



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR - LABOMAR, UFC
CURSO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS

WILLAME DE ARAÚJO CAVALCANTE

SISTEMA COMBINADO ANAERÓBIO-AERÓBIO PARA REMOÇÃO DE MATÉRIA
ORGÂNICA DE GLICEROL RESIDUAL

FORTALEZA

2013

WILLAME DE ARAÚJO CAVALCANTE

**SISTEMA COMBINADO ANAERÓBIO-AERÓBIO PARA REMOÇÃO DE MATÉRIA
ORGÂNICA DE GLICEROL RESIDUAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de cientista ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella.

FORTALEZA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

C364s Cavalcante, Willame de Araújo.

Sistema combinado anaeróbio-aeróbio para remoção de matéria orgânica de glicerol residual / Willame de Araújo Cavalcante – 2013.
61 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Ciências Ambientais, Fortaleza, 2013.
Orientação: Prof^a. Dr^a. Sandra Tédde Santaella.

1. Biodiesel. 2. Degradação ambiental. 3. Filtros biológicos. I. Título.

CDD 662.6

“À memória de minha avó”

DEDICO

AGRADECIMENTO

A Deus em primeiro lugar.

A meus pais, dona Célia e seu José Wilton por me ensinarem os valores que hoje prezo e por apostarem em minhas aspirações insanas.

À minha tia Silvia e minha amada avó Idelzuite pelo “ponta pé” inicial para essa vitória.

À minha orientadora Sandra Santaella. Obrigado por contribuir para com minha personalidade; sua atenção, respeito, ensinamentos e honestidade são admiráveis.

À Rosa Lucena, pela amizade e momentos de risos que passamos em nosso ambiente de trabalho. Admiro sua humildade.

Ao Laboratório de efluente e qualidade de água (EQUAL) por fornecer subsídios fundamentais para execução dessa pesquisa e por me acolher durante três anos.

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica.

À Oscarina Viana, Cristiane Teles e Gleire Menezes por me ajudarem nos testes microbiológicos no laboratório de microbiologia ambiental e do pescado (LAMAP). Gleire Menezes sem você estaria perdido.

À Eunice, a melhor secretária do mundo.

A todos os professores que fizeram valer a pena cada minuto de aula assistida e que me aludiram com seus conhecimentos, em especial aos professores Eduardo Sávio, Oscarina Viana e Danielle Garcez.

Ao pesquisador Renato Leitão por ter cedido seu laboratório (TECNOLOGIAS DA BIOMASSA) para a realização das análises do biogás.

À Lilian Alexandre pelo apoio nas leituras cromatográficas.

A meu “cumpadi” Edilson Bieh pelos momentos de aflição e risos que passamos juntos escrevendo nossas monografias. Nossa amizade é planta que tem raiz.

A Klenio Sá, nossas protelações filosóficas foram as mais engraçadas da residência universitária.

À Talita Brilhante, essa conquista é nossa, sua competência e dedicação foram essenciais.

À Isabele Baima, trabalhar com você foi muito prazeroso, admiro sua inteligência e competência.

À Clara Cabral, não sei o que seria disso tudo sem o apoio de minha amiga “rica”. Não poderia arrumar uma “irmã” melhor que você.

Ao Michael Viana e Chagas Junior, obrigado pelos conselhos.

Aos meus irmãos do coração, Daniel Rodrigues, Icaro Breno e Wesley Leitão; vocês são inigualáveis.

A meus colegas de laboratório: Beatriz Soares, Rennyer Holanda, Paulo Ipiranga, Leonardo Schramm e Mart Som Reis.

Aos meus grandes amigos Liliane Freitas, Helainy Ribeiro, Eugênia Lemos, Janilli Reis e Renata Reis.

Ao André Porfírio e Paulo Lima, suas filosofias de vida são loucamente exeqüíveis. Aprendi muito com seus conselhos.

Ao programa residência universitária da UFC por ter me dado arcabouço para fomentação desse projeto e por me fazer sentir o que é ser universitário.

À Agda Raquel, seu apoio foi incondicional. Obrigado por seu carinho, amor, dedicação e paciência.

“Minha terra é a terra que é minha
E sempre será
Minha terra tem a lua, tem estrelas
E sempre terá” (Renato Russo)

RESUMO

O glicerol é um resíduo líquido com carga orgânica elevada, originado do processo de transesterificação de óleos vegetais e gordura animais durante a produção de biodiesel. É altamente solúvel em água, o que facilita sua dispersão no meio ambiente, gerando diversos impactos aos recursos naturais, principalmente aos corpos hídricos. Embora existam muitas aplicações comerciais para o glicerol, sua aplicação é limitada quando é gerado a partir da produção de biodiesel porque, neste caso, o glicerol contém muitas impurezas. A proposta desta pesquisa foi avaliar a eficiência de remoção de matéria orgânica desse resíduo em um sistema de biofiltros combinados, sendo o primeiro anaeróbio seguido de um aeróbio. O filtro anaeróbio (FAN) possui volume útil de 3,2 L, com separador trifásico modificado em forma de Y, ligado em série a um filtro aerado submerso (FAS) com tanque de aeração de 5,9 L e decantador secundário com 4,8 L. O filtro anaeróbio foi inoculado com lodo de um reator UASB utilizado para geração de biogás a partir de glicerol, e o aeróbio com espécies bacterianas halófitas isoladas de efluente carcinicultura. A pesquisa durou 308 dias e foi possível atingir uma COV de $10 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ com TDH fixo de 7,46 h. A eficiência média de remoção de DQO foi de 83% para o FAN, 90% para o FAS e para o sistema combinado 98%. A produção de metano no FAN foi de aproximadamente $0,220 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{DQO}_{\text{rem}}$. A digestão biológica de glicerol residual proveniente da produção de biodiesel em sistemas combinados anaeróbio-aeróbio é uma alternativa eficaz para o tratamento e a revalorização desse resíduo, pois esse sistema foi capaz de remover mais matéria orgânica em menos tempo. No entanto houve a exigência de grande quantidade de água para diluir o glicerol.

Palavras-chave: Sub-produto do Biodiesel; Filtro biológico; DQO

ABSTRACT

Glycerol is a waste liquid containing high organic load, which is originated from the process of transesterification of vegetable oils and animal fat used for the production of biodiesel. It is highly soluble in water, which facilitates its dispersion into the environment, generating several impacts on natural resources, especially on water bodies. While there are many commercial applications for glycerol, its application is limited to when it is generated from the production of biodiesel, because in this case glycerol contains many impurities. The purpose of this research is to evaluate the efficiency of organic matter removal from this waste in a system of combined anaerobic-aerobic biofilters, both bench scale. The anaerobic filter (ANF) has useful volume of 3.2 L, it also has a three-phase separator modified into the shape of the letter "Y", which is connected in series to a submerged aerated filter (SAF) with an aeration tank with 5.9 L of capacity and to a secondary decanter. The anaerobic filter was inoculated with sludge from a UASB reactor, which was used for biogas generation from glycerol, and in the aerobic filter were placed halophyte species of bacteria, which were isolated from shrimp farm effluent. This study lasted 308 days and attained a COV of $10 \text{ kgDQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ with TDH fixed 7.46 h. The average removal efficiency of COD was 83 % for ANF, 90 % for SAF and 98 % for the combined system. The specific production of methane in ANF was approximately $0.220 \text{ L}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{g}^{-1}\text{DQO}_{\text{rem}}$. The biological digestion of residual glycerol from biodiesel production inside an anaerobic-aerobic combined system is an effective alternative for the treatment and revaluation of this waste, because this system was able to remove more organic matter in less time. However there was a demand for large quantities of water to dilute the glycerol.

Keywords: By-product of Biodiesel; biological treatment; COD

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Reação de transesterificação na presença de álcool metílico	19
Figura 2 – Estrutura química do glicerol puro (glicerina)	20
Figura 3 – Sistemas de alta taxa utilizados para o tratamento biológico de águas residuárias.....	24
Figuras 4 – Esquema simplificado da digestão anaeróbia da matéria orgânica carbonácea.....	26
Figura 5 – Esquema da produção de biodiesel aplicado pela UBQ	29
Figura 6 – Esquema e fotografia do sistema de tratamento em escala de laboratorial empregado na pesquisa.....	30
Figura 7 – Espuma de poliuretano usada como meio suporte para os filtros biológicos	31
Figura 8 – Figura esquemática do método de inoculação utilizado.....	36
Figura 9 – Porcentagens de eficiência de tratamento para as cargas COV4(A); COV6(B); COV8(C) e COV10 (D)	44
Figura 10 – Concentrações de matéria orgânica no afluente ao sistema combinado	45
Figura 11 – Eficiência de remoção de matéria orgânica no sistema combinado.....	46
Figura 12 – Relação AGV e AT no efluente do FAN por COV de projeto	48
Figura 13 – Produção de biogás ao longo da pesquisa	49
Figura 14 – Produção específica de metano ao longo da pesquisa	50
Figura 15 – Crescimento celular para os dois meios utilizados	51
Figura 16 – Crescimento em placas para os meios utilizados	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Solução nutritiva utilizada na composição da água residuária afluenta (glicerol diluído)	33
Tabela 2 – Características das espécies de bactérias utilizadas como inóculo para o FAS	33
Tabela 3 – Características operacionais do sistema de tratamento afluenta ao FAN	34
Tabela 4 – Programa de monitoramento semanal do sistema de tratamento	35
Tabela 5 – Composição dos meios de cultura utilizados para o monitoramento da taxa de crescimento bacteriológico do FAS	37
Tabela 6 – Variáveis utilizadas para caracterização do glicerol residual	39
Tabela 7 – Resumo dos parâmetros operacionais utilizados durante o monitoramento do sistema combinado anaeróbio-aeróbio	41
Tabela 8 – Resumo dos parâmetros operacionais utilizados durante o monitoramento do sistema combinado anaeróbio-aeróbio	42
Tabela 9 – Produção de biogás no FAN e percentagem de metano.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGV	Ácidos graxos voláteis
AT	Alcalinidade total
CNPE	Conselho nacional de política energética
COV	Carga orgânica volumétrica
COV1	Carga orgânica volumétrica de 1 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
COV2	Carga orgânica volumétrica de 2 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
COV4	Carga orgânica volumétrica de 4 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
COV6	Carga orgânica volumétrica de 6 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
COV8	Carga orgânica volumétrica de 8 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
COV10	Carga orgânica volumétrica de 10 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
CPP	Contagem padrão em placas
CSTR	Reator de mistura completa
DBO ₅ ²⁰	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
EDTA	Etiteno diaminotetracético
EMBRAPA	Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
EQUAL	Laboratório de efluentes e qualidade de água
FAN	Filtro anaeróbio
FAS	Filtro aerado submerso
LABOMAR	Instituto de ciências do mar
LAMAP	Laboratório de microbiologia ambiental e do pescado
PCA	Plate Count Ágar
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TRC	Tempo de retenção celular
UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo
UBQ	Usina de biodiesel de Quixadá
UFC	Universidade federal do ceará

Sumário

1. JUSTIFICATIVA.....	17
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos	18
3. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	19
3.1 Biodiesel (transesterificação)	19
3.2 Glicerol.....	20
3.3 Biotecnologia aplicada ao glicerol residual	21
3.4 Tratamento biológico de águas residuárias	23
3.4.1 <i>Digestão biológica da matéria orgânica</i>	24
3.5 Reatores com biomassa aderida	26
3.5.1 <i>Filtro anaeróbio (FAN)</i>	27
3.5.2 <i>Filtro aerado submerso (FAS)</i>	27
3.6 Reatores combinados	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Glicerol residual	29
4.2 Dimensionamento	30
4.2.1 <i>Sistema de tratamento</i>	30
4.2.2 <i>Filtros biológicos</i>	30
4.2.3 <i>Meio susporte</i>	31
4.3 Alimentação	32
4.4 Inóculo	33
4.5 Partida dos sistemas.....	34
4.6 Operação	34
4.7 Monitoramento	35

4.7.1 <i>Físico-químico</i>	35
4.7.2 <i>Biológico</i>	36
4.8 Tratamento dos dados	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Avaliação prévia.....	39
5.1.1 Caracterização do glicerol residual	40
5.2 Operação dos filtros biológicos em escala laboratorial	40
5.3 Temperatura e cloretos	45
5.4 Alcalinidade e pH.....	47
5.5 Produção de biogás	50
5.6 Biomassa	51
5.6.1 <i>Unidade formadora de colônia (UFC)</i>	51
6. CONCLUSÕES	54
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	55
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1. JUSTIFICATIVA

Estratégias e tecnologias para obtenção de fontes energéticas renováveis, capazes de substituir a matriz petroquímica, têm recebido incentivos financeiros no Brasil e no mundo. A crise energética, a partir de 1970, fez com que a sociedade tecnológica ampliasse a evolução dos biocombustíveis, como biodiesel, bioetanol e biogás que tomaram dimensões significativas quanto à produção mundial. Segundo Leoneti *et al.*(2012), os biocombustíveis representam, em média, 13% da matriz energética mundial.

No Brasil, o incentivo à produção de biodiesel foi impulsionada pelo Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (PROBIODIESEL), sob a Portaria nº 702 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002), que juntamente com a Lei 11.097, de janeiro de 2005, discorreram sobre a obrigatoriedade de introdução do biodiesel na matriz energética brasileira (BRASIL, 2005). O Conselho Nacional de Política e Energia (CNPE) estabeleceu prazo e calendário para atendimento à legislação (BRASIL 2008; BRASIL 2009a; BRASIL 2009b). No período de 2008 a 2010, a mistura de 2% de biodiesel ao diesel comum tornou-se obrigatória e, a partir de 2013, esse percentual aumentaria para 5%, contudo isso ocorreu em janeiro de 2010 (LEONETI *et al.*, 2012).

O método mais eficiente para obtenção de biodiesel é o processo de transesterificação de óleo vegetal e gordura animal na presença de álcool (AMIN *et al.*, 2013). Esse processo gera, basicamente, dois produtos; ésteres alquílicos na forma de biocombustível e glicerol como subproduto, o qual representa 10% do volume total de biodiesel produzido (KARINEN; KRAUSE, 2006); ou seja, para cada quilo de biodiesel são gerados 100 g de glicerol (YAZDANI; GONZALEZ, 2007).

Em geral, o glicerol advindo do biodiesel é um material líquido, solúvel em água, com teor elevado de matéria orgânica (LOPEZ *et al.*, 2009; VIANA *et al.*, 2012a) que, a depender de sua disposição, pode causar riscos ao ambiente aquático. Contudo, o glicerol bruto ou purificado pode ter várias aplicações nas indústrias farmacêutica, alimentícia e química (HUTNANA *et al.*, 2009).

A purificação do glicerol bruto resulta na glicerina que é um produto químico industrial valioso (ABDULLAH; AYOUB, 2012). No entanto, devido ao elevado grau de impurezas, aproximadamente 20%, a purificação é dispendiosa (VIANA *et al.*, 2012a). Abdullah; Ayoub (2012), afirmam que o mercado do glicerol

pode saturar em decorrência das exigências mundiais de substituição do diesel pelo biodiesel.

O incentivo à produção de biodiesel para atender às exigências legais nacionais brasileiras comprometerá a demanda de mercado do glicerol, tornando esse material um resíduo que necessitará de destino ambiental adequado em substituição ao subproduto valioso que existe hoje.

Pesquisadores estão trabalhando com intuito de mitigar problemas futuros associados ao excesso de glicerol; muitos com objetivo de gerar *commodities*, como: produção de bioflocos para ração animal (CRAB *et al.*, 2009; VERSTRAETE *et al.*, 2008), geração de metano (HUTNINA *et al.*, 2013; LOPEZ *et al.*, 2009;) e geração de hidrogênio (REUNGSANG; SITTIJUNDA, 2012).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a viabilidade técnica de degradação biológica de glicerol residual e a produção de biogás em um sistema de tratamento composto por filtro anaeróbio seguido de filtro aeróbio.

2.2. Objetivos específicos

- Maximizar a carga orgânica volumétrica (COV).
- Quantificar a eficiência do sistema em remover matéria orgânica.
- Avaliar o potencial de produção de biogás e de metano por matéria orgânica inserida no filtro anaeróbio (FAN).
- Avaliar o crescimento celular no filtro aeróbio submerso (FAS) após acréscimo de COV.

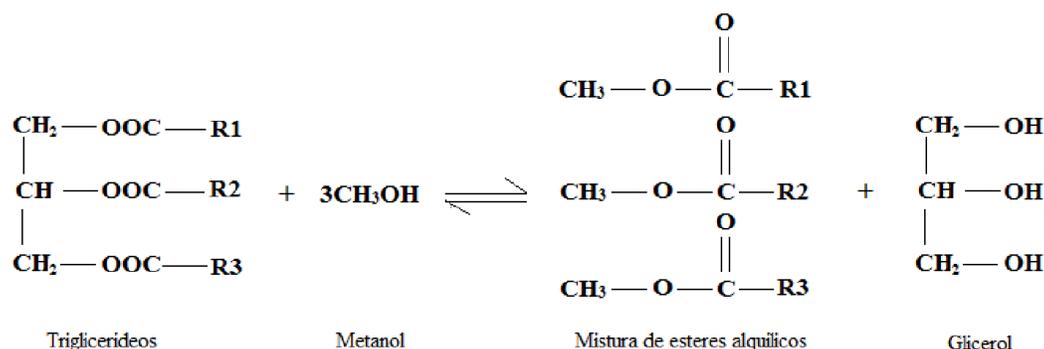
3. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1. Biodiesel (transesterificação)

O biodiesel é um combustível renovável inteiramente produzido a partir de óleos vegetais e gordura animal (AROUA *et al.*, 2012), com propriedades físico-químicas compatíveis com o uso em motores a diesel (DEMIRBAS, 2008a; DUBÉ; LIU 2007).

Atualmente, o método mais eficiente para produção de biodiesel é a transesterificação (também chamada de alcoolise) de óleos vegetais e gordura animal por via catalítica (AMIN, 2013; MA; HANNA, 1999). A transesterificação baseia-se na reação de um mol de triglicerídeo (óleo vegetal ou gordura animal) com três moles de álcool, resultando em três moles de ésteres alquílicos (biodiesel) e um mol de glicerol (FIGURA1) (AMIN, 2013; AROUA *et al.*, 2012; DEMIRBAS 2003; DUBÉ; LIU 2007; MA; HANNA, 1999; LEUNG; WU;LEUNG, 2010).

Figura 1 – Reação de transesterificação na presença de álcool metílico.



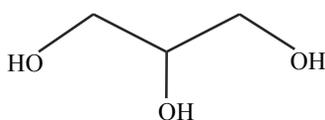
No processo de transesterificação as moléculas de triglicerídeos reagem com um álcool de baixa massa molecular (metanol ou etanol) (DEMIRBAS, 2003; AMIN, 2013) na presença de catalisadores homogêneos como hidróxido de potássio (KOH) ou hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl) (DEMIRBAS, 2008b). Geralmente usa-se o metanol como álcool e o hidróxido de sódio como catalisador

por apresentarem as maiores vantagens físico-químicas e terem baixo custo comercial (MA; HANNA, 1999; DEMIRBAS, 2003). A reação resulta em glicerol e biodiesel, normalmente separados por gravidade devido a características físicas distintas.

3.2. Glicerol

O glicerol puro (glicerina ou 1,2,3 propanotriol) é um álcool solúvel em água, não tóxico, inodoro, viscoso e higroscópico (ABDULLAH, 2012); tem sabor adocicado (BEATRIZ; ARAUJO; LIMA, 2011) e se liquefaz a 17,9 °C (ABDULLAH, 2012; PACHAURI; HE, 2006). A estrutura química do glicerol está representada na figura 2.

Figura 2 – Estrutura química do glicerol puro (glicerina).



O glicerol residual gerado no processo de produção do biodiesel é uma mistura de álcool, sais, ácidos graxos (ABDULLAH, 2012), sabões (ATHANASOULIA; AIVASIDIS, 2014) e, aproximadamente, 80% de glicerina (HUTNˆAN, 2013). Esse produto pode ser valioso para a indústria química, farmacêutica, alimentícia e cosmética (HUTNˆNA *et al.*, 2009). No entanto, a utilização direta do glicerol residual gerado no processo de produção de biodiesel fica restrita devido ao custo de purificação (ABDULLAH, 2012; HUTNˆNA, 2013; VIANA *et al.*, 2012b).

Entre as impurezas contidas no glicerol residual, quatro delas podem comprometer a atividade de decomposição microbiana: cloretos (ABDULLAH, 2012; VIJAYARAGHAVAN; RAMANUJAM, 1999), sulfatos e sulfetos (KARHADKAR *et al.*, 1987; KOSTER; CRAMER 1986; VISSER, 1995), cátions de sais (sódio e potássio) (CHENG *et al.*, 2008; FEIJOO *et al.*, 1995) e ácidos graxos de cadeia longa (KOSTER; CRAMER, 1987; PALASTSI *et al.*, 2013; STAFFORD, 1982; THOMPSON; HE, 2006).

No glicerol bruto, a presença de cloretos ou de sulfatos depende do tipo de catalisador que foi empregado, ou seja, se ácido clorídrico ou ácido sulfúrico for utilizado a fim de neutralizar a reação e evitar a formação de sabão (DEMIRBAS, 2003; LEUNG, 2010; MA;HANNA, 1999).

3.3. Biotecnologia aplicada ao glicerol residual

Em escala real não há unidades de tratamento biológico com a finalidade de tratar somente o glicerol residual excedente do processo de produção de biodiesel. Isso ocorre por ainda existir viabilidade comercial à absorção desse subproduto. Contudo, a tendência mundial é de crescimento da produção de biodiesel e possível excesso de glicerol residual.

Diversos pesquisadores (ASTALS *et al.*, 2012; BUCHANAN *et al.*, 2013; KOLESÁROVÁ *et al.*, 2011; RÉTFALVI *et al.*, 2011; YAZDANI; GONZALEZ, 2007; VIANA *et al.*, 2012a) procuram desenvolver ferramentas biotecnológicas aplicáveis ao tratamento de glicerol residual; para isso testam unidades piloto de tratamento biológico em busca de viabilizar processos mitigatórios para esse resíduo.

Yang *et al.* (2008), utilizaram quatro biorreatores de leito fixo com volume de 500 mL, preenchidos com espuma de poliuretano, para tratar glicerol residual. Dois reatores foram operados em temperatura termófila (40 a 65°C) e os outros dois sob condição mesófila (20 a 40°C). Os reatores foram operados com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 14 d. A eficiência de remoção de matéria orgânica para os sistemas termófilos variou de 80,6 a 90,0%, enquanto que nas condições mesófilas a eficiência variou entre 50,0 e 73,8%.

Lopez *et al.* (2009), montaram seis reatores anaeróbios em escala de laboratório com volume útil de um litro, alimentados em batelada, cada um inoculados com um tipo de lodo diferente (lodo não granular e granular) em condições mesófilas para avaliar o desempenho do processo de digestão anaeróbia a partir de glicerol residual. Devido à DQO elevada, o glicerol residual a ser tratado foi diluído com água destilada até atingir 81,6 e 85,7 g de DQO.L⁻¹, respectivamente. Os autores constataram 100% de biodegradabilidade do glicerol e maior potencial de produção e metano (0,306 m³CH₄.kg⁻¹ de glicerol) quando tratado com lodo granular.

Viana (2011), operou em escala de laboratório um reator do tipo *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB), com volume de 14,85 L alimentado com solução diluída de glicerol residual e nutrientes, durante 400 d. O sistema foi iniciado com COV de $2,0 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-3}$ e acréscimo gradual até COV $10 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-3}$. O autor atingiu diluição mínima de 20% (v/v) para o glicerol afluyente. O sistema foi operado em temperatura aproximada de 30 °C e a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 97,5%, sem problemas de instabilidade, mesmo com concentrações elevadas de cloretos ($14 \text{ gCl} \cdot \text{L}^{-1}$). O potencial de produção de metano no reator foi de $0,380 \text{ m}^3 \text{CH}_4 \cdot \text{Kg}$ de glicerol. Os resultados, também, revelaram que a natureza do óleo vegetal ou gordura animal e o processo de produção de biodiesel podem afetar a biodegradabilidade anaeróbia do glicerol residual.

Hutñna *et al.* (2013), avaliaram a digestão anaeróbia para o glicerol residual em reatores UASB (3,5 L) inoculados com lodo granular e operados sob condições mesófilas (37 °C). Os pesquisadores descobriram que é viável usar glicerol bruto como único substrato; contudo, as concentrações elevadas de sais inibiram a atividade biológica. A diluição do glicerol com água de torneira foi uma das formas encontradas para amenizar os efeitos toxicológicos dos sais presentes no glicerol; dessa forma foi possível fazer uma comparação evolutiva das eficiências entre a alimentação com glicerol bruto e glicerol diluído. Os autores afirmaram que a diluição do glicerol favoreceu a produção de biogás e a eficiência de remoção de matéria orgânica.

Athanasoulia; Aivasidis, (2014), avaliaram o uso de glicerol residual diluído na co-digestão anaeróbia para produção de biogás; para isso montaram dois reatores do tipo *Continuous Stirred Tank Reactors* (CSTR) operados com TDH de 12,3 e 19,7 h e COV oscilando entre 1,0 e $1,7 \text{ kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-3}$ em condições mesófilas. Os autores atingiram eficiência de remoção de matéria orgânica entre 88 e 96%, contudo tiveram problemas de sobrecarga e recomendaram evitar concentrações elevadas de glicerol.

Há outros benefícios biotecnológicos advindos da digestão anaeróbia de glicerol bruto proveniente do processo de produção de biodiesel, como:

- O uso de glicerol como um co-substrato na avaliação da digestão anaeróbia no processo de silagem (AMON *et al.*, 2006);
- Fonte de carbono para produção de bioflocos para ração animal (VERSTRAETE *et al.*, 2008);
- Conversão em ácidos orgânicos como: acético, propiônico, butírico, valérico e capróico (FORREST *et al.*, 2010).

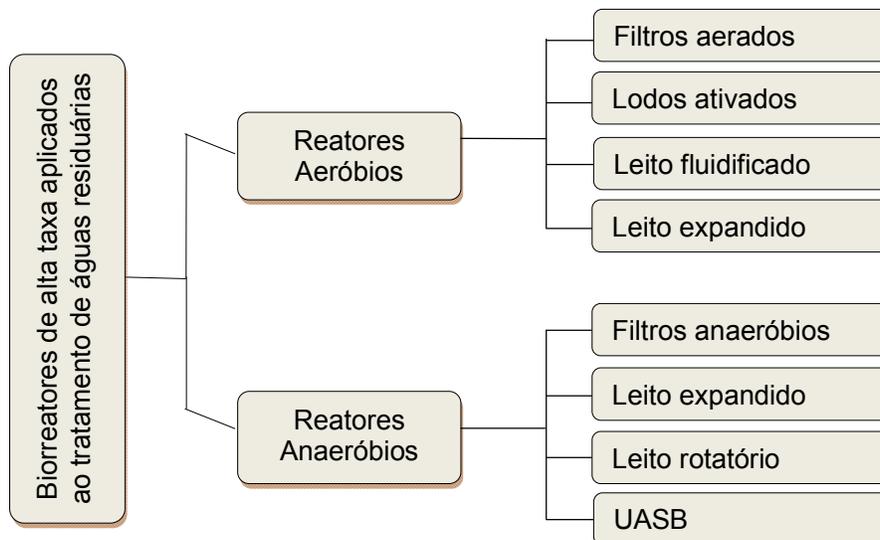
As biotecnologias aplicáveis ao glicerol residual são benéficas, não somente para o setor mercantilista como também ao meio ambiente, em virtude de a maioria dos processos biológicos resultarem na remoção de matéria orgânica do glicerol. Esses resultados biotecnológicos demonstram que o glicerol residual pode ser tratado por processos biológicos em unidades de tratamento que visem a remoção de matéria orgânica e produção de *commodities*.

3.4. Tratamento biológico de águas residuárias

A principal função dos processos biotecnológicos aplicados ao tratamento de águas residuárias reside na capacidade natural dos microrganismos em consumir compostos biodegradáveis, orgânicos ou inorgânicos, e transformá-los em subprodutos que podem ser removidos facilmente do sistema de tratamento, dentre eles, sólidos (biomassa), gases (metano, gás carbônico e sulfetos, dentre outros) e água. Esses processos biológicos reproduzem, de certa forma, as condições de degradação natural, diferenciando-se por ter fundamentação tecnológica que potencializa o controle das variáveis cinéticas do sistema (SPERLING, 2006).

O desenvolvimento tecnológico aplicado aos processos biológicos aumentou a eficiência do tratamento de água residuária, um exemplo são os sistemas de alta taxa, que são caracterizados pela capacidade de reter grandes quantidades de biomassa, possuir atividade microbiológica intensa, maior capacidade de carregamento e utilizar pouco espaço. Os sistemas de alta taxa, em geral, são divididos entre digestores (reatores) anaeróbios e aeróbios (FIGURA 3).

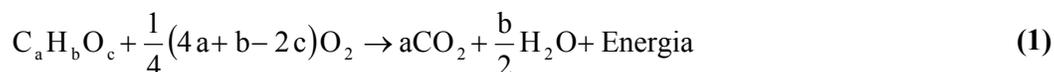
Figura 3 – Sistemas de alta taxa utilizados para o tratamento biológico de águas residuárias.



Adaptado de Sperling (2006); Jordão (2005).

3.4.1. Digestão biológica da matéria orgânica

A digestão aeróbia da matéria orgânica carbonácea consiste na oxidação do substrato orgânico por microrganismos aeróbios que utilizam oxigênio molecular como aceptor de elétrons para obter energia necessária para os processos celulares, culminando na transformação da matéria orgânica em dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O) (EQUAÇÃO 1). Uma vez que estes organismos obtêm energia da oxidação, o seu crescimento é rápido e grande parte do composto orgânico é convertida em novas células pelo metabolismo celular (McCARTY, 1967).



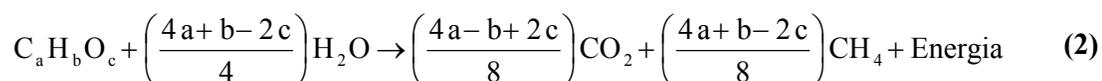
Onde,

C_aH_bO_c : matéria orgânica carbonácea;

a, b e c : números de átomos para cada componente constituinte da molécula.

Os digestores aeróbios são muito utilizados como tecnologia para tratamento de esgoto e apresentam vantagens, como: baixo TDH, elevado carregamento e não produção de gases odoríferos. No entanto, esses sistemas demandam concentração elevada de nutrientes, produzem grande quantidade de biomassa e têm gasto energético elevado (SPERLING, 2006).

A digestão da matéria orgânica carbonácea também pode ocorrer por via anaeróbia. Nesse caso a conversão da matéria orgânica resulta na formação de CO₂ e CH₄ (McCARTY, 1967), como mostra a equação 2. Esse processo de digestão é realizado por um consórcio de microrganismos, diferenciando-se da digestão aeróbia na qual apenas uma espécie é capaz de digerir o composto orgânico (SPERLING, 2006).



Onde,

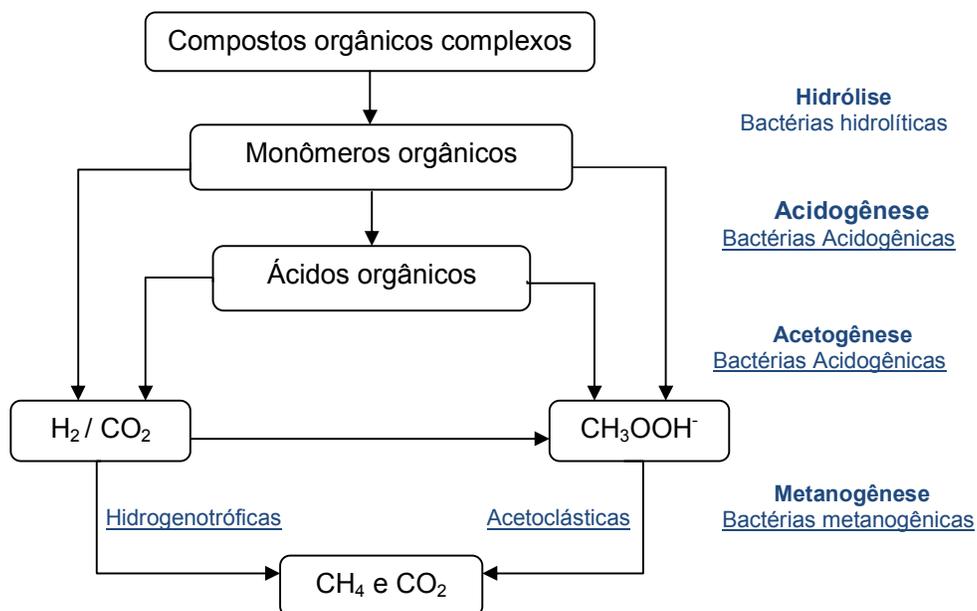
C_aH_bO_c : matéria orgânica carbonácea;

a, b e c : números de átomos para cada componente constituinte da molécula.

Ao contrário da oxidação aeróbia, a conversão anaeróbia em gás metano produz relativamente pouca energia para os microrganismos. Assim, a taxa de crescimento é lenta e somente uma pequena porção dos resíduos é convertido em novas células.

De acordo com Lettinga; Hulshof Pol; Zeeman, (1999) e atualizado por Viana (2011), a digestão anaeróbia ocorre na presença de um consórcio de bactérias anaeróbias em que a matéria orgânica sofre, basicamente, quatro principais reações (FIGURA 4): a) hidrólise, polímeros orgânicos são quebrados em monômeros e dímeros por bactérias hidrolíticas; b) acidogênese, monômeros e dímeros são convertidos a ácidos orgânicos, hidrogênio e bicarbonato por bactérias acidogênicas; c) acetogênese, oxidação de compostos orgânicos reduzidos gerando acetato ou hidrogênio e dióxido de carbono por bactérias acetogênicas; d) metanogênese, produção de metano pela fermentação acetoclástica das bactérias *archeas* metanogênicas.

Figura 4 – Esquema simplificado da digestão anaeróbia da matéria orgânica carbonácea.



Fonte: Adaptado de Lettinga; Hulshof Pol; Zeeman (1999)

As vantagens da digestão anaeróbia incluem níveis baixos de lodo biológico, pouca necessidade de nutrientes (LOPEZ *et al.*, 2009) e produção de biogás. No entanto, é um processo sensível a variações físico-químicas bruscas, além de produzir gases de odor desagradável.

3.5. Reatores com biomassa imobilizada

A imobilização de microrganismos em materiais sólidos possibilita maior concentração de células ativas, característica que beneficia o uso dessa tecnologia para sistemas de tratamento de água residuária. A capacidade de aderência microbiana a um meio suporte é uma condição adaptativa tanto de bactérias aeróbias quanto de anaeróbias. As bactérias crescem aderidas a um meio suporte que pode ter diversas formas, no entanto, é necessário que esse material seja resistente a ação biológica, químicos e físicos (BERNARDES, 2005). Algumas pesquisas abordam a utilização de biofiltros preenchidos com materiais inertes como: brita, argila expandida (ARAUJO JUNIOR, 2006), espuma de poliuretano (SILVA JUNIOR, 2011), eletroduto corrugado (LOPES, 2013) dentre outros.

A formação do biofilme possibilita maior tempo de retenção celular (TRC) e maior número de microrganismos ativos nos biofiltros (CHERNICHARO, 2007). Essa condição faz com que os sistemas suportem vazões elevadas e TDH baixo sem que haja lavagem do material celular do interior do reator. Silva Junior (2011), afirma que a escolha do material suporte influencia no desempenho dos biofiltros, pois a formação do biofilme pode ser comprometida em virtude da má aderência dos microrganismos.

3.5.1. Filtro biológico anaeróbio (FAN)

Os filtros anaeróbios (FAN) são unidades de tratamento de leito fixo, com biomassa aderida a um meio suporte submerso e com fluxo de alimentação afluyente ascendente ou descendente. Embora sua utilização tenha iniciado na década de 1950, os filtros anaeróbios tornaram-se populares no Brasil somente a partir de 1982, quando a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) normatizou o uso de filtros anaeróbios para pós-tratamento dos efluentes de tanques sépticos (ANDRADE NETO; HAANDEL; MELO, 2002).

A primeira aplicação da tecnologia de filtros anaeróbios foi divulgada com as experiências realizadas na década de 1960 pelos americanos Young e McCarty.

3.5.2. Filtro biológico aerado submerso (FAS)

O filtro biológico aerado submerso (FAS) caracteriza-se por ser um reator aeróbio de leito fixo que propicia o crescimento microbiano aderido a um meio suporte e, pode ser alimentado em fluxo ascendente ou descendente, assim como no FAN, no entanto é diferente quanto ao princípio biológico e mecânico. No caso dos FAS há a necessidade de aeração artificial para manutenção dos microrganismos aeróbios.

Em geral, após o FAS existe um decantador secundário para sedimentação de sólidos (biomassa) que, mesmo aderidos, se desprendem facilmente pela ação turbulenta da aeração. No entanto, Aisse; Sobrinho (2001) afirmam que a turbulência provocada pelas bolhas de ar proporciona maior contato entre o substrato e a biota ativa.

3.6. Reatores combinados

Os reatores anaeróbios possuem inúmeras vantagens quando se trata de gastos energéticos, porém o efluente necessita de pós-tratamento para completar a remoção de compostos reduzidos. Conectar o efluente de um reator anaeróbio com o reator aeróbio é uma das tecnologias mais usadas mundialmente para o tratamento de águas residuárias industriais, pois permite eficiência de tratamento quase que completa para a maioria dos efluentes. É uma alternativa tecnológica vantajosa quanto à remoção de matéria orgânica e de nutrientes.

Lopes (2013) operou, em escala de bancada, um sistema combinado de biofiltros anaeróbio-aeróbio, ambos de fluxo ascendente, para tratar esgoto doméstico com alimentação constante. Foi montado um filtro anaeróbio com volume de 32,6 L ligado em série a um filtro aeróbio submerso com 17,6 L para o tanque de aeração e 7,2 L para o decantador secundário. O sistema foi operado com TDH de 23 e de 13 h e concentração de DQO em torno de 800 mg.L⁻¹. A eficiência global foi de 80 a 90% para remoção de matéria orgânica sem quaisquer correções de valores de pH e alcalinidade, indicando a elevada robustez dessa configuração de sistema de tratamento.

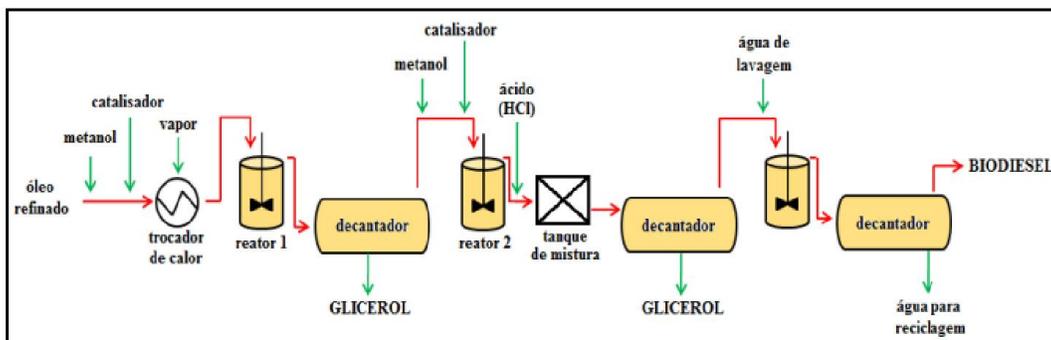
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Glicerol residual

O glicerol era proveniente da Usina de Biodiesel de Quixadá (UBQ), unidade de produção de biocombustível da Petróleo Brasileiro S.A. (Petrobras), localizada no município de Quixadá, Ceará.

A unidade UBQ operava com a produção de biodiesel a partir de gordura animal. O processo de produção usava técnica de transesterificação na presença de álcool metílico, hidróxido de sódio como catalisador e ácido clorídrico concentrado como neutralizante; resultando em ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol (FIGURA 5).

Figura 5 – Esquema da produção de biodiesel aplicado pela UBQ.



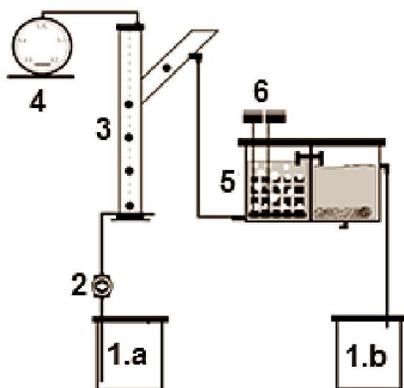
Fonte: Viana (2011)

O glicerol residual era armazenado em galões de 100 L para caracterização e tratamento.

4.2. Sistema de tratamento

O sistema de tratamento era composto por dois filtros biológicos de acrílico, em série (FIGURA 6), montados e operados no Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água (EQUAL), no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Figura 6 – Esquema e fotografia do sistema de tratamento em escala de laboratorial empregado na pesquisa.



Fonte: Adaptado de Silva Junior (2011)



Legenda:

1a: Reservatório de afluente ao sistema anaeróbio; 1b: Reservatório de efluente ao sistema aeróbio; 2: Bomba de alimentação do sistema; 3: Filtro anaeróbio; 4: Gasômetro; 5: Filtro aeróbio; 6: Aeradores.

4.2.1. Filtros biológicos

O filtro anaeróbio (FAN), trifásico de fluxo ascendente e leito fixo, foi construído em forma de “Y” com 0,1 m de diâmetro, 1,2 m de comprimento e volume útil de 3,2 L. A coluna principal do reator foi separada em duas câmaras de mesmo volume, com discos perfurados, para prender o meio suporte e facilitar a ascensão de gases. Foram instaladas quatro torneiras na coluna principal para coleta de

material biológico, como também dois orifícios um na base para alimentação e outro ao topo para coleta do biogás.

O filtro aerado submerso de fluxo ascendente e leito fixo (FAS) tinha formato retangular, e dois compartimentos: reator (5,8 L) e decantador (5,4 L). O reator era aerado por dois aeradores mecânicos (Master Super II 150 L.h⁻¹). No decantador foram instaladas duas torneiras; uma na base para retirada do lodo excedente e outra no topo para saída do efluente tratado.

4.2.2. Meio suporte

Como meio suporte foi usada espuma de poliuretano, em cubos com arestas de 2,0 cm (FIGURA 7). O volume útil do FAN foi preenchido com 200 cubos de meio suporte, divididos em 100 unidades para cada câmara e livres de compactação. No tanque de aeração (reator) do FAS foram inseridos 400 cubos separados em quatro frações de 100 cubos envolvidos por redes de poliuretano, preenchendo o volume total.

Figura 7 – Espuma de poliuretano usada como meio suporte para os filtros biológicos.



Autor: Talita Rodrigues Brilhante

4.3. Alimentação

O glicerol residual era diluído em água em um tanque afluente com volume suficiente para suportar dois dias de alimentação constante, de maneira a manter carga orgânica volumétrica (COV) (EQUAÇÃO 3) crescente, com tempo de detenção hidráulica (TDH) (EQUAÇÃO 4) oscilando entre 7,0 e 8,0 h.

$$COV = \left[\frac{DQO * Q_{Af}}{V_u} \right] \quad (3)$$

Onde;

COV: carga orgânica volumétrica afluente ao FAN (Kg DQO.m⁻³.d⁻¹);

DQO: demanda química de oxigênio afluente ao FAN (Kg.m⁻³);

Q_{Af}: vazão afluente ao FAN (m³.d⁻¹);

V_u: volume útil do FAN (m³).

$$TDH = \left[\frac{V_u}{Q_{Af}} \right] \quad (4)$$

Onde;

TDH: tempo de detenção hidráulica (h);

Q_{Af}: vazão afluente ao FAN (m³.h⁻¹);

V_u: volume útil do FAN (m³).

Após diluição adicionavam-se solução nutritiva (1,0 mL para 1,0 g de DQO) (TABELA1) e solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) (1,0 g para 1,0 g de DQO) (VIANA, 2011).

Tabela 1 – Solução nutritiva utilizada na composição da água residuária afluenta (glicerol diluído).

Solução nutritiva	Concentração (g.L ⁻¹)	Elementos traço	Concentração (g.L ⁻¹)
NH ₄ Cl	36,92	FeCl ₂ .4H ₂ O	4,05
K ₂ HPO ₄	24,72	H ₃ BO ₃	0,16
MgSO ₄ .7H ₂ O	11,02	ZnCl ₂	0,06
CaCl ₂ .7H ₂ O	33,15	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,05
Extrato de levedura	1,84	NiCl ₂ .6 H ₂ O	0,12
Elementos traços	1 mL.L ⁻¹	MnCl ₂ .4 H ₂ O	1,02
		(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4 H ₂ O	2,1
		AlCl ₃ .6 H ₂ O	4,44
		CoCl ₂ .6 H ₂ O	2,0
		Na ₂ S ₂ O ₃ .5 H ₂ O	0,19
		EDTA	0,57

Fonte : Viana (2011)

4.4. Inóculo

O FAN foi inoculado com lodo proveniente de um sistema de tratamento biológico do tipo UASB operado com glicerol residual no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. O inóculo do FAS foi composto por um consórcio entre três gêneros de bactérias halófilas (TABELA 2) isoladas de efluente de carcinicultura, cultivadas durante 48 h em um caldo mineral adicionado de glicerol 2% (CM+G).

Tabela 2 – Características das espécies de bactérias utilizadas como inóculo para o FAS.

Espécie	Morfologia	Gram
<i>Alcaligene</i> spp.	Bacilo	Negativo
<i>Flavobacterium</i> spp.	Bacilo	Negativo
<i>Proteus</i> spp.	Bacilo	Negativo

Fonte: Laboratório de microbiologia ambiental e do pescado (LAMAP) do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR).

4.5. Partida do sistema

Após a inoculação, o FAN ficou 24 h em repouso para que houvesse acomodação da biomassa e, em seguida, iniciou-se a alimentação com glicerol residual diluído. Após 48 h de partida do FAN foi feita a inoculação no FAS; que permaneceu 48 h em repouso para fixação do biofilme e só depois foi conectado ao FAN.

A água residuária (glicerol diluído) ficava armazenada em um tanque afluente com capacidade máxima para 50 L e era bombeada para o FAN com auxílio de uma bomba diafragma (LMI P133).

4.6. Operação

A COV inicial, $1,0 \text{ Kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, foi mantida até que se atingiu eficiência de remoção constante no FAN. O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi mantido entre 7,5 e 8,0 h até a COV final de $10,0 \text{ Kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ (TABELA 3). A mudança nas variáveis de dimensionamento, como vazão, COV, e TDH dependeu remoção de matéria orgânica do FAN.

Tabela 3 – Características operacionais do sistema de tratamento afluente ao FAN.

COV ^(a)	Diluição do glicerol residual ^(b)	DQO ^(c)
1	0,03	317,46
2	0,05	634,92
4	0,10	1269,84
6	0,15	1904,76
8	0,20	2539,68
10	0,25	3174,60

Nota: ^(a) em $\text{kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$; ^(b) diluição do glicerol em %; ^(c) concentração da DQO em mg.L^{-1} .

4.7. Monitoramento dos filtros biológicos

4.7.1. Físico-químico

O programa de monitoramento dos reatores, a frequência de execução das variáveis operacionais e os métodos utilizados na determinação das variáveis físico-químicas estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Programa de monitoramento semanal do sistema de tratamento.

Variável	Frequência	Método /Referência
DQO	3x semana	5220 B ^(b)
pH	3x semana	4500 H ⁺ B ^(b)
Cl ⁻	3x semana	4500 B ^(b)
Alcalinidade total (AT)	3x semana	Kapp (1984)
Alcalinidade e ácidos graxos voláteis (AGV)	3x semana	Kapp (1984)
Vazão (Q)	Diariamente	Relação volume/tempo
Biogás ^(a)	Diariamente	Gasometria
Temperatura (°C)	Diariamente	2550 ^(b)
Alimentação afluyente	3x semana	Volumetria

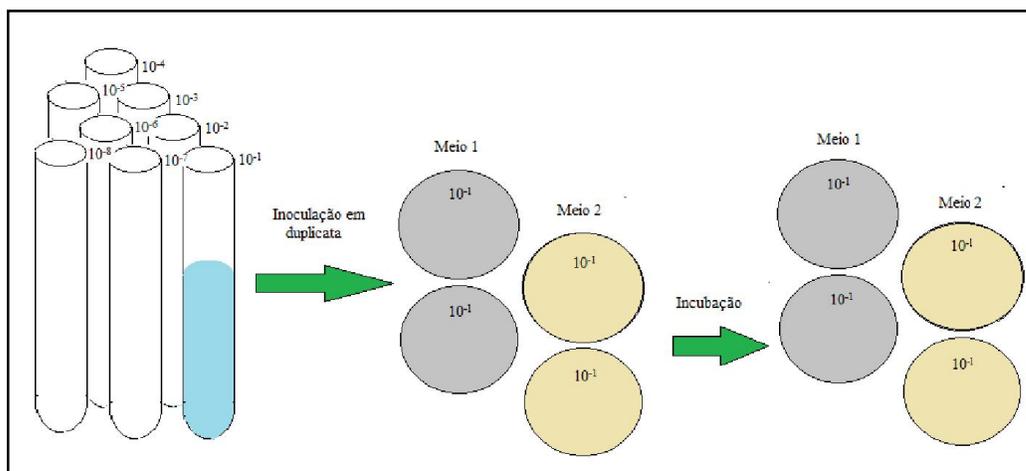
Nota: ^(a)variável monitorada apenas no filtro anaeróbio; ^(b) métodos descritos por Eaton *et al.*(2005).

O volume de biogás produzido no filtro anaeróbio foi medido diariamente em um gasômetro Ritter, modelo TG05/05 conectado a um selo hídrico. Quinzenalmente, uma amostra de biogás era coletada para testes de cromatografia gasosa.

4.7.2. Biológico

No filtro aeróbio, foram realizados ensaios microbiológicos de contagem padrão em placas (CPP) para estimar o número de células viáveis e expressar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de microrganismos. O monitoramento era realizado 48 h após cada mudança de COV, a partir da estabilização do biofilme. A técnica utilizada consistia na coleta de material biológico do tanque de aeração com auxílio de um *Swaby*, que era inoculado em solução salina 1% (cloreto de sódio) e diluído em oito diluições decimais seriadas ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$) (FIGURA 8). A técnica de inoculação foi feita pelo método *Pour-Plate* com dois meios de cultura distintos, um meio seletivo adicionado de glicerol (CM+G) e um meio não seletivo (PCA), preparados seguindo as descrições da tabela 5.

Figura 8 – Esquema do método de inoculação utilizado.



Fonte: autor

Tabela 5 – Composição dos meios de cultura utilizados para o monitoramento da taxa de crescimento bacteriológico do FAS.

Caldo mineral (CM+G)	Composição	Meio PCA	Composição
Salina	1%	Salina	1%
Glicerol	2%	Meio PCA	3%
Meio Agar	1%		
Meio mineral	3%		

Após a inoculação em placas de Petri esterilizadas, o conteúdo foi incubado a 30 °C em estufa bacteriológica, por 48 h para crescimento microbiológico e, por fim, era retirado, ordenado por diluição e as unidades formadoras de colônias eram contadas seguindo o método de CPP.

Para calcular o CPP foi utilizado o método descrito por Vieira *et al.* (2004) em que se consideram apenas as diluições decimais que atingiram crescimento celular entre 25 e 250 UFC. O resultado é expresso pela equação 5.

$$C = \left[\frac{R_1 + R_2}{2} \right] \times \frac{1}{f_d} \quad (5)$$

Onde,

C: concentração de células viáveis em UFC. mL⁻¹;

R₁ e R₂ : réplicas das placas para uma dada diluição decimal;

f_d: fator de diluição na forma de 10^x.

4.8. Tratamento dos dados

4.8.1. Critério estatístico para mudança de COV

A carga orgânica volumétrica de $1,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ foi classificada como etapa de adaptação do biofilme (E_a); a partir daí as mudanças crescentes de COV e diluição do glicerol no afluente ao FAN ocorriam cada vez que o filtro se adaptava ao regime de alimentação, ou seja, a carga do sistema só era alterada quando a eficiência no FAN estivesse estabilizada, com o menor desvio padrão entre as médias de remoção de DQO.

A COV de $2,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ foi classificada como a primeira fase de estabilização (E_e) que corresponde ao estado transiente, após a adaptação do biofilme e, para identificar o tempo de mudança de carga foram realizados testes estatísticos (*t-student*) para médias únicas de eficiência do FAN com intervalo de confiança de 95%, testando a hipótese de valores diferentes de 75% de eficiência de remoção de DQO para o filtro anaeróbio. A partir da COV de $4,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ houve a necessidade de ultrapassar o tempo de estabilização (E_e) para mudança de carga devida a problemas técnicos para análise cromatográfica do biogás. O tempo decorrido após a etapa de estabilização foi chamado de etapa de condicionamento (E_c) o que corresponde ao estado estacionário. Essa etapa poderia conferir resistência ao filtro anaeróbio à próxima elevação de carga. A partir da COV de $4,0 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ o teste de hipóteses foi reformulado com os critérios: testar a hipótese de valores de eficiência diferentes de 83% com intervalo de confiança de 95% para os valores únicos de eficiência do FAN. Esse teste foi aplicado para as COVs subsequentes.

O *Software Action* (versão 5.2) conectado à plataforma *Microsoft Excel* (versão 2007) foi usado para as análises estatísticas e confecção de gráficos, bem como da organização dados experimentais apresentados neste trabalho.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação prévia

5.1.1. Caracterização do glicerol residual

Como descrito na tabela 6, com a caracterização química do glicerol residual constatou-se que as concentrações de nutrientes (fósforo e nitrogênio) eram insignificantes, no entanto as concentrações de íons cloretos e de matéria orgânica (DQO e DBO) eram as mais elevadas. O valor médio de DQO foi de aproximadamente $1,32 \text{ kgDQO.L}^{-1}$ e, ficou entre os descritos por Viana *et al.* (2012b), ($1,21 \text{ kgDQO.L}^{-1}$) e Tada *et al.* (2013) ($1,47 \text{ kgDQO.L}^{-1}$). A relação DQO/DBO foi de aproximadamente 1,5 indicando a adequabilidade do tratamento biológico aeróbio ao glicerol residual (SPERLING, 2006), no entanto esse processo biológico pode ser comprometido em virtude da elevada concentração de cloretos.

Tabela 6 – Variáveis utilizadas para caracterização do glicerol residual.

	Variáveis ^(e)								
	DQO ^(a)	DBO ₅ ^{20(a)}	pH	NTK	NH ₃	NO ₂	NO ₃	P	Cloreto ^(b)
Média	1,329	0,813	7,11	ND	ND	ND	ND	ND	53,063
Dvp	0,040	0,059	0,28	–	–	–	–	–	2,435

Nota: ^(a) em kg.L^{-1} ; ^(ND) não detectado pelo método; ^(b) em g.L^{-1} ; ^(e) Eaton, *et al.*, (2005); Dvp desvio padrão amostral.

Os dados de caracterização revelaram que concentrações elevadas de matéria orgânica e de cloretos, assim como o déficit de nutrientes são algumas variáveis presentes na composição química do glicerol residual que podem inviabilizar, tecnicamente, a inserção desse resíduo *in natura* nos sistemas de tratamento biológico.

Viana (2011), também caracterizou o glicerol usado nesta pesquisa e justificou a elevada biodegradabilidade anaeróbia desse resíduo como consequência do baixo teor de compostos recalcitrantes; se comparado com o trabalho de Kolesárová *et al.* (2011), que teve problemas com a digestão anaeróbia desse

material em reator UASB e, não conseguiram atingir COV superiores a 2,17 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ devido aos constituintes inibidores do resíduo.

5.2. Operação dos filtros biológicos em escala laboratorial

As tabelas 7 e 8 apresentam um resumo das variáveis monitoradas durante a operação do sistema combinado, com os valores médios de concentração para cada variável durante os 308 dias de operação. As cargas orgânicas aplicadas obedeceram às especificações de projeto e foram denominadas: COV1 (1,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), COV2 (2,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), COV4 (4,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), COV6 (6,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), COV8 (8,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$) e COV10 (10,0 $\text{kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$). O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 7,46 h durante todo o tempo de operação do sistema.

Tabela 7 – Resumo dos parâmetros operacionais utilizados durante o monitoramento do sistema combinado anaeróbio-aeróbio.

Tempo ^a	COV ^b	T _{COV} ^c	Dil. ^d		DQO _{Af} ^e	DQO _{Ef1} ^f	DQO _{Ef2} ^g	E _{s1} ^h	E _{s2} ⁱ	E _t ^j
d	kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹	d	%	Etapa	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	%	%	%
0-20	1	20	0,03	E _a	252,48±88,19	65,22±38,40	8,51±7,4	74,91	83,34	96,84
21-48	2	27	0,05	E _e	556,19±118,71	167,78±91,43	26,21±22,37	68,94	78,78	94,23
49-74	4	25	0,1	E _e	1142,08±207,87	273,13±113,91	23,33±32,83	75,83	91,79	97,91
75-118	4	43	0,1	E _c	1185,62±63,57	224,98±102,42	8,80±7,61	80,86	94,49	99,26
119-133	6	14	0,15	E _e	1873,97±50,50	241,08±146,58	33,46±20,11	87,03	83,17	98,2
134-186	6	52	0,15	E _c	1770,93±146,15	141,20±45,10	13,72±14,15	92,06	88,68	99,20
187-203	8	16	0,20	E _e	2563,12±329,74	360,37±100,43	16,20±11,15	85,97	95,25	99,35
204-272	8	68	0,20	E _c	2443,03±228,84	412,98±80,06	31,74±19,87	82,97	91,84	98,70
273-284	10	11	0,25	E _e	3070,08±260,19	451,15±118,15	45,87±13,09	85,42	89,24	98,50
285-308	10	23	0,25	E _c	2950,68±203,50	363,25±103,94	42,68±6,96	87,70	87,21	98,54

Nota: ^adias; ^bcarga orgânica volumétrica; ^c tempo de permanência para cada COV; ^d diluição glicerol afluente; ^e DQO afluente ao FAN; ^f DQO efluente FAN; ^g DQO efluente FAS ; ^h eficiência do FAN; ⁱ eficiência do FAS; ^j eficiência do total do sistema;

Tabela 8 – Resumo dos parâmetros operacionais utilizados durante o monitoramento do sistema combinado anaeróbio-aeróbio.

Tempo ^a	COV ^b		AT _A ^c	AT _E ^d	AT _{s1} ^e	AGV _{s1} ^f	pH ₁ ^g	pH ₂ ^h	pH ₃ ⁱ	Bio ^j	%CH ₄ ^k
		Etapa									
d	kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹		mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mgCaCO ₃ .L ⁻¹				L.biogas/g DQO _{rem}	%
0-20	1	E _a	193,7	160,6	178,3	37,1	7,4	7,3	8,2	0,10	
21-48	2	E _e	366,4	298,1	371,5	66,07	7,5	7,6	8,6	0,51	–
49-74	4	E _e	629,5	508,4	604,3	215,8	8,0	7,2	8,4	2,43	86,08
75-118	4	E _c	682,3	539,1	666,9	175,5	7,9	7,3	8,6	2,63	86,83
119-133	6	E _e	987,1	683,8	962,4	212,7	8,2	7,6	8,7	5,23	–
134-186	6	E _c	910,2	661,8	1004,9	97,8	7,6	7,4	8,6	5,99	–
187-203	8	E _e	1229,9	758,6	1268,6	291,5	8,0	7,6	8,4	6,67	57,62
204-272	8	E _c	1126,2	1056,3	1271,5	314,9	8,0	7,5	10,1	7,24	63,09
273-284	10	E _e	1718,7	1443,9	1492,1	239,1	8,2	7,7	8,6	10,95	66,0
285-308	10	E _c	1644,6	1452,4	1651,6	263,5	8,2	7,6	8,8	10,98	63,61

Nota: ^a dias; ^b carga orgânica volumétrica; ^c alcalinidade total afluente; ^d alcalinidade total efluente FAN; ^e alcalinidade total efluente FAS; ^f alcalinidade a ácidos graxos voláteis; ^g pH afluente; ^h pH efluente FAN; ⁱ pH efluente FAS; ^j produção de biogás; ^k composição de metano no biogás.

A temperatura média do líquido, nos dois filtros biológicos foi de aproximadamente 31°C, na faixa da condição mesófila, o que favorece os processos metabólicos de catabolismo bacteriológico.

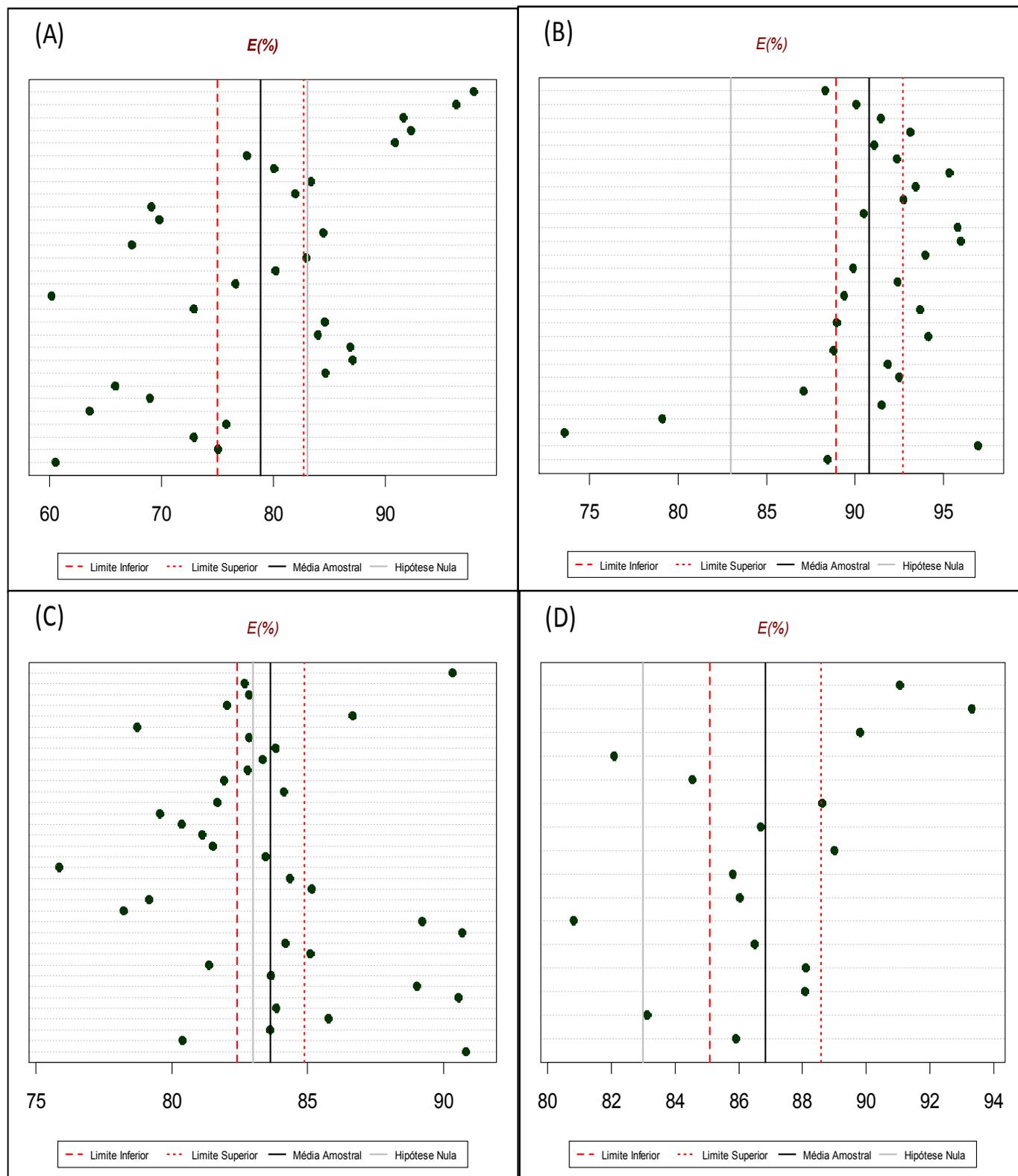
A concentração de cloretos só foi determinada a partir da COV4 e estes não foram removidos no sistema, por esse motivo a partir da COV6 as determinações dessa variável foram realizadas quinzenalmente. Foi possível avaliar, também, que a água da torneira utilizada na diluição do glicerol contribuiu para o acréscimo de cloretos no afluente, mas não comprometeu os processos digestivos até a carga máxima de final de projeto em que as concentrações de cloretos no afluente foram de aproximadamente 150 mg.L⁻¹.

Durante os primeiros 20 d, o sistema combinado anaeróbio-aeróbio foi operado com COV baixa (1,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹), para evitar perturbações na formação do biofilme. Em seguida, depois da quase estabilização da taxa de remoção de matéria orgânica (75% a 80%), a COV foi aumentada progressivamente. O desempenho elevado de adaptação do biofilme ao glicerol residual foi atribuído à biomassa inoculada, que já estava adaptada ao substrato.

De acordo com os testes estatísticos, *t-Student*, aplicados foi possível identificar que o período de estabilização (E_s) para COV2 durou 27 dias, a partir daí a COV foi aumentada para 4,0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Entretanto, a partir da COV4 houve a necessidade de ultrapassar o tempo de estabilização para elevar a carga, pois ocorreram problemas técnicos com os testes cromatográficos do biogás. O tempo decorrido após a etapa de estabilização foi chamado de etapa de condicionamento (E_c) ou estado estacionário. O teste *t-student* de médias únicas, modificado, foi aplicado a todas as cargas orgânicas a partir da COV2.

A figura 9 apresenta os resultados do teste estatístico *t-student* utilizado para identificar as etapas de estabilização (E_s) e condicionamento (E_c) para as COV4, COV6, COV8 e COV10.

Figura 09 - Porcentagens de eficiência de tratamento para as cargas COV4(A); COV6(B); COV8(C) e COV10 (D).



Observou-se maior dispersão das eficiências na COV4 (FIGURA 09 A) e maior período de tempo para atingir a estabilização. No entanto o longo período de condicionamento (43 d) beneficiou a próxima elevação de carga, pois o sistema não sofreu choque de carga ao mudar para a COV6 (FIGURA 09 B) para a qual foi observada a menor dispersão entre as médias de remoção de DQO e o menor tempo de estabilização, com eficiência média superior a 87%, acima da hipótese testada (83%).

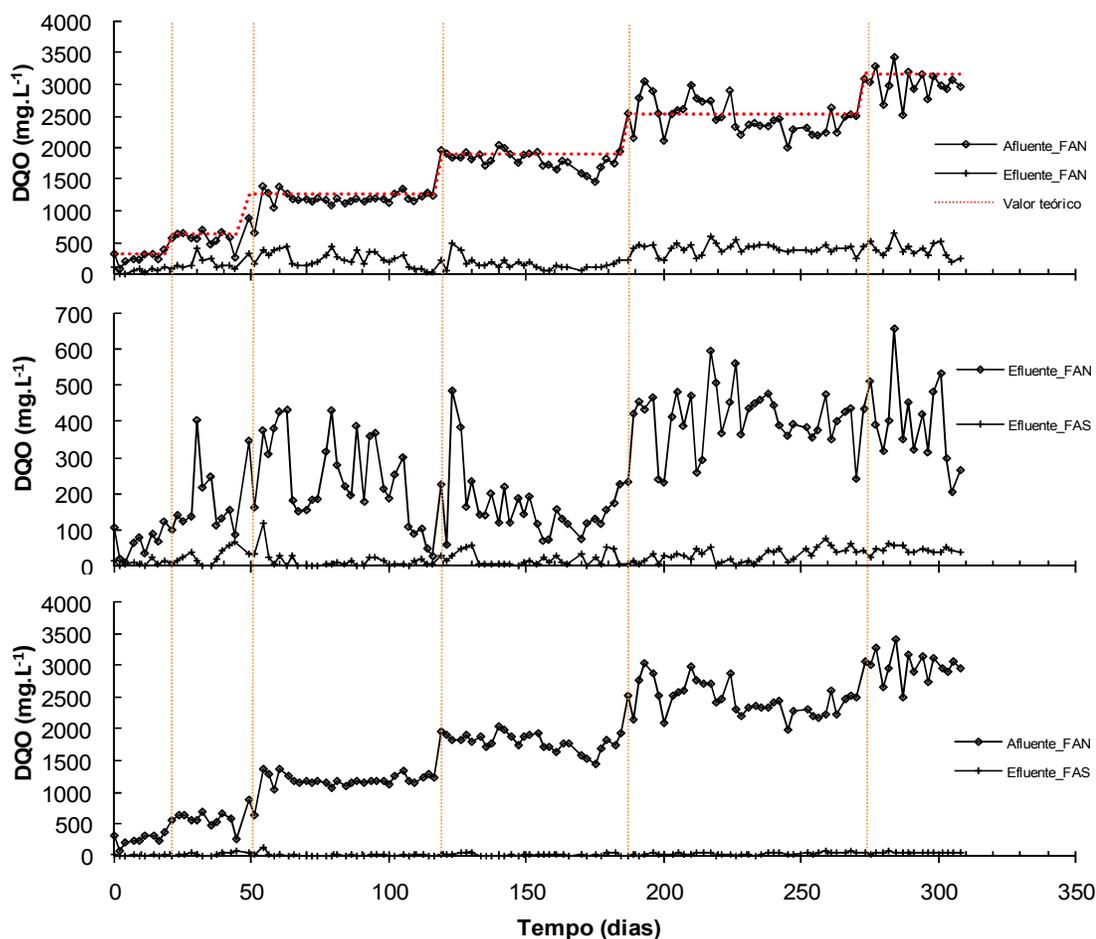
Comportamento similar foi observado para as COV8 (FIGURA 09 C) e COV10 (FIGURA 09 D), ou seja, após o acréscimo de carga o sistema anaeróbio não sofreu efeitos de sobrecarga com remoção de DQO acima de 83% e curto período de tempo para atingir o estado transiente (TABELA 7).

5.3. Remoção de matéria orgânica

A concentração de matéria orgânica afluyente na forma de DQO era controlada pelo cálculo da carga orgânica volumétrica (COV), ou seja, era adicionado um volume de glicerol afluyente necessário para manter uma concentração de DQO ideal de acordo com a COV dimensionada.

A figura 11 representa a eficiência individual dos filtros e a eficiência total do sistema combinado, ambos seccionados de acordo com a carga orgânica volumétrica durante os 308 dias de operação.

Figura 11–Remoção de matéria orgânica no sistema combinado.



Até o 47º dia de operação a eficiência do sistema anaeróbio foi mediana (70 a 75%), passando posteriormente para mais de 80%. Esse comportamento pode ser explicado pela fase de adaptação da biomassa, correspondente à COV1 e COV2. Esse comportamento foi observado, também no FAS, que operava com taxas de remoção mais elevadas, entretanto se comportava proporcionalmente ao FAN; esse fenômeno foi observado na COV2, em que, tanto os filtros individuais quanto o sistema combinado apresentaram as menores eficiências.

A partir do 119º dia de operação, tempo correspondente ao início da COV6, foram registradas as maiores remoções de matéria orgânica do sistema combinado (acima de 98%), maior taxa de produção de biogás por DQO removida (acima de $0,330 \text{ L} \cdot (\text{gDQOrem})^{-1}$) no FAN e melhores condições de controle do pH e da alcalinidade; consequência do longo período de condicionamento ocorrido na COV4.

O TDH de 7,46 h foi mantido até a COV10 sem que houvesse problemas de sobrecarga. Viana (2011), utilizando o mesmo substrato (glicerol residual) em sistema anaeróbio de manta de lodo (UASB) não conseguiu atingir COV de 10 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ com TDH de 7 a 8 h, no entanto o pesquisador conseguiu minimizar a quantidade de água necessária para o tratamento de glicerol residual e atingiu uma diluição de até 20% para o conteúdo glicerol afluente, conseqüentemente, para evitar sobrecarga foi necessário aplicar TDH mais elevado.

A remoção de DQO foi quase que completa no FAS, o que manteve o sistema combinado com eficiência global média acima de 98%. Isso revela a adequabilidade desse sistema para remoção de matéria orgânica do glicerol. No entanto, para que essa eficiência fosse mantida, o glicerol foi muito diluído o que compromete a viabilidade econômica e ambiental do tratamento, uma vez que volumes elevados de água são necessários. Por outro lado os danos ambientais podem ser contornados se o efluente tratado puder ser reusado. Pelas características de baixa concentração de DQO efluente esse recurso hídrico poderia ser utilizado em projetos de hidroponia, irrigação de canteiros centrais de vias pública, rega de jardim e outros.

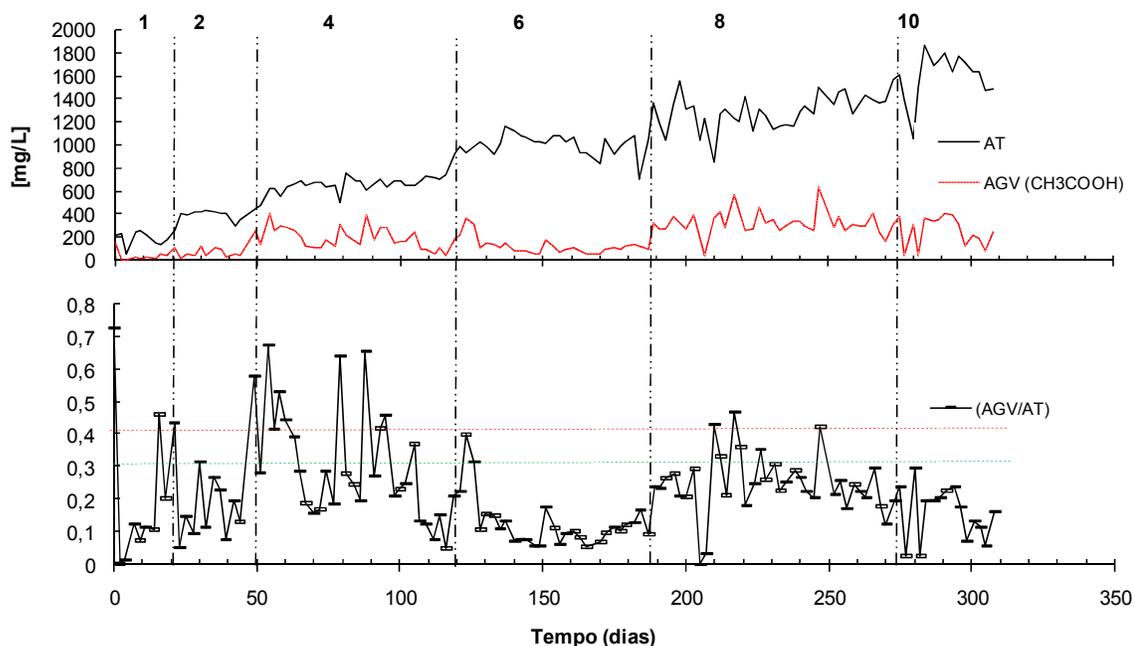
5.4. Alcalinidade e pH

Para que o processo anaeróbio ocorra de forma satisfatória a relação entre as concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV) e alcalinidade total (AT) deve ser menor que 0,3 (RIPLEY *et al.*, 1986), entretanto Ferrer; Vázquez; Font, (2010) demonstraram que esse valor pode chegar a 0,5 para condições termófilas enquanto que Astals *et al.* (2012) recomendam uma relação de 0,4 para condições mesófilas.

O glicerol residual é um álcool e, segundo Sperling (2006) o produto final da digestão de composto orgânico dessa natureza não é um cátion, logo não produz alcalinidade suficiente para condicionar as atividades biológicas no filtro anaeróbio assim, para que o pH seja mantido nas condições ideais de 6,8 a 7,5 (CHERNICHARO, 2006) é necessário a adição de uma fonte externa de alcalinidade. Kolesárová *et al.* (2011) recomenda a adição de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) como fonte de alcalinidade para o tratamento anaeróbio de glicerol.

A figura 12 apresenta as variações de ácidos graxos voláteis (AGV) e alcalinidade total (AT) bem como a relação AGV/AT no FAN, de acordo com as variações de carga orgânica volumétrica (COV).

Figura 12 – Relação AGV e AT no efluente do FAN por COV de projeto.



Por conseguinte, a relação AGV/AT abaixo de 0,4, preferencialmente abaixo de 0,3 foi considerada como etapa de estabilidade ideal do processo de digestão anaeróbia. Ambos os índices são baseados no mesmo conceito: se a concentração dos ácidos produzidos no FAN excede a capacidade tampão do bicarbonato, o digestor vai acidificar ($\text{pH} < 6,5$) inibindo a atividade de microrganismos e, especialmente, afetando metanogênese (ASTAL *et al.*, 2012).

Na etapa de adaptação referente à COV1, a produção de ácidos avaliada pela concentração de AGV foi inconstante e isso afetou a remoção de matéria orgânica e a produção de biogás. O aumento da concentração de glicerol afluente, adicionado na COV2, teve efeito claro sobre a relação AGV/AT, no entanto, o sistema foi estabilizado em curto período de tempo. Esse efeito foi ainda mais claro no período de estabilização da COV4, quando a relação alcançou valores acima de 0,6, o que excedeu o valor crítico de 0,4 e afetou negativamente a remoção de

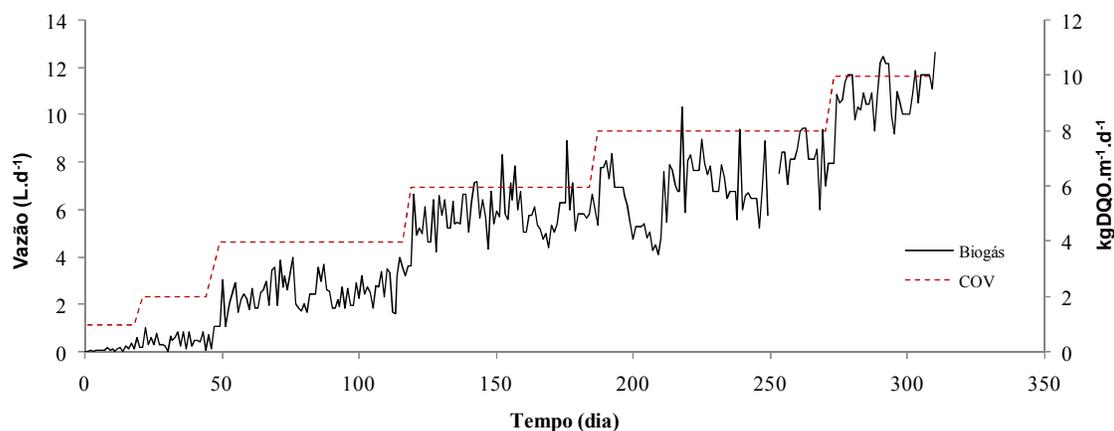
matéria orgânica e a produção de biogás. Efeitos satisfatórios foram obtidos na COV6 quando essa relação estava abaixo de 0,2 e as variáveis dependentes (remoção de DQO e produção de biogás) tiveram efeitos positivos (TABELA 7 e TABELA 8)

Na maioria dos dias de operação do sistema combinado anaeróbio-aeróbio, o valor de pH do efluente final foi ligeiramente superior ao valor de pH da alimentação com médias de 8,1 para o afluente, 7,4 para o FAN e 8,9 para o FAS. No FAN, as condições bioquímicas exigidas pela digestão anaeróbia faziam com que o pH decaísse; fenômeno proveniente do metabolismo celular das bactérias acidogênicas e acetogênicas na produção de ácidos orgânicos.

5.5. Produção de biogás

Na figura 13 está apresentada a produção de biogás por carga orgânica volumétrica adicionada ao longo da pesquisa.

Figura 13 – Produção de biogás ao longo da pesquisa



A tabela 10 representa um resumo do potencial de produção de biogás (PPB) e o potencial de produção de metano (PPM) por carga orgânica inserida ao longo da pesquisa.

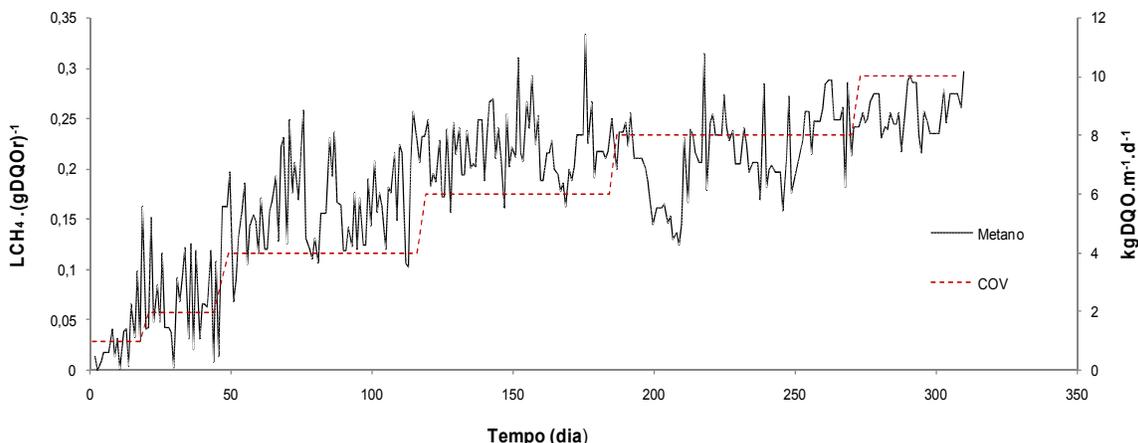
Tabela 10 – Produção de biogás e metano no FAN.

	Carga orgânica volumétrica ^(d)					
	COV1	COV2	COV4	COV6	COV8	COV10
PPB ^(a)	0,043	0,118	0,254	0,339	0,331	0,394
PPM ^(b)			0,220		0,208	0,250
%CH ₄ ^(c)	–	–	86,83	–	63,09	63,61

Nota: ^(a) em L.Biogás.(gDQO_{rem})⁻¹; ^(b) L.CH₄.(gDQO_{rem}); ^(c) em %; ^(d) em kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

O elevado valor de PPM na COV4 pode ser justificado em decorrência do teste cromatográfico realizado no final da etapa de condicionamento, ou seja, etapa em que o sistema removia 90% de DQO, com maior produção de biogás e de metano.

Figura 14 – Potencial de produção de metano ao longo da pesquisa



A produção de metano é definida como a quantidade de metano produzido por uma dada quantidade de matéria orgânica removida (DQO_{rem}), resultante da atividade microbiana anaeróbia (BERNET *et al.*, 2002). A partir da COV6 os valores do PPM ficaram entre 0,210 a 0,290 L.CH₄.(gDQO_{rem})⁻¹. Viana, (2011) utilizando o mesmo substrato atingiu valores superiores, em torno de 0,300 L. CH₄.(gDQO_{rem})⁻¹.

Em termos operacionais com a eficiência média da digestão anaeróbia de 83% e aproximadamente 65% de metano no biogás, a maioria da DQO removida no FAN foi convertida em metano e o metabolismo microbiano foi orientado, principalmente para a geração de gás.

O deslocamento do biogás no interior do FAN gerou caminhos preferenciais e, a partir da COV8, com a maior produção de biogás, o material suporte foi deslocado verticalmente ocasionando a movimentação dos discos separadores e do meio suporte, para o topo do reator outro fenômeno que pode explicar a perda de material suporte decorre do crescimento celular que comatou o reator. Contudo, não foram observados problemas operacionais quanto a esse fenômeno.

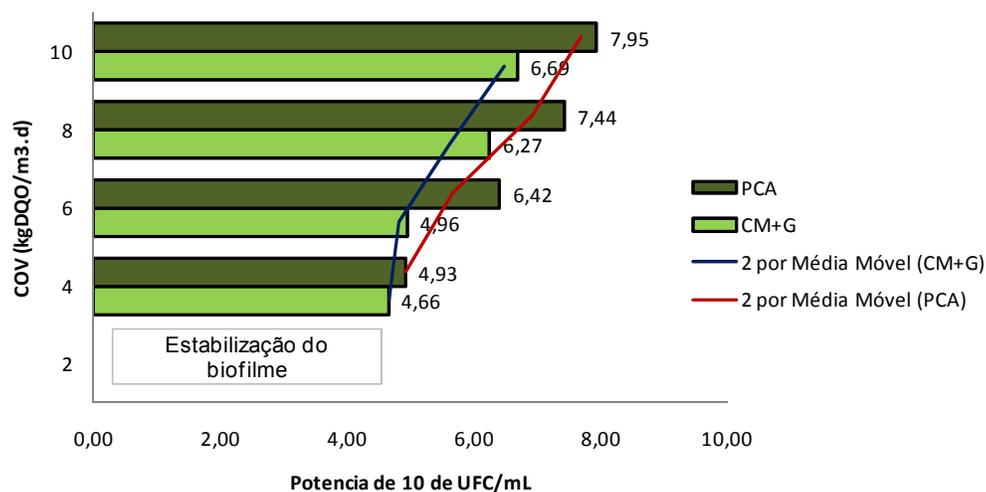
5.6. Biomassa

A alta taxa de matéria orgânica adicionada no sistema fez com que a produção de biomassa em ambos os filtros fosse elevada, principalmente no FAS. O formato trifásico do FAN possibilitava o acúmulo de biomassa excedente dentro do próprio sistema, que era retirada por extravasamento vertical (torneiras) ou por sifonamento. No FAS o lodo excedente sedimentava no decantador secundário acoplado ao tanque de aeração e removido manualmente.

5.6.1. Unidade formadora de colônias (UFC)

A Figura 15 apresenta os resultados dos testes de CPP em UFC para os dois meios para cada acréscimo de COV.

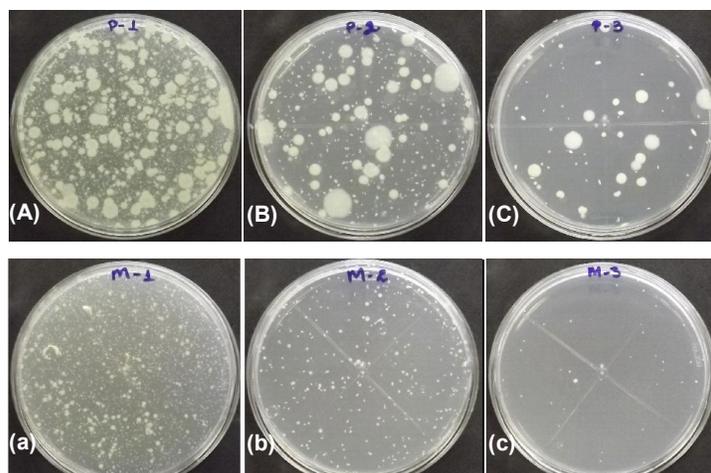
Figura 15 – Crescimento celular para os dois meios utilizados



O número de organismos foi crescente em ambos os meios, distinguindo-se em concentrações devido às características de seletividade de cada um deles. Ou seja, em todas as etapas o meio não seletivo (PCA) apresentou maior número de células viáveis se comparado ao meio seletivo adicionado de glicerol (CM+G).

O número elevado de células viáveis no FAS a cada mudança de COV mostra a adaptação da biomassa ao substrato (glicerol residual) à medida que ele é acrescido. Na figura 16 estão apresentados os atributos morfológicos de crescimento celular para cada meio nas três primeiras diluições decimais.

Figura 16 – Crescimento celular para os dois meios utilizados.



Nota: (A), (B) e (C) crescimento no meio PCA nas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , respectivamente;
(a), (b) e (c) crescimento no meio CM+G nas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , respectivamente

Devido às características de crescimento celular e taxa de digestão de DQO no tanque de aeração, elevados, as descargas de lodo retido no decantador foram mais frequentes, a partir do início da COV8.

6. CONCLUSÕES

As conclusões obtidas a partir deste trabalho foram:

- A digestão de glicerol residual proveniente da produção biodiesel em sistemas combinados anaeróbio-aeróbio é uma alternativa eficiente para o tratamento desse resíduo.
- O filtro anaeróbio foi eficiente na remoção de matéria orgânica do glicerol com taxa de remoção de DQO em torno de 83%.
- A produção de metano no FAN teve mediana produção de metano ($0,220 \text{ L.CH}_4 \cdot (\text{gDQO}_{\text{rem}}^{-1})$).
- O filtro aeróbio se comportou como sistema de pós-tratamento ou como uma unidade de polimento que possibilitou a remoção de 98% da DQO do glicerol.
- A taxa de crescimento celular no FAS aumentou proporcionalmente ao acréscimo de substrato, mostrando a robustez do sistema.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com Base nesta pesquisa e visando a otimização de projetos futuros na mesma concepção científica, sugere-se:

- Manter a forma do filtro anaeróbio e diminuir a quantidade de meio suporte;
- Testar a reciclagem de nutrientes e de alcalinidade com a recirculação;
- Avaliar possíveis fontes de alcalinidade que possam diminuir custos econômicos quanto à utilização de bicarbonato;
- Testar o sistema em escala piloto e dimensionar para condições mais próximas das reais;
- Identificar a biota do filtro aeróbio ao final do projeto e com isso avaliar que espécie foi mais restritiva.
- Dimensionar a oxigenação ideal para o filtro aeróbio para diminuir gastos;
- Testar técnicas de reuso para o efluente tratado, como hidroponia, irrigação de canteiros centrais em vias públicas, dentre outras.
- Diminuir a diluição afluente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, A. Z.; AYOUB, M. Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 2671-2686, jun. 2012.

AISSE, M. M.; ALEM SOBRINHO, P. Avaliação do sistema reator uasb e filtro biológico aerado submerso para o tratamento de esgoto sanitário. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21, 2001, João Pessoa. **Anais**. Rio de Janeiro: ABES, 2001 p. 131–140, 2001.

AMON *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.

ANDRADE NETO, C. O.; HAANDEL, A. V.; MELO, H. N. O uso de filtros aneróbios para pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios no Brasil. In: X SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2002, Braga, Portugal. **Anais do X Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Braga: APESB/APRH/ABES, 2002. CD-ROM. Braga, 2002.

ARAÚJO JUNIOR, Moacir Messias de. **Reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo remoção de matéria orgânica e nitrogênio de água residuária de indústria produtora de lisina**. 2006. Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil: Área Hidráulica e Saneamento. 2006.

AROUA *et al.* The effects of water on biodiesel production and refining technologies: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3456–3470, 2012.

ASTALS, S.; NOLLA-ARDÈVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. **Bioresource technology**, v. 110, p. 63–70, 2012.

ATHANASOULIA, E.; MELIDIS, P.; AIVASIDIS, A. Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol from biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 62, p. 73–78, 2014.

AMIN, N. A. S.; TALEBIAN-KIAKALAEH, A.; MAZAHARI, H. A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil. **Applied Energy**, v. 104, p. 683-710, abr. 2013.

BEATRIZ, A. ARAÚJO, Y. J. K. LIMA, P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306–319, 2011.

BERNARDES, Ricardo Silveira. **Fundamentos da respirometria no controle da poluição da água e do solo**. Ed. da UnB: Finatec, 2005.

BERNET, M. *et al.* Methane yield as a monitoring parameter for the start-up of anaerobic fixed film reactors. **Water research**, v. 36, n. 5, p. 1385–91, 2002.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Portaria Ministerial nº 702, de 30 de outubro de 2002. Institui o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel – PROBIODIESEL, com o intuito de promover o desenvolvimento científico e tecnológico de biodiesel, a partir de ésteres de óleos vegetais puros e/ou residuais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 06/11/2002, s.1,p.23.2002.

BRASIL. Lei nº. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 14/01/2005, n.10, s.1, p.8.2005.

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

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

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

BUCHANAN, LAN D.; RAZAVIARANI, V.; MALIK, S.; KATALAMBUKA, H. Pilot scale anaerobic co-digestion of municipal wastewater sludge with biodiesel waste glycerin. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 206–212, 2013.

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

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lima. **Reatores anaeróbios**. 2. Ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia sanitária e Ambiental- UFMG, 1997.

CRAB, R.; CHIELENS, B.; WILLE, M.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii postlarvae*. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 559-567, mar. 2010.

DEMIRBAŞ, A. Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: a survey. **Energy Conversion and Management**, v. 44, n. 13, p. 2093–2109, 2003.

DEMIRBAS, A. Relationships derived from physical properties of vegetable oil and biodiesel fuels. **Fuel**, v. 87, n. 8-9, p. 1743–1748, 2008(a).

DEMIRBAS, A. Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils and fats. **Energy Conversion and Management**, v. 49, n. 1, p. 125–130, 2008 (b).

DUBÉ, M. A.; TREMBLAY, A. Y.; LIU, J. Biodiesel production using a membrane reactor. **Bioresource technology**, v. 98, n. 3, p. 639–47, 2007.

EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; RICE, E.W.; GREENBERG, A.B. (Ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, 2005. 1368p

FEIJOO, *et al.* Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: Antagonism and adaptation phenomena. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, n. 2, p. 180–188, 1995.

FERRER, I.; VÁZQUEZ, F.; FONT, X. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 9, p. 2972–80, 2010.

FORREST, A. K.; SIERRA, R.; HOLTZAPPLE, M. T. Effect of biodiesel glycerol type and fermentor configuration on mixed-acid fermentations. **Bioresource technology**, v. 101, n. 23, p. 9185–9, 2010.

HUTŇAN, M *et al.* Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production, **36th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Tatranské Matliare**, Slovakia, 2009.

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

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. Rio de Janeiro: Segrac, 4ª edição, 2005

- KARHADKAR *et al.* Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. **Water Research**, v. 21, n. 9, p. 1061–1066, 1987.
- KARINEN, R. S.; KRAUSE, A. O. I. New biocomponents from glycerol. **Applied Catalysis**, v. 306, p. 128-133, 2006.
- KOLESÁROVÁ *et al.* Anaerobic treatment of biodiesel by-products in a pilot scale reactor. **Chemical Papers**, v. 65, n. 4, p. 447–453, 2011.
- KOSTER, I. W. CRAMER, A. Inhibition of Methanogenesis from Acetate in Granular Sludge by Long-Chain Fatty Acids Inhibition of Methanogenesis from Acetate in Granular Sludge by Long-Chain Fatty Acids. **Applier and Enviromental Microbiology**, v. 53, n. 2, 1987.
- LEONETI, A. B.; LEONETI, V. A.; OLIVEIRA, S. V. W. B. Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil : Alternatives for the use of unrefined glycerol. **Renewable Energy**, v. 45, p. 138-145, 2012.
- LETTINGA, G. HULSHOF POL, L. W. ZEEMAN, G. Biological wastewater treatment. Part I: Anaerobic wastewater treatment. **Lectures notes. Wageningen, The Netherlands**: Wageningen University, 1999.
- LEUNG, D. Y. C; WU, X; LEUNG, M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, n. 4, p. 1083–1095, 2010.
- LOPES, Guilherme Pio dos Reis. **Avaliação de um sistema combinado filtro anaeróbio/biofiltro aerado submerso com ênfase na recirculação do efluente e na caracterização do lodo**. 2013. Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente. 2013
- LÓPEZ, J. A. S *et al.* Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5609-5615, 2009.
- MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production : a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1–15, 1999.
- MCCARTY, P. L. **Anaerobic Waste Treatment Fundamentals**. 1964.
- PACHAURI, N.; HE, B. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities. In: ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 2006. Oregon. **Anais**. Oregon: American Society of Agricultural and Biological Engineers. P.1- 16, 2006.
- PALATSI, J *et al.* Modelling inhibitory effects of long chain fatty acids in the anaerobic digestion process. **Water research**, v. 47, n. 3, p. 1369–80, 2013.

VESTRAETE, W. *et al.* The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, jun. 2008.

VIEIRA, R. H. S. F *at al.* Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. São Paulo: Varela, 2004.

RÉTFALVI, T *et al.* Laboratory scale examination of the effects of overloading on the anaerobic digestion by glycerol. **Bioresource technology**, v. 102, n. 8, p. 5270-5, 2011.

REUNGSANG, A.; SITTIJUNDA, S. Biohydrogen production from waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures. **Hydrogen Energy**, v. 7, p. 1-8, 2012.

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

SILES, J. A *et al.* Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource technology**, v. 101, n. 16, p. 6315-21, 2010.

SILVA JUNIOR, Francisco das Chagas Gomes da. **Sistema combinado anaeróbio-aeróbio para remoção de nitrogênio e DQO de efluente petroquímico**. 2011. Dissertação apresentada à Escola de engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em ciências. 2011.

STAFFORD, D. A. The effects of mixing and volatile fatty acid concentrations on anaerobic digester performance. **Biomass**, v. 2, n. 1, p. 43-55, 1982.

TADA, C. *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.

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.

VERSTRAETE, W. *et al.* The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 125-137, 2008.

VIANA, Michael Barbosa. **Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. Dissertação apresentada à Escola de engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em ciências. 2011.

VIANA, M. B *et al.* Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. **Environmental Technology Reviews**, v. 1, n. 1, p. 81-92, 2012a.

VIANA, M. B *et al.* Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. **Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 66, n. 10, p. 2217–22, 2012b.

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

VISSER, A. The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. Landbou universiteit Wageningen, 1995.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos de tratamento de esgoto**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG, 2006.

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

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