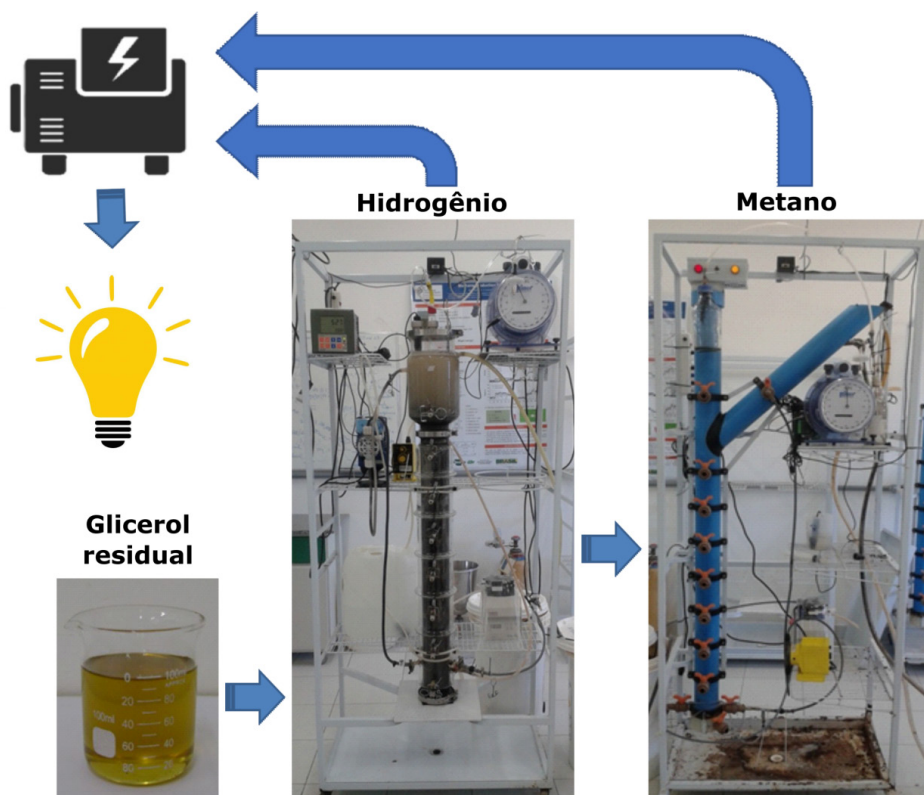


Produção de Hidrogênio e Metano a Partir de Glicerol Oriundo de Biodiesel



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
180**

**Produção de Hidrogênio e Metano a
Partir de Glicerol Oriundo de Biodiesel**

Renato Carrhá Leitão
Eduardo Augusto Felipe de Vasconcelos
Michael Barbosa Viana
Maria do Socorro Vale
Quezia Maia Viana
Rosemeri Ines Dams Medero
Gleycielle Cavalcante Pinheiro
Isabele Baima Ferreira Freitas
Leonardo Pestana Dantas
Vanja Fontenele Nunes
Sandra Tédde Santaella

***Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2018***

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente
Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
*Marlos Alves Bezerra, Ana Cristina Portugal
Pinto de Carvalho, Deborah dos Santos Garruti,
Dheyne Silva Melo, Ana Iraidy Santa Brigida,
Eliana Sousa Ximendes*

Supervisão editorial
Ana Elisa Galvão Sidrim

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Arilo Nobre de Oliveira

Fotos da capa
Renato Carrhá Leitão

1ª edição
On-line (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Produção de hidrogênio e metano a partir de glicerol oriundo de biodiesel / Renato Carrhá
Leitão... [et al.]. -- Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2018.

41 p. : il. ; 16 cm x 22 cm – Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa
Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 180).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. Digestão anaeróbica. 2. Glicerina. 3. Energia renovável. 4. Biogás. 5. Biocombustível.
I. Leitão, Renato Carrhá. II. Vasconcelos, Eduardo Augusto Felipe de. III. Viana, Michael
Barbosa. IV. Vale, Maria do Socorro. V. Viana, Quezia Maia. VI. Medero, Rosemeri Ines
Dams. VII. Pinheiro, Gleycielle Cavalcante. VIII. Freitas, Isabele Baima Ferreira. IX. Dantas,
Leonardo Pestana. X. Nunes, Vanja Fontenele. XI. Santaella, Sandra Tédde. XII. Série.

CDD 628.354

© Embrapa, 2018

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Substrato	9
Teste de atividade metanogênica específica e potencial de produção de metano	10
Teste de atividade hidrogenogênica.....	11
Reatores UASB em escala de laboratório.....	13
Sistema de automatização do reator metanogênico	16
Análise Econômica.....	17
Resultados e Discussão	17
Potencial de produção de metano.....	17
Rendimento em hidrogênio e potencial de produção de hidrogênio..	18
Operação do reator UASB hidrogenogênico.....	24
Operação do reator UASB metanogênico.....	28
Automatização do reator UASB metanogênico.....	31
Produção de energia	33
Conclusões.....	33
Referências	34

Produção de Hidrogênio e Metano a Partir de Glicerol Oriundo de Biodiesel

Renato Carrhá Leitão¹

Eduardo Augusto Felipe de Vasconcelos²

Michael Barbosa Viana³

Maria do Socorro Vale⁴

Quezia Maia Viana⁵

Rosemeri Ines Dams Medero⁶

Gleycielle Cavalcante Pinheiro⁷

Isabele Baima Ferreira Freitas⁸

Leonardo Pestana Dantas⁹

Vanja Fontenele Nunes¹⁰

Sandra Tédde Santaella¹¹

Resumo - O glicerol oriundo da produção de biodiesel é uma fonte renovável de carbono para produzir energia via digestão anaeróbia. O objetivo deste trabalho foi maximizar a geração de energia por meio da produção de hidrogênio e metano a partir de glicerol residual proveniente da indústria de biodiesel. Utilizaram-se dois reatores UASB, em escala de laboratório, sendo um hidrogenogênico e outro metanogênico. Atingiu-se a produtividade de 57 L H₂/kg de glicerol e 303 L CH₄/kg, mostrando a viabilidade técnica de se utilizar glicerol para gerar metano e hidrogênio em um sistema

¹ Engenheiro civil, doutor em Ciências Ambientais, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

² Licenciado em Ciências Biológicas, UECE, Doutorando em Ecologia e Recursos Naturais, UFC

³ Tecnólogo em Gestão Ambiental, doutorando em Engenharia Civil/ Saneamento Ambiental, UFC

⁴ Química Industrial, doutora em Engenharia Civil (UFC), bolsista de PNP, CAPES/FUNCAP

⁵ Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais – UFC / Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental – IFCE

⁶ Farmacêutica-Bioquímica, doutora em Microbiologia Ambiental (PhD), bolsista DCR, CNPq/Funcap

⁷ Tecnóloga em Gestão Ambiental, Mestranda de Tecnologia em Gestão Ambiental - IFCE Campus Fortaleza, bolsista Funcap

⁸ Graduanda em Ciências Ambientais pela Universidade Federal do Ceará, bolsista PIBIC/CNPq

⁹ Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará

¹⁰ Engenheira Química - Universidade Federal do Ceará

¹¹ Química, doutora em Hidráulica e Saneamento, professora associada da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza

composto por um reator hidrogenogênico seguido de um metanogênico. O reator hidrogenogênico converteu 12% da matéria orgânica, produzindo aproximadamente 15 L de biogás por dia (80% H_2). O reator metanogênico converteu 85% da matéria orgânica derivada do reator hidrogenogênico, produzindo 111 L de biogás por dia (86% CH_4). Estima-se que um sistema de reatores UASB, sendo um hidrogenogênico de 390 m³ e outro metanogênico de 1500 m³, instalados em uma usina de biodiesel que gera 25 t de glicerol por dia, pode produzir cerca de 336 m³ de hidrogênio e 8.698 m³ de metano por dia, gerando cerca de 3,7 MW.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia; glicerina; energia renovável; biogás; biocombustível.

Hydrogen and Methane Production from Biodiesel-derived Glycerol

Abstract - Glycerol from biodiesel production is a renewable source of carbon to produce energy via anaerobic digestion. The objective of this work was to maximize energy generation via production of hydrogen and methane from residual glycerol from the biodiesel industry. Two lab-scale UASB reactors were used, being one hydrogenogenic and another methanogenic. Productivity of 57 L H₂/kg of glycerol and 303 L CH₄/kg of glycerol was achieved, showing the technical feasibility of using glycerol to generate methane and hydrogen in a system composed of a hydrogenogenic reactor followed by a methanogenic reactor. The hydrogenogenic reactor converted 12% of the organic matter, producing approximately 15 L of biogas per day (80% H₂). The methanogenic reactor converted 85% of the organic matter derived from the hydrogenogenic reactor, producing 111 L of biogas per day (86% CH₄). It is estimated that a system of UASB reactors, being a hydrogenogenic with volume of 390 m³ and a methanogenic with volume of 1500 m³, installed in a biodiesel plant that generates 25 t of glycerol per day, can produce about 336 m³ of hydrogen and 8,698 m³ of methane, generating around 3.7 MW.

Index terms: Anaerobic digestion; glycerine; renewable energy; biogas; biofuels.

Introdução

O Brasil vem incorporando o biodiesel na matriz energética nacional por meio do Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (Probiobiodiesel), criado pelo Ministério da Ciência e Tecnologia por meio da Portaria 702, em outubro de 2002 (Brasil, 2002), e da Medida Provisória 214, de 13 de setembro de 2004, convertida na Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 (Brasil, 2005). O Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) estabeleceu que, a partir de 2008, o óleo diesel seria comercializado com a adição de 3% de biodiesel em sua composição, passando para 5% depois de 2013 (Brasil, 2008). No entanto, desde julho de 2008, o percentual mínimo obrigatório de biodiesel adicionado ao óleo diesel passou a ser de 4% (Brasil, 2009a), aumentando para 5% a partir do início de 2010 (Brasil, 2009b) e para 7% a partir de setembro de 2014 (Brasil, 2014). A Lei nº 13.263, de março de 2016, estabeleceu que este percentual deve ser aumentado para 8% em até doze meses após a data de promulgação desta Lei, 9% em até vinte e quatro meses após a data de promulgação desta Lei e em 10% em até trinta e seis meses após a data de promulgação desta Lei (Brasil, 2016). No entanto, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) decidiu antecipar o aumento do percentual para 10% já a partir de março de 2018 (Agência Nacional do Petróleo, 2018).

Com o aumento da produção de biodiesel para atender à legislação, ocorrerá um aumento da geração de glicerol (Rathmann et al., 2012), um resíduo originado do processo de transesterificação dos óleos vegetais e animais para produção deste combustível. Para cada quilograma de biodiesel, gera-se 0,1 kg de glicerol (Yazdani; Gonzalez, 2007). Com isso, estima-se que no ano de 2017 foram geradas nas usinas brasileiras de biodiesel 429.000 L de glicerol (Brasil, 2018), muito maior do que a quantidade que as indústrias químicas consomem no país (Mota et al., 2009); o excedente é exportado principalmente para a China. Atualmente, o glicerol proveniente da geração de biodiesel é aproveitado na indústria química. No entanto, a oferta desta substância está se tornando bem maior do que a demanda (Siles López et al., 2009) e, portanto, torna-se necessário encontrar usos alternativos para o glicerol residual a fim de manter a sustentabilidade econômica e ambiental da produção de biodiesel.

A partir de 1989, o glicerol residual tem sido usado como substrato orgânico para síntese biológica de outros produtos, como: 1,3-propanediol (Barbirato et al., 1998; Biebl et al., 1998; Papanikolaou et al., 2008; Zhang et al., 2007); formiato e etanol (Jarvis et al., 1997); ácido propiônico (Barbirato et al., 1997; Himmi et al., 2000; Schauder; Schink, 1989; Zhang; Yang, 2009); ácido butírico e acético (Forrest et al., 2010); butanol (Biebl, 2001); dihidroxiacetona (Gätgens et al., 2007; Wethmar; Deckwer, 1999); ácido succínico (Lee et al., 2001). Além disso, o número de pesquisas em que se usa a digestão anaeróbia do glicerol tem aumentado, em especial para produção de metano visando à geração de energia (Bodík et al., 2008; Contrim, 2009; Hutňan et al., 2009; Siles López et al., 2009; Yang et al., 2008). A produção de hidrogênio a partir da digestão anaeróbia de glicerol residual, ainda sem resultados em escala industrial, pode ser uma alternativa promissora de aproveitamento deste subproduto (Ito et al., 2005). As principais vantagens operacionais do processo de geração bioquímica de hidrogênio são os baixos tempos de detenção hidráulica e alta taxa metabólica. No entanto, ocorre conversão incompleta dos compostos orgânicos, sendo necessária uma segunda etapa no processo para estabilizar a matéria orgânica remanescente no sistema (Brunstermann; Widmann, 2010).

Em pesquisa realizada por Viana (2011), a produção de metano a partir da digestão anaeróbia de glicerol residual foi bem sucedida. Um reator anaeróbio de fluxo ascendente e leito de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB) foi operado com carga orgânica volumétrica (COV) de 10 kg DQO/m³.d e converteu 74% da matéria orgânica, resultando em 0,337 m³ CH₄/kg de glicerol. Em uma usina de biodiesel que gere 25 t de glicerol por dia, este sistema pode produzir cerca de 14.300 m³ de biogás por dia, podendo gerar cerca de 3,2 MW. Porém, o balanço energético pode aumentar caso os produtos finais dessa digestão sejam hidrogênio e metano (Luo et al., 2011), já que ocorrerá maior consumo da matéria orgânica do glicerol residual. Além disso, sabe-se que o valor energético do hidrogênio (33 Wh/g ou 119.960 kJ/kg) é mais do que o dobro do valor para metano (14,2 Wh/g ou 50.016 kJ/kg) (Piela; Zelanay, 2004), aumentando o potencial energético do processo.

O objetivo deste trabalho foi maximizar a geração de energia por meio da produção de hidrogênio e metano a partir de glicerol residual proveniente da indústria de biodiesel, utilizando-se dois reatores anaeróbios em série, em escala de laboratório. Pretende-se definir os principais parâmetros

operacionais para cada reator (COV máxima, taxa de conversão de matéria orgânica, produção H_2 e CH_4). Com os resultados de parâmetros operacionais, será estimada a produção de energia obtida da digestão anaeróbia do glicerol produzido em uma usina de biodiesel.

Material e Métodos

Substrato

O glicerol residual utilizado na pesquisa foi fornecido pela usina de biodiesel da empresa Petróleo Brasileiro S.A. – Petrobrás, na unidade denominada UBQ (Usina de Biodiesel de Quixadá), localizada no município de Quixadá, Ceará. O glicerol foi produzido como subproduto durante o processo de transesterificação de óleos vegetais e animais para a fabricação de biodiesel (foram usados sebo bovino e soja como matérias-primas). Após a etapa de transesterificação, o glicerol residual foi decantado, e a fase sobrenadante foi utilizada para este trabalho. A concentração de matéria orgânica equivalente do glicerol residual foi determinada, obtendo-se um valor de 1.374 g DQO/L. As características físico-químicas do glicerol residual foram determinadas: matéria orgânica não glicerídea (MONG) 1%; pH 5,5; pureza 81,5%; cinzas 4,8%; umidade 12,71%; metanol 0,03%; teor de NaCl 5,3%; densidade 1.255,9 kg/m³. Na Figura 1 é apresentada uma foto do glicerol residual utilizado nesta pesquisa.



Foto: Renato Carrhá Leitão

Figura 1. Fotografia do glicerol residual utilizado na pesquisa.

Teste de atividade metanogênica específica e potencial de produção de metano

Os testes de atividade metanogênica específica máxima (AME) foram realizados para avaliar a inibição do metabolismo metanogênico ou eliminação das archaeas metanogênicas após os diversos pré-tratamentos: térmico (90 °C durante 10 min), choque de pH (redução de pH para 3 por 24 h, usando-se HCl 2 M) e químico (adição de clorofórmio a 0,05%).

A determinação da AME seguiu os procedimentos descritos por Soto et al. (1993). Foram utilizados frascos com volume útil de 0,2 L, preenchidos com inóculo (3 g SV/L), substrato (1,5 g DQO/L), água destilada e bicarbonato de sódio (1,0 g/L) como tampão. Adicionaram-se os nutrientes (mg/L): NH_4Cl (0,28), K_2HPO_4 (0,25), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,10), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01) e CaCO_3 (0,60). Também foi adicionado 1 mL/L de uma solução contendo os micronutrientes (mg/L): $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2000), H_3BO_3 (50), ZnCl_2 (50), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (90) e $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2000). Os testes foram realizados a 35 °C, com agitação orbital de 120 rpm e em triplicata. Utilizaram-se frascos de “controle”, sem a adição de substrato, para subtração do volume de biogás produzido por endogenia. Os ensaios foram realizados em respirômetro anaeróbio automático, Micro-Oximax (Columbus Instruments, USA), a produção de biogás foi monitorada automaticamente em tempo real com sensores de pressão e a concentração de metano foi determinada em um sensor de infravermelho.

O potencial de produção de metano (PPM) foi calculado baseando-se na produção acumulada de metano após 30 dias e na massa de substrato utilizada nos testes, conforme Equação 1.

$$PPM = \frac{V_{CH_4}^{30} - V_{controle}^{30}}{m_{glicerol}^0} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde: PPM é o potencial de produção de metano ($\text{m}^3\text{CH}_4/\text{kg}$ glicerol); $V_{CH_4}^{30}$ representa o volume de metano produzido no frasco contendo glicerol residual ao final de 30 dias (m^3CH_4); $V_{controle}^{30}$ é o volume de metano produzido no frasco “controle” ao final de 30 dias (m^3CH_4); e $m_{glicerol}^0$ é a massa inicial de glicerol residual no frasco (kg glicerol).

Teste de atividade hidrogenogênica

Os ensaios de atividade hidrogenogênica específica (AHE), potencial de produção de hidrogênio (PPH) e rendimento em hidrogênio (η_{H_2}) foram conduzidos em frascos com volume útil de 0,2 L, conforme descrito por Viana (2013). Adicionou-se inóculo em quantidade suficiente para que cada frasco contivesse 4,5 g de sólidos voláteis por litro. Glicerol residual foi adicionado de forma a atingir 20 g DQO/L. O pH inicial foi corrigido para 8,12 com solução de NaOH 2 M (Davila-Vazquez et al., 2008). A atmosfera de cada frasco foi substituída por N_2 antes do início dos testes. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, a 37 °C, com agitação orbital de 120 rpm e duração de 10 dias.

A adição de nutrientes foi feita de acordo com Davila-Vazquez et al. (2008) e continha: $NH_4H_2PO_4$ (291,2 g/L), KH_2PO_4 (100 g/L), NaCl (1 g/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (10 g/L), $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (5,15 g/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (1 g/L), $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ (1,5 g/L), $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (0,465 g/L), $ZnCl_2$ (0,06 g/L), $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,12 g/L) e $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,21 g/L).

Para o cálculo da produção de biogás por endogenia, utilizaram-se frascos de reação controle contendo o inóculo sem adição de substrato. Diariamente eram feitas medições do volume de biogás produzido nos reatores por deslocamento de líquido (Soto et al., 1993). A concentração de H_2 no biogás era determinada por cromatografia gasosa. Foram realizados testes de AHE, PPH e η_{H_2} com glicerol P.A. para avaliar o efeito das impurezas contidas no glicerol residual na produção de H_2 . O cálculo do η_{H_2} foi feito com as Equações 2 e 3 (adaptadas de Chookaew et al., 2012). O PPH foi calculado a partir da Equação 4.

$$\eta_{H_2} = \frac{V_{H_2 \text{ produzido}}}{V_{\text{molar } H_2} \cdot n_s} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$n_s = \frac{m_s}{M_s} \quad (\text{Eq. 3})$$

onde, η_{H_2} é o rendimento da produção de H_2 (mol H_2 /mol substrato); $V_{H_2 \text{ produzido}}$ é o volume de H_2 produzido (L); $V_{\text{molar } H_2}$ é o volume ocupado por um mol de

H_2 , em condições normais de temperatura e pressão (CNTP) (L/mol); m_s é a massa de substrato usada no teste (g); M_s é a massa molar do substrato (massa molar do glicerol = 92 g/mol); e n_s é o número de mols de substrato adicionados em cada frasco (mol).

$$PPH = \frac{V_{H_2}^5 - V_{controle}^5}{m_{\text{glicerol}}^0} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde: PPH é o potencial de produção de hidrogênio (m^3H_2/kg glicerol); $V_{H_2}^5$ representa o volume de hidrogênio produzido no frasco contendo glicerol residual ao final de cinco dias (m^3H_2); $V_{controle}^5$ é o volume de hidrogênio produzido pelo frasco “controle” ao final de cinco dias (m^3H_2); e m_{glicerol}^0 é a massa inicial de glicerol residual no frasco (kg glicerol).

Os inóculos utilizados nos testes foram provenientes de fontes diferentes: lodo de reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* – UASB) tratando efluentes de uma indústria de alimentos (IA) que beneficia amido de milho; lodo de reator UASB utilizado no tratamento de esgoto doméstico (ED); e líquido ruminal de caprinos (RC). Os três inóculos passaram por três tipos de pré-tratamento: térmico com choque de calor (PTT), químico com adição de clorofórmio (PTQ) e choque de pH ácido (PTA), com o objetivo comum de inibir ou eliminar a atividade metanogênica e estimular a produção de esporos de algumas espécies de bactérias produtoras de hidrogênio (BPH).

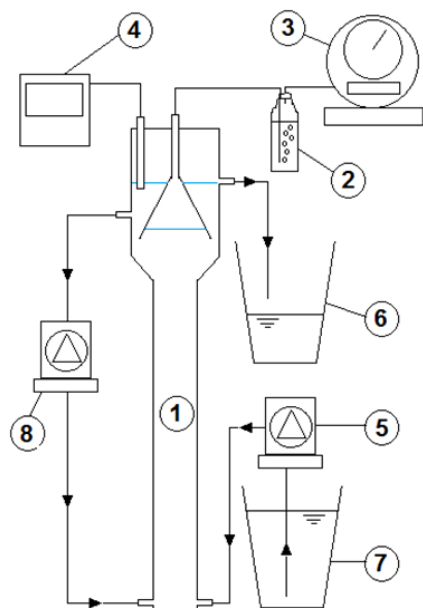
Para o pré-tratamento térmico, o inóculo foi aquecido em banho-maria a 90°C por 10 minutos, conforme descrito por Kim et al. (2006). O pré-tratamento químico foi realizado pela adição de clorofórmio de forma a tingir concentração de 0,05% em cada frasco de reação (Ning et al., 2012). O pré-tratamento com variação de pH foi realizado com a redução do pH para 3,0 com HCl 2 M e a manutenção deste por 24 h, seguida de adição de NaOH 2 M até pH=5,5 (Rossi et al., 2011).

Os inóculos que obtiveram as melhores produções de H_2 foram avaliados em termos de atividade metanogênica específica para comprovar a eficiência dos pré-tratamentos na inibição das bactérias metanogênicas.

Reatores UASB em escala de laboratório

Equipamento: Foram utilizados dois reatores UASB: o primeiro para produzir hidrogênio (Reator 1), que o segundo para gerar metano (Reator 2). Ambos os reatores estão instalados no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical.

Reator 1 - Hidrogenogênico: construído em vidro borossilicato, impermeável a hidrogênio gasoso, com diâmetro de 100 mm e altura total de 1,35 m, com volume útil de 14,5 L. Ao longo da altura do reator, foram instaladas oito torneiras para facilitar as coletas para análise do perfil do lodo anaeróbio (Figura 2).



Legenda:

- 1) Reator UASB
- 2) Selo hidráulico
- 3) Gasômetro
- 4) pH metro
- 5) Bomba para afluente
- 6) Reservatório para efluente
- 7) Reservatório para afluente
- 8) Bomba para recirculação

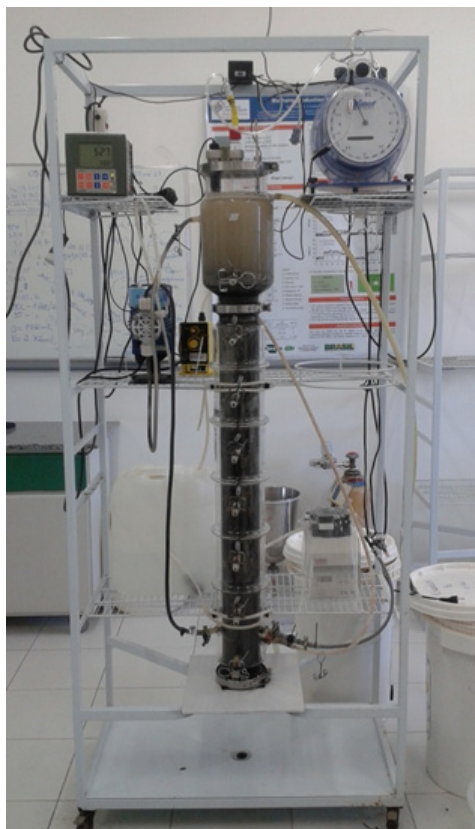
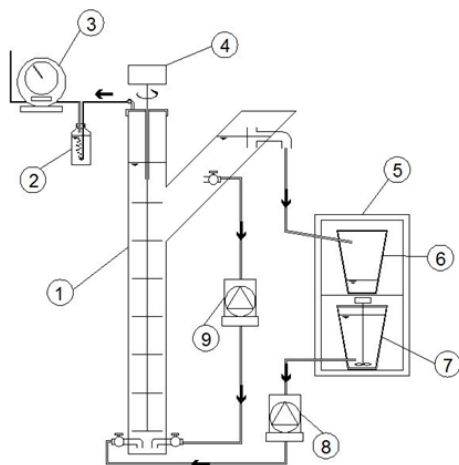


Foto: Renato Carrhá Leitão

Figura 2. Esquema e fotografia do reator UASB hidrogenogênico em escala de laboratório.

Reator 2 - Metanogênico: construído em PVC, com configuração em “Y” seguindo os procedimentos desenvolvidos por Cavalcanti (2003), com diâmetro de 100 mm e altura total de 1,82 m e volume útil de 14,9 L. Ao longo do corpo do reator, foram instaladas oito torneiras para retirada de amostras do lodo (Figura 3).



Legenda:

- 1) Reator UASB
- 2) Selo hidráulico
- 3) Gasômetro
- 4) Agitador rotativo lento (1 rpm)
- 5) Refrigerador 4 °C
- 6) Reservatório para efluente
- 7) Reservatório para afluente
- 8) Bomba para afluente
- 9) Bomba para recirculação



Foto: Renato Carrá Leitão

Figura 3. Esquema e fotografia do reator UASB metanogênico em escala de laboratório.

O efluente do reator hidrogenogênico foi utilizado como afluente do reator metanogênico após os devidos ajustes de DQO e alcalinizante para adequação à COV e pH estabelecidos na programação de operação. Assim, os reatores poderiam ser operados independentemente, mas simulando um sistema em série.

O gás produzido em ambos os reatores foi monitorado por gásômetros da Ritter. As composições dos gases nas correntes de saída dos reatores,

em especial H_2 no Reator 1 e CH_4 no Reator 2, foram determinados em um microcromatógrafo. Todos os sensores (pH, temperatura, quantidade e qualidade do gás e vazão afluyente) foram conectados a um computador para que o monitoramento e o controle dessas variáveis fossem realizados *online*. O pH do Reator 1 (hidrogenogênico) foi controlado automaticamente com adição de ácidos ou bases. As determinações de ácidos graxos voláteis (AGV) foram feitas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

Partida e Operação: O reator UASB hidrogenogênico foi operado durante 435 dias, divididos em quatro etapas relacionadas com as tentativas de encontrar um inóculo adequado para produção de hidrogênio a partir do glicerol. Essas etapas diferiram entre si pelo tipo de inóculo utilizado e pelo controle operacional. Os lodos utilizados como inóculo para o reator hidrogenogênico variaram de acordo com as diversas etapas:

- Etapa 1 - Mistura de diversos lodos anaeróbios, provenientes de estações de tratamento de esgoto de indústria de cerveja e de esgoto doméstico e líquido ruminal. Esta mistura foi pré-tratada termicamente a 90 °C durante 30 min.
- Etapa 2 - Lodo proveniente de um reator UASB da Companhia de Águas e Esgoto do Ceará (Cagece).
- Etapa 3 - Lodo proveniente de um reator UASB da Companhia de Águas e Esgoto do Ceará (Cagece) bioaumentado com cultura pura de *Clostridium*.
- Etapa 4 - Lodo proveniente de um reator UASB da Companhia de Águas e Esgoto do Ceará (Cagece) com controle automático do pH.

O reator metanogênico foi inoculado com lodo anaeróbio e vinha sendo alimentado há um ano e meio antes do início desta pesquisa com glicerol residual e nutrientes, segundo procedimentos descritos em Viana (2011). Este reator foi operado durante 391 dias, divididos em duas etapas. Primeiramente, o reator foi operado por 150 dias, atingindo COV de 16 kg DQO/(m³.d). Ao final desta etapa, houve problemas com a bomba peristáltica, que aumentou a vazão até atingir rotação máxima. Isso provocou uma sobrecarga hidráulica e orgânica no sistema, resultando em expulsão de todo o lodo do reator. A segunda etapa de operação consistiu em uma repetição dos procedimentos operacionais da primeira etapa. Mas, desta vez, a COV foi elevada até 20 kg DQO/(m³.d). Paralelamente, outro reator UASB metanogênico foi operado utilizando-se um sistema automatizado para controle da vazão afluyente baseado no pH dentro do reator.

Como descrito, em cada etapa a COV foi aumentada para maximizar a produção de hidrogênio e de metano. As Tabelas 1 e 2 apresentam as etapas de operação com os respectivos parâmetros operacionais.

Tabela 1. Programa de operação do reator hidrogenogênico.

Etapa	Duração (dias)	Tempo acum. (dias)	Vazão afluyente			DQO afluyente (g/L)	COV (kgDQO/m ³ .d)	TDH (h)
			Glicerol (L/dia)	Água (L/dia)	Total (L/d)			
I	160	160	0,2–0,9	2,8–2,1	3	98–425	20–100	118
II	90	250	0,2–1,1	9,8–8,9	10	29–146	20–100	35
III	90	340	0,2–1,1	9,8–8,9	10	29–146	20–100	35
IV	91	430	0,2–1,1	9,8–8,9	10	29–146	20–100	35

Tabela 2. Programa de operação do reator metanogênico.

Etapa	Duração (dias)	Tempo acum. (dias)	Vazão afluyente			DQO afluyente (g/L)	COV (kgDQO/m ³ .d)	TDH (h)
			Efl H ₂ * (L/dia)	Água (L/dia)	Total (L/d)			
I	150	150	4,6–3,7	8,7–6,3	10	13–37	9–25	36
II	240	390	1,3–3,7	8,7–6,3	3–15	12–37	2,5–25	119–36

* Efl H₂: Efluente do reator hidrogenogênico.

Sistema de automatização do reator metanogênico

Foi utilizado um *software* especializado em controle do processo por meio da aquisição de dados on-line com o objetivo de aumentar a vazão e, consequentemente, a COV do reator metanogênico. O *software* denominado “Guardian®” (Bezerra, 2007) foi escrito em *Object Pascal*, utilizando o Delphi 7 pelo Prof. Marc Boncz, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. O sistema realizava a aquisição de dados de pH, temperatura, vazão de biogás, atuando sobre as vazões afluyente e de recirculação.

O *software* foi configurado com duas equações baseadas nos valores de pH para controlar as rotações das bombas peristálticas de alimentação e de recirculação. A bomba de alimentação tinha sua rotação aumentada com o aumento do pH, simultaneamente a redução da rotação da bomba de recirculação (o aumento ou diminuição da rotação das bombas implicam em aumento ou redução das vazões, respectivamente). Assim, sempre que o pH do reator mostrava que poderia aumentar a carga orgânica (pH elevado), então o controlador aumentava a vazão da bomba de alimentação e consequentemente a COV. Por outro lado, quando o reator mostrava sinais de sobrecarga (pH baixo), a vazão da bomba de recirculação de efluente era aumentada, promovendo a alcalinidade no sistema.

Análise Econômica

As alternativas de produção de energia foram avaliadas em termos de taxa interna de retorno (TIR) para mostrar a rentabilidade comparada com a taxa de juros bancários; valor presente líquido (VPL) para atualização das despesas futuras; período de retorno do investimento (*payback*) para cálculo do prazo necessário para que os investimentos sejam recuperados; e o índice de lucratividade (IL) para indicar se o investimento é economicamente atrativo (Assaf Neto, 1992).

Resultados e Discussão

Potencial de produção de metano

A produção de metano a partir do glicerol foi de 303 L CH₄/kg glicerol. Os resultados obtidos anteriormente mostraram que a natureza do óleo vegetal e o processo utilizado na fabricação do biodiesel influenciaram o PPM do glicerol, que variou entre 0,221 a 0,322 L CH₄/kg glicerol. Os valores encontrados nesta pesquisa são semelhantes aos resultados de Siles López et al. (2009), que conseguiram obter entre 0,291 e 0,411 L CH₄/kg glicerol usando glicerol residual como substrato para testes de biodegradabilidade anaeróbia.

Rendimento em hidrogênio e potencial de produção de hidrogênio

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados dos rendimentos em hidrogênio (η_{H_2}) de acordo com inóculo e pré-tratamento aplicado. Os inóculos ED (lodo de reator UASB usado no tratamento de esgoto doméstico) e RC (líquido ruminal de caprinos) apresentaram os maiores η_{H_2} , independentemente do tipo de pré-tratamento aplicado, com valores na faixa de 0,22 a 0,37 mol H_2 /mol glicerol.

Tabela 3. Rendimentos da produção de H_2 (η_{H_2}) e atividade hidrogenogênica específica (AHE) a partir do glicerol residual para cada inóculo e os respectivos pré-tratamentos aplicados

Pré-tratamento	Inóculos					
	IA		ED		RC	
	η_{H_2}	AHE	η_{H_2}	AHE	η_{H_2}	AHE
STP	0,07	0,05	0,37	0,24	0,22	0,21
PTT	0,27	0,14	0,22	0,19	0,31	0,15
PTQ	0,28	0,12	0,30	0,10	0,31	0,26
PTA	0,20	0,12	0,22	0,14	0,27	0,16

Obs. η_{H_2} em mol H_2 /mol glicerol; AHE em L H_2 /kgSV.d. IA: inóculo proveniente da indústria de alimentos; ED: inóculo proveniente de estação de tratamento de esgoto doméstico; RC: líquido ruminal de caprinos; SPT: sem pré-tratamento; PTT: pré-tratamento térmico; PTQ: pré-tratamento químico; e PTA: pré-tratamento ácido.

Os efeitos dos diversos pré-tratamentos sobre os inóculos são contraditórios. Esperava-se que os pré-tratamentos inibissem a atividade metanogênica, concomitantemente com o aumento da AHE (Luo et al., 2011; Woo; Song, 2010). De fato, constatou-se que a AHE dos inóculos pré-tratados foi reduzida a valores próximos de zero (Figura 4). No entanto, os pré-tratamentos aplicados ao ED também causaram efeitos negativos em η_{H_2} e AHE.

Os resultados de AHE e AME mostram que o inóculo ED sem pré-tratamento e o inóculo RC pré-tratado quimicamente com clorofórmio têm AHE mais elevadas, 0,24 e 0,26 mL H_2 /gSV.d, respectivamente. Durante os

ensaios de AHE, o inóculo IA produziu metano mesmo quando submetido aos pré-tratamentos. Isso pode ter ocorrido devido à sua estrutura granular, que aumenta sua capacidade para suportar condições adversas, por constituir um nicho protetor para as metanogênicas contra estresses ambientais.

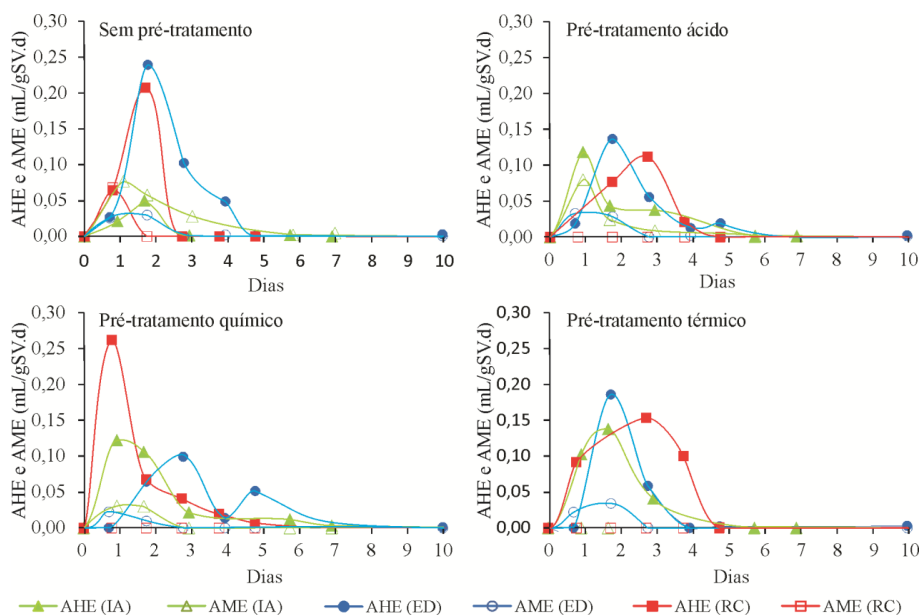


Figura 4. Atividades hidrogenogênica e metanogênica específicas dos inóculos, de acordo com os pré-tratamentos aplicados. IA: inóculo proveniente da indústria de alimentos; ED: inóculo proveniente de estação de tratamento de esgoto doméstico; e RC: líquido ruminal de caprinos.

Segundo MacLeod et al. (1990), o grânulo tem uma estrutura em camadas, sendo que microrganismos metanogênicos como *Methanosaeta* encontram-se no núcleo do grânulo e são mais resistentes às temperaturas elevadas e aos ácidos. Estes resultados mostram que certos pré-tratamentos não inibem completamente a AME de um lodo granular, como o inóculo IA (Hulshoff Pol et al., 2004). A maior produção de CH_4 foi alcançada nos testes com o inóculo IA (33% do biogás), que coincidiu com a menor produção de H_2 de todos os testes, mostrando que o hidrogênio provavelmente foi consumido para gerar metano.

Houve produção de metano em quase todos os ensaios com inóculos sem pré-tratamento, porque alguns microrganismos metanogênicos são capazes de produzir CH_4 mesmo em valores de pH próximos a 5,0 (Speece, 1996). A produção de metano ocorreu simultaneamente ao decréscimo no percentual de H_2 no biogás, provavelmente devido à presença de *archaeas* metanogênicas e bactérias homoacetogênicas resistentes ao pH ácido e que utilizam H_2 para a metanogênese e acetogênese (Hwang et al., 2004). O clorofórmio a 0,05% inibiu completamente a atividade das bactérias metanogênicas nos testes de atividade metanogênica dos inóculos ED e RC (com ou sem pré-tratamento químico).

Alguns estudos mostraram que lodos de estação de tratamento de esgoto sanitário podem ter microbiota capaz de produzir H_2 , composta por *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii* e *Clostridium beijerinckii* (Chen et al., 2001; Kang et al., 2012), desde que se estabeleçam condições ambientais ou operacionais adequadas (Xing et al., 2008; Chang; Lin, 2004; Lin; Lay, 2004). A capacidade de produção de hidrogênio está ligada à alta diversidade desse tipo de inóculo, comprovada em outros estudos (Wagner et al., 2002). Xing et al. (2008) observaram aumento do número de espécies concomitantemente com o aumento da taxa de produção de H_2 em reatores CSTR.

Embora o lodo de estação de tratamento de esgoto sanitário contenha alta concentração relativa de *archaeas* metanogênicas, ele não está adaptado às condições iniciais do teste de AHE (concentração elevada de matéria orgânica, 20 g DQO/L e ausência de solução tampão), o que fez o pH inicial decair rapidamente de 8,1 até valores entre 5,0 e 5,7. Isso ocorre porque as bactérias acidogênicas presentes na microbiota têm taxa de produção de ácidos maior do que a taxa de consumo das metanogênicas (Jung et al., 2011). Esse processo de acidificação do reator propicia maior atividade das bactérias acidogênicas e hidrogenogênicas, enquanto diminui a atividade do grupo de consumidores de H_2 , que têm atividade ótima em valores de pH próximos da neutralidade (6,8 a 7,2) (Nissila et al., 2012). A queda rápida do pH até valores entre 5,0 e 5,7 provocou a inibição da atividade metanogênica e tornou redundante o efeito dos pré-tratamentos. Para uma aplicação em escala real, apenas a acidificação do meio seria viável, especialmente do ponto de vista econômico, visto que dispensa o uso de reagentes ou equipamentos para inibição dos microrganismos.

O líquido ruminal de caprinos (inóculo RC) possui diversidade microbiana elevada, contendo entre 10^{10} e 10^{11} bactérias/mL (incluindo acidogênicas e hidrogenogênicas), entre 10^8 e 10^9 archaeas metanogênicas, aproximadamente 10^6 protozoários ciliados/mL e 10^6 fungos/mL (Kumar et al., 2009). Espécies como *Ruminococcus albus* e outras hidrogenogênicas, como *Bacteroides clostridiiformis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium limosum*, *Fasobacterium necrophorum*, *Megasphaera elsdenii* e *Ruminococcus flavefaciens*, estão presentes no estômago de ruminantes (Joyner et al., 1977; Miller; Wolin, 1973). Espécies como *Klebsiella planticola* e *Selenomonas ruminantium*, também presentes no estômago de alguns ruminantes, são conhecidas por degradarem glicerol e gerarem produtos de alto valor agregado, como ácido propiônico (Hobson; Mann, 1961; Jarvis et al., 1997).

Assim, após os pré-tratamentos para inibir a atividade metanogênica, as bactérias hidrogenogênicas existentes no líquido ruminal foram responsáveis pelo rendimento de 0,31 mol H_2 /mol glicerol. De modo geral, esses valores de η_{H_2} estão próximos aos obtidos nos ensaios com uso do inóculo ED; no entanto, a atividade metanogênica do inóculo RC foi completamente suprimida pelos pré-tratamentos, o que resultou em η_{H_2} um pouco mais elevados que os do inóculo ED pré-tratado. Isso também mostra a alta suscetibilidade do líquido ruminal aos tratamentos.

Esperava-se que com o lodo proveniente de um UASB tratando efluente de uma indústria de alimentos (inóculo IA) fossem obtidos η_{H_2} maiores. Esse inóculo continha concentração alta de archaeas metanogênicas, constatada pelos ensaios de AME (0,48 kg DQO/kgSV.d), o que implica também em concentração elevada de bactérias acidogênicas e, consequentemente, de hidrogenogênicas. Assim, a produção de H_2 seria maximizada após pré-tratamento para inibir a atividade metanogênica ou eliminar as archaeas metanogênicas.

O η_{H_2} variou entre 0,20 e 0,28 mol H_2 /mol glicerol, quase triplicando a AHE e o η_{H_2} em relação ao controle. Este rendimento está próximo dos valores reportados na literatura, mas é menor do que o obtido pelo inóculo ED sem qualquer tipo de pré-tratamento. O inóculo IA, diferente dos demais, era do tipo granular e já estava previamente adaptado às altas cargas orgânicas impostas pelos testes de AHE e η_{H_2} . Sem o pré-tratamento, é provável que as metanogênicas tenham convertido rapidamente o H_2 produzido em metano.

Os resultados mostraram que os pré-tratamentos no inóculo IA não inibiram completamente a atividade metanogênica, pois foi detectado metano (até 33%) em todos os testes de atividade hidrogenogênica. Provavelmente houve adaptação deste inóculo a cargas orgânicas elevadas e o H_2 formado foi rapidamente convertido em metano (metanogênese hidrogenotrófica). Os resultados desse experimento estão de acordo com Akutsu et al. (2009), que testaram diferentes inóculos para degradar glicerol e produzir H_2 , incluindo um lodo anaeróbio proveniente de um reator utilizado no tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos, obtendo rendimento de 0,34 mol H_2 /mol glicerol.

Esperava-se que o pré-tratamento térmico com choque de calor fosse o mais eficiente na inibição de metanogênicas e enriquecimento da microbiota com BPH, já que bactérias como a *Clostridium* podem formar esporos em condições de estresse (Baghchehsaraee et al., 2008; Kim et al., 2006; Oh et al., 2003). Porém, neste trabalho, esse método apresentou rendimentos de produção de H_2 semelhantes aos outros.

No caso do inóculo RC, o pré-tratamento térmico resultou em rendimento de 0,31 mol H_2 /mol glicerol, provavelmente devido à composição da comunidade microbiana, com alta predominância de microrganismos produtores de H_2 e formadores de esporos. Como o inóculo não apresentava uma estrutura granular, a eliminação das *archaeas* metanogênicas foi facilitada, resultando no enriquecimento da comunidade com BPH, principalmente com o gênero *Clostridium* (Duangmanee et al., 2007).

Alguns experimentos anteriores com pré-tratamentos térmicos (80 °C durante 20 min e 100 °C durante 10 min) mostraram que este método pode não ser suficiente para inibir alguns microrganismos e para modificar a composição da comunidade, permitindo que mesmo os microrganismos que não esporulam permaneçam com atividade metabólica baixa (Luo et al., 2011; Nissila et al., 2011). O efeito pode também ser o oposto, em que o excesso de temperatura ou de tempo no pré-tratamento térmico podem evitar que os esporos germinem e cresçam em níveis suficientes para a produção de H_2 (Duangmanee et al., 2007).

O pré-tratamento com o uso de clorofórmio (PTQ) é utilizado para inativar as *archaeas* metanogênicas, pois bloqueia a função de enzimas corrinoídes (Chidthaisong; Conrad, 2000) e inibe a coenzima-M redutase, responsável

pela redução de H^+ , formando metano (Hu; Chen, 2007). A concentração utilizada de clorofórmio (0,05%) foi adequada, já que este método foi eficiente na inibição da atividade metanogênica de todos os inóculos, sem prejuízo para as BPH, resultando em η_{H_2} que variaram entre 0,28 e 0,31 mol H_2 /mol glicerol. Estes valores são melhores do que aqueles obtidos com os pré-tratamentos ácido ou térmico, que podem ter afetado negativamente as BPH. Ning et al. (2012) utilizaram lodo de um reator de circulação interna que tratava efluente industrial pré-tratado com solução de clorofórmio de 0,05% e alcançaram η_{H_2} máximo de 2,20 mol H_2 /mol glicose. Segundo Bauchop (1967), 0,09% de clorofórmio pode causar até 50% de inibição da atividade metanogênica.

Hu e Chen (2007) também utilizaram $CHCl_3$ a 0,05% e obtiveram resultados melhores quando comparados aos demais pré-tratamentos testados (ácido e térmico). Os autores testaram, como inóculo, lodo granular de uma estação de tratamento de esgoto sanitário e, segundo eles, o grânulo pode ter protegido os microrganismos consumidores de H_2 dos choques ácido e térmico. No entanto, concentrações de clorofórmio superiores a 2% podem diminuir a produção de H_2 porque inibem também a atividade das BPH (Hu; Chen, 2007; Wang; Wan, 2008).

Mohan et al. (2008) também obtiveram resultados melhores utilizando tratamento químico, em comparação com os pré-tratamentos térmico e ácido. Eles afirmam que esses pré-tratamentos, quando eliminam as bactérias não formadoras de esporos, reduzem a diversidade da comunidade microbiana, enquanto tratamentos que inibem apenas a atividade de microrganismos, sem matá-los, mantêm a comunidade relativamente complexa, rica em bactérias acidogênicas e hidrogenogênicas, que também podem suprimir a atividade metanogênica pelo excesso de produtos formados.

O pré-tratamento ácido tem, assim como o térmico, o objetivo de inibir o metabolismo ou eliminar as *archaeas* metanogênicas. Isso ocorre porque ácidos fortes, como H_2SO_4 e HCl , em concentrações entre 1 e 2 M, com tempo de contato entre 6 e 24 h, provocam hidrólise da membrana celular de microrganismos, aumentando a solubilização de carboidratos e proteínas (Assawamongkholsiri et al., 2013). Nestas condições, microrganismos com capacidade de esporular, como algumas BPH (por exemplo, *Clostridium sp.*), conseguem sobreviver e germinar quando as condições adequadas forem restabelecidas. No entanto, o pré-tratamento ácido foi menos eficiente para

a produção de hidrogênio a partir do glicerol, resultando em η_{H_2} entre 0,20 e 0,27 mol H_2 /mol glicerol. Provavelmente os efeitos do ácido foram deletérios para as BPH. Os resultados comparativos entre o PTA do inóculo IA e o controle (SPT) são iguais aos relatados por Lee et al. (2009), que com o tratamento ácido com HCl obtiveram rendimento 2,8 vezes maior do que o controle. Dessa forma, baseando-se nos dados obtidos com o inóculo ED sem pré-tratamento, apenas o controle do pH entre 5,0 e 6,0 é suficiente para inibir determinados microrganismos, como relatado em outros trabalhos.

Zhu e Beland (2006) testaram pré-tratamentos diferentes em lodo de digestor anaeróbio de estação de tratamento de esgoto sanitário, concluindo que esse inóculo, sem qualquer pré-tratamento, obtém η_{H_2} melhores (5,17 mol H_2 /mol sacarose), comparando com os η_{H_2} do lodo submetido aos pré-tratamentos com choque de calor e ácido, 2,59 e 3,10 mol H_2 /mol sacarose, respectivamente. Yu et al. (2002) também utilizaram inóculo proveniente de uma estação de tratamento de esgoto sanitário municipal sem pré-tratamento, mas submetido à carga orgânica elevada (10 g DQO/L), o que reduziu o pH para 5,0, inibindo as metanogênicas. Os autores relataram resultados semelhantes ao deste trabalho no que diz respeito à composição do biogás: a porcentagem de H_2 no biogás foi praticamente a mesma (cerca de 60%) e detectou-se quantidade desprezível de metano ao fim do experimento.

Os valores de PPH são obtidos pelos mesmos dados usados para cálculo do rendimento em hidrogênio, mudando-se apenas as unidades (litros de H_2 em vez de mol H_2 , e kg de glicerol em vez de mol de glicerol). Assim, a condição na qual ocorreu o maior rendimento em hidrogênio foi a que resultou em maior potencial de produção de hidrogênio (PPH). Ou seja, a digestão anaeróbia do glicerol residual, usando-se como inóculo o lodo de uma estação de tratamento de esgoto doméstico sem qualquer pré-tratamento, resultou em PPH de 57 L H_2 /kg glicerol.

Operação do reator UASB hydrogenogênico

Os resultados do monitoramento do reator UASB hydrogenogênico estão apresentados na Tabela 4 e nas Figuras 5 e 6. Primeiramente, optou-se por inocular o reator com uma biota mais diversa possível. Na Etapa I, usou-se uma mistura de diversos lodos anaeróbios, provenientes de estações de tratamento de esgoto de indústria de cerveja e de esgoto doméstico e líquido ruminal. De

acordo com Jung et al. (2011), Rossi et al. (2011) e Kim et al. (2006), o inóculo de um reator produtor de hidrogênio deve ser pré-tratado termicamente para eliminar microrganismos não adaptados a estas condições de estresse, como as arqueias metanogênicas e outros microrganismos consumidores de H_2 . No entanto, microrganismos hidrogenogênicos formadores de esporos, representados principalmente pelo gênero *Clostridium*, podem suportar os efeitos dos pré-tratamentos e germinam quando as condições voltam a ser propícias para crescimento e atividade metabólica (Van Ginkel et al., 2001). Apesar disso, durante todo o período da Etapa I, não houve produção significativa de biogás. Provavelmente o pré-tratamento do lodo (90 °C durante 30 min) foi muito agressivo e eliminou também as bactérias hidrogenogênicas.

Com esses resultados negativos, decidiu-se estudar diversas fontes de microrganismos e diferentes pré-tratamentos para definir o melhor inóculo a ser usado no reator. Os resultados desse estudo estão apresentados no item 3.2 deste trabalho. O melhor rendimento em hidrogênio foi obtido usando-se lodo proveniente de um reator UASB da Companhia de Águas e Esgoto do Ceará (Cagece), sem qualquer pré-tratamento. Assim, na Etapa II o reator foi inoculado com este lodo e operado com COV inicial de 20 kg DQO/m³.dia, atingindo valores de aproximadamente 60 kg DQO/m³.dia. A produção de biogás atingiu média de 9 L/dia. Embora não tenha sido possível medir a produção de hidrogênio, sabe-se que esta é muito baixa; se a concentração de H_2 fosse de 60% (o que seria bastante elevada), o rendimento de hidrogênio seria de apenas 0,03 mol H_2 /mol Glicerol, 100 vezes menor do que o rendimento teórico (3 mol H_2 /mol Glicerol).

Assim, promoveu-se a bioaumentação do lodo, inoculando bactérias do gênero *Clostridium* no reator (Etapa III). Este gênero é reconhecido por produzir hidrogênio. Poucos microrganismos são hábeis para degradar glicerol pela rota fermentativa devido à especificidade das enzimas que atuam no metabolismo dessa substância (Yazdani; Gonzalez, 2007; Tortora, 2005). Alguns exemplos são os gêneros *Clostridium*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Anaerobiospirillum*, *Bacillus* e *Propionibacterium* (Yazdani; Gonzalez, 2008). Apesar disso, não houve sucesso em aumentar o rendimento em hidrogênio.

A Etapa IV foi caracterizada pela melhoria no controle do pH e da alimentação do reator, tornando-o mais estável e evitando choques de carga orgânica e de pH. Também se realizou aumento mais rápido da COV para

evitar o crescimento de arqueias metanogênicas. O reator foi operado com COV de até 70 kg DQO/m³.dia, com produção de biogás 15 L/dia (85% de hidrogênio) e rendimento de hidrogênio de até 0,11 mol H₂/mol glicerol.

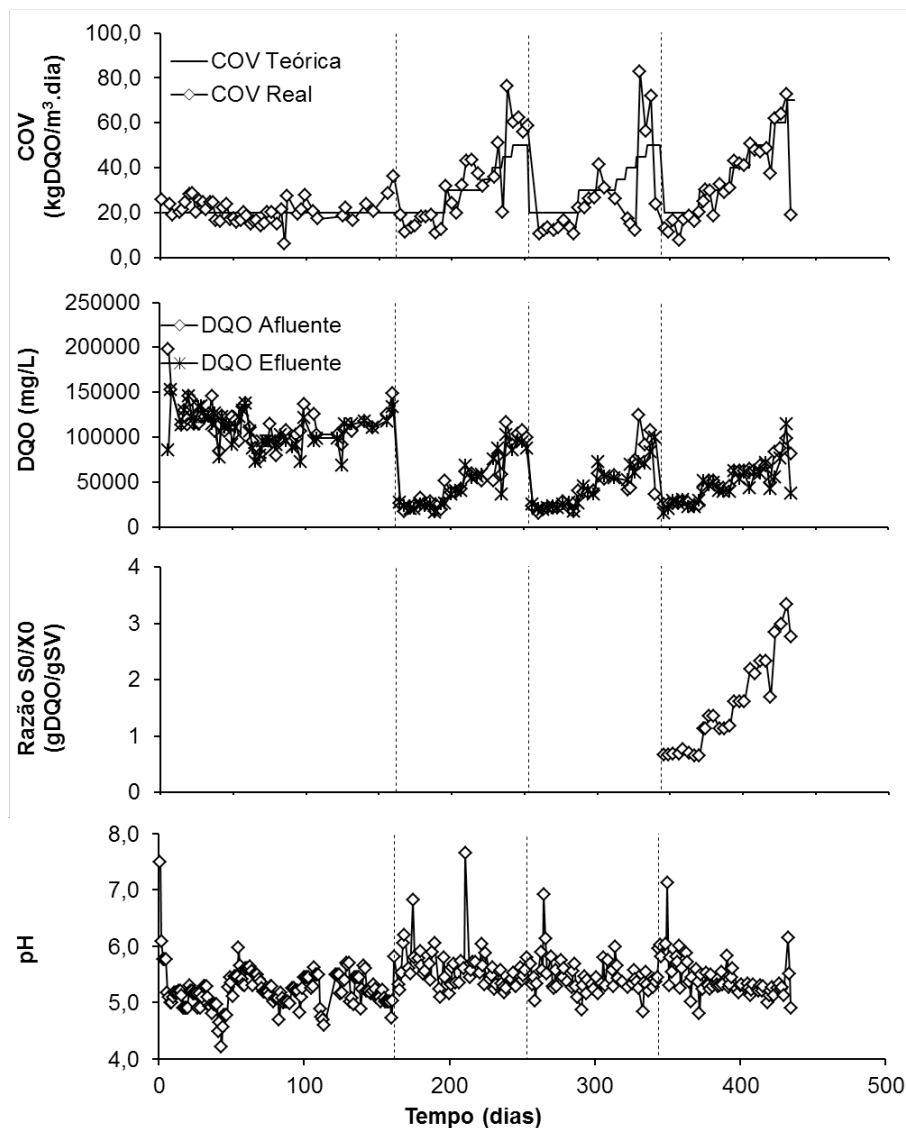


Figura 5. Variação das concentrações de DQO afluente e efluente (B), da relação substrato microrganismos (S0/X0) (C) e do pH do reator de acordo com a COV aplicada (A) ao longo do tempo de operação do reator UASB hidrogenogênico.

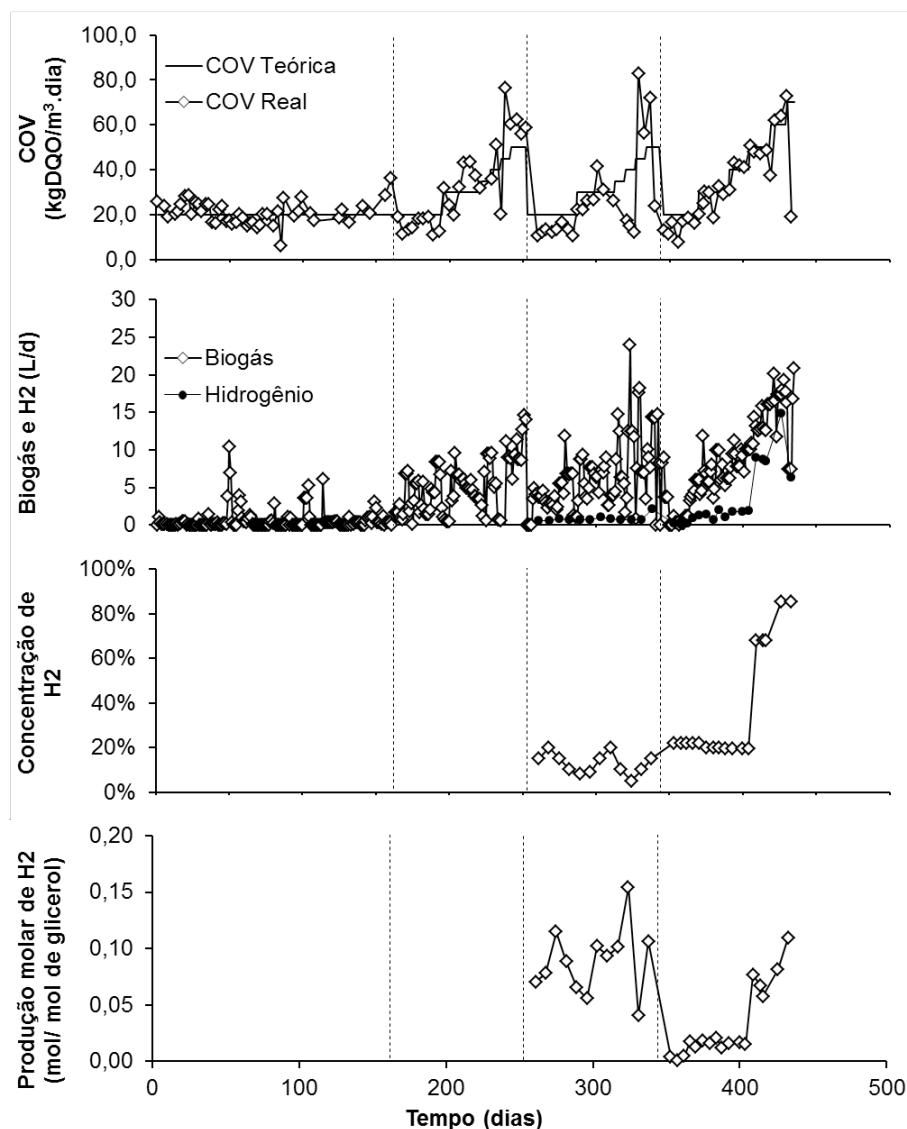


Figura 6. Variação da produção de biogás e hidrogênio (B), da concentração de hidrogênio no biogás (C) e da produção molar de hidrogênio de acordo com a COV aplicada (A) ao longo do tempo de operação do reator UASB hydrogenogênico.

Operação do reator UASB metanogênico

Em um projeto de pesquisa anterior (Viana, 2011), este mesmo reator foi operado com glicerol residual diluído a uma COV de 10 kg DQO/(m³.d) e produziu 61,5 L de biogás por dia, sendo 59% dele constituído de CH₄. Nesta nova pesquisa, um reator hidrogenogênico foi instalado antes do reator metanogênico. No novo sistema de dois reatores em série, o primeiro reator funciona como reator acidogênico, além de produzir H₂. Assim, a etapa acidogênica da digestão anaeróbia foi separada das etapas seguintes: acetogênica e metanogênica. Com isso, foi possível aumentar a COV do reator metanogênico para 20 kg DQO/(m³.d).

Dessa forma, o reator metanogênico foi alimentado com o efluente do reator hidrogenogênico. O controle da COV foi feito ou pela DQO do efluente do reator hidrogenogênico, que era diluído até que a DQO desejada fosse atingida, ou pelo controle da vazão afluente. O objetivo era sempre diminuir ao máximo a diluição para que, em um reator em escala real, houvesse o mínimo de adição de água ao sistema. Apesar das flutuações na DQO afluente e na COV, nos últimos vinte dias de operação a eficiência de conversão da matéria orgânica foi sempre maior do que 80%. Na Tabela 5 e na Figura 7 estão apresentados os resultados do monitoramento do reator UASB metanogênico.

O pH do reator ficou entre 7 e 8 na maior parte do tempo. Ele era controlado pela adição de hidróxido de sódio antes da alimentação, corrigindo o pH do efluente do reator hidrogenogênico para valores próximos a 6,5. Foi adicionado bicarbonato de sódio na razão 0,5 g Na₂HCO₃/g DQO, aplicada a cada aumento na carga orgânica. Esta proporção era posteriormente reduzida para 0,2 assim que o reator apresentava sinais de estabilidade.

A produção de biogás foi sempre próxima ao calculado pelo balanço de massa, considerando-se a equação descrita em Viana (2011). Ao fim da segunda etapa, o reator foi operado com COV de aproximadamente 20 kg DQO/(m³.d) e produziu 122 L de biogás por dia, sendo 86% dele constituído por CH₄.

Tabela 4. Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB hidrogenogênico.

Tempo ^a	Dil. ^b	COV ^c	COL ^d	Q _{af} ^e	pH	DQO _{af} ^f	DQO _{Tot, Efl} ^g	DQO _{Filt, Efl} ^h	E _{Tot} ⁱ	E _{Filt} ^j	TRC ^k	Q _{biogás} ^l	% H ₂ ^m	ηH ₂ ⁿ
165	8,4	20,8	0,37	2,7	5,2	115,6	109,2	103,5	4	8	61	0,6	86	
90	2,1–5,3	15,2–60,0	0,65–2,8	9,5–9,4	5,9–5,4	21,3–100,9	23,1–91,2	23,0–83,7	0,0–9,0	0,5–17	12–3	3,7–10,2	31	0,02
90	3,2–5,3	12,8–42,7	0,9–4,0	9,0–9,2	5,6–5,3	21,0–99,8	22,7–77,1	20,7–75,6	0,0–22,8	0,0–24,2	12–10	4,0–9,4	59	0,05–0,04
90	8,3–13,2	14,4–63,5	0,6–3,1	7,7–9,2	5,7–5,3	26,6–106,8	24,0–107,6	23,2–100,5	10,2–0,0	13,0–6,1	40–14	2,5–15,2	16–64	0,01–0,06

Notas: ^adias; ^bDiluição (%); ^cCOV (kgDQO/m³.d); ^dCarga orgânica aplicada ao lodo (kgDQO/kgSV.d); ^eVazão (L/d); ^fDQO total do efluente (gDQO/L); ^gDQO do efluente filtrado (gDQO/L); ^heficiência na remoção de DQO total (%); ⁱeficiência na remoção de DQO filtrada (%); ^jTempo de retenção celular (d); ^kvazão de biogás (L/d); ^lconcentração de metano no biogás (%); ^mrendimento de H₂ (mol H₂/mol glicerol); ⁿprodução específica de metano (m³CH₄/kg glicerol).

Tabela 5. Resumo dos parâmetros operacionais monitorados durante a operação do reator UASB metanogênico.

Tempo ^a	COV ^b	COL ^c	Q _{af} ^d	pH	DQO _{af} ^e	DQO _{Tot, Efl} ^f	DQO _{Filt, Efl} ^g	DQO _{CH4} ^h	E _{Tot} ⁱ	E _{Filt} ^j	TRC ^k	Q _{biogás} ^l	% CH ₄ ^m	PEM ⁿ
150	9,3–16,5	0,33–1,1	8,8–9,9	7,4	13,5–26,4	0,5–3,6	0,4–3,0	5,6–14,6	97–85	98–88	569	32,4–93,8	50-64	0,4-0,26
241	2,5–20,5	0,15–1,1	3,0–11,5	7,5–7,6	13,3–25,4	5,3–1,7	4,6–1,0	7,5–17,5	56–93	61–96	198	11,8–101,2	74–80	0,27–0,32

Notas: ^adias; ^bCOV (kgDQO/m³.d); ^cCarga orgânica aplicada ao lodo (kgDQO/kgSV.d); ^dVazão (L/d); ^eDQO total do efluente (gDQO/L); ^fDQO do efluente filtrado (gDQO/L); ^gprodução de metano (gDQO/L); ^heficiência na remoção de DQO total (%); ⁱeficiência na remoção de DQO filtrada (%); ^jTempo de retenção celular (d); ^kvazão de biogás (L/d); ^lconcentração de metano no biogás (%); ^mprodução específica de metano (m³CH₄/kg glicerol).

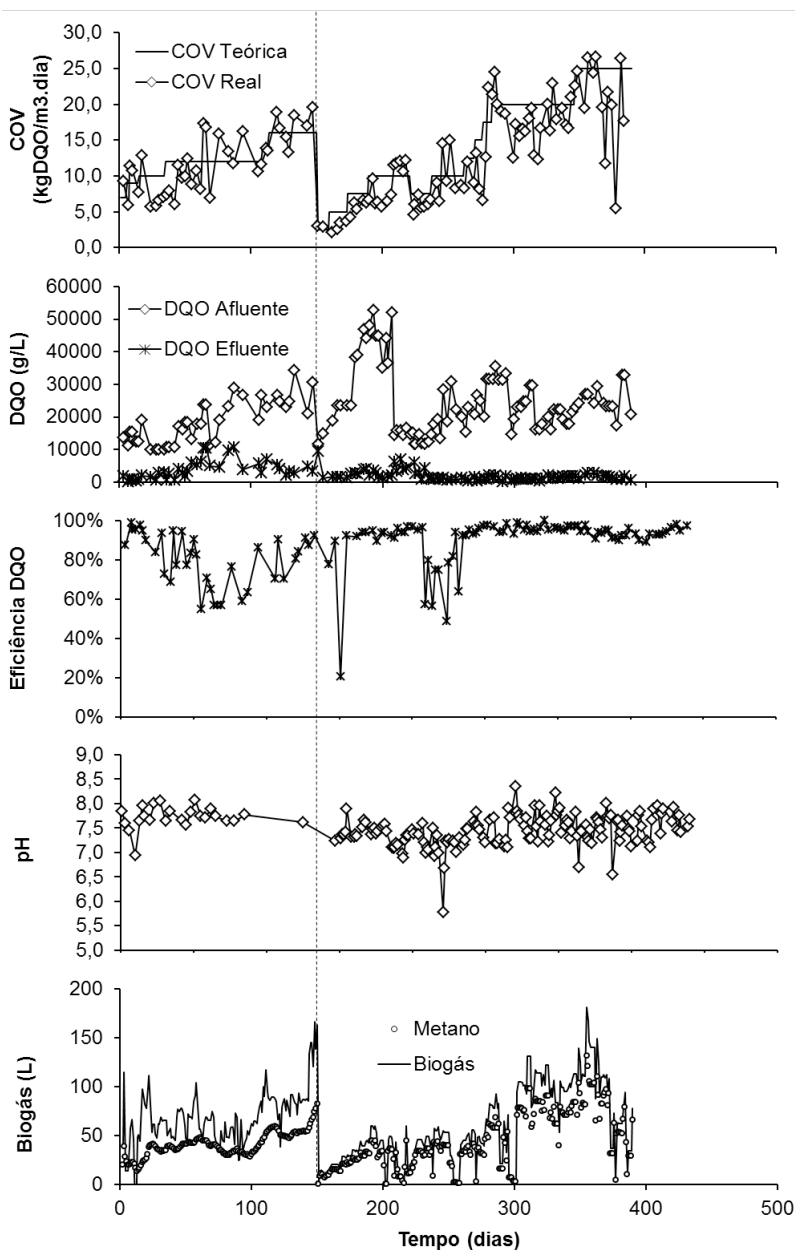


Figura 7. Parâmetros operacionais (DQO afluente e efluente, eficiência de conversão da matéria orgânica, pH e produção de biogás e metano) de acordo com a COV aplicada durante o tempo de operação do UASB metanogênico.

Automatização do reator UASB metanogênico

A carga orgânica volumétrica (COV) aplicada ao sistema foi aumentada gradativamente, utilizando-se o *software* Guardian® para controle do processo a fim de promover a digestão anaeróbia da maior quantidade de glicerol residual por unidade de volume de reator, reduzindo os custos de capital na construção de um reator em escala real. O Guardian® foi programado para aumentar a rotação da bomba de alimentação (afluente) proporcionalmente ao aumento do pH, provocando um aumento da COV. À medida que o valor do pH se reduz, a rotação da bomba de alimentação diminui e a da bomba de recirculação aumenta. Com isso, o efluente recirculado, ainda com alcalinidade elevada, tampona o sistema, elevando o pH a valores adequados à digestão anaeróbia (Olguin et al., 2000; Pereira Ramirez et al., 2004). Durante a operação, buscou-se também diminuir gradativamente a quantidade de bicarbonato de sódio (tampão) no afluente do reator UASB.

A Figura 8 mostra os parâmetros operacionais do reator durante a operação usando-se o Guardian® para gerenciamento do processo, através da Equação 5 para controle da rotação da bomba de alimentação e da Equação 6 para o controle da bomba de recirculação. A diluição do afluente ao reator foi reduzida de 1:6 para 1:3 (v:v), com consequente aumento na concentração de matéria orgânica de 19 para 50 g DQO/L. A eficiência de conversão da matéria orgânica foi de aproximadamente 90% durante todo o período. O Guardian® foi eficaz em aumentar a COV do reator de 10 para aproximadamente 40 kg DQO/(m³.d), sendo capaz de gerenciar a operação do sistema em condições estáveis sob COV média de 20 kg DQO/(m³.d), que é considerado um valor elevado em se tratando de reatores anaeróbios do tipo UASB. Mesmo com redução da alcalinidade no interior do sistema, de 1,0 para 0,2 g Na₂HCO₃/g DQO, o pH do reator se manteve dentro da faixa ideal (entre 6,5 e 8,0), não afetando a eficiência de tamponamento do sistema. Operando com COV 20 kg DQO/(m³.d), a produção de biogás atingiu valores de 137 L/d, o que é mais do que duas vezes a produção do reator anaeróbio sem controle automatizado e sem um reator acidogênico preliminar.

$$rpm = 0,4 \times pH^2 - 1,8 \times pH - 5 \quad (\text{Eq. 5})$$

$$rpm = 5 \times pH^2 - 1,8 \times pH - 342 \quad (\text{Eq. 6})$$

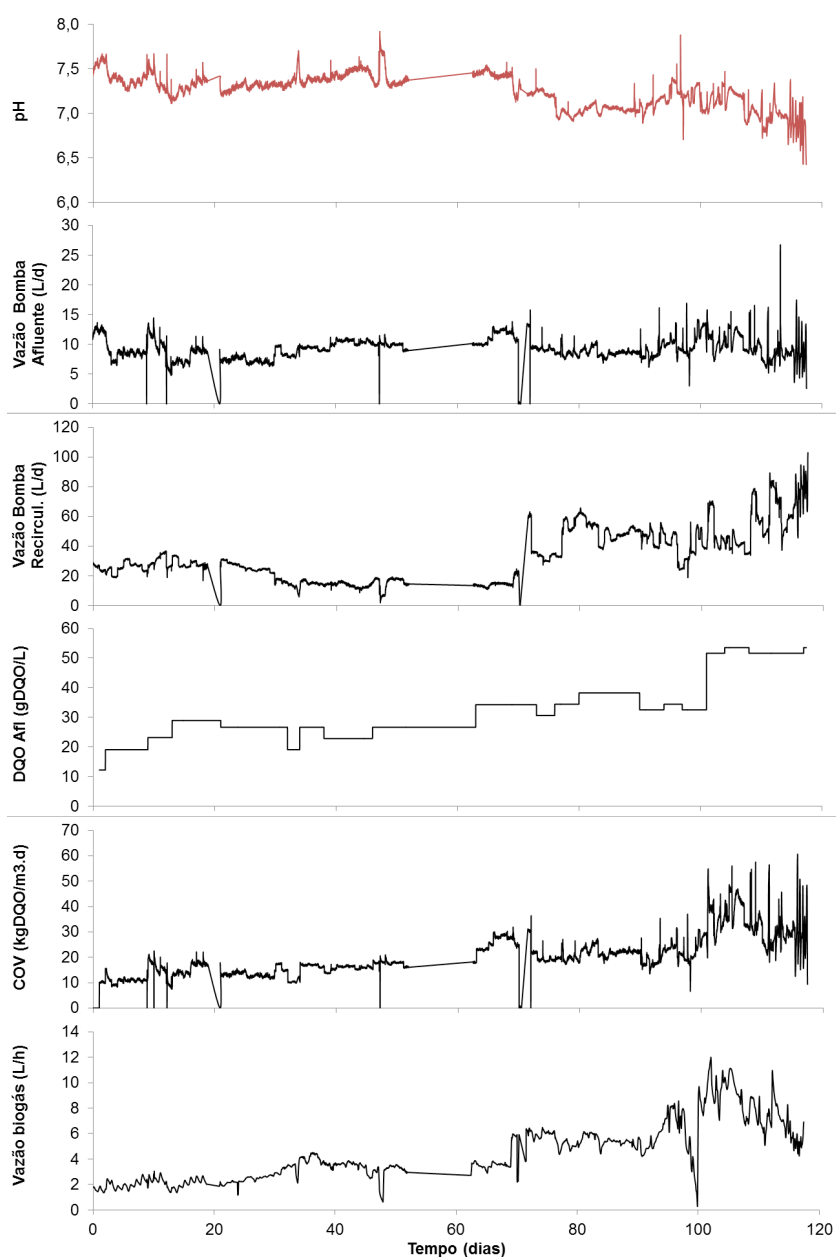


Figura 8. Parâmetros operacionais (rotação das bombas, temperatura, COV aplicada e produção de biogás) de acordo com o pH do reator UASB metanogênico, controlado pelo software Guardian®.

Produção de energia

O hidrogênio e o metano produzidos em um sistema anaeróbio digerindo glicerol residual podem ser utilizados para geração de energia térmica ou elétrica. Em uma estimativa preliminar, uma usina de biodiesel como a da Petrobrás em Quixadá (CE) produz aproximadamente vinte e cinco toneladas de glicerol por dia, com DQO em torno de 1.370 kg/m^3 . Supondo que a eficiência dos reatores UASB seja de 86%, o sistema produzirá cerca de $420 \text{ m}^3/\text{dia}$ de biogás no reator hidrogenogênico, com aproximadamente 80% de hidrogênio e $10.100 \text{ m}^3/\text{dia}$, de biogás no reator metanogênico, com 86% de metano. Isso é suficiente para gerar aproximadamente 3,7 MW de potência. Considerando-se que esse biogás (contendo hidrogênio e metano) seja usado como combustível em um grupo motogerador (com eficiência de 25%) e que o consumo médio de energia das famílias no Brasil seja de 160 kWh (EPE, 2017), estima-se que seja possível atender em torno de 4.150 famílias com energia elétrica.

Conclusões

Este trabalho permitiu inferir que:

Glicerol residual, oriundo da transesterificação de óleo de soja/sebo bovino, pode ser utilizado como substrato para um sistema de reatores UASB em série (hidrogenogênico seguido de metanogênico);

O reator UASB hidrogenogênico pode ser operado com COV de $70 \text{ kg DQO/m}^3.\text{d}$. Com esta COV, o reator converteu 12% da matéria orgânica contida no afluente, produzindo aproximadamente 15 L de biogás por dia, sendo 80% dele constituído de H_2 .

O reator UASB metanogênico pode ser operado com COV de $20 \text{ kg DQO/m}^3.\text{d}$, alimentado com o efluente do reator hidrogenogênico diluído (DQO_{afl} de 35 g DQO/L). Com estes parâmetros operacionais, o reator converteu 85% da matéria orgânica contida no afluente, produzindo 111 L de biogás por dia, com 86% de CH_4 .

Partindo-se da produção de biogás deste reator em escala de laboratório, estima-se que um sistema de reatores em escala real, sendo um UASB hidrogenogênico de 390 m^3 e um UASB metanogênico de 1500 m^3 , instalados

em uma usina que gera vinte e cinco toneladas de glicerol por dia, pode produzir cerca de 336 m³ de hidrogênio e 8.698 m³ de metano por dia e gerar cerca de 3,7 MW, suficientes para atender até 4.150 famílias com energia elétrica.

Referências

AKUTSU, Y.; LEE, D.-Y.; LI, Y.-Y.; NOIKE, T. Hydrogen production potentials and fermentative characteristics of various substrates with different heat-pretreated natural microflora.

International Journal of Hydrogen Energy, v. 34, n. 13, p. 5365-5372, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO – ANP. **Percentual obrigatório de biodiesel passa para 10%**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/noticias/4333-percentual-obrigatorio-de-biodiesel-passa-para-10>>. Acesso em: 02 out. 2018.

ASSAF NETO, A. **Os métodos quantitativos de análise de investimentos**. São Paulo: FIPECAFI, 1992. (Caderno de Estudos, n. 06)

ASSAWAMONGKHOLSIRI, T.; REUNGSANG, A.; PATTRA, S. Effect of acid, heat and combined acid-heat pretreatments of anaerobic sludge on hydrogen production by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1-8, 2013.

BAGHCHEHSARAEI, B.; NAKHLA, G.; KARAMANEV, D.; MARGARITIS, A.; REID, G. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 15, p. 4064-4073, 2008.

BARBIRATO, F.; CHEDAILLE, D.; BORIES, A. Propionic acid fermentation from glycerol: comparison with conventional substrates. **Applied Microbiology**, v. 47, p. 441-446, 1997.

BARBIRATO, F.; HIMMI, E. H.; CONTE, T.; BORIES, A. 1,3-propanediol production by fermentation: an interesting way to valorize glycerin from the ester and ethanol industries. **Industrial Crops and Products**, v. 7, n. 2-3, p. 281-289, 1998.

BAUCHOP, T. Inhibition of rumen methanogenesis by methane inhibition of rumen analogues. **Journal of Bacteriology**, v. 94, n. 1, p. 171-175, 1967.

BEZERRA, L. P. **Desenvolvimento de um sistema online, para a aquisição de parâmetros de projetos de reatores anaeróbios**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

BIEBL, H. Fermentation of glycerol by *Clostridium pasteurianum* - batch and continuous culture studies. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 18-26, 2001.

BIEBL, H.; ZENG, A. P.; MENZEL, K.; DECKWER, W. D. Fermentation of glycerol to 1,3-propanediol and 2,3-butanediol by *Klebsiellapneumoniae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 24-9, 1998.

BODÍK, I.; HUTŇAN, M.; PETHEŮOVÁ, T.; KALINA, A. Anaerobic treatment of biodiesel production wastes. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION OF SOLID WASTES AND ENERGY CROPS, 5., 2008, Tunisia: **Anais...** Tunisia: Hammamet, 2008.

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 etílicos 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 n.º 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.

BRASIL. Lei Nº 13.033, de 24 de setembro de 2014. Dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final; altera as Leis nº 9.478, de 6 de agosto de 1997, e 8.723, de 28 de outubro de 1993; revoga dispositivos da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005; e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, de 25/09/2014, n. 185, s. 1, p. 03, 2014.

BRASIL. Lei Nº 13.263, de 23 de março de 2016. Altera a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, Seção 1 de 24/03/2016.

BRASIL - Portal Oficial do Governo Federal do Brasil. **Combustível**: Produção de biodiesel atinge maior patamar nos últimos dez anos. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/infraestrutura/2018/05/producao-de-biodiesel-atinge-maior-patamar-nos-ultimos-dez-anos>>. Acesso em: 02 out. 2018.

BRUNSTERMANN, R.; WIDMANN, R. Development of a Combined Bio-Hydrogen and Methane Production Unit Using Dark Fermentation. In: 18th World Hydrogen Energy Conference 2010. Essen: WHEC, 2010. **Proceedings...** Disponível em: <http://juser.fz-juelich.de/record/135392/files/HP1b_7_Brunstermann.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2014.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated application of the UASB reactor and ponds for domestic sewage treatment in tropical regions**. 2003. 141. f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais). Universidade de Wageningen, Wageningen, Holanda.

CHANG, F.-Y.; LIN, C.-Y. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 1, p. 33-39, 2004

CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, n. 1-2, p. 56-64, 2001.

CHIDTHAISONG, A.; CONRAD, R. Specificity of chloroform, 2-bromoethanesulfonate and fluoroacetate to inhibit methanogenesis and other anaerobic processes in anoxic rice field soil. **Soil Biological and Biochemistry**, v. 32, n. 7, p. 977-88, 2000.

CHOOKAEW, T.; O-THONG, S.; PRASERTSAN, P. Fermentative production of hydrogen and soluble metabolites from crude glycerol of biodiesel plant by the newly isolated thermotolerant *Klebsiella pneumoniae* TR17. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 18, p. 13314-13322, 2012.

CONTRIM, L. H. B. **ASBR aplicado ao tratamento de efluente do processo de produção de biodiesel**. 2009. 171 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Engenharia Mauá, Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul.

DAVILA-VAZQUEZ, G.; ALATRISTE-MONDRAGÓN, F.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A.; RAZO-FLORES, E. Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: influence of initial substrate concentration and pH. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 4989-4997, 2008.

DUANGMANEE, T.; PADMASIRI, S. I.; SIMMONS, J. J.; RASKIN, L.; SUNG, S. Hydrogen production by anaerobic microbial communities exposed to repeated heat treatments. **Water Environmental Research**, v. 79, p. 975-983, 2007.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA – EPE - Anuário Estatístico de Energia Elétrica 2017, ano base 2016. 2017. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-160/topico-168/Anuario2017vf.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2018.

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

GÄTGENS, C.; DEGNER, U.; BRINGER-MEYER, S.; HERRMANN, U. Biotransformation of glycerol to dihydroxyacetone by recombinant Gluconobacteroxydans DSM 2343. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, n. 3, p. 553-9, 2007.

HIMMI, E. H.; BORIES, A.; BOUSSAID, A.; HASSANI, L. Propionic acid fermentation of glycerol and glucose by *Propionibacterium acidipropionici* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*. **Applied Microbiology**, v. 53, p. 435-440, 2000.

HOBSON, P. N.; MANN, S. O. the isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. **Journal of General Microbiology**, v. 25, p. 227-240, 1961.

HU, B.; CHEN, S. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 3266-3273, 2007.

HULSHOFF POL, L. W.; CASTRO LOPES, S. I.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. Anaerobic sludge granulation. **Water Research**, v. 38, p. 1376-1389, 2004.

HUTŇAN, M.; KOLESÁROVÁ, N.; BODÍK, IGOR; ŠPALKOVÁ, V.; LAZOR, M. Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF SLOVAK SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING, 36., 2009. Tatranske, Eslováquia. **Proceedings...** Tatranské Matliare: Slovak Society of Chemical Engineering, 2009.

HWANG, M. H.; JANG, N. J.; HYUN, S. H.; KIM, I. S. Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of Ph. **Journal of Biotechnology**, v. 111, n. 3, p. 297-309, 2004.

ITO, T.; NAKASHIMADA, Y.; SENBA, K.; MATSUI, T.; NISHIO, N. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 3, p. 260-265, 2005.

JARVIS, G. N.; MOORE, E. R.; THIELE, J. H. Formate and ethanol are the major products of glycerol fermentation produced by a *Klebsiella planticola* strain isolated from red deer. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p. 166-74, 1997.

- JOYNER, A. E.; WINTER, W. T.; GODBOUT, D. M. Studies on some characteristics of hydrogen production by cell-free extracts of rumen anaerobic bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 23, n. 3, p. 346-353, 1977.
- JUNG, K.-W.; KIM, D.-H.; SHIN, H.-S. A simple method to reduce the start-up period in a H₂-producing UASB reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 2, p. 1466-1473, 2011.
- KANG, J.-H.; KIM, D.; LEE, T.-J. Hydrogen production and microbial diversity in sewage sludge fermentation preceded by heat and alkaline treatment. **Bioresource Technology**, v. 109, p. 239-243, 2012.
- KIM, S.-H.; HAN, S.-K.; SHIN, H.-S. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 199-207, 2006.
- KUMAR, S.; PUNIYAA, K.; PUNIYTA, M.; DAGAR, S. S.; SIROHI, S. K.; SINGH, K.; GRIFFITH, G. W. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 1557-1566, 2009.
- LEE, M. -J.; SONG, J. -H.; HWANG, S. -J. Effects of acid pre-treatment on bio-hydrogen production and microbial communities during dark fermentation. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 3, p. 1491-1493, 2009.
- LEE, P. C.; LEE, W. G.; LEE, S. Y.; CHANG, H. N. Succinic acid production with reduced by-product formation in the fermentation of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* using glycerol as a carbon source. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 72, n. 1, p. 41-8, 2001.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 3, p. 275-281, 2004.
- LUO, G.; XIE, L.; ZHOU, Q.; ANGELIDAKI, I. Enhancement of bioenergy production from organic wastes by two-stage anaerobic hydrogen and methane production process. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8700-8706, 2011.
- MACLEOD, F. A.; GUIOT, S. R.; COSTERTON, J. W. Layered structure of bacteria aggregates produced in a upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. **Applied Environmental Technology Microbiology**, v. 56, p. 1598-1607, 1990.
- MILLER, T. L.; WOLIN, M. J. Formation of formate and hydrogen by *Ruminococcus albus*. **Journal of Bacteriology**, v. 116, n. 2, p. 836-846, 1973.
- MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Effect of various pretreatment methods on anaerobic

mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate.

Bioresource Technology, v. 99, n. 1, p. 59-67, 2008.

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

NING, Y. Y.; JIN, D. W.; SHENG, G. P.; HARADA, H.; SHI, X. -Y. Evaluation of the stability of hydrogen production and microbial diversity by anaerobic sludge with chloroform treatment.

Renewable Energy, v. 38, n. 1, p. 253-257, 2012.

NISSILA, M. E.; LI, Y. -C.; WU, S. -Y.; LIN, C. -Y.; PUHAKKA, J. A. Hydrogenic and methanogenic fermentation of birch and conifer pulps. **Applied Energy**, v. 100, p. 58-65, 2012.

NISSILA, M. E.; TAHTI, H. P.; RINTALA, J. A.; PUHAKKA, J. A. Thermophilic hydrogen production from cellulose with rumen fluid enrichment cultures: effects of different heat treatments. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 2, p. 1482-1490, 2011.

OH, S. -E.; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 22, p. 5186-5190, 2003.

OLGUIN, E. J.; SANCHEZ, G.; HERNANDEZ, E. **Environmental biotechnology and Cleaner Bioprocesses**. Philadelphia: Taylor & Francis, 2000. p. 319.

PAPANIKOLAOU, S.; FAKAS, S.; FICK, M.; CHEVALOT, I.; GALIOTOPANAYOTOU, M.; KOMAITIS, M.; MARC, I.; AGGELIS, G. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 1, p. 60-71, 2008.

PEREIRA RAMIREZ, O.; QUADRO, M. S.; ANTUNES, R. M.; KOETZ, P. R. Influência da recirculação e da alcalinidade no desempenho de um reator UASB no tratamento de efluente de suinocultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 103-110, 2004.

PIELA, P.; ZELANAY, P. Researchers redefine the DMTC roadmap. **Fuel Cell Review** v. 1, p.17-23, 2004.

RATHMANN, R.; SZKLO, A.; SCHAEFFER, R. Targets and results of the Brazilian Biodiesel Incentive Program – Has it reached the promised land? **Applied Energy**, v. 97, p. 91-100, 2012.

ROSSI, D. M.; COSTA, J. B.; SOUZA, E. A.; PERALBA, M. D. C. R.; SAMIOS, D.; AYUB, M. A. Z. Comparison of different pretreatment methods for hydrogen production using environmental microbial consortia on residual glycerol from biodiesel. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 8, p. 4814-4819, 2011

SCHAUDER, R.; SCHINK, B. *Anaerovibrio glycerini* sp. nov., an anaerobic bacterium fermenting glycerol to propionate, cell matter, and hydrogen. **Archives of Microbiology**, v. 152, n. 1989, p. 473-478, 1989.

SILES LÓPEZ, J. A.; MARTÍN SANTOS, M. D. L. A.; CHICA PÉREZ, A. F.; MARTÍN MARTÍN, A. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5609-15, 2009.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R; LEMA, J. M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, v. 27, n. 8, p. 1361-1376, 1993.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Tennessee: Vanderbilt University, 1996. 394 p.

TORTORA, G. R. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 920 p.

VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J. -J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 24, p. 4726-4730, 2001.

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

VIANA, Q. M. **Diversidade microbiológica e rendimento da produção fermentativa de hidrogênio a partir de glicerol**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

WAGNER, M.; LOY, A.; NOGUEIRA, R.; PURKHOLD, U.; LEE, N.; DAIMS, H. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 81, p. 665-680, 2002.

WANG, J.; WAN, W. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 2934-2941, 2008.

WETHMAR, M.; DECKWER, W. -D. Semisynthetic culture medium for growth and dihydroxyacetone production by *Gluconobacter oxydans*. **Biotechnology Techniques**, v. 13, p. 283-287, 1999.

WOO, J.; SONG, Y. Influence of temperature and duration of heat treatment used for anaerobic seed sludge on biohydrogen fermentation. **KSCE Journal of Civil Engineering**, v. 14, n. 2, p. 141-147, 2010.

XING, D.; REN, N.; RITTMANN, B. E. Genetic diversity of hydrogen-producing bacteria in an acidophilic ethanol-H₂-coproducing system, analyzed using the [Fe]-hydrogenase gene.

Applied and Environmental Microbiology, v. 74, n. 4, p. 1232-1239, 2008.

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**, v. 18, p. 213-219, 2007.

YAZDANI, S. S.; GONZALEZ, R. Engineering *Escherichia coli* for the efficient conversion of glycerol to ethanol and co-products. **Metabolic Engineering**, v. 10, n. 6, p. 340-351, 2008.

YU, H.; ZHU, Z.; HU, W.; ZHANG, H. Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1359-1365, 2002.

ZHANG, A.; YANG, S. -T. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 1346-1351, 2009.

ZHANG, G.; MA, B.; XU, X.; LI, C.; WANG, L. Fast conversion of glycerol to 1,3-propanediol by a new strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 3, p. 256-260, 2007.

ZHU, H.; BÉLAND, M. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 14, p. 1980-1988, 2006.



Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO