

## II-438 - AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA E DA PRODUÇÃO DE METANO A PARTIR DA DIGESTÃO ANAERÓBIA DO GLICEROL RESIDUAL

### **Naassom Wagner Sales Morais**

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutorando em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

### **Amanda de Sousa e Silva**

Engenheira Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). Mestranda em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

### **Erlon Lopes Pereira**

Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Mestre em Biotecnologia Industrial/Microbiologia Aplicada pela Universidade de São Paulo (USP) – Escola de Engenharia de Lorena (EEL). Doutor em Engenharia Agrícola/Recursos Hídricos e Ambientais pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

### **Renato Carrhá Leitão**

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda. Pesquisador da EMBRAPA.

### **André Bezerra dos Santos<sup>(1)</sup>**

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda. Professor Associado do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Campus do Pici, Bloco 713, Pici - Fortaleza- CE - CEP: 60455-900 - Brasil - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: [andre23@ufc.br](mailto:andre23@ufc.br)

## **RESUMO**

O glicerol é um subproduto do processo de transesterificação de óleos de sementes oleaginosas e gorduras animais para produção de biodiesel. Sua geração é maior que sua demanda, o que acarreta na desvalorização comercial desse produto. Este resíduo apresenta elevada fração de matéria orgânica e, por isso, é uma matéria-prima promissora para os processos biológicos de tratamento de esgotos, sendo a produção de metano por meio da digestão anaeróbia uma das alternativas mais viáveis e vantajosas, especialmente no âmbito do conceito da biorrefinaria. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de metano a partir da digestão anaeróbia do glicerol residual. Para isso, foram utilizados três reatores batelada com volume reacional e *headspace* de 50 e 60 mL, respectivamente. Os reatores foram inoculados com lodo sanitário e a relação alimento/microrganismo (A/M) foi de  $0,60 \pm 0,02$  gDQO·gSSV<sup>-1</sup>. Posteriormente, foram incubados em *shaker* sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura de 35 °C durante 35 dias. Ao longo do experimento, as pressões foram determinadas e, ao final, foram realizadas análises de cromatografia gasosa, de cromatografia líquida e de Demanda Química de Oxigênio (DQO) para fins de balanço de massa. O glicerol residual apresentou-se como um substrato extremamente biodegradável anaerobiamente e com elevado potencial de produção de metano, tanto em termos de DQO removida quanto de DQO aplicada. Os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo de Gompertz Modificado, permitindo, assim, a utilização em ensaios cinéticos de metanização com glicerol residual como substrato.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tratamento Biológico, Recuperação de Recursos, Modelagem Cinética.

## INTRODUÇÃO

Na produção de biodiesel, o processo de transesterificação de óleos de sementes oleaginosas e gorduras animais gera como subproduto o glicerol residual na proporção de 10% (massa de glicerol/massa de biodiesel) (LENG *et al.*, 2017). Apesar deste produto já ser utilizado pela indústria química, a quantidade de glicerol gerada é superior à sua demanda, devido ao rápido crescimento da indústria de biodiesel. Isso causa uma enorme redução nos preços do glicerol residual, além do custo adicional com o seu descarte, o que afeta negativamente a viabilidade econômica das indústrias de produção de glicerol (bruto) e biodiesel (residual). Portanto, é importante desenvolver uma plataforma tecnológica que converta o glicerol tanto bruto quanto residual em produtos de maior valor agregado, entre os quais o metano (SAINI *et al.*, 2017).

O glicerol é uma matéria-prima promissora para os processos biológicos de tratamento de esgotos, pois contém uma alta fração de matéria orgânica e é altamente disponível no mercado a baixo custo (DAMS *et al.*, 2018). Nesse contexto, uma das alternativas mais viáveis e vantajosas é a obtenção de metano, gás inflamável utilizado para gerar energia a partir de sua combustão, por meio da digestão anaeróbia (BABA *et al.*, 2013). Vários estudos foram feitos nesta linha de pesquisa, porém o desempenho ótimo do processo de tratamento anaeróbio raramente é alcançado devido ao alto grau de empirismo que prevalece no projeto e operação dos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos. Na busca de solucionar este problema, a modelagem cinética da produção de metano ganhou ampla atenção, visando determinar parâmetros que aperfeiçoem o projeto dos biorreatores anaeróbios (YANG *et al.*, 2016).

Vários tipos de modelos matemáticos foram desenvolvidos para descrever o processo de produção de metano na digestão de resíduos, entre eles estão: Gompertz Modificado, Stover-Kincannon, Chen-Hashimoto, Deng, Monod, entre outros (ABU-REESH, 2014). O modelo de Gompertz Modificado vem sendo muito utilizado devido a ser mais simplificado e exigir poucos parâmetros para a simulação do modelo. Contudo, é interessante avaliar a aderência da produção de metano a partir do glicerol residual utilizando vários modelos, visando prever a geração de biogás em sistemas em fluxo contínuo, especialmente os operados em escala real.

## OBJETIVO

Avaliar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de metano a partir da digestão anaeróbia do glicerol residual.

## METODOLOGIA

O glicerol residual foi obtido da Usina de Biodiesel de Quixadá localizada no município de Quixadá, Ceará, Brasil e caracterizado conforme o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Para avaliar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de biogás (metano) a partir do glicerol residual, foram utilizados três reatores batelada, dois controles químicos (sem o inóculo) e dois controles endógenos (sem o substrato), todos em borossilicato. Cada frasco possuía um volume reacional de 50 mL e *headspace* de 60 mL (volume total de 110 mL).

Os reatores foram inoculados com lodo sanitário obtido de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) que compunha uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada no município de Fortaleza, Ceará, Brasil e operava em condições mesofílicas no tratamento de esgoto sanitário. O inóculo após a coleta foi caracterizado, apresentando concentrações de sólidos totais (ST), sólidos voláteis totais (SVT) e sólidos fixos totais (SFT) de  $55,5 \pm 0,8$ ;  $37,9 \pm 0,6$ ;  $18 \pm 1$  g L<sup>-1</sup>, respectivamente, bem como relação SVT/ST média foi de 0,68, qualificando o lodo como inóculo com aproximadamente 68% de fração orgânica (microrganismos).

O glicerol residual foi utilizado como substrato e a relação alimento/microrganismo (A/M) foi de  $0,60 \pm 0,02$  g DQO·g SSV<sup>-1</sup>, sendo anteriormente realizada a caracterização do lodo em termos de SSV para se identificar a quantidade de sólidos a serem adicionados nas garrafas que continham lodo.

Para composição do meio basal, foram adicionados macro e micronutrientes em concentrações adequadas (DOS SANTOS, 2005). O pH inicial foi ajustado para 7,0 com NaOH 1 N e, posteriormente, o bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) foi adicionado como tampão na proporção de 1 g de DQO para 1 g de tampão (DOS SANTOS, 2005). Os biorreatores foram selados com rolhas de borracha butílica e purgados com N<sub>2</sub> a fim de manter a atmosfera anaeróbia. Em seguida, foram incubados em incubadora *shaker* (MA-420, Marconi LTDA, Brasil) sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura de 35 °C durante 35 dias.

As pressões iniciais, intermediárias e finais no *headspace* foram determinadas por transmissor de pressão manométrico (Warne LTDA, Brasil). As pressões intermediárias eram medidas uma vez por semana ao longo do experimento. Ao final do ensaio, foi realizada uma análise de composição do biogás por cromatografia gasosa com detecção por descarga por ionização de barreira dielétrica (GC-BID, *gas chromatography-barrier ionization discharge*) (GC BID-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Japão), na qual as concentrações de CH<sub>4</sub> foram obtidas. Posteriormente à análise de cromatografia, o volume acumulado de biogás no *headspace* foi medido a partir do deslocamento de solução salina (NaCl 25 g·L<sup>-1</sup>) acidificada a pH 2,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> P.A. em uma garrafa de Mariotte.

Para fins de balanço de massa e monitoramento da bioconversão e remoção de matéria orgânica durante o processo de digestão anaeróbia foram realizadas as análises de Demanda Química de Oxigênio nas frações total, solúvel e particulada segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012) e análises de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*) utilizando cromatógrafo HPLC LC-20A Prominence, Shimadzu Corporation, Japão, para a identificação e quantificação de ácidos carboxílicos (ácido acético, propiônico, butírico, isovalérico, valérico e caprótico). Para as análises cromatográficas e para as análises de DQO solúvel, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro com poro de 0,45 µm (EMD Millipore, EUA). O balanço de massa em termos de matéria orgânica foi realizado conforme equações apresentadas na Tabela 1. Os significados das variáveis das equações apresentadas na Tabela 1 são descritas na Tabela 2.

Foram considerados como conceitos de biodegradabilidade anaeróbia à porcentagem de matéria orgânica aplicada convertida a metano (DQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>) determinada pela Eq. (8) da Tabela 1 (VIANA *et al.*, 2012) e à porcentagem de matéria orgânica aplicada convertida à metano (DQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>), crescimento celular (DQO<sub>SSV</sub>) e bioproductos que possuem DQO determinada pela Eq. (9) da Tabela 1 (CHERNICHARO, 2007).

A modelagem cinética da produção de metano foi realizada por meio da equação modificada de Gompertz conforme Equação 10.

$$B_t = B \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_b \cdot e}{B} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{Equação (10)}$$

Nessa equação,  $B_t$  representa o metano acumulado em um tempo  $t$ ;  $B$  é o potencial de produção de metano (L);  $R_b$  é a taxa máxima de produção de metano (L·d<sup>-1</sup>);  $\lambda$  é o tempo de fase *lag* (d), que corresponde ao tempo necessário para que os microrganismos se adaptem ao ambiente ou o tempo necessário para a produção de biogás;  $e$  corresponde ao Número de Euler;  $t$  é o tempo de experimento adotado.

A equação modificada de Gompertz é baseada na consideração de que a taxa de produção de biogás pelas arqueas metanogênicas corresponde a sua taxa de crescimento específica em um reator batelada (ABU-REESH, 2014). A estimação de parâmetros e a modelagem da cinética de produção de biogás foram feitas no *software* Statistica versão 10.0 (StatSoft Power Solution, USA).

Tabela 1: Equações utilizadas no cálculo do balanço de massa.

Equação	Equação do Balanço de Massa
1	$DQO_{residual} = DQO_{solúvel} - DQO_{ácidos}$
2	$DQO_{convertida} = DQO_{total} - DQO_{residual}$
3	$DQO_{SSV} = DQO_{convertida} - DQO_{CH_4} - DQO_{ácidos}$
4	$\%DQO_{convertida} = \frac{DQO_{convertida}}{DQO_{total}} \times 100$
5	$\%DQO_{ácidos} = \frac{DQO_{ácidos}}{DQO_{total}} \times 100$
6	$\%DQO_{SSV} = \frac{DQO_{SSV}}{DQO_{total}} \times 100$
7	$\%DQO_{residual} = \frac{DQO_{residual}}{DQO_{total}} \times 100$
8	$\%DQO_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{DQO_{total}} \times 100$
9	$\%DQO_{biodegradável} = \frac{DQO_{ácidos} + DQO_{CH_4} + DQO_{SSV}}{DQO_{total}} \times 100$

Tabela 2: Descrição das variáveis das equações utilizadas no balanço de massa.

Variável	Equação	Unidade	Descrição
$DQO_{residual}$	(1) (2) (7)	mg DQO	Massa de DQO solúvel lábil não bioconvertida em ácidos carboxílicos ou outros bioprodutos que possuem demanda química de oxigênio.
$DQO_{solúvel}$	(1) (9)	mg DQO	Massa de DQO solúvel total (bioconvertida + não bioconvertida).
$DQO_{ácidos}$	(1) (3) (5)	mg DQO	Massa de DQO solúvel bioconvertida em ácidos carboxílicos.
$DQO_{convertida}$	(2) (3) (4)	mg DQO	Massa de DQO direcionada para a produção de ácidos carboxílicos, formação de metano e crescimento celular.
$DQO_{total}$	(1) (4)-(9)	mg DQO	Massa de DQO total inserida no reator batelada.
$DQO_{SSV}$	(3) (6) (9)	mg DQO	Massa de DQO direcionada ao crescimento celular.
$DQO_{CH_4}$	(3) (8) (9)	mg DQO	Massa de DQO removida por produção de metano.
$\%DQO_{convertida}$	(4)	%	Porcentagem da DQO total direcionada à produção de ácidos carboxílicos, formação de metano e crescimento celular.
$\%DQO_{ácidos}$	(5)	%	Porcentagem da DQO total direcionada à produção de ácidos.
$\%DQO_{SSV}$	(6)	%	Porcentagem da DQO total direcionada ao crescimento celular.
$\%DQO_{residual}$	(7)	%	Porcentagem da DQO total ainda passível de ser convertida a bioprodutos ao final do experimento.
$\%DQO_{CH_4}$	(8)	%	Porcentagem da DQO total direcionada à formação de metano. Também é o conceito de biodegradabilidade anaeróbia estabelecido por Viana <i>et al.</i> (2012).
$\%DQO_{biodegradável}$	(9)	%	Conceito de biodegradabilidade estabelecido por Chernicharo (2007), referente à porcentagem da DQO total direcionada à produção de ácidos carboxílicos, formação de biogás e crescimento celular.

## RESULTADOS

A caracterização físico-química do glicerol está descrita na Tabela 3.

Tabela 3: Caracterização físico-química do glicerol residual.

Parâmetro	Valor	Unidade
pH	6,4	-
Condutividade Elétrica	925,0	$\mu S/cm$
Nitrogênio Total	5,0	mg-N/L
Fósforo Total	94,5	mgP/L
Demanda Química de Oxigênio Total ( $DQO_T$ )	1.972.685	mgO <sub>2</sub> /L
Demanda Química de Oxigênio Particulada ( $DQO_P$ )	771	mgO <sub>2</sub> /L
Demanda Química de Oxigênio Solúvel ( $DQO_S$ )	1.200.898	mgO <sub>2</sub> /L
Sólidos Totais (ST)	1.009.030	mg/L
Sólidos Totais Voláteis (STV)	942.530	mg/L
Sólidos Totais Fixos (STF)	66.500	mg/L

Os resultados de biodegradabilidade anaeróbia e de produção de metano obtidos neste trabalho encontram-se próximos aos valores encontrados em outras pesquisas, embora as metodologias dos experimentos sejam diferentes em diversos pontos, como tipo de inóculo, tempo de reação e razão Alimento/Microrganismo. Os resultados são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4: Resumo da produção anaeróbia de metano a partir de glicerol residual.**

Porcentagem de Metano no Biogás (%)	Biodegradabilidade Total <sup>(1)</sup> (%)	Biodegradabilidade CH <sub>4</sub> <sup>(2)</sup> (%)	Fonte
-	-	65,9 – 85,6	Viana <i>et al.</i> (2012)
-	100,0	75,0	Lopez <i>et al.</i> (2009)
-	-	73,6	Špalková <i>et al.</i> (2009)
<b>64,0</b>	<b>97,0</b>	<b>72,0</b>	<b>Este trabalho</b>

<sup>1</sup> Biodegradabilidade Total = mg DQO biodegradada / mg DQO afluente (%). <sup>2</sup> Biodegradabilidade CH<sub>4</sub> = mg DQO CH<sub>4</sub>/mg DQO afluente (%).

Por meio de balanço de massa em termos de DQO realizado ao final do experimento, utilizando as equações apresentadas nas Tabelas 1 e 2, foi observado que 72% da matéria orgânica inicial foi convertida a metano, 17% da DQO estava em forma de ácidos carboxílicos, 7% da DQO inicial foi direcionada para crescimento celular e 3% da DQO inicial ainda era passível de ser biodegradada ao final do teste. Portanto, a biodegradabilidade anaeróbia do glicerol residual foi de 97%, sendo 72% referente à geração de metano, indicando boas taxas de formação de metano, especialmente se o foco principal é a subsequente produção de energia. Essa alta biodegradabilidade já havia sido obtida por Siles López *et al.* (2009), que relataram que, dependendo da relação alimento/microrganismo (entre 0,21 e 0,38 g DQO g SSV<sup>-1</sup>), a biodegradabilidade do glicerol pode chegar a valores próximos de 100%.

Comumente o biogás proveniente da digestão anaeróbia é composto por metano (40-75%) e CO<sub>2</sub> (25-60%) (ROTUNNO *et al.*, 2017). Quanto maior a porcentagem de metano no biogás, maior é o seu poder calorífero. Quando 1 m<sup>3</sup> de biogás contendo 60% de metano é queimado, é obtido uma energia de 5,97kWh; nas mesmas condições quando se utiliza metano puro, esse valor é de 9,94kWh (BHARATHIRAJA *et al.*, 2018). Com relação ao biogás produzido, verificou-se que composição foi basicamente CH<sub>4</sub> (64% v/v) e CO<sub>2</sub> (36% v/v). Portanto, o biogás produzido tem potencial para geração de energia e pode ser purificado dependendo do uso desejado, para se aumentar ainda mais a concentração de metano, muitas vezes alcançando valores superiores a 90-95% (SHEN *et al.*, 2015).

Destaca-se que, ao final do experimento, 17% da matéria orgânica estava na forma de ácidos carboxílicos que são bioprodutos de elevado interesse comercial devido suas diversas aplicações na indústria, como antimicrobianos, inibidores de corrosão, precursores de produção de biodiesel e bioplásticos, e por isso vêm ganhando espaço em relação à digestão anaeróbia tradicional cujo foco principal é a metanização (REDDY *et al.*, 2018). Assim, torna-se imperativo a realização de pesquisas sobre o potencial de produção de ácidos carboxílicos a partir do glicerol residual, em um processo acidogênico, visando à produção e extração desses metabólitos de elevado valor agregado (LENG *et al.*, 2017; DAMS *et al.*, 2018).

O controle químico e o endógeno não produziram metano em concentrações que pudessem ser quantificadas pelo método cromatográfico utilizado. A relação entre as massas de DQO e os rendimentos de CH<sub>4</sub> obtidos no experimento para cada reator são apresentados na Tabela 5.

Conforme Tabela 5, obteve-se rendimento de produção de metano de 358 mL CH<sub>4</sub>·DQO removida<sup>-1</sup> e 285 mL CH<sub>4</sub>·DQO aplicada<sup>-1</sup>. Em média, 91 % da DQO removida e 72% da DQO aplicada, foi convertida em metano. Percebe-se, assim, elevados rendimentos de produção de metano tanto em termos de DQO aplicada quanto de DQO removida, indicando que esse resíduo orgânico é um substrato potencial para ser utilizado em plantas produtoras de biogás, visando o aproveitamento energético.

**Tabela 5: Relações entre as massas de DQO e os rendimentos de CH<sub>4</sub> obtidos nos ensaios em batelada.**

Reator	DQO inicial (mg)	DQO final (mg)	DQO removida (mg)	DQO convertida CH <sub>4</sub> (mg)	Y <sub>CH<sub>4</sub></sub> (mL CH <sub>4</sub> /g de DQO removida)	Y <sub>CH<sub>4</sub></sub> (mL CH <sub>4</sub> /g de DQO aplicada)
R1	130,5	24,3	106,1	96,7	361	293
R2	130,5	31,0	99,5	89,3	355	271
R3	130,5	24,7	105,7	96,2	360	292
<b>Média</b>	130,5	26,7 ± 3,7	103,8 ± 3,7	94,0 ± 4,0	358,7 ± 3,2	285,4 ± 12,4

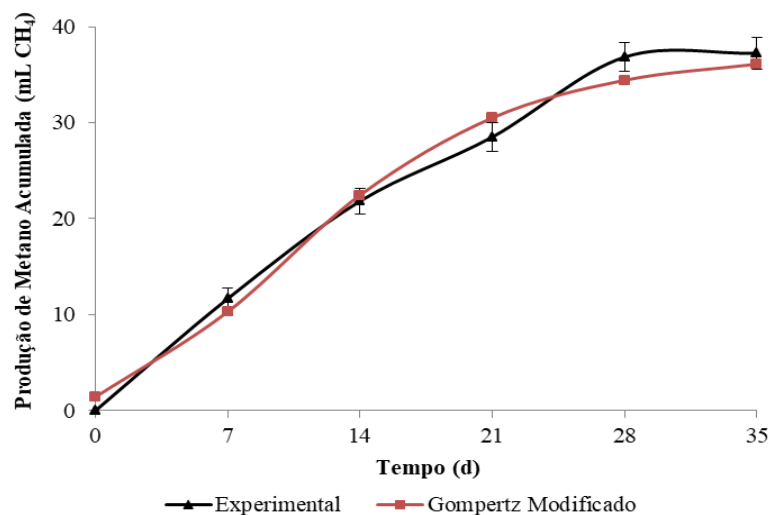
Os parâmetros cinéticos estimados por meio do modelo de Gompertz Modificado para a produção de metano a partir do Glicerol Residual são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6: Parâmetros de Gompertz Modificado.**

Reator	<i>B</i> (mL)	<i>Rb</i> (mLCH <sub>4</sub> /d)	<i>a</i> (Tempo da fase lag) (d)	R <sup>2</sup>
1	38,28	1,91	2,36	0,988
2	35,36	1,79	0,96	0,983
3	38,08	1,81	0,94	0,981
<b>Média</b>	37,2 ± 1,6	1,84 ± 0,06	1,42 ± 0,8	0,984

Os reatores produziram em média 37,24 mL de metano no período do ensaio. Um valor médio para a taxa máxima de produção de metano foi de 1,84 mL CH<sub>4</sub>·d<sup>-1</sup>. O tempo necessário para os microrganismos se adaptarem ao meio e iniciarem a produção de metano, conhecido como fase *lag*, foi em média de 1,4 dias.

A curva cumulativa de produção de metano e a curva gerada pelo modelo cinético de Gompertz Modificado podem ser observadas na Figura 1.



**Figura 1: Modelagem cinética da produção de CH<sub>4</sub> durante o processo de digestão anaeróbia do glicerol residual.**

Pode-se observar que o modelo Gompertz Modificado se ajusta bem aos dados de produção de metano do ensaio realizado, resultando no elevado coeficiente de determinação (R<sup>2</sup> = 0,984). O tempo de adaptação dos microrganismos para iniciarem a produção de metano ( $\lambda = 1,4$  dias) foi baixo quando comparado ao tempo obtido por Viana *et al* (2012) que chegaram a atingir tempo de adaptação igual a 14 dias. Provavelmente essa diferença deve-se ao fato de que as condições adotadas no presente trabalho podem ter favorecido uma melhor adaptação dos microrganismos ou à diferença tanto na composição do glicerol residual como substrato quanto no inóculo anaeróbio utilizado.

## CONCLUSÕES

O glicerol residual apresentou-se como um substrato extremamente biodegradável anaerobiamente e com elevado potencial de produção de metano, tanto em termos de DQO removida quanto de DQO aplicada. Os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo de Gompertz modificado, permitindo assim a utilização em ensaios cinéticos de metanização com glicerol residual como substrato.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABU-REESH, I. M. Kinetics of anaerobic digestion of labaneh whey in a batch reactor. *African Journal of Biotechnology*, v. 13, n. 16, p. 1745–1755, 2014.
2. APHA. *Standard Methods: for the examination of water and wastewater*. 22. ed. Washington, D.C.: APHA - American Public Health Association, 2012.
3. BABA, Y. *et al.* Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel manufacturing using a large-scale pilot plant: Methane production and application of digested sludge as fertilizer. *Bioresource Technology*, v. 140, p. 342–348, 2013.
4. BHARATHIRAJA, B. *et al.* Biogas production – A review on composition, fuel properties, feed stock and principles of anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 90, p. 570–582, 2018.
5. CHERNICHARO, C. A. L. *Reatores anaeróbios*. 2°. ed. ampl. e atual. Belo Horizonte, MG: UFMG. 2016. 379 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias; v. 5).
6. DAMS, R. I. *et al.* Production of medium-chain carboxylic acids by anaerobic fermentation of glycerol using a bioaugmented open culture. *Biomass and Bioenergy*, v. 118, n. August 2016, p. 1–7, 2018.
7. LENG, L. *et al.* Thermodynamic and physiological study of caproate and 1,3-propanediol co-production through glycerol fermentation and fatty acids chain elongation. *Water Research*, v. 114, p. 200–209, 2017.
8. REDDY, M. V. *et al.* Short chain and medium chain fatty acids production using food waste under non-augmented and bio-augmented conditions. *Journal of Cleaner Production*, v. 176, p. 645–653, 2018.
9. ROTUNNO, P.; LANZINI, A.; LEONE, P. Energy and economic analysis of a water scrubbing based biogas upgrading process for biomethane injection into the gas grid or use as transportation fuel. *Renewable Energy*, v. 102, p. 417–432, 2017.
10. SAINI, M. *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of n-butanol from crude glycerol. *Biotechnology for Biofuels*, v. 10, n. 1, p. 173, 2017.
11. SANTOS, A. B. DOS. Aplicação conjunta de tratamento anaeróbio termofílico por lodo granular e de mediadores redox na remoção de cor de águas residuárias têxteis. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 10, n. 3, p. 253–259, 2005.
12. SHEN, Y. *et al.* An overview of biogas production and utilization at full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) in the United States: Challenges and opportunities towards energy-neutral WWTPs. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 50, p. 346–362, 2015.
13. VIANA, M. B. *et al.* Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. *Water Science and Technology*, v. 66, n. 10, p. 2217–2222, 2012.
14. YANG, H. *et al.* A model for methane production in anaerobic digestion of swine wastewater. *Water Research*, v. 102, p. 464–474, 2016.