C	2 g/L	

**Anexo 4:** Variação da quantidade de biomassa dentro dos reatores durante 335 dias.

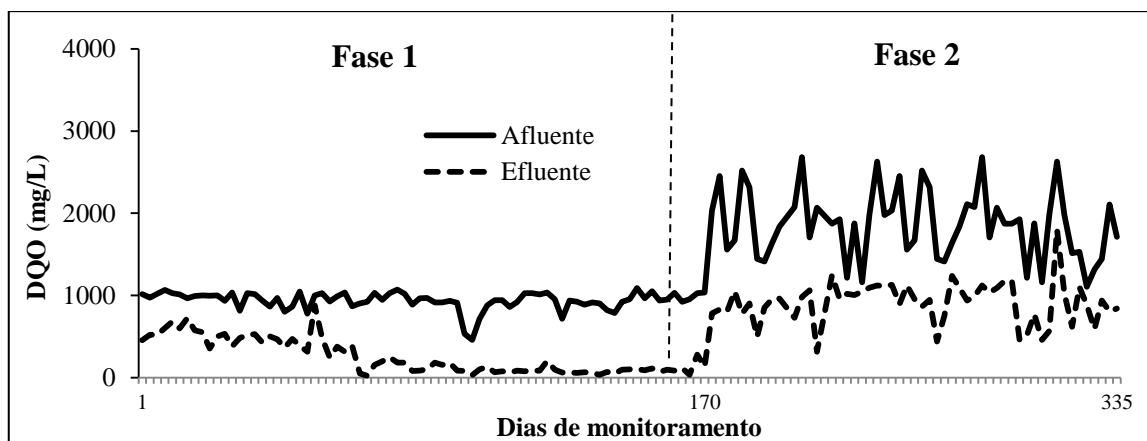




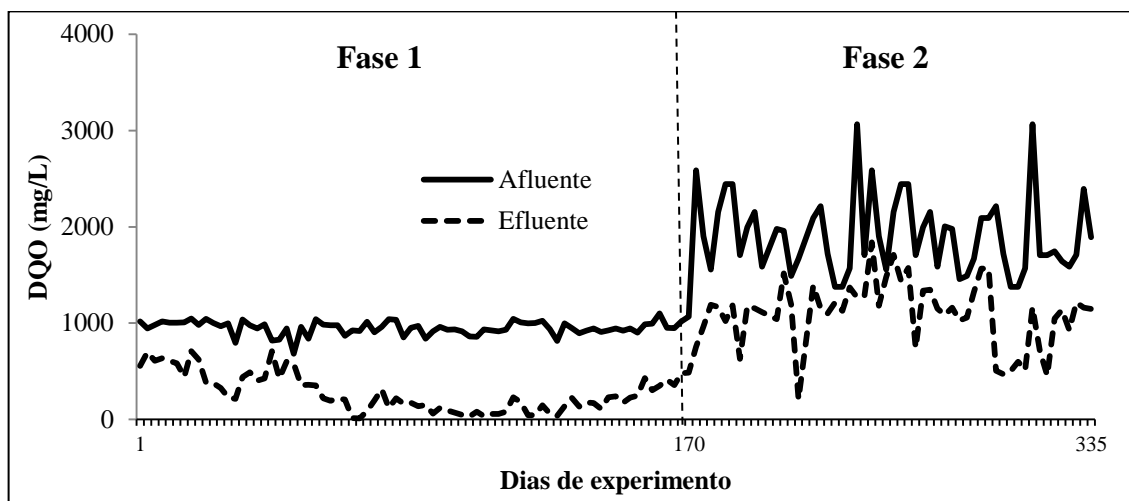
**Figura 5:** Variação temporal da DQO presente no afluyente e efluente do UASB1.



**Figura 6:** Variação temporal da DQO presente no afluyente e efluente do UASB2.



**Figura 7:** Variação temporal da DQO presente no afluente e efluente do UASB3.



**Figura 8:** Variação temporal da DQO presente no afluente e efluente do UASB4.