

ERLON LOPES PEREIRA

**TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA INDÚSTRIA DE BIODIESEL
UTILIZANDO REATOR ANAERÓBIO EM BATELADAS SEQUENCIAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Engenharia Agrícola para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

P436t
2017
Pereira, Erlon Lopes, 1988-
Tratamento da água residuária da indústria de biodiesel
utilizando reator anaeróbio em bateladas sequenciais / Erlon
Lopes Pereira. – Viçosa, MG, 2017.
xx, 235f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Alisson Carraro Borges.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Águas residuais - Eliminação. 2. Águas residuais -
Aspectos ambientais. 3. Biomassa. 4. Biodegradação.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Agrícola. Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola.
II. Título.


CDD 22 ed. 628.3

ERLON LOPES PEREIRA

**TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA NA INDÚSTRIA DE BIODIESEL
UTILIZANDO REATOR ANAERÓBIO EM BATELADAS SEQUENCIAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

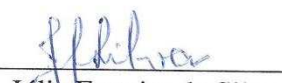
APROVADA: 25 de agosto de 2017.



André Pereira Rosa



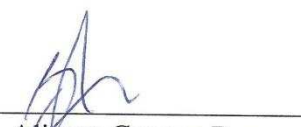
Maria Lúcia Calijuri



Júlia Ferreira da Silva



Ann Honor Munteer
(Coorientadora)



Alisson Carraro Borges
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Na realização da pesquisa que gerou esta tese tive a colaboração de instituições e diversos profissionais levando ao bom desenvolvimento do trabalho. Assim como, a participação da família e dos amigos, que também contribuíram de maneira essencial para atingir, com êxito, os objetivos estabelecidos. Dessa forma, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta tese. Em especial, quero expressar meus sinceros agradecimentos:

À Deus, por me dar forças, saúde e determinação iluminando meu caminho ajudando a vencer mais um obstáculo.

Aos amores da minha vida Simone Lopes Pereira (Mãe), Manoela Cristina Lopes Messias (irmã), Neide Lopes Pereira (avó), Fernanda Maira Pereira de Faria (Tia), Guilherme Augusto (Sobrinho), Daniela e Cristine (Primas), Eliana (Tia) que estiveram ao meu lado durante toda vida existencial e acadêmica (graduação, mestrado e doutorado) apoiando, ajudando, aconselhando e como sempre contribuindo para o meu crescimento.

À todo restante de minha família pelo apoio contínuo ao longo de minha caminhada.

Ao meu orientador de doutorado professor Alisson Carraro Borges pela orientação, ensinamentos, confiança, seriedade, empenho e amizade durante meu doutorado dando total apoio a realização deste trabalho.

As minhas coorientadoras de doutorado professoras Ann Honor Munteer e Fernanda Fernandes Heleno pela paciência, ensinamentos e apoio durante essa fase de minha vida.

Aos meus orientadores de mestrado, professora Dra. Teresa Cristina Brazil de Paiva e ao prof. Dr. Flávio Teixeira da Silva pela orientação, ensinamentos, confiança, seriedade, empenho e amizade durante meu mestrado dando total apoio a realização deste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica que me escolheram como seu orientador ao longo do meu doutorado: Tiago Costa, Karine Rabelo, Greice Silva, Danilo Machado, Joyce Tanure, Guilherme Costa, Juliana Pires, Ciro Kill Paixão, Daniel Vidal, Guilherme M. Bouzada, Bruno Bezerra e durante o meu mestrado: Eduardo A. R. da Silva, Fernando A. Abreu, Patricia Saxer, Caroline M. Akamatsu, Douglas Nobrega, Walney Cruz, Aurélio A. Teixeira, Debora Emboada, Emanuel Gomes (em memória) e Jaiza Mota. Acredito que poder orientá-los fez toda diferença no meu crescimento pessoal e profissional tornando-me uma pessoa/professor/orientador melhor, também agradeço a todos pela constante dedicação, respon-

sabilidade e compromisso com os experimentos realizados. Sem a participação de cada um seria impossível ter chegado até aqui.

Ao profissional que me espelho como pesquisador, professor e PhD. Claudio Milton Montenegro Campos que me iniciou na vida acadêmica me orientando na graduação, e com certeza foi o responsável para que eu seguisse a linha de pesquisa que estou até hoje porque ele me ensinou.

Aos professores de alunos do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, principalmente ao setor de Engenharia Química que me deram a oportunidade de lecionar como professor substituto durante 1,5 ano.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa em Qualidade Ambiental: Simão, Amanda, Barbara, Susu, Renan, Vinicius, Claudete, Tamara, Magno e Edcássio pela paciência e amizade ao longo do doutorado.

Aos funcionários da EEL-USP, técnicos Cleber Tomazi e Lucinha, que além de contribuir significativamente com todo experimento e pesquisa, me ensinaram “saberes da vida” o que contribuiu tanto para minha formação profissional quanto pessoal durante o mestrado.

Aos meus companheiros de trabalho durante o mestrado Dr. Claudinei F. de Melo, M.Sc. Davi Leandro, prof. Alex Visconti, M.Sc. Daniel Clemente, prof. (a) Juliana Furlani, M.Sc. João Evandro Brandão Tavares, colega Eryka Almeida, técnico Zé Cobrinha e técnico Zé Moreira, agradeço pela paciência, ensinamentos e carinho que tiveram comigo durante esses 2 anos.

Aos meus grandes amigos e irmãos de coração Rodrigo Alves Barros, Junimar José Américo de Oliveira e Fátima Ribas pela tolerância e ensinamentos de vida, dignidade, amizade incondicional e amor, colaborando para minha formação como homem, pesquisador e professor.

A família “REP SEM NOME” Eduardo A. R. da Silva (Du), Diogo Barros (Digs), Sérgio M. Neto, Matheus Scanavachi (Teteu), Jaqueline Pazini (Jaque) e Luana Lima Silva pelo amor, carinho e amizade verdadeira que levarei comigo ao longo da vida.

Aos meus amigos pesquisadores Fabricio Motteran, Julia Ferreira da Silva, Regina B. V. Boas, Renata Vilas Boas, Karen Caroline Paiva, Ronaldo Fia, Fatima R. L. Fia e Luiz Fernando C. de Oliveira agradeço pelos constantes ensinamentos, paciência e contribuições em todos os aspectos de minha vida durante minha graduação, no começo da minha estrada.

Aos meus amigos de Belo Horizonte, Lavras, Rio de Janeiro, Itajubá, São Paulo e Lorena: Marcos Alves, Henrique Apolinário, Marcelo do Castelo, Luiz Guilherme Antunes, Ale-

xandre Zanini, Fernanda de Oliveira, Thiago Opolski, agradeço pela ajuda constante, companhia nas baladas, festas e alegria concedida ao longo da graduação, mestrado e doutorado.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras (UFLA) junto ao Departamento de Engenharia e ao Laboratório de Análises de Águas (LAADEG) pela oportunidade de realizar uma graduação de excelência em Engenharia Agrícola possibilitando o começo da minha carreira acadêmica na área que me mantenho até hoje.

Agradeço a Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL-USP) junto ao programa de pós-graduação em Biotecnologia Industrial pela estrutura concedida para realização do meu mestrado.

Agradeço a Universidade Federal de Viçosa (UFV) junto ao programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola pela estrutura concedida para realização do meu trabalho de doutorado.

Agradeço a CAPES, CNPq, FAPESP, UFLA, USP e UFV pelo financiamento de bolsas de estudo, projeto de pesquisa, manutenção de laboratório e outras fontes de renda que possibilitaram a realização desta pesquisa.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1- Valores disponibilizados pelos autores referentes ao potencial de geração de energia elétrica por meio do metano produzido em processos anaeróbios utilizando no tratamento de diversos resíduos em reatores anaeróbios e biodigestores.....	1
Tabela 1.2- Comportamento do pH em AnSBBR tratando ARIB sobre diversas condições operacionais.....	4
Tabela 1.3- Eficiências de remoção de matéria orgânica em termos de DQO, $DBO_5^{20^\circ C}$ e sólidos suspensos totais (SST) em função da temperatura sob três tempos de reação (T_R).....	6
Tabela 1.4- Influência do aumento da carga orgânica aplicada via aumento de concentração de DQO afluente na eficiência de remoção de DQO e produção de metano.	8
Tabela 1.5- Efeito da intensidade de agitação no valor da constante cinética de degradação de matéria orgânica (k), desfragmentação de biomassa e eficiência de remoção de DQO.....	10
Tabela 3.1- Matérias-primas oleaginosas ao redor do mundo de acordo com Tosacano et al. (2011); Alptekin et al. (2012); Yang et al. (2012); Rincon et al. (2014); Chai et al. (2014)....	21
Tabela 3.2- Matérias-primas oleaginosas encontradas no Brasil de acordo com Padula et al. (2012), Costa et al. (2013) e Castanheira et al. (2014).....	22
Tabela 3.3- Investimentos mundiais no setor de energias renováveis de acordo com a REN	21
.....	26
Tabela 3.4- Indicadores de energias renováveis no mundo.....	27
Tabela 3.5 - Variáveis físicas e químicas de caracterização da ARB encontrados na literatura entre 2005 e 2013.	29
Tabela 3.6 – Comparação das características de ARB obtida em dois processos de transesterificação distintos.....	30
Tabela 3.7 – Processos utilizados no tratamento de ARB mencionados por Ngamlerdpokin et al. (2011), Rattanapan et al. (2011), Pitakpoolsil e Hunson (2013), Daud et al. (2014) e Veljković et al. (2014).....	31
Tabela 4.1- Parâmetros de caracterização da biomassa anaeróbia utilizada como inóculo do AnSBR neste estudo	76
Tabela 4.2- Fatores avaliados na matriz 2^{k-3} e valores dos níveis alto (+1), baixo (-1) e médio (0) de cada fator.....	77
Tabela 4.3- Matriz com o planejamento experimento do tipo 2^{k-3} com os valores de cada fator utilizados sinergicamente em cada ensaio.....	78
Tabela 4.4- Exames, determinações, procedimentos e fontes metodológicas utilizadas nas análises físico-químicas da ARIB e biomassa realizados durante o experimento.....	80
Tabela 4.5- Eficiência de remoção de DQO da ARIB em AnSBR operando nas oito condições analisadas.....	81
Tabela 4.6- Análise de variância (ANOVA) realizada com os resultados da Tabela 4.4.....	82
Tabela 4.7- Valores dos efeitos e coeficientes de regressão para o modelo que descreve a eficiência de remoção de DQO em função dos fatores analisados.....	84
Tabela 4.8- Dados para a comparação entre os valores médios obtidos para cada experimento de validação (x_v) e valores previstos pelo modelo.	89
Tabela 4.9- Variação entre os valores afluente e efluente dos parâmetros de tamponamento e indicativa de geração (Δ negativo) e consumo (Δ positivo).....	94
Tabela 4.10- Relação entre as massas de alcalinidade ou AVT afluentes e as massas de DQO afluentes utilizadas em cada experimento	97
Tabela 5.1- Concentrações dos parâmetros relacionados a biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR.	105
Tabela 5.2- Fatores avaliados na matriz do DCC valores dos níveis alto (+1), baixo (-1) e médio (0) de cada fator.....	106

Tabela 5.3- Matriz com o planejamento experimento do tipo DCC com os valores de cada fator utilizados sinergicamente em cada experimento.....	106
Tabela 5.4- Eficiência de remoção de DQO da ARIB em AnSBR operando nas 15 condições analisadas.....	108
Tabela 5.5- Resultados obtidos por diferentes pesquisadores que estudaram o tratamento da ARIB em reatores anaeróbios operando em batelada com biomassa imobilizada (AnSBBR) e com biomassa granulada e agitação mecânica (AnSBR).	109
Tabela 5.6- Análise de variância (ANOVA) realizada com os resultados da Tabela 5.4.....	110
Tabela 5.7- Valores dos coeficientes de regressão para o modelo que descreve a eficiência de remoção de DQO em função dos fatores analisados.	117
Tabela 5.8- Dados para a comparação entre os valores médios obtidos para cada experimento de validação (x_v) e valores previstos pelo modelo.	122
Tabela 5.9- Variação entre os valores afluente e efluente dos parâmetros de tamponamento e indicativa de geração (Δ negativo) e consumo (Δ positivo).	128
Tabela 6.1- Composição da ARIB utilizada ao longo do experimento	137
Tabela 6.2- Parâmetros de caracterização da biomassa anaeróbia utilizada como inóculo do reator AnSBR.	138
Tabela 6.3- Exames, determinações, procedimentos e fontes metodológicas utilizadas nas análises bioquímicas da ARIB e biomassa realizados durante o experimento (complementação da Tabela 4.4)	139
Tabela 6.4- Componentes esperados na amostra efluente do AnSBR tratando ARIB e o equivalente de contribuição de DQO para cada componente, adaptado de Bravo et al. (2014).	148
Tabela 6.5- Concentração de sólidos, condutividade elétrica e turbidez da ARIB utilizada como afluente do AnSBR.....	157
Tabela 6.6- Valores de massa de lodo retida dentro do reator (MI), tempo de reação de cada batelada (T_R), temperatura de operação do reator (T), eficiências teóricas de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (E_1 e E_2) e eficiência de remoção de matéria orgânica obtida experimentalmente (E_{Exp})	162
Tabela 6.7- Índices de diversidade e riqueza de unidades taxonômicas operacionais (UTOs)	176
Tabela 7.1- Composição da ARIB utilizada ao longo do experimento	185
Tabela 7.2- DQO _T afluente, COV _A e número de coletas realizadas em cada fase.	187
Tabela 7.3- Análise de variância (ANOVA) entre as quatro fases considerando como repetição apenas as seis amostras coletadas durante o estado estacionário de cada fase.	195
Tabela 7.4- Valores médios da DQO _T da ARIB afluente ao AnSBR, carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR e eficiência de remoção de DQO para cada fase.	196
Tabela 7.5- Influência da DQO _T no desempenho de um AnSBR tratando soro de queijo avaliada por Mockaitiset al. (2006).	197
Tabela 7.6- Valores de COV _A e concentrações de DQO e sólidos na ARIB afluente das fases 1, 2, 3 e 4	205
Tabela 7.7- Concentração de biomassa presente no AnSBR, DQO afluente e COB aplicada em cada fase do experimento considerando o volume reacional de 5L.	208
Tabela 7.8- Cargas orgânicas volumétrica (COV _A) e biológica (COB) aplicadas, carga orgânica volumétrica removida (COV _R), eficiência de remoção de DQO (E) e produção teórica de metano (Y) estudadas no tratamento anaeróbio da ARIB.	210

Tabela 7.9- Resumo dos valores de DQO inicial e residual da ARIB, coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica obtidos após o ajuste do modelo de cinética de primeira ordem (Equação 7.2) e pelo modelo de cinética de primeira ordem considerando a concentração residual (Equação 7.3) aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4 durante o estado estacionário para cada carga orgânica volumétrica e carga orgânica biológica aplicada.	212
Tabela 7.10- Análise da variância dos modelos descritos pelas equações 7.2 e 7.3 ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4 durante o estado estacionário	214
Tabela 7.11- Resultados obtidos no experimento realizado por Selma et al. (2010).	222
Tabela 7.12- Resultados obtidos no experimento realizado por Lovato et al. (2012) ajustando a Equação 7.3 aos dados coletados.....	222
Tabela 7.13- Dados obtidos no experimento realizado por Silva et al. (2013) ajustando a Equação 7.3 aos dados coletados.....	222

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1- Configurações dos impelidores utilizados em AnSBR.....	10
Figura 1.2- AnSBR com chicanas longitudinais inseridas na parede do reator. Fonte: Novaes (2008). 12	
Figura 3.1- Representação esquemática do processo de produção de biodiesel. Fonte: Própria	23
Figura 3.2- Tipos de transporte para a assimilação de glicerol pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> elaborado por Neves et al. (2004). Fonte: Rivaldi (2008).....	37
Figura 4.1- AnSBR utilizado para tratamento da ARIB.	74
Figura 4.2- Planta do impelidor utilizado no AnSBR. A. Corte transversal da peça. B. Vista superior da peça (medida em mm).	75
Figura 4.3- Gráfico de Pareto elaborado dos resultados de remoção de DQO para os fatores F1 a F6 apresentados na Tabela 4.5 (Quadrado médio do erro puro de 24,26315). F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: DQO _T do afluente (mg L ⁻¹). F6: tempo de reação (h).....	83
Figura 4.4- Eficiência de remoção de DQO observados experimentalmente vs resultados de eficiência de remoção de DQO estimadas pelo modelo da Equação 4.5.	85
Figura 4.5 - Análise dos resíduos do modelo apresentado na Equação 4.5. a- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos. b- Diagnóstico dos <i>Outliers</i> dos resíduos. c- Normalidade dos dados referentes ao resíduo do modelo estatístico. d- Diagnóstico da independência dos resíduos.....	87
Figura 4.6 - Comportamento do pH, acidez e alcalinidades do afluente e efluente de cada experimento. Legenda- AP: Alcalinidade Parcial. AI: Alcalinidade Intermediária. AT Alcalinidade Total. AB: Alcalinidade Bicarbonato. A-AVT: Alcalinidade a Ácidos Voláteis. AVT: Ácidos Voláteis Totais. Unidades- pH e AI/AP: adimensional. AP, AI, AT, AB, A-AVT: mg L ⁻¹ em termos de CaCO ₃ . AVT: mg L ⁻¹ em termos de CH ₃ COOH.....	93
Figura 4.7- Resultado da análise de componentes principais utilizando os resultados apresentados na Tabela 8. Legenda - A1: ΔpH. A2: ΔAI. A3: ΔAP. A4: ΔAT. A5: ΔAI/AP. A6: ΔA-AVT. A7: ΔAVT. A8: ΔAB.	95
Figura 4.8- Resultado da Análise de Componentes Principais utilizando os resultados apresentados na Tabela 4.9. Legenda – B1: AP/DQO. B2: AI/DQO. B3: AT/DQO. B4: A-AVT/DQO. B5: AVT/DQO. B6: AB/DQO.	97
Figura 5.1- Blocos elaborados no software Statistica 10.0 para indicação do efeito das interações linear e quadrática dos fatores F1, F2 E F3 (região horizontal) com os resultados de remoção de DQO em cada situação (região vertical). Legenda- F1: Temperatura (°C). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h).....	111
Figura 5.2- Gráfico de Pareto elaborado com os resultados de remoção de DQO para os fatores F1 a F3 apresentados na Tabela 5.4. Legenda - F1: Temperatura (°C). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h). L: Interação linear. Q: Interação quadrática.	112
Figura 5.3- Regressão linear entre os valores da massa de inóculo e eficiência de remoção de DQO (E) obtidos na análise para otimização do desempenho do AnSBR operando no tratamento da ARIB.....	113
Figura 5.4- Efeito da temperatura (F1) e da massa de inóculo (F2) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando o tempo de reação de 20 h com soma de quadrados do erro puro de 13,44882.....	114
Figura 5.5- Efeito da temperatura (F1) e do tempo de reação (F3) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando a massa de inóculo de 65350 mg de SSV.	115
Figura 5.6- Efeito do tempo de reação (F3) e da massa de inóculo (F2) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando a temperatura 40 °C.	116

Figura 5.7- Eficiência de remoção de DQO observados experimentalmente versus resultados de eficiência de remoção de DQO estimadas pelo modelo da Equação 5.1.....	118
Figura 5.8- Análise dos resíduos do modelo apresentado na Equação 4.4. a- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos. b- Diagnóstico dos <i>Outliers</i> dos resíduos. c- Normalidade dos dados referentes ao resíduo do modelo estatístico. d- Diagnóstico da independência dos resíduos.....	120
Figura 5.9- Comportamento do pH (a), AP: alcalinidade parcial (b), AI: alcalinidade intermediária (c), AT: alcalinidade total (d), A-AVT: alcalinidade a ácidos voláteis totais (e), AVT: ácidos voláteis totais (f), AI/AP: relação de Ripley (g), AB: alcalinidade bicarbonato (h) do afluente e efluente de cada experimento. Unidades- pH e IA/PA: adimensional. AP, AI, AT, A-AVT, AB: mg L ⁻¹ em termos de CaCO ₃ . AVT: mg L ⁻¹ em termos de CH ₃ COOH. ...	126
Figura 5.10- Resultado da análise de componentes principais realizada entre os parâmetros de tamponamento e as cargas aplicadas ao AnSBR e fatores controlados nos níveis alto (A), médio (M) e baixo (B). F1: Temperatura de operação (°C). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h). F4: carga orgânica volumétrica aplicada em termos de DQO (g L ⁻¹ d ⁻¹). F5:carga orgânica biológica (mg g ⁻¹ d ⁻¹ em termos de DQO/SSV). A1: ΔpH. A2: ΔAP. A3: ΔAP. A4: ΔAT. A5: Δ A-AVT. A6: ΔAVT. A7: ΔAI/AP. A8: ΔAB. As letras A, M, B que seguem os fatores indicam os valores alto (A), médio (M) e baixo (B) utilizado para cada fator.	129
Figura 6.1- Demanda química de oxigênio nas amostras afluente e efluente ao AnSBR e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DBO ₅ 20°C da partida ao estado estacionário.....	143
Figura 6.2- Demanda bioquímica de oxigênio nas amostras afluente e efluente ao AnSBR e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DBO ₅ ^{20°C} da partida ao estado estacionário.....	144
Figura 6.3- Perfil da biodegradabilidade do afluente e do efluente do AnSBR da partida ao estado estacionário.....	145
Figura 6.4- Carga orgânica volumétrica aplicada, removida e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO no AnSBR da partida ao estado estacionário.....	146
Figura 6.5- Carga orgânica volumétrica aplicada, removida e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DBO ₅ ^{20°C} no AnSBR da partida ao estado estacionário.....	146
Figura 6.6- Concentrações afluente e efluente de ácidos voláteis totais (AVT) e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO no AnSBR da partida ao estado estacionário.	149
Figura 6.7- Valores do pH efluente e temperatura de operação no AnSBR da partida ao estado estacionário.....	151
Figura 6.8- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade parcial (AP) ao longo dos 15 ciclos de operação.....	152
Figura 6.9- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade intermediária (AI) ao longo dos 15 ciclos de operação.	153
Figura 6.10- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade bicarbonato (AB) ao longo dos 15 ciclos de operação.....	153
Figura 6.11- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade total (AT) ao longo dos 15 ciclos de operação.	154
Figura 6.12- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao reator AnSBR da alcalinidade á ácidos voláteis totais (A-AVT) ao longo dos 15 ciclos de operação.....	154
Figura 6.13- Eficiências de remoção de DQO (E) e valores de relação de Ripley no afluente e efluente ao AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.	155
Figura 6.14- Concentrações de sólidos totais (ST) e nas frações fixa (SFT) e volátil (SVT) encontradas no efluente do AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.....	157

Figura 6.15- Condutividade elétrica (CE) e concentrações de sólidos dissolvidos nas frações total (SDT), fixa (SDF) e volátil (SDV) encontradas no efluente do AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.....	158
Figura 6.16 - Turbidez e concentrações de sólidos suspensos nas frações total (SST), fixa (SSF) e volátil (SSV) encontradas no efluente ao AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.	159
Figura 6.17- Massa de microrganismos (biomassa) disponível para biodegradação do glicerol temperatura média de operação do reator em cada ciclo e massa de microrganismos (biomassa) perdida após cada ciclo encerrado. OBS: Os desvios padrões são referentes as três repetições realizadas na análise de sólidos.	161
Figura 6.18- Composição do EPS no efluente do reator AnSBR em termos de concentrações de polissacarídeos e proteínas e relação entre as massas observadas ao longo dos 15 ciclos de operação.....	165
Figura 6.19- Composição do EPS no efluente do reator AnSBR em termos de relação massa/massa de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV observadas ao longo dos 15 ciclos de operação.....	167
Figura 6.20- Micrografia em microscópio eletrônico de varredura da biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR. Figura 6.20a- Indicação da coesão dos grânulos (ponto 1), dos cristais inorgânicos (ponto 2) e material amorfo (ponto 3). Figura 6.20b- Indicação das morfologias microbianas: bacilos (ponto 4), cocos (ponto 5) e filamentosas (ponto 6).	168
Figura 6.21- Perfil geral da análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR.....	169
Figura 6.22- Micrografia em microscópio eletrônico de varredura da biomassa mantida dentro do reator AnSBR para tratamento da ARIB após 15 ciclos de operação. Figura 6.22a- Indicação da desfragmentação da biomassa. Figura 6.22b- Indicação do aspecto corrosivo da biomassa provocado pelos AVT acumulados (ponto 7). Figura 6.22c- Indicação da diminuição da densidade de bactérias presentes na biomassa.	172
Figura 6.23- Perfil geral da análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da biomassa utilizada no reator AnSBR para o tratamento da ARIB após 15 ciclos de operação. Figuras 6.23a e 6.23b são referentes a mesma amostra analisada em repetições diferentes.	173
Figura 6.24- Perfis eletroforéticos e resultados da análise de agrupamento da PCR-DGGE gerados a partir das amostras de biomassa utilizando-se <i>primers</i> que têm como alvo as sequências codificadoras das regiões V6 a V9 do 16S rDNA. Amostra 1 – amostra da biomassa utilizada na inoculação. Amostra a – amostra da biomassa aclimatada a ARIB e coletada após o azedamento do reator AnSBR.....	175
Figura 6.25- Diagramas de Venn construídos com base nas matrizes binárias (presença e ausência de UTOs) geradas pelo o <i>software</i> BioNumerics (versão 6.0). Amostra 1 – amostra da biomassa utilizada na inoculação. Amostra a – amostra da biomassa aclimatizada a ARIB e coletada após o azedamento do reator AnSBR.....	177
Figura 7.1- Demanda bioquímica de oxigênio ($DBO_5^{20^\circ C}$) afluyente e efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de $DBO_5^{20^\circ C}$ (E) durante as fases F1, F2, F3 e F4.	190
Figura 7.2- DQO_T afluyente ao AnSBR, DQO_S efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de DQO durante as fases F1, F2, F3 e F4.	190
Figura 7.3- Valores de carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A) ao AnSBR em termos de DQO durante as fases F1 e F2 (Figura 7.3a) e F3 e F4 (Figura 7.3b).	192
Figura 7.4- Valores da DQO_T afluyente ao AnSBR, DQO_S efluente ao AnSBR durante as fases F1 (Figura 7.4a), F2 (Figura 7.4b), F3 (Figura 7.4c) e F4 (Figura 7.4d).....	194
Figura 7.5- Valores de pH afluyente e efluente ao AnSBR e valores médios de temperatura operacional coletados durante as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).....	198

Figura 7.6- Concentrações das alcalinidades intermediária (Figura 7.6a), parcial (Figura 7.6b), a ácidos voláteis totais (Figura 7.6c), bicarbonato (Figura 7.6d), total (Figura 7.6e) e concentração dos ácidos voláteis totais (Figura 7.6f) presentes no afluente e no efluente do reator AnSBR ao longo das fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4). Unidades- IA/PA: adimensional. Concentração das alcalinidades AP, AI, AT, A-AVT, AB: mg L^{-1} em termos de CaCO_3 . Concentração dos AVT: mg L^{-1} em termos de CH_3COOH	202
Figura 7.7- Concentrações de sólidos totais (ST), sólidos fixos totais (SFT) e sólidos voláteis totais (SVT) no efluente do AnSBR nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).	206
Figura 7.8- Concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) no efluente do AnSBR nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).	207
Figura 7.9- Carga orgânica volumétrica removida ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) e produções teóricas de metano mínimas esperadas (P_1) e máximas esperadas (P_2) para as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).	211
Figura 7.10- Gráficos de calibração dos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.10a, c, e, g – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.2 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Figura 7.10b, d, f, h – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.3 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.....	218
Figura 7.11- Gráficos de normalidade dos resíduos gerados pelos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.11a, c, e, g – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.2 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Figura 7.11b, d, f, h – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.3 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.	218
Figura 7.12- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos gerados pelos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.12a, c, e, g – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.2 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Figura 7.12b, d, f, h – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.3 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.....	220
Figura 7.13- Concentração de polissacarídeos e proteínas e relação m/m entre polissacarídeos e proteínas no efluente do AnSBR tratando ARIB ao longo das fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3), 4 (F4).	220
Figura 7.14- Concentração de EPS no efluente do AnSBR em termos de relação massa/massa de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV observadas nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3), 4 (F4).	220
Figura 7.15- Perfis de bandas da eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Legenda: Amostra 1 – lodo utilizado na partida (inoculação). Amostra 2 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 1. Amostra 3 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 2. Amostra 4 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 3. Amostra 5— lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 4.....	226
Figura 7.16- Diagramas de Venn construídos com base nas matrizes binárias (presença e ausência de UTOs) geradas pelo o <i>software</i> BioNumerics (versão 6.0) demonstrando o número de UTOs únicas e compartilhadas pelas comunidades microbianas das amostras. Legenda: Amostra 1 – lodo utilizado na partida (inoculação). Amostra 2 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 1. Amostra 3 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 2. Amostra 4 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 3. Amostra 5— lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 4.	227

LISTA DE SIGLAS

- °C: Unidade de temperatura graus Celsius
- A/M: Relação alimento/microrganismo.
- A-AVT: Alcalinidade a ácidos voláteis totais.
- AB: Alcalinidade bicarbonato.
- ACP: Análise de componentes principais.
- ACP: Análise estatística multivariada de componentes principais.
- ADP: Difosfato de adenosina ou Adenosina difosfato.
- AEAC: Álcool etílico anidro combustível.
- AEHC: Álcool etílico hidratado combustível.
- AI: Alcalinidade intermediária.
- AlO₃: Trióxido de alumínio.
- AME: Atividade metanogênica específica da biomassa.
- ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
- AnSBBR (Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor): Reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada e agitação mecânica e/ou hidráulica (recirculação da fase líquida).
- AnSBR (Anaerobic Sequencing Batch Reactor): Reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com biomassa granulada e agitação mecânica.
- AP: Alcalinidade parcial.
- APHA - American Public Health Association.
- ARB: Água residuária real gerada na agroindústria de biodiesel.
- ARIB: Água residuária de biodiesel formulada sinteticamente.
- AT: Alcalinidade total.
- AT_A: Concentração de alcalinidade total no afluente do reator em termos de CaCO₃.
- ATP: Trifosfato de adenosina ou Adenosina trifosfato.
- AVT: Ácidos voláteis totais.
- AVT_A: Concentração de ácidos voláteis totais no afluente do reator em termos de CH₃ COOH.
- AWWA- American Water Works Association.
- C.E.: Condutividade elétrica da amostra.
- C/N: Relação entre as massas de carbono e nitrogênio presentes na amostra analisada.
- C_{DQO}: Concentração de DQO no afluente do reator em termos de O₂.
- C_F: Concentração de DQO ou DBO₅^{20°C} efluente na fração solúvel.
- CH₄: metano.
- C_L: Concentração de lodo utilizado.
- CNPE: Conselho Nacional de Política Energética.
- CO₂: Dióxido de carbono.
- COB: Carga orgânica biológica.
- COP-21: 21ª Conferência das Partes.
- COV_A: Carga orgânica volumétrica aplicada em termos de DQO.
- C_T: Concentração de DQO ou DBO₅^{20°C} afluente na forma total, ou seja, amostra homogeneizada e não filtrada.
- d: Unidade de tempo em dias.
- DBO₅^{20°C}: Demanda bioquímica de oxigênio da fração solúvel da amostra com a análise realizada com frascos incubados durante 5 dias a 20°C.

DBO₅^{20°C}_T: Demanda bioquímica de oxigênio total da amostra com a análise realizada com frascos incubados durante 5 dias a 20°C.

DEDE: Departamento de Desenvolvimento e Eficiência Energética Alternativa do Ministério de Energia da Tailândia.

DHA: Dihidroxiacetona (DHA).

DQO_{EF}: Concentração de DQO solúvel da amostra.

DQO_S: Demanda química de oxigênio solúvel.

DQO_T: Demanda química de oxigênio total.

E (%): Eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO ou DBO₅^{20°C}.

E1, E2, E3 até E15: Experimentos realizados.

EDS: Análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia.

EPS: exopolissacarídeo ou polímeros extracelulares.

ES: Esgoto sanitário

ETE: Estação de tratamento de efluentes (tendo efluente como qualquer água residuária).

EUA: Estados Unidos da América.

F1: Fator 1 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

F2: Fator 2 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

F3: Fator 3 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

F4: Fator 4 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

F5: Fator 5 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

F6: Fator 6 analisado na matriz experimental descrita naquele capítulo da tese.

FAD: Dinucleótido de flavina e adenina.

f_{cal}: f calculado.

FeCl₃: Cloreto férrico.

FPS1p: Tipos de proteínas específicas que controlam a excreção ou retenção do glicerol em leveduras.

g: Unidade de massa em grama.

GDH: Glicerol desidrogenase.

GL: Graus de liberdade.

GUP1 e GUP2: Genes associados diretamente com o transporte facilitado de glicerol.

GW: Unidade de potência Gigawatt.

h: Unidade de tempo horas.

H₂: Hidrogênio molecular no estado gasoso.

H₂SO₄: Ácido sulfúrico.

HCl: Ácido clorídrico.

HNO₃: Ácido nítrico.

IC_{95%}: Intervalo de confiança estatístico.

IQ: Intervalos interquartis.

k: constante cinética de degradação de matéria orgânica.

K⁺: Potássio.

kg: Unidade de massa em quilograma.

KH₂PO₄: Fosfato Monobásico de Potássico

KI: Iodeto de Potássio.

kJ: Unidade de energia em kilojoule.

KOH: Hidróxido de Potássio.

Ks: coeficiente cinético referente a saturação da biomassa pelo substrato.

kw: Unidade de potência kilowatts.

L: Unidade de volume em litros.

m/m: Relação entre massas.

MEV: Microscopia eletrônica de varredura.

mg: Unidade de massa miligrama.

MgO-La₂O₃: Catalisadores de óxido de Magnésio suportados em óxido de Lantânio
 MgSO₄. 7H₂O: Sulfato de Magnésio heptahidratado.
 M_I: Massa de inóculo inserida no reator.
 mol: Unidade de base do Sistema internacional de unidades para a grandeza quantidade de substância.
 MPa: Unidade padrão de pressão e tensão Mega Pascal.
 n: número de ciclos por dia
 Na⁺: Sódio total.
 NAD: Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina.
 NADH₂: Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina com a geração de equivalentes redutores.
 NaHCO₃: Bicarbonato de sódio.
 NaOH: Hidróxido de sódio.
 NH₄Cl: Cloreto de amônio.
 NTK: Nitrogênio total Kjeldahal.
 O&G: Óleos e graxas.
 ONU: Organização das Nações Unidas.
 PA: Grau de pureza do reagente denominado puro para análise.
 PbO: Óxido de Chumbo.
 PC1: Componente principal 1.
 PC2: Componente principal 2.
 P_{CH₄}: Porcentagem de metano no biogás.
 pH: Potencial hidrogenionico
 Probiodiesel : Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel.
 P_T: Fosforo total.
 QM: Quadrado médio.
 REN21: Associação internacional sem fins lucrativos que funciona como política global de energia renovável.
 rpm: Unidade de velocidade angular em rotações por minuto.
 SDF: Sólidos dissolvidos fixos.
 SDT: Sólidos dissolvidos totais.
 SDV: Sólidos dissolvidos voláteis.
 SFT: Sólidos fixos totais.
 SQ: Soma de quadrados.
 SQT: Soma de quadrados totais.
 SSF: Sólidos suspensos fixos.
 SST: Sólidos suspensos totais.
 SSV: Sólidos suspensos voláteis.
 ST: Sólidos totais.
 ST: Sólidos totais.
 SVT: Sólidos voláteis totais.
 T_A: Tempo de abastecimento.
 T_C: Tempo de ciclo (dado pela soma do tempo de T_R + T_A + T_S + T_D)
 T_D: Tempo de descarte.
 TiO₂: Dióxido de Titânio.
 T_R: Tempo de reação.
 TRH: Tempo de retenção hidráulica
 T_S: Tempo de sedimentação.
 TWh: Unidade de potência Terawatt-hora.
 UBP: Usina Produtora de Biodiesel de Quixadá.
 UNEP: United Nations Environment Programme em Paris.
 UNFCCC: Convenção do Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima.

UTO: Unidades taxonômicas operacionais.

v/v: Relação entre volumes.

V_{AR} : Volume de água residuária utilizado no abastecimento do reator por ciclo.

V_{AR} : Volume de ARIB utilizado no abastecimento do reator.

VC: Variáveis de conversão.

V_{CH_4} : Volume de metano produzido.

V_L : Volume de lodo.

V_T : Volume total útil do reator.

WEF - Water Environment Federation.

x: Valor utilizado para o fator avaliado para cálculo da variável de conversão.

x_m : valor dado ao ponto central do fator avaliado para cálculo da variável de conversão.

Y: Coeficiente estequiométrico que mostra a quantidade de metano produzida por massa de DQO removida.

YFL054c: Proteínas do tipo permease que atuam somente sobre estresse osmótico de células de *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação do glicerol.

$Y_{x/s}$: Coeficiente cinético referente a produção da biomassa em função do substrato consumido.

Zeólitas (ETS10): Zeólitas contendo vanádio na rede cristalina (vanadosilicatos), organizados na estrutura AM-6 sendo considerados isoestruturais ao titanossilicato ETS-10, apresentando um grande potencial para reações de desidratação oxidativa do glicerol para a obtenção do ácido acrílico.

Δx : Amplitude de valor do fator avaliado, calculado pela diferença entre o valor do referido fator no nível e o mesmo no nível baixo.

RESUMO

PEREIRA, Erlon Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2017. **Tratamento da água residuária da indústria de biodiesel utilizando reator anaeróbio em bateladas sequenciais.** Orientador: Alisson Carraro Borges. Coorientadoras: Ann Honor Mounteer e Fernanda Fernandes Heleno.

Objetivou-se neste trabalho aprofundar os estudos de biodegradação da água residuária proveniente da produção do biodiesel (ARIB) em AnSBR operando sob condições otimizadas tanto com valor constante quanto com aumento progressivo de carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A). Para otimização do processo os fatores avaliados foram pH, temperatura, agitação, concentração do substrato no afluente, massa de inóculo e tempo de reação. O AnSBR utilizado no experimento era cilíndrico, tinha volume reacional de 5 L, foi construído em acrílico com banho termostático para controle de temperatura, regulador para velocidade de agitação e registro de descarte de lodo instalado na base do reator. A ARIB utilizada durante todo o experimento foi formulada com base nas características encontradas na ARIB gerada no processo industrial com glicerol comercial como única fonte de matéria orgânica, bicarbonato de sódio como agente alcalinizante, e sais como fontes de macro e micronutrientes, todos dissolvidos em água destilada. Os resultados obtidos indicaram que os fatores agitação, temperatura, massa de inoculação e tempo de reação possuíam influência direta na eficiência de remoção de DQO da ARIB. O fator massa de inóculo influenciou em maior peso a eficiência de remoção de DQO e os fatores temperatura e tempo de reação mostraram possuir maior influência sobre o tamponamento do meio. Ao avaliar o AnSBR operando sob COV_A constante de $11,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO, os valores de eficiência de remoção de DQO diminuíram de 51 para 10% após o período de operação estudado e foi observado azedamento do reator com acúmulo de AVT após o 8º ciclo de operação com concentrações máximas acima de 4500 mg L^{-1} . Ao avaliar o AnSBR operando sob condições de aumento progressivo de COV_A de 1,3 a $9,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO, observaram-se eficiências médias para remoção de DQO de 52 a 11%. O coeficiente cinético aparente, referente à velocidade de degradação da matéria orgânica, esteve entre $0,102$ e $1,040 \text{ h}^{-1}$, sendo que o modelo cinético que considera a concentração residual de substrato foi o que melhor se ajustou aos dados obtidos. Conclui-se que os modelos matemáticos gerados neste trabalho podem ser utilizados para previsão, controle de processos e escalonamento do reator. O aumento progressivo da COV_A por meio do aumento da concentração de substrato modificou a diversidade microbiana da biomassa o que influenciou na cinética de degradação da matéria orgânica.

ABSTRACT

PEREIRA, Erlon Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2017. **Treatment of wastewater from the biodiesel industry using Anaerobic Sequencing Batch Reactor.** Adviser: Alisson Carraro Borges. Co-Advisers: Ann Honor Munteer and Fernanda Fernandes Heleno.

The objective of the present study was to deepen the studies of biodegradation of biodiesel industry wastewater (BIW) in an AnSBR operating under optimized conditions with both constant value and progressive increase of applied organic volumetric load (OLR). The factors analyzed in the optimization of the process were pH, temperature, agitation, non-tributant substrate concentration, inoculum mass and reaction time. The AnSBR used in the experiment was cylindrical, with a reaction volume of 5 L, built in acrylic with thermostatic bath for temperature control, regulator for agitation speed and had a log of sludge discard installed in the base of the reactor. The BIW used throughout the experiment was formulated based on the characteristics found in the BIW generated in the industrial process and it was composed by commercial glycerol as sole source of organic matter, sodium bicarbonate as alkalizing agent, and salts as sources of macro and micronutrients, all dissolved in distilled water. The results indicated that the factors agitation, temperature, inoculation mass and reaction time, directly influence the COD removal efficiency of the BIW. The mass factor of inoculum influenced in greater weight the efficiency of removal of COD and the factors temperature and time of reaction showing the greater influence on the buffering of the medium. When evaluating the AnSBR operating under constant OLR of $11.3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in terms of COD, the COD removal efficiency values decreased from 51 to 10% after the period of operation and it was observed the souring of the reactor with TVA accumulation after the 8th cycle of operation with maximum concentrations above 4500 mg L^{-1} . When evaluating the AnSBR operating under conditions of progressive OLR increase of 1.3 to $9.3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in terms of COD, it was observed average COD removal efficiencies of 52 to 11%. The apparent kinetic coefficient, which is related to the degradation rate of organic matter, was between 0.102 and 1.040 h^{-1} , and the kinetic model considering a residual substrate concentration was the one that adjusted to the data obtained the best. It was possible to conclude that the mathematical models generated in the present study can be used for the forecasting, process control and staggering of the reactor. The progressive increase of OLR by increasing the substrate concentration modified the microbial diversity of the biomass and influenced the kinetics of degradation of the organic matter.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO 2- OBJETIVOS	16
2.1- Objetivo geral.....	16
2.2- Objetivos específicos	16
CAPÍTULO 3- PRODUÇÃO DE BIODIESEL, GERAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA NO PROCESSO E PROPOSTAS PARA SEU TRATAMENTO: ESTADO DA ARTE 17	
RESUMO	17
3.1- INTRODUÇÃO	17
3.2- Produção de biodiesel.....	19
3.3- Caracterização da água residuária proveniente da produção do biodiesel (ARB) e processos de tratamento utilizados para sua remediação.....	28
3.4- Assimilação do glicerol por microrganismos e processos de degradação celular.....	34
3.5- Produção de Etanol, Butanol e 1,3 propanodiol	39
3.6- Produção de hidrogênio	46
3.7- Produção de metano.....	50
3.8- Reatores anaeróbios operando em batelada	53
3.8.1- Reatores anaeróbios operando em bateladas sequenciais com biomassa granulada	53
3.8.2- Reatores anaeróbios operando em batelada com biomassa imobilizada.....	55
3.9- Co-digestão do glicerol com outros resíduos	56
3.10- CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
3.11- PERSPECTIVAS FUTURAS	62
3.11- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 4- FATORES QUE INFLUENCIAM NA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA PRESENTE NA ÁGUA RESIDUÁRIA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL (ARIB) VIA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA	71
RESUMO	71
4.1- INTRODUÇÃO	71
4.2- MATERIAL E MÉTODOS	73
4.2.1- Aparato experimental geral	73
4.2.2- Procedimento experimental.....	75
4.2.3- Delineamento experimental	76
4.2.4- Parâmetros de monitoramento do experimento e controle de qualidade das análises físico-químicas realizadas.....	79
4.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
4.3.1- Influência dos fatores no desempenho do reator AnSBR em termos de remoção de DQO da ARIB	80
4.3.2- Modelo matemático de desempenho do reator: geração, calibração e análises dos resíduos.....	84
4.3.3- Avaliação do pH, acidez e alcalinidade em cada experimento.....	90
4.4- CONCLUSÕES.....	99
4.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

CAPÍTULO 5- OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE REMOÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM REATOR ANAERÓBIO OPERANDO EM BATELADAS SEQUENCIAIS NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	102
RESUMO	102
5.1- INTRODUÇÃO	102
5.2- MATERIAL E MÉTODOS	104
5.2.1- Aparato experimental geral	104
5.2.2- Procedimento experimental	104
5.2.3- Delineamento experimental	105
5.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
5.3.1- Influência dos fatores no desempenho do reator AnSBR em termos de remoção de DQO da ARIB	107
5.3.2- Modelo matemático de desempenho do reator: geração, calibração e análises dos resíduos	117
5.3.3- Avaliação do pH, da acidez e da alcalinidade em cada experimento	123
5.4- CONCLUSÕES	130
5.5- REFERÊNCIAS	131

CAPÍTULO 6- DESEMPENHO DE UM REATOR ANSBR OPERANDO SOB CONDIÇÕES OTIMIZADAS NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE BIODIESEL	134
RESUMO	134
6.1- INTRODUÇÃO	134
6.2- MATERIAL E MÉTODOS	136
6.2.1- Aparato experimental geral	136
6.2.2- Preparo da água residuária da indústria de biodiesel (ARIB)	136
6.2.3- Condições de operação do reator AnSBR	138
6.2.5- Parâmetros operacionais e monitoramento do experimento	140
6.2.6- Avaliação das características químicas e morfológicas da biomassa e diversidade microbiana	142
6.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO	143
6.3.1- Parâmetros operacionais e remoção de matéria orgânica	143
6.3.2- Influência das condições de tamponamento da eficiência do reator	150
6.3.3- Comportamento da concentração de sólidos e varredura da biomassa	156
6.3.4- Uso do modelo para previsão e simulação de resultados	160
6.3.6- Caracterização da biomassa anaeróbia utilizada como massa de inóculo no reator AnSBR para a degradação de ARIB	165
6.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	178

CAPÍTULO 7- DESEMPENHO DE UM REATOR ANSBR OPERANDO COM AUMENTO PROGRESSIVO TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE BIODIESEL	182
RESUMO	182
7.1- INTRODUÇÃO	182
7.2- MATERIAL E MÉTODOS	185
7.2.1- Aparato experimental geral	185
7.2.2- Preparação da água residuária (ARIB)	185
7.2.3- Condições de operação do reator AnSBR	186
7.2.4- Partida do reator AnSBR: A primeira batelada	186

7.2.5- Condições experimentais, parâmetros operacionais e monitoramento do experimento	187
7.2.6 - Delineamento estatístico do experimento	188
7.2.7 – Avaliação da cinética de degradação de matéria orgânica	188
7.2.8- Avaliação diversidade microbiana através da análise de DGGE.	189
7.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO	190
7.3.1-Concentração de matéria orgânica e eficiência de remoção do sistema	190
7.3.2- Condições de tamponamento do meio e temperatura operacional	197
7.3.3 – Perfil de sólidos no afluente e no efluente do reator AnSBR	205
7.3.4- Concentração de sólidos no reator AnSBR, carga orgânica biológica e produção teórica de biogás	208
7.3.5- Cinética de degradação da matéria orgânica da ARIB em termos de DQO	212
7.3.6- Qualidade da biomassa: Produção de EPS e diversidade microbiana.....	224
7.4- CONCLUSÕES.....	228
7.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	229
CAPÍTULO 8- CONCLUSÕES GERAIS DA TESE.....	232
CAPÍTULO 9- SUGESTÕES PARA NOVOS TRABALHOS	235

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO GERAL

O uso de biogás para produção de energia térmica ou elétrica tem aumentado progressivamente nos últimos anos, devido a um crescente interesse nas políticas energéticas de muitos países industrializados. Atualmente, a exploração dos recursos de biomassa é considerada como um suplemento viável no que diz respeito à utilização de combustíveis fósseis e assim um grande esforço de investigação é dirigida a estudar as capacidades de diferentes recursos energéticos (ALVARO et al., 2014).

Além da biomassa utilizada para geração de energia térmica ou biogás, a digestão anaeróbia de substratos como resíduos sólidos orgânicos e águas residuárias com alta concentração de matéria orgânica vem despertando o interesse quanto a métodos para sua estabilização diminuindo seu potencial poluidor e produzindo bioenergia (metano ou hidrogênio). O metano formado como subproduto de processos anaeróbios em tratamento de resíduos pode ser utilizado para diversas finalidades visando substituir ou suplementar o uso de energia proveniente de combustíveis fósseis, hidroelétricas, ou até outras fontes bioenergéticas como bioetanol, eólica, fotovoltaica solar dentre outras. Com base neste raciocínio, como mostrado na Tabela 1.1 diversos pesquisadores vêm investigando a utilização do biogás como fonte energética.

Tabela 1.1- Valores disponibilizados pelos autores referentes ao potencial de geração de energia elétrica por meio do metano produzido em processos anaeróbios utilizando no tratamento de diversos resíduos em reatores anaeróbios e biodigestores.

Autor	Substrato	Potencial de geração de energia elétrica do metano produzido (kJ kg ⁻¹)
Liu et al. (2006)	*Resíduos de alimento (100 g L ⁻¹)	16.309
Ueno et al. (2007)	*Resíduos da indústria de alimento e papel misturados (68,3 g L ⁻¹)	11.475
Zhu et al. (2008)	*Resíduos da indústria de batata (10 g L ⁻¹)	1.303
Moham et al. (2008)	**Esgoto doméstico sintético a base de glicose (3 g L ⁻¹)	3.094
Chu et al. (2008)	Resíduos sólidos (resto) de alimentos (11,7% de ST)	13.859
Wang e Zhao (2009)	*Resíduos de restaurante (170 g L ⁻¹)	18.872
Yokoyama et al. (2010)	Dejeto bovino e comida de cachorro (2,25% de ST)	7.847
Cavinato et al. (2011)	Bioresíduo (2,9% de ST)	35.235

Legenda: *concentração em termos de carbono orgânico total. **concentração em termos de DQO. ST: sólidos totais presentes na amostra. Potencial de geração de energia elétrica dado em kJ por kg de resíduo tratado em base seca, sendo a energia medida para o mesmo resíduo na produção de CH₄.

Viana (2011) realizando uma análise técnica e econômica sobre a Usina Produtora de Biodiesel de Quixadá (UBQ), localizada no município de Quixadá, Ceará, pertencente à Companhia de Petróleo Brasileiro S.A. (Petrobras) chegou a conclusão que após o tratamento da água residuária proveniente da agroindústria produtora de biodiesel (ARB) em reatores anaeróbios o metano produzido pode ser utilizado para geração de energia térmica ou elétrica. Em termos de energia elétrica seria possível gerar energia suficiente para abastecer aproximadamente 5.000 famílias (considerando consumo diário de 0,6 kW por família). E em termos de produção de energia térmica para uso na própria usina, o tempo de retorno seria de apenas 1 ano, e poderia atender parte da necessidade da própria usina de biodiesel. Além disso, o autor ressaltou que essa energia elétrica ou térmica pode ser utilizada dentro da própria indústria barateando o processo de produção do biodiesel o que poderia diminuir o preço do combustível contribuindo para o estímulo da sua utilização.

Com o enfoque na produção de bioenergia, os processos anaeróbios vêm sendo largamente estudados como alternativa para o tratamento da ARB devido a sua rica cadeia carbônica (VIANA et al., 2012). De acordo com Selma et al. (2010), Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013) para aumentar a produção de bioenergia (metano) deve-se potencializar a remoção de matéria orgânica em termos de DQO da ARIB, pois reatores anaeróbios operando em bateladas sequenciais com biomassa granulada e agitação mecânica (AnSBR) e reatores anaeróbios operando em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada e agitação mecânica e/ou hidráulica (AnSBBR) demonstraram capacidade de produção entre 41 e 96 mL de CH₄ por grama de DQO removida da ARIB. Dentre os diversos tipos de reatores anaeróbios existentes para tratamento de águas residuária, os sistemas anaeróbios operados em batelada, oferecem alta eficiência de remoção da matéria orgânica, melhor controle da qualidade do efluente tratado, operação simples e estável do sistema. Neste contexto, o uso de AnSBR pode ser considerado uma alternativa para o tratamento de efluentes produzidos na indústria de biodiesel (SELMA et al., 2010; SILVA et al., 2013).

Segundo Zaiat et al. (2001), as configurações do AnSBR devem ser estudadas avaliando se a influência dos fatores que geralmente afetam a eficiência de remoção da matéria orgânica e a estabilidade do reator, fatores ligados a aspectos fundamentais como a agitação, a razão entre a concentração de substrato (alimento) e a concentração de microrganismos, relação alimento/microrganismo (A/M), a configuração geométrica do reator e a estratégia de alimentação; bem como fatores ligados a aspectos tecnológicos, como aplicação de águas residuárias domésticas e industriais com diferentes características em termos de composição.

Referente ao tratamento da ARB fatores que refletem a condição do meio como pH, temperatura e fatores operacionais intrínsecos do processo como concentração de DQO da ARB afluente, massa de microrganismos inoculada no reator, tempo de reação entre a biomassa e a ARB e intensidade de agitação necessária para propiciar melhor contato entre ambos podem, atuando sinergicamente ou individualmente em diferentes níveis, influenciar na degradação de poluentes orgânicos presentes na ARB.

Em relação às condições de tamponamento o pH é um fator ambiental de vital importância nos processos anaeróbios metanogênicos, pois afeta a taxa de crescimento dos microrganismos, e que suas variações podem causar importantes alterações na constituição microbiana dos consórcios entre as fases de hidrólise até a metanogênica. Portanto, o valor do pH do meio pode influenciar na produção de metano ou até promover apenas a produção de hidrogênio inibindo a metanogênese, ou causar declínio do processo anaeróbio com o azedamento do reator fazendo com que a produção dos ácidos voláteis continue aumentando, e a produção de metano diminua devido a alta sensibilidade das arqueias metanogênicas (SPEECE, 1996 e CHERNICHARO, 2007).

Por isso, a digestão anaeróbia visando a produção de metano deve ocorrer dentro da faixa de pH entre 6 e 8 porque, o pH afeta o metabolismo, especificamente a utilização das fontes de carbono como energia, as reações de síntese e a produção de metabólitos extracelulares, além disso, a morfologia e a estrutura são também afetadas, como consequência, comprometendo os fenômenos de adesão, floculação e granulação, aspectos de crucial importância no AnSBR operando com biomassa granulada. (SPEECE, 1996 e CHERNICHARO, 2007).

Segundo Speece (1996), os componentes que ditam a variação de pH são CO_2 e os ácidos graxos voláteis que tendem a baixar o pH e os cátions como íon amônio e sódio que aumentam alcalinidade e o pH. Estudos feitos por Vazquez e Varaldo (2009), mostraram que o pH acidogênico deve estar acima da constante de acidez (pK_a) para a maioria dos ácidos orgânicos (acetato, propionato e butirato), uma vez que a célula é muito mais sensível aos ácidos na forma não dissociada do que aos ânions, sendo que o limite máximo deve ser acima de 5 para prevenir mudanças na fermentação.

De acordo com Daud et al. (2014) a maior parte das ARB produzidas possuem o pH dentro da faixa alcalina (acima de 7) devido o uso dos catalisadores alcalinos (NaOH e KOH) no processo de transesterificação, todavia é possível encontrar ARB com pH entre 4,3 e 11,2.

Na Tabela 1.2 são apresentados valores obtidos em estudos com AnSBBR utilizados no tratamento da ARIB operando sob diferentes condições operacionais e valores de pH inicial.

Tabela 0.2- Comportamento do pH em AnSBBR tratando ARIB sobre diversas condições operacionais.

Parâmetro	Bravo et al. (2014)				Lovato et al. (2012)	
	I	II	IV	V		
C _{DQO}	3085	3982	3156	4031	3078	3078
pH afluente	7,7	7,6	7,7	7,6	8,4	8,4
pH efluente	4,6	4,5	4,7	4,6	8,0	7,8
AVT _A	20	25	21	20	64	64
AT _A	138	166	156	159	2631	2631
COV _A	7,6	9,8	10,3	13,3	4,5	4,5
E (%)	19	22	26	20	83	83
T _C	4	4	3	3	2	6

Legenda (unidade): C_{DQO}: Concentração de DQO afluente (mg L⁻¹) em termos de O₂; AVT_A: Ácidos voláteis totais afluente (mg L⁻¹) em termos de CH₃COOH; AT_A: Alcalinidade total (mg L⁻¹) em termos de CaCO₃; COV_A: Carga Orgânica Volumétrica aplicada em termos de DQO (g L⁻¹ d⁻¹); E (%): Eficiência de remoção de DQO (%); T_C: Tempo de ciclo (h).

De acordo com os dados observados na Tabela 1.2, Lovato et al. (2012) fixando o valor do pH da ARIB afluente ao reator em 8,4 e mantendo constante as concentrações de ácidos voláteis totais afluente (AVT_A), a alcalinidade total afluente (AT_A) e carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A), mas variando apenas o valor de tempo de ciclo (T_C) de 2 h para 6 h foi possível modificar o valor do pH efluente de 8,4 para 8,0 e 7,8, respectivamente. Bravo et al. (2014) mantendo o valor do pH da ARIB afluente ao reator entre 7,6 e 7,7 observaram um azedamento do reator com pH efluente entre 4,5 e 4,6; devido modificações na COV e T_C. Devido ao azedamento o AnSBBR operado por Bravo et al. (2014) registraram baixos valores de eficiência de remoção de DQO entre 20 e 25 %.

Como pode ser observado nos experimentos realizados por Lovato et al. (2012) e Bravo et al. (2014) os parâmetros operacionais e valor inicial do pH afluente podem influenciar no tamponamento do reator e conseqüentemente no valor do pH efluente. Portanto, fixar o valor inicial em 7, com variações de tempo de reação (T_R) ou T_C e concentração inicial de DQO poderia diminuir as possibilidades de melhoria no desempenho se o reator operasse dentro de uma faixa variável de pH.

Além do pH a temperatura é um dos fatores ambientais que mais influencia a eficiência do processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica. Os microrganismos não possuem meios de controlar sua temperatura interna e, dessa forma, a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura ambiente. Existem três faixas de temperatura associadas ao crescimento microbiano, a saber: Faixa psicrófila (situada entre 4° C e aproximadamente 15

°C); faixa mesofílica que se situa entre 20 °C e aproximadamente 40 °C; faixa termofílica que se situa entre 40 °C e aproximadamente 70 °C e acima (CHERNICHARO, 2007).

A temperatura tem forte influência sobre os parâmetros cinéticos, sobretudo nas reações enzimáticas e na taxa de difusão do substrato. Estudos conduzidos por Ndegawa et al. (2008) mostraram que o coeficiente de saturação (K_s) e a produção da biomassa em função do substrato consumido ($Y_{x/s}$) decresce com o aumento da temperatura, sendo que o coeficiente de respiração endógena era pouco afetado. Além disso, dados quantitativos sobre os efeitos da temperatura sobre a população microbiana pode viabilizar uma considerável redução no volume do reator, se este for operado próximo à temperatura ótima, uma vez que a taxa de crescimento específica máxima da população microbiana cresce com o aumento da temperatura.

Ndegawa et al. (2008) conduziram uma pesquisa sobre os efeitos da temperatura em AnSBR tendo chegado a conclusão de que, baseados na relação de Arrhenius, o decréscimo da temperatura em 10 °C resulta na diminuição da taxa de reação pela metade, todavia tem sido observado que decréscimos de temperatura de 35 °C para 25 °C não levam a flutuações expressivas no desempenho dos reatores, porém, abaixo de 15 °C os microrganismos poderiam ser inibidos com o decréscimo da temperatura, resultando em alta demanda bioquímica de oxigênio no efluente (saída) do reator.

Segundo Appels et al. (2008), o aumento da temperatura tem muitas vantagens incluindo o aumento na solubilidade dos compostos orgânicos, taxas de reações químicas e biológicas e o estímulo no crescimento de microrganismos. Mas também, de acordo com os mesmos autores, a variação brusca de temperatura pode comprometer o desempenho dos reatores, uma vez que alguns microrganismos são extremamente sensíveis, tolerando variações máximas de 1 °C a 2 °C por dia, inclusive as arqueias metanogênicas. Elevadas temperaturas podem aumentar a pressão parcial de hidrogênio influenciando deste modo a cinética do metabolismo sintrófico, aumentando a fração de amônia livre inibidora aos processos anaeróbios e, por fim, aumentando a constante de acidez (pK_a) advinda dos ácidos graxos voláteis diminuindo a atividade das arqueias metanogênicas.

Bodik et al. (2002) estudaram o efeito do aumento da temperatura na remoção de matéria orgânica de esgoto sanitário (ES) em AnSBR operando com três tempos de reação. Os dados obtidos no experimento estão apresentados na Tabela 1.3.

Tabela 0.3- Eficiências de remoção de matéria orgânica em termos de DQO, $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ e sólidos suspensos totais (SST) em função da temperatura sob três tempos de reação (T_R).

T_R (horas)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Eficiência de remoção (%)		
		DQO	$\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$	SST
7	8	56	48	81
	15	62	57	80
	23	88	96	n.d.
11	8	69	78	84
	15	72	73	83
	23	87	86	75
23	8	74	65	92
	15	84	76	90
	23	86	85	91

Fonte: Bodiket al. (2002)

Como pode ser observado no experimento realizado por Bodik et al. (2002), o aumento da temperatura induziu a um aumento na eficiência de remoção de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$, para o mesmo tempo de reação. Sendo assim as maiores eficiências de remoção de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ ocorreram na temperatura de 23°C para os três tempos de reação estudados. Todavia não foi observado o mesmo para a remoção de SST, onde não houve variação significativa entre as eficiências com a mudança da temperatura (Tabela 1.3).

Analisando dentro da mesma condição de temperatura ótima (23°C) o fato do T_R ter aumentado de 7 h para 23 h não provocou uma modificação no valor de eficiência tão significativa quanto à mudança de temperatura. Visto o exposto, conclui-se que a temperatura é um parâmetro que influencia na remoção de matéria orgânica em águas residuárias, e seu efeito pode ser modificado quando analisado sinergicamente com outros parâmetros como T_R .

Além das condições ambientais de tamponamento e temperatura, os parâmetros operacionais como tempo de permanência do substrato no reator denominado como tempo de retenção hidráulica (TRH) e T_R , em processos contínuos e bateladas, respectivamente, têm influência no crescimento da biomassa, pois espécies microbianas com altas velocidades de crescimento conseguem permanecer no reator enquanto espécies com crescimento lento são removidas no efluente líquido. As arqueias metanogênicas têm baixas velocidades de reprodução com tempos de duplicação da ordem de doze a quatorze horas; ao contrário das bactérias acidogênicas que têm tempos de duplicação da ordem de duas a três horas (SPEECE, 1996). Visto o exposto, os valores de TRH ou T_R podem ser ajustados com o objetivo de selecionar as espécies que o operador desejar que se mantenham ou cresçam no reator.

Em termos de operacionalização industrial não seria atrativo permitir o acúmulo de resíduo em tanques pulmão da indústria, sendo assim, toda água residuária produzida deveria

ser tratada no mesmo dia da sua produção, permitindo que o reator estivesse disponível para novas bateladas, sem sobrecarga.

Estima-se com as informações encontradas na literatura científica (SELMA et al., 2010; BEZERRA et al., 2011; LOVATO et al., 2012; e SILVA et al., 2013) que a eficiência em remoção de DQO não dependerá apenas do valor de T_R e sim da combinação entre T_R e concentração afluente de DQO submetida ao reator em forma de COV_A . Espera-se desta variável que quanto maior a concentração de substrato encontrada dentro reator, para a mesma quantidade de microrganismos, maior será o tempo necessário para degradá-la, portanto maior será o valor de T_R .

Chebel et al. (2006) e Oliveira et al. (2010) estudaram o efeito da COV_A em valor constante ao AnSBR promovida com diferentes interações entre o tempo de reação e concentração afluente no desempenho de AnSBR utilizados para o tratamento de esgoto sanitário sintético e água residuária de indústria de cosméticos, respectivamente. Os autores afirmaram que embora os valores de COV_A fossem constantes, existe a influência do tempo de reação e concentração afluente de substrato e a interação entre ambos deve ser estudada.

Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011), Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013), estudaram AnSBR no tratamento da ARIB com concentrações afluente de DQO_T variando entre 500 a 3000 mg L⁻¹ e tempos de ciclo máximos de 8 h (com T_R de 7 h e 15 min). Daud et al. (2014) em uma revisão de diversos trabalhos científicos publicados entre 2005 e 2013 relataram que a concentração de DQO_T da ARB *in natura* nas agroindústrias pode variar entre 3681 a 588.800 mg L⁻¹, em função do controle do processo da produção de biodiesel. Todavia, os mesmos autores relatam que os trabalhos realizados em 2013 mostram uma média geral de concentração de DQO_T de 30.000 mg L⁻¹. Visto o exposto, com base nos trabalhos de diversos autores não é recomendado o uso de valores fixos para COV_A sem antes, determinar seu valor ótimo ou máximo suportável ao reator por meio das interações entre as variáveis T_R e concentração afluente de substrato.

Além dos parâmetros operacionais de concentração afluente de substrato e T_R , a massa de inóculo é um parâmetro operacional fundamental para o controle do processo e dimensionamento de AnSBR, pois é utilizada no cálculo da relação A/M que é um valor que revela a quantidade em massa de substrato aplicada a uma quantidade de massa de microrganismos. Este parâmetro exerce grande controle sobre o processo anaeróbio e a produção de metano em AnSBR, porque a geração de metano depende diretamente da disponibilidade de alimento e da população de microrganismos, portanto é possível antecipar que estes dois parâmetros es-

tão inter-relacionados e exercem forte influência sobre a atividade metanogênica específica (AME) da biomassa.

James et al. (1990) e Speece (1996) mencionam que o uso de elevadas populações de microrganismos provavelmente consumirá o alimento disponível em curto espaço de tempo, reduzindo a um mínimo o crescimento de novas bactérias durante a batelada. Outro fator é que o uso de quantidade excessiva de biomassa pode causar decréscimo na atividade máxima, devido a limitações na transferência de massa do substrato metanogênico aos microrganismos. De acordo com os mesmos autores o uso de concentrações insuficientes de alimento, isto é, abaixo do nível de saturação do requerido pelos microrganismos, causa uma redução na atividade metanogênica máxima, além do que, se deve levar em conta que concentrações excessivas de ácido acético podem inibir a atividade das arqueias metanogênicas (toxicidade de ácidos voláteis).

Após inserção da biomassa no AnSBR inicia-se a etapa de abastecimento com o afluente até completar o volume reacional. Finalizando esta etapa inicia-se o período de reação, onde a biomassa é misturada com o afluente promovendo ao reator uma concentração inicial de microrganismos em termos de biomassa. Essa concentração inicial influencia na cinética de crescimento da biomassa, na eficiência do processo e consequentemente na velocidade de degradação do substrato.

Silva et al. (2013) que investigaram o aumento da COV_A via aumento de concentração de DQO afluente na eficiência de remoção de DQO e produção de biogás durante o tratamento da água residuária de biodiesel em AnSBR com volume reacional de 5 L, operando com tempo de ciclo de 4 h. Os dados obtidos por Silva et al. (2013) estão apresentados Tabela 1.4.

Tabela 0.4- Influência do aumento da carga orgânica aplicada via aumento de concentração de DQO afluente na eficiência de remoção de DQO e produção de metano.

DQO _A	V _{AR}	C _L	V _L	A/M	E	V _{CH4}	P _{CH4}
1000	3	51	2	0,03	84	107,5	67
2000	3	51	2	0,06	71	166	65
3000	3	51	2	0,09	58	184	64

Legenda (unidade) – DQO_A: Demanda Química de Oxigênio afluente (mg L⁻¹) em termos de O₂; V_{AR}: Volume de água residuária utilizado no enchimento do reator (L); C_L: Concentração de lodo (g L⁻¹) em termos de SVT; V_L: Volume de lodo (L); A/M: relação microrganismo (g g⁻¹) em termos de DQO/SVT; E: Eficiência de remoção de DQO (%); V_{CH4}: Volume de metano produzido (L); P_{CH4}: Porcentagem de metano no biogás (%). **Fonte:** Silva et al. (2013)

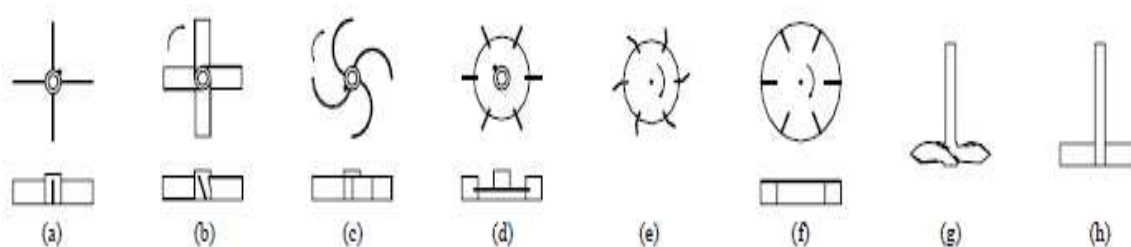
Para o cálculo do valor da relação A/M mostrado na Tabela 1.4 foram utilizados os valores de DQO_A, V_{AR}, C_L e V_L estimando com isso os valores 0,03; 0,06; 0,09. De acordo com

Silva et al. (2013) o aumento no valor da relação A/M provocou uma diminuição no valor da eficiência de remoção e aumento no volume de metano produzido, sem nenhuma interação com a porcentagem de metano no biogás.

Além da relação A/M a resistência à transferência de massa em termos de matéria orgânica da fase líquida para a biomassa pode reduzir a velocidade global de reação, diminuindo o desempenho do reator. Por isso, a intensidade de agitação do impelidor também é um parâmetro de grande importância no dimensionamento de AnSBR, pois ela promove a mistura da biomassa no substrato (ARIB ou ARB) proporcionando maior contato entre a matéria orgânica e os microrganismos no decorrer do T_R . Dessa forma, a agitação do meio reduz a resistência à transferência de massa e aumentando a velocidade global de reação e, portanto, aumenta a eficiência de remoção de matéria orgânica melhorando o desempenho do reator. Mas, agitação mecânica também pode prejudicar o sistema causando danos aos grânulos presentes na biomassa ou até mesmo destruí-los se for realizada com intensidades ou com o impelidor inadequado (NOVAES et al., 2010).

Impelidores são estruturas físicas inseridas dentro do reator em qualquer localização para promover a mistura entre os microrganismos e o substrato por meio de redemoinhos produzidos por sua agitação estabelecendo um padrão de escoamento. Os impelidores podem ser fabricados de vários materiais e podem possuir várias formas geométricas, além disso, podem ser classificados de acordo com o tipo de movimento que imprimem ao líquido. Dessa forma, existem impelidores que provocam escoamento axial, isto é, o líquido percorre caminho paralelo à direção do eixo agitador; e impelidores que provocam escoamento tangencial ou radial, em que o fluido se desloca perpendicularmente à direção do eixo do impelidor (SCHMIDELL et al., 2001).

Quanto à forma, de modo geral, os impelidores mecânicos podem ser classificados como agitadores tipos: hélice, palheta e turbina (SCHMIDELL et al., 2001; RODRIGUES et al., 2003; MICHELAN et al., 2009; NOVAES et al., 2010). Na Figura 1.1 apresentam-se os impelidores encontrados nos reatores industriais em funcionamento e nos trabalhos publicados na literatura até o presente.



Legenda: (a) turbina com lâminas planas verticais; (b) turbina com lâminas planas inclinadas; (c) turbina com lâminas curvas; (d) turbina com disco de lâminas planas; (e) turbina com disco de lâminas curvas; (f) turbina em forma de ventoinha; (g) hélice; (h) palheta. **Fonte:** Schmidell et al. (2001).

Figura 0.1- Configurações dos impelidores utilizados em AnSBR

O estudo da influência da agitação, que está relacionada com a resistência à transferência de massa da fase líquida para a biomassa, influenciando assim a velocidade global de reação, foi abordado em alguns trabalhos, seja por implementação de recirculação da fase líquida (LOVATO et al., 2012; LOVATO et al., 2015) geralmente utilizando reatores com biomassa imobilizada para evitar a varredura da mesma para fora do reator, ou por agitação mecânica (RODRIGUES et al., 2003; MICHELAN et al., 2009; NOVAES et al., 2010), podendo ser utilizados reatores com biomassa granulada ou imobilizada.

Rodrigues et al. (2003) estudaram o efeito da intensidade de agitação no tratamento de esgoto sanitário sintético em reator AnSBR. O impelidor utilizado foi de turbina do tipo disco com seis lâminas verticais que operou com quatro intensidades de agitação diferentes na seguinte ordem: 0, 25, 50 e 75 rpm. O esgoto sanitário tinha DQO de 500 mg L^{-1} , o reator foi operado com T_R de 8 h à $30 \text{ }^\circ\text{C}$ com biomassa granulada.

Tabela 0.5- Efeito da intensidade de agitação no valor da constante cinética de degradação de matéria orgânica (k), desfragmentação de biomassa e eficiência de remoção de DQO.

N (rpm)	Concentração de SSV (mg L^{-1})		k (h^{-1})	Eficiência de remoção de DQO (%)
	Afluente	Efluente		
0	22 ± 13	49 ± 20	0,45	68 ± 8
25	14 ± 7	33 ± 17	0,5	74 ± 7
50	18 ± 6	40 ± 13	1,1	80 ± 2
75	20 ± 17	60 ± 45	1,2	76 ± 3

Fonte: Rodrigues et al. (2003)

Como pode ser observada, na Tabela 1.4, a intensidade de agitação para o mesmo tipo de impelidor influenciou na remoção de DQO e na velocidade de degradação de matéria orgânica apresentada pelo coeficiente cinético da reação de primeira ordem (k). Mesmo sem

agitação, foi observado um valor de eficiência de remoção de 68% e um valor de k próximo a mistura com intensidade de 25 rpm, portanto, o contato natural entre a biomassa e substrato deve ser investigado afim de evitar custos com impelidor e agitação. Os autores recomendaram como melhor intensidade de agitação o valor de 50 rpm, pois com 75 rpm teve uma redução na eficiência de remoção de DQO e também um prejuízo na capacidade de sedimentação da biomassa.

Baseado em Rodrigues et al. (2003), Novaes et al. (2010) avaliaram o desempenho de um AnSBR tratando esgoto sanitário operando com dois tipos de impelidor (impelidor tipo turbina com lâmina plana, impelidor tipo hélice, impelidor tipo turbina com lâmina inclinada) ambos submetidos a duas intensidades de agitação (40 e 80 rpm). Os autores concluíram que para AnSBR com agitação mecânica independente do tipo de impelidor a velocidade não pode ultrapassar 40 rpm, pois a partir deste valor foi observado desfragmentação da biomassa granulada e impedimento da formação do grânulo.

Todavia, de acordo com Novaes et al. (2010) a intensidade de agitação não é o único fator que influencia na condição de mistura. Os autores mencionaram que o tipo de impelidor adotado e sua forma de mistura interferem na eficiência do processo.

Os impelidores tradicionalmente utilizados em AnSBR (Figura 1.1) não condicionam o volume total do reator a mistura completa, sendo a melhor condição de mistura no centro e a pior nas paredes do reator. Devido a este fator Novaes (2008) e Novaes et al. (2010) inseriram chicanas longitudinais em um AnSBR de formato tradicional com 2 impelidores do tipo turbina com 6 pás planas em cada (Figura 1.2). As chicanas nas paredes serviriam para aumentar a turbulência dentro do reator e com isso aumentar o contato entre a biomassa e substrato, mas de acordo com os autores pode encarecer o custo do projeto e manutenção do reator.

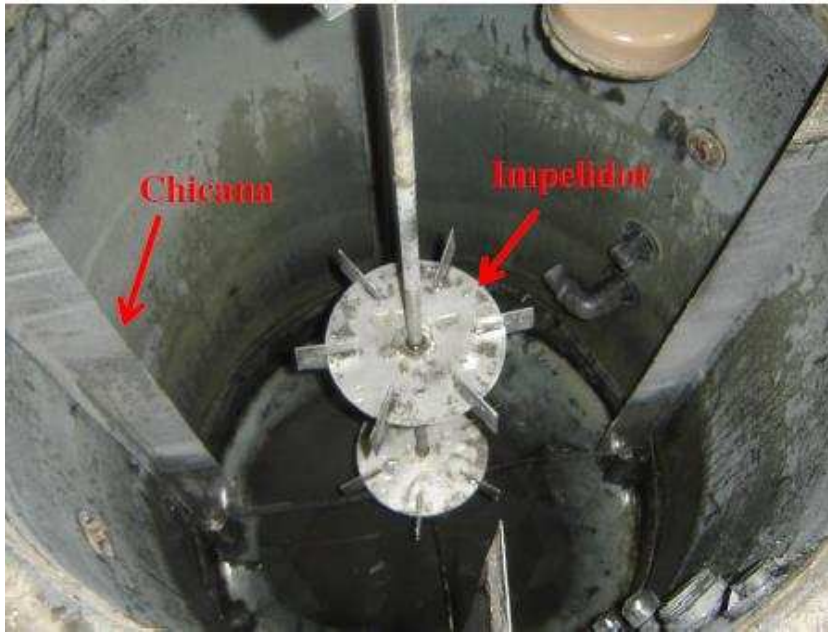


Figura 0.2- AnSBR com chicanas longitudinais inseridas na parede do reator. **Fonte:** Novaes (2008).

Com base nas pesquisas realizadas por Novaes (2008) e Novaes et al. (2010) é necessário o desenvolvimento de novos impelidores para melhorar a condição de mistura completa em AnSBR. Esses novos impelidores deveriam manter a condição de mistura completa, tanto na região central onde estão localizados, quanto na região periférica ou parede do reator, evitando a necessidade de chicanas o que pode encarecer a construção do mesmo.

No contexto do aprofundamento de estudos para melhoria do desempenho do AnSBR foi possível perceber que as variáveis influentes no processo de digestão anaeróbia como pH, temperatura, agitação, massa de inóculo/concentração do inóculo dentro do reator, concentração de matéria orgânica da água residuária afluente e tempo de reação atuam simultaneamente de forma multivariada exigindo uma análise holística proporcionando diferentes combinações destas para obtenção da resposta referente ao desempenho otimizado do AnSBR.

1.1.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARADO, C. E.; NOYOLA, M. T. P.; VARALDO, H. M. P.; LEAL, E. R.; MENA, J. G.; SEIJAS, N. R. Energy analysis of in-series biohydrogen and methane production from organic wastes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 16587 – 16594, 2014.

APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGREVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p. 755–781, 2008.

BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.

BODIK, I.; HERDOVA, B.; DRTIL, M. The use of upflow anaerobic filter and AnSBR for wastewater treatment at ambient temperature. **Water Research**, v. 36, p. 1084–1088, 2002.

BRAVO, I. S. M.; LOVATO, G.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater: effects of organic loading, influent concentration, and cycle time. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, p. 1892-1914, 2015.

CAVINATO, C.; BOZONELLA, D.; FATONE, F.; CECCHI, F.; PAVAN, P. Optimization of two-phase thermophilic anaerobic digestion of biowaste for hydrogen and methane production through reject water recirculation. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8605 – 8611, 2011.

CHERNICHARO, C.A.L. (2007). **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. DESA/UFMG, 359p.

CHEBEL, F. X.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Analysis of performance of an anaerobic sequencing batch reactor submitted to increasing organic load with different influent concentrations and cycle lengths. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 133, p. 171-187, 2006.

CHU, C. F.; LI, Y. Y.; XU, K. Q.; EBIE, Y.; INAMORI, Y.; KONG, H. N. A pH and temperature phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4738-4746, 2008.

DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R.S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.

JAMES, A.; CHERNICHARO, C. A. L.; CAMPOS, C. M. M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Water Research**, v. 24, p. 813- 825, 1990.

LIU, D.; LIU, D.; ZENG, R. J.; ANGELIDAKI, I. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Research**, v. 40, p. 2230 – 2236, 2006.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating efflu-

ent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007-2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J.A.D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 128-137, 2015.

MICHELAN, R.; ZIMMER, T. R.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and mechanical agitation on the mass transfer and power consumption aspects of ASBR operation treating synthetic wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 1357–1364, 2009.

MOHAN, S. V.; MOHANAKRISHNA, G.; SARMA, P. N. Integration of acidogenic and methanogenic processes for simultaneous production of biohydrogen and methane from wastewater treatment. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 2156 – 2166, 2008.

MOCKAITIS, G.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. **Journal of Environmental Management**, v. 79, p. 198–206, 2006.

NDEGWA, P.M.; HAMILTON, D.W.; LALMAN, J.A; CUMBA, H.J. Effects of cycle frequency and temperature on the performance of anaerobic sequencing batch reactors (ASBR) treating swine waste. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1972–1980, 2008.

NOVAES, L. F. **Estudo da influência da agitação e da estratégia de alimentação sobre o desempenho de um ASBR em escala piloto aplicado ao tratamento de esgoto sanitário**. 2008. 142 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo.

NOVAES, L. F.; SARATT, B. L.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and agitation on the performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1647 – 1656, 2010.

OLIVEIRA, R. P.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Interaction effects of organic load and cycle time in an AnSBR applied to a personal care industry wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 2499 – 2504, 2010.

RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M.; ZAIAT, M. Influence of agitation rate on the performance of an anaerobic sequencing batch reactor containing granulated biomass treating low-strength wastewater. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 405–410, 2003.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (2001). **Engenharia Bioquímica**. 1ed., v.2. São Paulo. Edgard Blucher. 541p.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SPEECE, R. E. *Anaerobic Biotechnology: For industrial wastewater*. Nashville: Archae, 1996. 394 p.

UENO, Y.; FUKUI, H.; GOTO, M. Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 1413 – 1419, 2007.

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

VIANA, M. B. **Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel**. 2011. 113f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

WANG, X.; ZHAO, Y. A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 245 – 254, 2009.

YOKOYAMA, H.; YAMASHITA, T.; OGINO, A.; ISHIDA, M.; TANAKA, Y. Hydrogen fermentation of cow manure mixed with food waste. **Japan International Research Center for Agricultural Sciences**, v. 44, p. 399 – 404, 2010.

ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M.; BORZANI, W. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 55, p. 29 – 35, 2001.

ZHU, H.; STADNYK, A.; BELAND, M.; SETO, P. Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5078 – 5084, 2008.

CAPÍTULO 2- PERGUNTA DE PESQUISA, HIPÓTESE E OBJETIVOS

2.1- PERGUNTA DE PESQUISA

Qual é o valor máximo de carga orgânica que é possível aplicar a um AnSBR utilizado para tratar ARIB?

2.2- HIPÓTESE

O valor máximo de carga orgânica será obtido otimizando as variáveis influentes no processo de digestão anaeróbia da ARIB em AnSBR, como: pH, temperatura, agitação, massa de inóculo, concentração de matéria orgânica da ARIB afluyente e tempo de reação.

2.3- OBJETIVO GERAL

Estudar as relações de associação e interferência entre as variáveis pH, temperatura, agitação, massa de inóculo, concentração de matéria orgânica da ARIB afluyente e tempo de reação no desempenho de um AnSBR operando com um impelidor diferenciado dos encontrados na literatura que dispense o uso de chicanas laterais e propicie uma condição de mistura entre a biomassa e o substrato.

2.4- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar dentre os fatores pH, temperatura de operação do reator, velocidade de agitação, massa de inóculo, a DQO no afluyente e tempo de reação, aqueles que possuem a maior influência no processo de remoção de DQO da ARIB.

Otimizar o processo de biodegradação anaeróbia da matéria orgânica presente na ARIB com base nas interações conjuntas dos fatores mais significativos.

Aperfeiçoar o uso do AnSBR no tratamento da ARIB com o foco na incrementação de modelos para simulação considerando como variáveis de entrada do mesmo os fatores que sinergicamente influenciam no processo anaeróbio.

Avaliar o desempenho do AnSBR operando em condições otimizadas sob taxa de carregamento orgânico constante da partida ao estado estacionário.

Avaliar o AnSBR operando em condições otimizadas sob choques orgânicos a longo prazo (da partida ao estado estacionário).

CAPÍTULO 3- PRODUÇÃO DE BIODIESEL, GERAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA NO PROCESSO E PROPOSTAS PARA SEU TRATAMENTO: ESTADO DA ARTE

RESUMO

Atualmente, não é mais rentável beneficiar o glicerol produzido no processo de transesterificação realizado para produção do biodiesel. Sendo assim, o mesmo é misturado em outros resíduos líquidos gerados no processo produzindo água residuária proveniente da agroindústria de biodiesel (ARIB). Entretanto, é contraditório investir no processo de fabricação de um biocombustível para redução da poluição e para isso produzir um resíduo líquido que provoca impactos ambientais quando descarregado de forma inapropriada no meio. Por isso, este trabalho vem apresentar o estado da arte sobre o panorama da produção de biodiesel, geração da ARIB e formas de tratamento que estão sendo avaliadas na tentativa de tornar a produção do biodiesel sustentável economicamente e ambientalmente. Após toda pesquisa teórica e levantamento de dados foi possível observar que a ARIB não possui características físico-químicas padronizadas devido a diferentes matérias primas, catalizadores, álcoois e processos de produção que podem ser utilizados. Os processos anaeróbios mostram-se como a alternativa mais viável para seu tratamento devido a possibilidade do uso da ARIB para a produção de metano. O uso do glicerol como substrato para produção biotecnológica de vários bioprodutos mostra-se atrativo e vem despertando o interesse de diversos pesquisadores.

Palavras chave: glicerol, co-digestão anaeróbia, saneamento ambiental, química verde, biocombustíveis.

3.1- INTRODUÇÃO

Atualmente, o glicerol vem ganhando um espaço especial devido ao estímulo dado à produção de biodiesel. Com o maior investimento na produção dessa forma de combustível alternativo, conseqüentemente cada vez mais cresce o volume de glicerol residual disponível para beneficiamento. Glicerol ou glicerina são nomes populares dados ao composto orgânico propano 1,2,3- triol pertencente à função álcool que quando beneficiado em sua forma pura é um composto atóxico que pode ser utilizado como matéria prima para a produção de diversos produtos. Além disso, por não ter sabor e nem odor, vem sendo usado como emoliente e umectante em diversos produtos, como batom, blush, sombra e afins (AYOUB e ABDULLAH, 2012).

Selma et al. (2010) descrevem que o processo de produção de biodiesel gera entre 10 a 18% (base mássica) de glicerol bruto, e que com a crescente produção do biocombustível pretendida para os próximos anos, dificilmente poderá ser beneficiado e vendido na sua totalidade como matéria-prima para as indústrias, como as de cosméticos, por exemplo, gerando assim uma quantidade residual referente à sobra de tudo que não foi beneficiado para comercialização.

De acordo com Johnson e Taconi (2009) e Pott et al. (2014) o aumento da disponibilidade de glicerol causada pelo mercado em expansão biodiesel produziu um excesso de material bruto como subproduto industrial, cujo preço caiu 20 vezes desde 2002 para o preço de 2014, que corresponde a aproximadamente R\$ 0,10 por quilograma de glicerol não beneficiado. De acordo com os mesmos autores, na União Européia, o glicerol bruto ou residual é geralmente classificado como resíduo perigoso, por causa de sua contaminação com metóxido de sódio, aumentando assim o custo de eliminação.

He et al. (2017) afirmam que devido às impurezas presentes no glicerol bruto, são frequentemente necessários processos de refinação caros para que o glicerol bruto possa ser utilizado nas mesmas aplicações que o glicerol puro, por isso já em 2017 não é mais rentável beneficiar o glicerol produzido. Como resultado, a demanda por glicerol bruto é bastante baixa, e os produtores de biodiesel devem encontrar maneiras de eliminá-lo.

A eliminação pode ser onerosa, prejudicial para o ambiente, e significar um desperdício se for realizada de forma incorreta. Sendo assim, a exploração da utilização de glicerol bruto não só reduz o impacto negativo sobre o ambiente, mas também aumentar os benefícios econômicos da produção de biodiesel (CHATZIFRAGKOU e PAPANIKOLAOU, 2014). Estudos indicaram que uma integração do glicerol bruto com outros sistemas para a produção de energia é uma opção promissora apesar das impurezas no glicerol bruto, e alguns processos ainda se beneficiam de sua presença (HE et al., 2017).

Daud et al. (2014) relatam que desde essa data o glicerol bruto residual, que não é purificado para comercialização é geralmente misturado com outros subprodutos aquosos da indústria de biodiesel gerando a chamada água residuária produzida na agroindústria de biodiesel (ARB).

De acordo com Veljkovic et al. (2014) a ARB pode ser gerada através da água utilizada na lavagem e beneficiamento do glicerol e do ester (biodiesel), contendo assim todas as impurezas retiradas e glicerol residual. Daud et al. (2014) e Veljkovic et al. (2014) mencionam que como no processo de transesterificação para produção de biodiesel são utilizados diversos

tipos de matérias primas oleaginosas, álcoois (etanol ou metanol) e catalizadores (NaOH ou KOH) além de modificações na planta piloto e diferentes processos de produção, a composição e/ou características físico-químicas da ARB não são uniformes entre as indústrias produtoras de biodiesel com variações muitas vezes incontroláveis.

Lovato et al. (2015) avaliaram o desempenho do reator AnSBBR operando com água residuária de biodiesel formulada sinteticamente (ARIB) com glicerol beneficiado e com glicerol não beneficiado e afirmaram que as modificações na composição do glicerol influenciaram nas características físico-químicas da ARIB e podem afetar o desempenho do processo biológico anaeróbio quando o objetivo é o aproveitamento do glicerol para obtenção de bioenergia.

Como ainda não existe um perfil real que caracterize a ARB deve-se conhecer o processo de produção do biodiesel analisando a planta de produção e o processo de transesterificação possibilitando inferências sobre sua constituição. Todavia, todas as ARB e ARIB descritas na literatura apresentam como seu principal constituinte o glicerol, responsável pela maior parte da DQO, e muitas vezes este é o poluente mais preocupante.

Visto o exposto, neste trabalho objetivou discorrer sobre o processo de produção do biodiesel e seus possíveis efeitos na constituição da ARB, além de apresentar informações de faixas de constituição da ARB e ARIB além de métodos até agora testados para seu tratamento e aproveitamento do glicerol residual.

3.2-PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Biocombustíveis são combustíveis derivados de biomassa renovável que podem substituir, de forma total ou parcial, os combustíveis fósseis derivados de petróleo e gás natural nos motores a diesel ou em outro tipo de geração de energia. No Brasil, os dois principais biocombustíveis líquidos são o etanol de primeira e segunda geração e o biodiesel produzido a partir de diversas matérias-primas oleaginosas (principalmente da soja), sendo adicionado ao diesel de petróleo em proporções crescentes ao longo dos anos (ANP, 2016).

O Brasil é um país considerado referência mundial em energias renováveis. Aproximadamente 45% da energia e 18% dos combustíveis consumidos no país são renováveis, enquanto no mundo, 86% da energia são geradas a partir de fontes não renováveis (ANP, 2016).

A necessidade de reduzir os impactos do aquecimento global têm motivado os países a desenvolverem uma matriz energética sustentável, substituindo os combustíveis de origem

fóssil, que são finitos, por outros advindos de fontes renováveis. Neste cenário, o biodiesel é um biocombustível de grande relevância para o desenvolvimento sustentável da cadeia de combustíveis (PADULA et al., 2012).

Rincón et al. (2014) caracterizam o biodiesel como sendo um combustível de queima limpa, de baixa viscosidade, baixo ponto de fluidez, atóxico, biodegradável, com baixas emissões de gases de efeito estufa e de compostos sulfonados.

De acordo com *National Biodiesel Board* (2016) dos Estados Unidos, o biodiesel é definido como o mono-alquil éster derivado de ácidos graxos de cadeia longa, oriundo de óleos vegetais ou gordura animal. Este é considerado pela mesma organização uma fonte renovável de energia que possui potencial de substituição dos combustíveis fósseis em motores a diesel. Dados da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) comprovam que atualmente, o Brasil é destaque no cenário internacional na produção e adoção do biodiesel como importante combustível da matriz energética (ANP, 2016).

O início do crescimento do panorama do biodiesel no Brasil foi em 1974, quando o governo federal criou o Programa Nacional do Álcool (Pró-Álcool), para a substituição dos combustíveis veiculares derivados de petróleo por álcool combustível devido à crise do petróleo em 1973. A partir de então, percentuais crescentes de etanol anidro foram sendo incorporados à gasolina por força de lei, chegando até 25% em meados dos anos 2000 e chegando até a 27,5% em 2014. Em 2005 foi criado o Programa Nacional de Biodiesel que, dentre outras disposições, torna obrigatória a adição de biodiesel no diesel derivado de petróleo. O percentual obrigatório passou a 7% a partir de 2014 (ANP, 2016).

O biodiesel utilizado na adição do diesel deve seguir as exigências da resolução brasileira nº 45 de 25/08/2014 descrita pela ANP (2014), que dispõe sobre a especificação do biodiesel e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos diversos agentes econômicos que comercializam o produto em todo o território nacional. Além disso, o biodiesel deve atender às especificações contidas no Regulamento Técnico ANP nº 3 de 2014, que se encontra anexo à resolução publicada, que também delimita todos os procedimentos padrões adotados na caracterização destes biocombustíveis (ANP, 2014).

Na resolução brasileira nº 45 de 25/08/2014 descrita pela ANP (2014) o biodiesel é definido como biocombustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal. Lin et al. (2011) afirmam que cada região do planeta possui uma

condição climática diferente, o que faz com que a variabilidade de matérias-primas oleaginosas para a produção de biodiesel seja alta, como apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Matérias-primas oleaginosas ao redor do mundo de acordo com Tosacano et al. (2011); Alptekin et al. (2012); Yang et al. (2012); Rincon et al. (2014); Chai et al. (2014).

PAÍS	MATÉRIA-PRIMA	PAÍS	MATÉRIA-PRIMA
México	Gordura Animal Óleo Residual	Indonésia	Óleo de Palma Óleo de Jatropha
Canadá	Óleo de Canola Gordura Animal	Austrália	Óleo Residual Gordura Animal
Estados Unidos	Óleo de Soja Óleo Residual	Nova Zelândia	Óleo Residual Gordura Animal
Brasil	Óleo de Soja Óleo de Palma Óleo de Algodão Óleo de Pinhão Manso	Tailândia	Óleo de Palma Óleo de Côco Óleo de Jatropha
		Filipinas	Óleo de Jatropha Óleo de Côco
Espanha	Óleo de Girassol	Coréia	Óleo Residual
França	Óleo de Girassol Óleo de Colza	Japão	Óleo Residual
		Rússia	Óleo de Colza Óleo de Soja Óleo de Girassol
Reino Unido	Óleo de Colza Óleo Residual	Índia	Óleo de Jatropha
Suécia	Óleo de Colza		Óleo de Jatropha Óleo Residual
Alemanha	Óleo de Colza	China	Óleo de Jatropha Óleo Residual
Finlândia	Óleo de Colza Gordura Animal		Óleo de Palma
Itália	Óleo de Colza	Malásia	Óleo de Palma

O Brasil é um país de dimensões continentais cuja variação climática territorial faz com que cada região possua uma matéria-prima em maior proporção. Na Tabela 3.2 especificam-se as principais matérias-primas por região do Brasil. Apesar da diversidade, o óleo de soja é responsável por 90% da produção de biodiesel do país (EMBRAPA, 2016).

Tabela 3.2- Matérias-primas oleaginosas encontradas no Brasil de acordo com Padula et al. (2012), Costa et al. (2013) e Castanheira et al. (2014).

REGIÃO	MATÉRIA-PRIMA
Norte	Óleo de Dendê Óleo de Soja
Sul	Óleo de Soja Óleo de Canola Óleo de Algodão Óleo de Girassol
Sudeste	Óleo de Soja Óleo de Mamona Óleo de Algodão Óleo de Girassol
Centro-Oeste	Óleo de Soja Óleo de Mamona Óleo de Algodão Óleo de Girassol
Nordeste	Óleo de Soja Óleo de Babaçu Óleo de Mamona Óleo de Dendê Óleo de Algodão

O processo de fabricação de biodiesel envolve a secagem da matéria-prima, a extração e purificação do óleo antes da conversão propriamente dita. O óleo vegetal purificado não é ideal para utilização direta em motores a diesel. A alta viscosidade e a acidez elevada são as duas principais características que impedem a queima direta do óleo nos motores.

Jain e Sharma (2010) descrevem que para a conversão do óleo refinado à biodiesel são utilizados 2 processos químicos diferentes, esterificação e a transesterificação, sendo a escolha do processo é baseada nas características do óleo utilizado. O processo de produção do biodiesel está representado esquematicamente na Figura 3.1.



Figura 3.1- Representação esquemática do processo de produção de biodiesel. Fonte: Própria

A maioria dos óleos vegetais naturalmente possuem ácidos graxos livres, que são ácidos carboxílicos de cadeia longa. Estes ácidos graxos também podem ser gerados pela oxidação dos triacilgliceróis (TAG's). Na reação de transesterificação dos TAG's, que ocorre em meio básico, estes ácidos graxos reagem com o álcool formando sabão, numa reação paralela de saponificação. É possível converter estes ácidos graxos livres a biodiesel através da reação de esterificação. Esta reação deve ser realizada antes da transesterificação para que toda a matriz oleaginosa utilizada se converta a biodiesel.

A esterificação é uma das reações utilizadas para a obtenção do biodiesel que consiste na reação entre os ácidos carboxílicos, encontrados nos óleos vegetais, com metanol ou etanol para formar ésteres metílicos ou etílicos, respectivamente e água. As reações de esterificação são catalisadas por ácidos (SOLOMONS e FRYHLE, 2009).

A reação de transesterificação é a etapa da conversão, propriamente dita do óleo ou gordura, em ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, que constitui o biodiesel. Configura-se da reação entre o óleo e o álcool (metanol ou etanol) na presença de catalisadores para se formar a mistura de ésteres (biodiesel) e o glicerol.

A transesterificação dos óleos vegetais resulta em: redução da densidade em relação ao óleo vegetal; redução da viscosidade enquadrando-se dentro da especificação do óleo diesel; diminuição do ponto de fulgor; diminuição do ponto de névoa; redução do resíduo de carbono, resultando em um valor menor do que o diesel; produtos com menor peso molecular, embora seja mantida a estrutura original do ácido graxo; aumento do número de cetanos que se torna maior ou igual ao do óleo diesel (ALMEIDA, 2014).

Em relação ao processo de transesterificação, de acordo com Rincon et al. (2014), muitas indústrias produtoras vêm modificando o processo tradicional utilizado, quando a quantidade de ácidos graxos livres é maior que 1% e a umidade menor que 0,06%, substituindo os

hidróxidos tradicionalmente utilizados como catalizadores, por alcóxidos (metóxido de sódio, etóxido de sódio ou propóxido de sódio) em função do álcool utilizado na transesterificação. Outra modificação que vem sendo feita no processo de transesterificação, refere-se ao uso da catálise homogênea com ácido, quando se utiliza matéria prima com alta concentração de ácidos graxos livres como sebo ou óleos de cozinha reaproveitados. A catálise com ácidos fortes (HCl e H₂SO₄) converte os ácidos graxos livres em esteres (biodiesel) através da esterificação enquanto simultaneamente catalisa a transesterificação de triglicerídeos a biodiesel. Os catalisadores sólidos como MgO-La₂O₃, zeólitas (ETS10), KI/AlO₃ e TiO₂ também vêm sendo utilizados por várias indústrias produtoras de biodiesel para produzir esteres metil de ácidos graxos.

Os catalisadores são utilizados para aumentar a velocidade da reação, visto que é responsável pela diminuição da energia de ativação da reação estes podem ser ácidos, básicos ou enzimáticos. Os catalisadores alcalinos exigem condições mais amenas de processo (baixa temperatura) e são mais reativos, o que faz com que sejam os preferidos das indústrias de biodiesel (YANG et al., 2014).

O esforço mundial para a mitigação dos efeitos das mudanças climáticas é cada vez mais notório, principalmente após a 21^a Conferência das Partes (COP-21) da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima (UNFCCC), que ocorreu em Paris no ano de 2015. A COP21 buscou concretizar um novo acordo internacional que fosse aplicado a todos os países com a finalidade de diminuir os efeitos negativos do aquecimento global e manter o aumento da temperatura global abaixo dos 2 °C (ONU, 2016). Neste cenário, o setor de energias renováveis tem ganhado merecido destaque. No final de 2015, pelo menos 173 países tinham um plano definido de energias renováveis e 146 países tinham políticas em nível nacional e estadual (REN21, 2016).

A REN21 é a política global de energia renovável. O objetivo da REN21 é conectar os países em uma rede de troca de conhecimentos para o rápido desenvolvimento das energias renováveis. A REN21 é uma associação internacional sem fins lucrativos e é baseado no United Nations Environment Programme (UNEP) em Paris, França que reúne governos, ONG's, instituições de pesquisa e acadêmicas, organizações internacionais e a indústria para a construção do conhecimento para as energias renováveis (REN21,2016).

A utilização do biodiesel em detrimento ao uso do diesel de petróleo possui algumas vantagens e desvantagens descritas por Carvalho (2012). São vantagens:

➤É uma fonte de energia renovável, visto que os gases emitidos na queima do combustível já foram absorvidos no crescimento das plantas em que o óleo para a produção do biodiesel foi extraído.

➤A diversidade de matérias-primas é enorme;

➤Por apresentar alto ponto de fulgor, a armazenagem do biodiesel é mais segura. É necessária uma fonte de calor por volta de 150 °C para explodir;

➤O biodiesel é um ótimo lubrificante e pode aumentar a vida útil do motor;

➤Não é necessária nenhuma modificação no funcionamento dos motores com misturas até 20% de biodiesel;

➤Sua produção é mais barata do que a do petróleo, levando em consideração, os gastos com desenvolvimento de tecnologia e perfuração de poços.

Carvalho (2012) considera desvantagem do biodiesel os seguintes aspectos:

➤Cristalização em baixas temperaturas, sua viscosidade aumenta bastante;

➤Emissões altas de óxido de nitrogênio. Elas aumentam no uso de biodiesel puro em cerca de 10%;

➤Grande quantidade de glicerina obtida na sua produção;

➤Alta no preço dos alimentos, visto que parte da produção é utilizada na produção do biodiesel.

O relatório da REN21 expõe os dados do setor de energias renováveis anualmente. Dados do relatório mostrados na Tabela 3.3 expõe os investimentos anuais em energias renováveis, divididos por setor energético. Apesar de haver variações quando se analisa cada tipo de energia separadamente, quando a análise se restringe ao investimento total em energias renováveis, o montante investido no setor praticamente quadruplicou nos últimos 10 anos.

Tabela 3.3- Investimentos mundiais no setor de energias renováveis de acordo com a REN 21

Investimento	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Unidade
Energia Solar	16,1	22,2	38,9	61,6	64,4	103,7	154,8	146,2	119,1	143,8	161	Bilhões dólares
Energia Eólica	29	39,8	61,2	75,4	79,8	98,7	84,2	81,9	90,6	105,7	109,6	
Biomassa e Resíduos para Energia	9,7	11,9	16,2	17,1	14,7	15,7	18	13,5	10,5	10,4	6	
Biocombustíveis	7,3	7,6	6,7	7,6	6,2	7,9	7,2	6,4	5,5	5,5	3,9	
Energia Hidrelétrica	9,6	28,2	28,3	18,5	10,4	10,1	10,3	7,2	5,7	5,7	3,1	
Energia Geotérmica	1	1,5	1,9	1,7	2,9	2,8	3,7	1,8	2,4	2,4	2	
Energia Oceânica	0,1	0,9	0,8	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	
Total Anual	72,8	112,0	154,0	182,2	178,7	239,2	278,5	257,3	234,0	273,0	285,9	

Na Tabela 3.4 são apresentadas informações sobre a quantidade de energia produzida por setor, deixando claro o aumento da produção, corroborando os dados apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.4- Indicadores de energias renováveis no mundo

ENERGIA	2014	2015	Unidade
	Valor	Valor	
Capacidade Total de Energia Renovável, excluindo hidroelétrica	665	785	GW
Capacidade Total de Energia Renovável, incluindo hidroelétrica	1701	1849	GW
Geração Anual de Bioenergia	429	464	TWh
Capacidade de Energia Solar	177	227	GW
Capacidade de Energia Eólica	370	433	GW

Legenda - GW: gigawatt. TWh: Terawatt-hora.

Todos os dados apresentados mostram que os investimentos em energias renováveis em especial os biocombustíveis (incluindo biodiesel) são crescentes, cada vez maiores e fundamentais para a substituição da matriz energética sustentável que colabore significativamente para a diminuição dos efeitos negativos do aquecimento global.

Como foi apresentado até o momento o processo produtivo de biodiesel consequentemente gera como co-produto o glicerol. As tabelas 3.3 e 3.4 comprovam o aumento gradual e temporal da produção de biodiesel devido ao alto investimento financeiro devido sua capacidade energética. Esse fato acarreta no aumento da produção de glicerol que até 2003 era beneficiado e fornecido para o mercado com absorção estável. A partir de então a disponibilidade de glicerol bruto cresceu muito, mas a demanda permaneceu praticamente inalterada. Gholami et al. (2014) relatam que a alta disponibilidade e a demanda praticamente inalterada levaram a uma queda brusca no preço de mercado do glicerol. De acordo com He et al. (2017), o glicerol residual não comercializado atualmente é descartado em forma de ARIB. O investimento na produção de biodiesel é uma alternativa de estímulo às energias renováveis, todavia devido ao crescimento de sua produção o aumento na geração glicerol promove o surgimento efluente que compromete a sustentabilidade do processo. Esse aumento significativo da produção da ARB, faz com que se torne necessário o conhecimento de suas características e o desenvolvimento de processos eficientes de tratamento deste efluente, visto que a produção de biodiesel é alinhada dentro de uma premissa de sustentabilidade.

Daud et al. (2014) relatam que atualmente o glicerol bruto residual, que não é purificado para comercialização é geralmente misturado com outros subprodutos aquosos da indústria de biodiesel gerando a chamada ARB. De acordo com os mesmos autores, a ARB é composta em

sua maioria pelo glicerol residual não beneficiado, todavia outros constituintes como álcool não reagido (etanol ou metanol), catalizadores (NaOH ou KOH) e compostos constituintes da matéria prima oleaginosa utilizada na transesterificação, também podem compor a ARB. Portanto a constituição da ARB pode variar de acordo com a planta piloto em operação, tipo de matéria prima oleaginosa, catalisador e álcool utilizados.

3.3- CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO DO BIODIESEL (ARB) E PROCESSOS DE TRATAMENTO UTILIZADOS PARA SUA REMEDIAÇÃO

O processo de produção de biodiesel exige, como reagentes, uma matéria-prima oleaginosa, um álcool e um catalisador, independentemente do tipo de reação adotada. Cada tipo de óleo possui uma composição química que reagirá com cada tipo de álcool e catalisador de formas diferenciadas, produzindo produtos distintos entre si. A escolha do tipo de reação e combinação de cada tipo destes reagentes define a composição do glicerol cru e da água residuária gerada. A água residuária do processo (ARB) é gerada na lavagem e no refino do biodiesel e do glicerol.

O glicerol é um triálcool gerado após o processo de transesterificação, sendo este o nome comum do composto orgânico 1,2,3-propanotriol, descoberto por Carl W. Scheele em 1779 durante a separação de uma mistura aquecida de PbO preparada com óleo de oliva. Os seus sinônimos são glicerina, trihidroxipropano, glicil álcool, gliceril e 1,2,3-trihidroxipropano (ALMEIDA, 2014). Ele na sua forma pura apresenta-se como um líquido viscoso, incolor, inodoro e higroscópico, com sabor doce, solúvel em água e álcool, insolúvel em éter e em clorofórmio (MOTA et al., 2009).

De acordo com Veljkovic et al. (2014), as ARB são emulsões altamente estáveis contendo todas as impurezas retiradas do processamento, além do glicerol residual. Os mesmos autores ainda mencionam que muitas indústrias, por não conseguirem comercializar todo o glicerol cru produzido no processo, acabam por despejar este excedente junto à água residuária, aumentando sua concentração de matéria orgânica, sendo este mais um motivo pelo qual a composição da ARIB não é uniforme entre as indústrias produtoras.

É fundamental o tratamento eficiente da ARB, visto que o lançamento deste efluente diretamente no sistema de esgoto, além de ser uma medida que coloca em risco o meio ambiente, pode ocasionar o entupimento do sistema devido ao óleo residual que pode se acumular e também diminuir a atividade microbiana que é responsável pela depuração de todo o tipo de matéria orgânica lançada nos corpos d'água.

Como já foi supracitado, as características físico-químicas da ARB variam de acordo com as matérias-primas, com a reação escolhida, com o álcool, com o catalisador e com a gestão do processo industrial. Uma análise criteriosa da composição do efluente gerado deve ser realizada, uma vez que todas estas variáveis que afetam as características da ARB podem promover diferentes inibidores do crescimento microbiológico do lodo, diferentes condições de pH, faixas de demanda química de oxigênio (DQO), óleos e graxas (O&G) e sólidos com variações muitas vezes incontroláveis.

Na Tabela 3.5 podem ser observadas as faixas de concentração das variáveis físicas e químicas encontradas na caracterização da ARB provenientes de processos de transesterificação com diferentes catalisadores e matérias primas oleaginosas utilizadas na fabricação do biodiesel.

Tabela 3.5 - Variáveis físicas e químicas de caracterização da ARB encontrados na literatura entre 2005 e 2013.

Parâmetros	Unidade	Intervalo de variação
pH	-	4,3 - 11,2
Sólidos Suspensos Totais (SST)	mg L ⁻¹	670 - 8850
Demanda Química de Oxigênio Total (DQO _T)	mg L ⁻¹	3681- 588.800
Demanda Bioquímica de Oxigênio Total (DBO ₅ ^{20°C} _T)	mg L ⁻¹	260 - 300.000
Óleos e Graxas (O&G)	mg L ⁻¹	387 - 44.300

Como pode ser notado na Tabela 3.5, as faixas de variação das características das águas residuárias são grandes, o que corrobora os argumentos supracitados que elucidam as variantes do efluente de acordo com as variações de matérias-primas, reagentes e gestão do processo. Todavia, de forma geral é possível perceber que a ARB possui biodegradabilidade (relação DBO₅^{20°C}/DQO) entre 0,07 e 0,5 variável em função da quantidade de glicerol inserida na mesma. A amplitude nos valores de pH entre 4,32 e 11,21 deve-se ao tipo de catalizador utilizado podendo o mesmo ser ácido ou alcalino. A presença de SST é devida as impurezas presentes nas amostras de glicerol e biodiesel beneficiados e os óleos e graxas são referentes ao material oleaginoso não reagido. Em todos os trabalhos estudados é nítida a característica de ausência de nutrientes na ARB, sendo assim quando processos biológicos forem utilizados para seu tratamento a ARB provavelmente deverá receber suplementação de nitrogênio e fósforo.

Outra forma de visualizar os problemas vinculados a utilização da ARB em processos biológicos de tratamento é comparando os trabalhos realizados por Rattanapan et al. (2011) e Pitakpoolsil e Hunsom (2013) em um único país sujeitos ao mesmo tipo de fiscalização e padronização de processo industrial para a fabricação do biodiesel regulamentado pelo DEDE

(Department of Alternative Energy Development and Efficiency), do Ministério de Energia da Tailândia, de acordo com os mesmos autores.

Rattanapan et al. (2011) utilizaram no experimento uma ARB proveniente de uma planta piloto de biodiesel da Tailândia (Specialized R&D Center for Alternative Energy from Palm Oil and Oil crop, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Thailand) que utilizava óleo de palma, e transesterificação alcalina com NaOH e etanol para produção do biodiesel. Já Pitakpoolsil e Hunsom (2013) utilizaram no experimento uma ARB proveniente de uma planta piloto de biodiesel da Tailândia que utilizava para produção do biodiesel, óleo vegetal usado como matéria prima no processo de transesterificação alcalina com NaOH e metanol. Em ambos os casos as proporções entre os reagentes não foram mencionadas no trabalho. Nas duas investigações, com o processo de transesterificação completo, o glicerol gerado foi lavado com água, para sua purificação. A água obtida após a lavagem do glicerol foi considerada a ARB.

Na Tabela 3.6 visualizam-se os resultados obtidos pelos autores Rattanapan et al. (2011) e Pitakpoolsil e Hunsom (2013) na caracterização das ARB obtidas nos processos de produção citados anteriormente.

Tabela 3.6 – Comparação das características de ARB obtida em dois processos de transesterificação distintos

Variável	Unidade	Rattanapan et al. (2011)	Pitakpoolsil e Hunsom (2013)
pH	-	8,5 – 10,5	9,25 – 10,26
Demanda Química de Oxigênio Total (DQO _T)	mg L ⁻¹	60.000 – 150.000	29.595 – 54.362
Demanda Bioquímica de Oxigênio Total (DBO ₅ ^{20°C} _T)	mg L ⁻¹	30.000 – 60.000	1492 – 2286
Óleos e Graxas (O&G)	mg L ⁻¹	7.000 – 15.000	1040 – 1710
Sólidos Suspensos Totais (SST)	mg L ⁻¹	1.500 – 5.000	6010 – 6090

Após analisar a Tabela 3.6, é possível concluir que mesmo dentro de um país regido sobre as mesmas normas de produção, os valores atribuídos aos parâmetros de caracterização variam em função do tipo de matéria prima e processo de transesterificação utilizados, reiterando tudo o que já foi argumentado em relação a este aspecto. Em suma, nunca existirá um perfil real que caracterize a ARB. Todavia, todas as ARB descritas na literatura apresentam como seu principal constituinte a glicerina, responsável pela maior parte da DQO, e muitas vezes este é o poluente mais preocupante.

Como vem sendo produzidas altas vazões de glicerol e ARB, diferentes tipos de tratamento têm sido desenvolvidos para o tratamento das ARB produzidas no processo de transes-

terificação com catálise básica. A Tabela 3.7 exemplifica os processos de tratamento classificados por tipo.

Tabela 3.7 – Processos utilizados no tratamento de ARB mencionados por Ngamlardpokin et al. (2011), Rattanapan et al. (2011), Pitakpoolsil e Hunson (2013), Daud et al. (2014) e Veljković et al. (2014)

Classificação	TRATAMENTO
Físico-químico	Adsorção
	Acidificação
	Coagulação/Floculação
	Flotação
Eletroquímico	Eletrocoagulação
	Eletrólise Hidrotérmica
Químico acoplado a eletroquímico	Acidificação/Eletrocoagulação
	Tratamento Eletroquímico na presença de coagulante
	Acidificação/Eletrocoagulação
Processos oxidativos avançados	Ozonização
	Fotocatálise Heterogênea
	Processo Foto-Fenton
Tratamentos biológicos	Processo Anaeróbico
	Process Aeróbio
Tratamento integrado com tratamento prévio	Físico-Químico/Processo Anaeróbico
	Físico-Químico/Processo Aeróbico
	Foto-Fenton/Processo Aeróbico

Ngamlardpokin et al. (2011), Rattanapan et al. (2011), Pitakpoolsil e Hunson (2013), Daud et al. (2014) e Veljković et al. (2014) relatam que o processo adotado para tratamento da ARB é escolhido em função da composição da mesma e objetivo desejado.

Suehara et al. (2005) estudaram o tratamento biológico da ARB com a levedura *Rhodotorula mucilaginosa*. A ARB tinha valor de pH de 11, concentração de O&G de 15,1 g L⁻¹, concentração de ST de 2,67 g L⁻¹, concentração de carbono orgânico total de 14,8 g L⁻¹ e concentrações de nitrogênio de 64,7 mg L⁻¹, resultando em uma relação C/N de 229 o que inibiu o crescimento de microrganismos. Assim, para aplicar o tratamento usando a referida levedura, o pH foi ajustado para 6,8 e adicionados nutrientes a ARB, como extrato de levedura, KH₂PO₄ e MgSO₄.7H₂O. A concentração inicial ótima de extrato de levedura foi 1 g L⁻¹ e a

razão ótima C/N foi entre 17 e 68, usando uréia como fonte de nitrogênio. Um inibidor de crescimento estava presente no efluente, o qual foi detectado medindo a quantidade de sólidos na fase aquosa depois da extração do hexano. Os microrganismos não conseguiam crescer com quantidade de sólidos acima de $2,14 \text{ g L}^{-1}$ no efluente e, para evitar a inibição do crescimento, a ARB afluyente foi diluída 50%. Os autores relataram a dificuldade do uso de fungos e leveduras no tratamento deste efluente, concluindo que outros tipos de processo deveriam ser estudados para remoção de matéria orgânica e O&G deste resíduo.

Pitakpoolsil e Hunsom (2013) partiram do princípio que se a ARB possui como principal matriz orgânica o glicerol diluído, essa matéria orgânica solúvel pode ser removida através de processos de adsorção. Portanto, os autores estudaram o uso de flocos de quitosana comerciais como meio adsorvente para remoção de poluentes da ARB. Foram avaliados o efeito da variação do tempo de adsorção (0,5-5 h), pH inicial (2-8) da ARB, a dosagem de adsorvente ($1,5-5,5 \text{ g L}^{-1}$) e a velocidade de mistura (120-350 rpm) na capacidade de adsorção de poluentes, sendo estes medidos em termos de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$, DQO e O&G. Os autores encontraram as condições ótimas para remoção de poluentes sendo elas: tempo de adsorção de 3 h, pH inicial da ARB de 4,0, concentração de adsorvente de 3,5 g de quitosana por L de ARB e agitação de 300 rpm. As eficiências de remoção foram de 76, 90 e 67%, e as capacidades de adsorção foram de 236, 4503 e 140 mg g^{-1} ambas para $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$, DQO e O&G, respectivamente. A cinética de adsorção e a isotérmica de adsorção foram ajustadas ao modelo Langmuir. Após os testes de adsorção os autores estudaram a eluição dos contaminantes com HNO_3 e NaOH , concluindo que os flocos de quitosana além de ótimos adsorventes para remoção dos poluentes da ARB, podem ser reaproveitados após a lavagem dos mesmos com os eluentes mencionados.

Lo et al. (2013) estudaram o processo de *dark* fermentação anaeróbia do glicerol na sua forma pura e residual para a produção de biohidrogênio utilizando culturas puras de *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, e *Klebsiella sp.* Dentre as culturas avaliadas as bactérias *Clostridium pasteurianum* apresentaram o melhor desempenho para a produção de biohidrogênio nas seguintes condições otimizadas para fermentação: temperatura do meio de $35 \text{ }^\circ\text{C}$; pH inicial em 7.0; velocidade de agitação de 200 rpm; concentração de glicerol de 10 g L^{-1} para ambos os tipo de glicerol. Os autores concluíram que quando se utilizou glicerol puro como fonte de carbono para a fermentação e produção de biohidrogênio, a taxa média de produção de H_2 chegou a $103,1 \pm 8,1 \text{ mL L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e rendimento de $0,5 \pm 0,02 \text{ mol H}_2$ formado por mol de glicerol degradado. Quando se utilizou glicerol puro como fonte de carbono para a fermentação e produção de biohidrogênio, a taxa média de produção de H_2 chegou a $166 \pm 8,7 \text{ mL L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e rendimento de $0,77 \pm 0,05 \text{ mol H}_2$ formado por mol de glicerol degradado. Com

os resultados obtidos os autores concluíram que os macro e micronutrientes são essenciais para formação do biohidrogênio e também demonstrou o elevado potencial para utilização do glicerol proveniente da produção do biodiesel na produção sustentável e economicamente viável de biohidrogênio.

Bravo et al. (2015) estudaram a influência da COV_A na produção de biohidrogênio em um reator anaeróbio com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano operando em batelada (AnSBBR) no tratamento da água residuária de biodiesel formulada sinteticamente (ARIB) contendo glicerol como única fonte de carbono. O reator AnSBBR estudado tinha 5 L de volume total com 3,5 L de volume reacional com biomassa imobilizada e 1,5 L para passagem de líquido sendo operado em condição mesofílica a 30 °C. Seis COV_A foram obtidas a partir da combinação de tempos de ciclo entre 3 e 4 h e concentrações de DQO afluente de 3000, 4000 e 5000 mg L⁻¹ em termos de DQO gerando valores de COV_A variando entre 7,6 e 16,2 g L⁻¹ d⁻¹.

Os referidos autores não encontraram relação clara entre a carga orgânica volumétrica aplicada e a produção de hidrogênio. A maior produção de hidrogênio foi obtida com a concentração de DQO afluente de 5000 mg L⁻¹ e COV 12,9 g L⁻¹ d⁻¹ obtendo um biogás com a fração molar de hidrogênio de 67,5 mol m⁻³ d⁻¹. Esta condição também atingiu o maior rendimento molar por causa do maior valor da carga aplicada com no maior valor de concentração da matéria orgânica afluente. Outro fator que os autores utilizaram para justificar a alta produção de hidrogênio foi o pré-tratamento térmico e aclimatização do lodo utilizado para inóculo. A utilização de glicerol em bruto como uma única fonte de carbono exibiu uma clara desvantagem para a produção de hidrogênio em comparação com glicerol puro. Os autores indicam o uso do glicerol puro em estudos de pesquisa além de mencionarem a necessidade da suplementação nutricional com macro e micronutrientes para a produção de biohidrogênio.

Baseado nos trabalhos mencionados e outros publicados, é possível concluir que o fato da ARB ser um resíduo líquido composto por uma matriz orgânica simples (glicerol), pode ser tratada por diversos processos sendo eles físicos, químicos e biológicos. Entretanto, as baixas concentrações de nutrientes da ARB podem dificultar o tratamento biológico, além disso, como este resíduo líquido é altamente diluído e possui baixa viscosidade é de difícil transporte limitando o prisma de opções.

Os processos de tratamento biológico anaeróbio ou processos conjugados que possuem uma etapa anaeróbia são capazes de produzir metano e a queima deste gerar energia. Estes processos são vantajosos por contribuírem para a sustentabilidade ambiental do processo, visto que a porcentagem de conversão de biomassa a energia é maior e o volume de resíduos diminui significativamente. Também possuem sustentabilidade financeira maior porque a

energia produzida pode ser comercializada (PALOMINO-ROMERO et al., 2012). Diante destes fatos, o objetivo da futura agroindústria que produz o biodiesel é gerar duas fontes de energia, sendo a primeira um biocombustível líquido (biodiesel) e a segunda um gasoso (biogás).

3.4- ASSIMILAÇÃO DO GLICEROL POR MICRORGANISMOS E PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO CELULAR

A remoção do glicerol, e conseqüentemente da matéria orgânica, da ARB ou ARIB vêm sendo realizada por meio da digestão anaeróbia. Este processo além de degradar estes compostos indesejados, produz alguns bioprodutos de interesse biotecnológico (RIVALDI et al., 2007) e energia (HE et al., 2017).

Yazdani e Gonzalez (2007) e Yazdani e Gonzalez (2008) mostraram que o glicerol é considerado uma fonte de carbono altamente assimilável por bactérias e leveduras em condições aeróbicas e anaeróbicas para a obtenção de energia metabólica, como regulador do potencial redox e para a reciclagem de fosfato inorgânico dentro da célula. Vários estudos foram desenvolvidos visando à utilização de glicerol como fonte de carbono por microrganismos, especialmente por bactérias. Muitos destes apontam principalmente a mecanismos de assimilação de glicerol por estes microrganismos como leveduras, bactérias e arqueias, para a produção de compostos intermediários de polímeros, resinas, aditivos para combustíveis, etanol, metano e hidrogênio dentre outros (PAPANIKOLAU et al., 2002; ITO et al., 2005; ZHAO et al., 2006; RYMOWICZ et al., 2006; CHENG et al., 2007; SELMA et al., 2010; LOVATO et al., 2012; SILVA et al., 2013 e LOVATO et al., 2015).

De acordo com Ayoub e Abdullah (2012), o glicerol não beneficiado é melhor que o purificado, em termos de meio de cultura nutritivo para processos de tratamento biológico, pois contém elementos nutricionais, como, fósforo, enxofre, magnésio, cálcio, nitrogênio e sódio, e que são factíveis de serem utilizados por microrganismos para o seu crescimento durante processos fermentativos. Em microrganismos eucarióticos, o glicerol constitui o principal composto formado para regular as variações de atividade de água em ambientes altamente osmofílicos.

O transporte do glicerol através da membrana celular constitui a primeira etapa para o seu metabolismo por microrganismos. Gancedo e Gancedo (1968) estudaram o metabolismo do glicerol em *Candida utilis* (*C. utilis*) e *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) em condições aeróbicas e observaram que a levedura *C. utilis* apresentou maior velocidade de cresci-

mento nestas condições. Este fato foi atribuído à maior facilidade de difusão do glicerol através da membrana plasmática nesta levedura.

Devido às conclusões realizadas por Gancedo e Gancedo (1968) por muitos anos o glicerol foi considerado uma molécula lipossolúvel capaz de atravessar a membrana plasmática somente por simples difusão em certas cepas de microrganismos. Todavia, 21 anos depois Blomberg e Adler (1989) mencionaram que esses estudos foram inconsistentes com o fato de que leveduras retêm e acumulam glicerol dentro da célula como foi observado por eles em seu estudo. A partir dos estudos de Blomberg e Adler (1989), para explicar esta retenção, alguns autores atribuíram este fato a uma redução da permeabilidade da membrana devido a variações na composição de lipídeos, quando as leveduras crescem sob condições de baixa atividade de água, ou simplesmente pela fosforilação do glicerol que dificulta seu passo através da membrana. Outros, por sua vez, defenderam a teoria da existência de mecanismos de transporte ativo para a excreção de glicerol, onde proteínas específicas que controlam a excreção ou retenção, por exemplo, a FPS1p, dependem das condições osmóticas ou hiper osmóticas nas quais estejam expostas as leveduras (NEVES et al., 2004).

Com o decorrer dos anos com base nas informações obtidas por Gancedo e Gancedo (1968); Dillis et al. (1980); Voegelé et al. (1993); Lages et al. (1999) e Neves et al. (2004), é adotado como conceito conclusivo que de forma geral, a assimilação de glicerol por parte dos microrganismos envolve o transporte passivo e transporte ativo através da membrana plasmática. O transporte passivo inclui a difusão simples (permeação não específica) e a difusão facilitada mediada por proteínas localizadas nas camadas mais internas da membrana plasmática (MIP), as permeases. A difusão simples, sendo ATP não dependente, requer um gradiente de concentração para o transporte do substrato através da membrana. Conseqüentemente, a concentração do substrato no interior da célula não supera aquela encontrada no meio de cultura (MOAT et al., 2002).

Luyten et al. (1995) citado por Neves et al. (2004) realizaram estudos referentes a fermentação do glicerol com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, os autores assinalaram a existência de permeases denominadas FPS1, específicas para transporte de glicerol. Lages et al. (1999) por sua vez, confirmaram a presença da FPS1 e descreveram a presença de permeases denominadas YFL054c que atuam somente sobre estresse osmótico de células de *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação do glicerol.

Estudos combinados de Luyten et al. (1995) e Holst et al. (2000), apresentam três genes responsáveis pela assimilação e regulação do conteúdo intercelular de glicerol em leveduras utilizando como referência no ensaio de fermentação a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os genes foram denominados de GUP1 e GUP2, os autores associam-nos diretamente com o

transporte facilitado e que são expressos conforme os estímulos provocados nas células, como o estresse osmótico.

Por outro lado, estudos realizados por Lages e Lucas (1997) e Neves et al. (2004) descreveram mecanismos de transporte ativo denominados simporte glicerol/H⁺ e simporte glicerol/Na⁺ os quais são dependentes de ATP em numerosas espécies de leveduras, dentre elas *Debaryomyces hansenii*, *Pichia sorbitophila*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Zygosaccharomyces rouxii*. Os autores realizaram a fermentação do glicerol utilizando as leveduras mencionadas e concluíram que tanto as acumulações de glicerol por estresse, quanto à existência de mecanismos ativos, são comuns em grande variedade de leveduras.

Neves et al. (2004), exploraram a semelhança existente entre o mecanismo de transporte e metabolismo de glicerol em leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* e outras espécies de leveduras com importância biomédica e industrial, como *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia angusta*, *Candida sorbitophila* e *Candida albicans*. Com base nos trabalhos de Luyten et al. (1995); Lages et al. (1999); Holst et al. (2000); Lages e Lucas (1997) e Neves et al. (2004) apresentaram um esquema resumido dos principais mecanismos de transporte encontrados na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, dando destaque as proteínas de transporte FPS1 e YFLO54c, e aos genes GUT1 e GUT2 usados para expressão de enzimas de assimilação de glicerol (Figura 3.2).

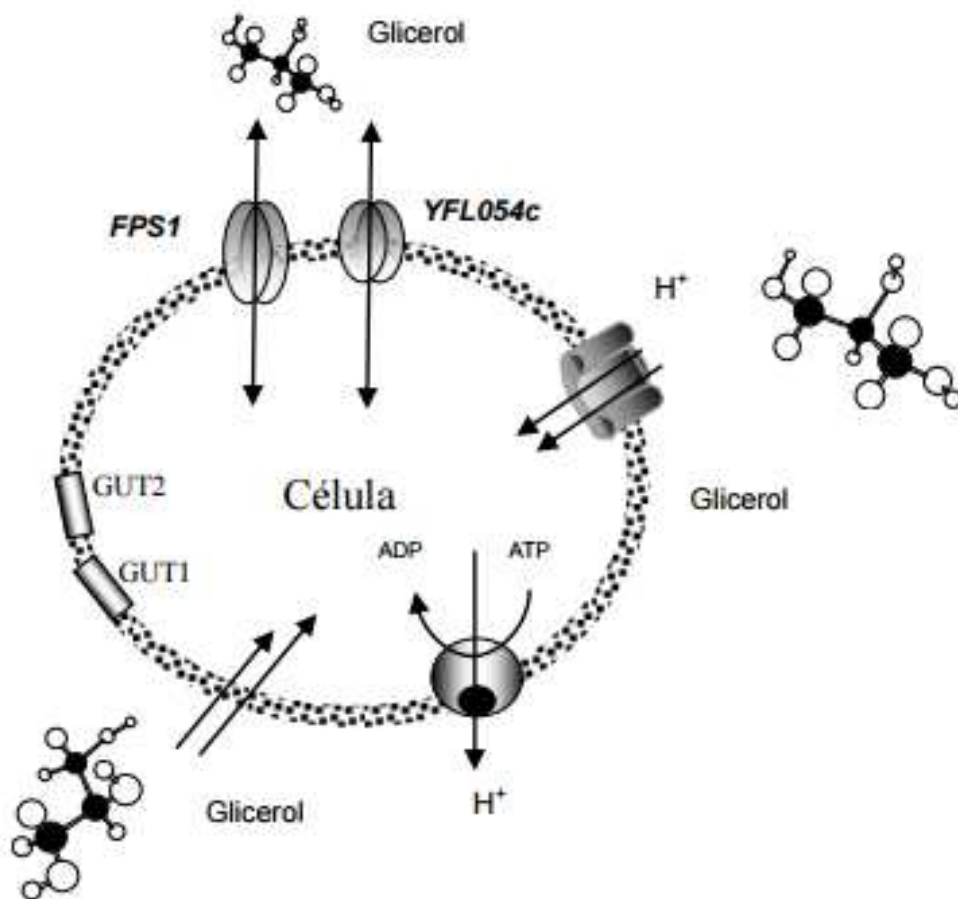


Figura 3.2- Tipos de transporte para a assimilação de glicerol pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* elaborado por Neves et al. (2004). **Fonte:** Rivaldi (2008).

O glicerol é um dos poucos substratos que atravessa a membrana celular por difusão facilitada nas células procarióticas. Moat et al. (2002) estudando o uso de bactérias como *Escherichia coli* na fermentação de glicerol, mencionaram a presença da proteína do tipo poro-canal-G1pF, sendo que está atua por sensibilidade mecânica sem gasto energético na presença de glicerol. Este facilitador permite a assimilação, além do glicerol e de outros substratos como: pequenas moléculas de polihidroxi álcoois, uréia e glicina, mas exclui moléculas carregadas como gliceraldeído-3-fosfato e dihidroxiacetona fosfato.

Após a passagem do glicerol através da membrana plasmática de qualquer microrganismo, pelos possíveis mecanismos mencionados acima, o glicerol pode ser catabolizado por várias rotas metabólicas independentes gerando diversos tipos de bioprodutos.

De acordo com Gancedo e Serrano (1989) uma das rotas, provavelmente a principal para a assimilação de glicerol por leveduras, consiste na fosforilação do glicerol pela enzima glicerol-quinase para formar glicerol-3-fosfato, que é reduzido a dihidroxiacetona fosfato pela enzima mitocondrial glicerol fosfo-ubiquinona oxidoreductase (FAD dependente). Com base

nessa rota várias espécies de leveduras do gênero *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* e *Turolopsis* assimilam o glicerol através da enzima glicerol-quinase na via fosforilativa. Neves et al. (2004) demonstraram que, a síntese das enzimas glicerol-quinase e fosfo-ubiquinona oxidoreductase são GUT1 e GUT2, respectivamente. De acordo com esses autores a expressão dessas enzimas é reprimida durante o crescimento celular em substratos fermentescíveis como glicose, mas desregulado quando glicerol ou etanol é utilizado como a principal fonte de carbono.

De acordo com Moat et al. (2002), o crescimento de microrganismos em fontes de carbono alternativas aos carboidratos, como L-malato, acetato ou glicerol requer a capacidade de sintetizar hexoses (gliconeogênese) necessárias para a produção de mucopolídeos da parede celular, armazenagem de glicogênio, e outros compostos derivados de hexoses, como as pentoses, envolvidos na biosíntese de ácidos nucleicos. Os autores explicam que o fluxo líquido de carbono para a formação de hexoses requer elevado gasto energético (processos aeróbicos). Algumas das reações dessa via não são irreversíveis e necessitam de enzimas diferentes daquelas da via glicolítica, como por exemplo, a frutose-1,6-difosfato 1-fosfohidrolase que catalisa a desfosforilação da frutose-1,6-difosfato a frutose-6-fosfato e fósforo inorgânico. A segunda reação de importância implica a desfosforilação da glicose-6-fosfato mediante a glicose-6-fosfatase para obter D-glicose livre.

Outra possível via catabólica corresponde à oxidação de glicerol e conseqüente formação de dihidroxiacetona pela enzima glicerol desidrogenase. Após, a dihidroxiacetona é fosforilada a dihidroxiacetona fosfato pela enzima dihidroxiacetona quinase dependente de Adenosina Trifosfato (ATP).

A dihidroxiacetona fosfato é considerada uma importante molécula intermediária para a gliconeogênese, assim como para a obtenção de vários compostos através das vias oxidativas, incluindo, ácido cítrico, ácido succínico, ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, etanol e outros compostos de interesse comercial (BARBIRATO et al., 1996). Também, Hauge et al. (1955) mencionado por Neves et al. (2004), fazem referência sobre a capacidade de algumas bactérias, entre elas *Acetobacter suboxydans*, de oxidar a molécula de dihidroxiacetona fosfato pela via pentose fosfato, incrementando o número de bioprodutos possíveis de serem obtidos por via biotecnológica a partir de glicerol.

Todavia, em condições de anaerobiose, o glicerol sofre desidratação pela enzima glicerol desidratase para produzir 3-dihidroxi-propanal. Posteriormente, este intermediário é transformado pela enzima NADH que é dependente da 1,3-propanodiol oxido-reductase e gera como produto o 1,3-propanodiol. Esse estudo foi realizado utilizando as espécies de leveduras do gênero *Yarrowia sp.* e em bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium pasteurianum*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium pasteurianum*, *Clos-*

tridium butyricum, *Enterobacter agglomerans*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* e *Bacillus welchii* por Barbirato et al. (1996), Nakamura et al. (2000), González-Pajuelo et al. (2006), Zhao et al. (2007) e Cheng et al. (2007).

Uma vez que o glicerol é assimilado no interior da célula, numerosos compostos são produzidos como consequência do seu metabolismo. Dentre os bioprodutos de interesse agrícola, industrial e agroindustrial destacam-se o hidrogênio (biohidrogênio), metano, etanol, butanol e o 1,3-propanodiol.

3.5- PRODUÇÃO DE ETANOL, BUTANOL E 1,3 PROPANODIOL

A geração de energia (elétrica ou térmica) através do metano (principal constituinte do biogás) ou para geração dos bioprodutos mencionados têm se tornado cada vez mais comuns em alguns países, especialmente os mais desenvolvidos, que têm uma política de subsídios para produção e uso de energias renováveis.

O etanol renovável é um combustível normalmente produzido a partir de plantas cultivadas, como a cana-de-açúcar, o milho, a beterraba, o trigo e a mandioca. No Brasil, o etanol é produzido a partir da cana-de-açúcar, que é a matéria prima mais eficiente que se conhece até hoje para a sua produção comercial. O balanço energético (unidade de energia obtida x unidade de energia necessária para a produção) do etanol de cana é aproximadamente sete vezes maior que o obtido pelo etanol de milho, produzido nos EUA, e quatro vezes maior do que o obtido pelo etanol de beterraba e de trigo utilizados na Europa.

No Brasil são distribuídos dois tipos de etanol combustível: o hidratado e o anidro. Desde 2007, toda gasolina que é vendida no Brasil deve conter 25% de Álcool Etílico Anidro Combustível (AEAC). O Álcool Etílico Hidratado Combustível (AEHC) é o álcool utilizado em carros próprios e possui água. O etanol hidratado é incolor e o anidro recebe um corante de cor laranja a fim de evitar irregularidades. Ambos combustíveis são obtidos da fermentação de cana-de-açúcar.

Segundo Pimenta et al. (2010) pode-se obter o etanol por via sintética ou por via fermentativa. Por via sintética, obtém-se o etanol a partir de hidrocarbonetos não saturados, como o eteno e o etino, e de gases de petróleo e da hulha. Nos países em que há grandes reservas de petróleo e uma indústria petroquímica avançada, é uma forma econômica de produzir etanol. A via fermentativa é a maneira mais importante para a obtenção do álcool etílico no Brasil.

Um dos fatores que torna a produção de etanol por fermentação a forma mais econômica de sua obtenção, é o grande número de matérias-primas naturais existentes em todo o País.

Sua distribuição geográfica, que encerra diversos climas e tipos de solos, permite seu cultivo em quase todo o território e durante todo o ano.

Mesmo que venha a haver disponibilidade de derivados de petróleo que permitam a produção de álcool de síntese, a via fermentativa ainda será de grande importância para a produção da bebida, e combustível sendo levado em consideração o etanol de primeira, segunda e terceira geração.

Pimenta et al. (2010) descrevem que para a obtenção do etanol por via fermentativa é feita em três fases: o preparo do substrato, a fermentação e a destilação. As variações entre os processos de fermentação são pequenas e diferem basicamente no preparo do substrato obtido de matérias-primas distintas. A fermentação é um processo comum a todos os substratos açucarados, cujo princípio é a transformação dos açúcares em etanol e dióxido de carbono. Na destilação, separa-se o etanol geralmente em duas operações. A primeira, para separá-lo do substrato fermentado, sob a forma de mistura hidroalcoólica impurificada com aldeídos, ésteres, álcoois superiores e ácidos orgânicos. Outra, para separar as impurezas do etanol.

O etanol é uma molécula versátil de uso diverso. Em sua forma anidra é muito utilizado na indústria como solvente para a fabricação de tintas e aerossóis. Ainda na forma anidra é utilizado como aditivo da gasolina ou como reagente na produção de biodiesel. O etanol hidratado, como cerca de 5% de água é utilizado na produção de bebidas alcoólicas, produtos de limpeza, cosméticos, vacinas, aromatizantes, remédios e também como combustível. O Brasil é o único país que possui veículos que utiliza 100% álcool hidratado nos motores.

Jarvis et al. (1997) obteve êxito na produção de etanol por fermentação de glicerol com *Klebsiella planticola* convertendo o glicerol em etanol obtendo a concentração máxima de 30 mmol L⁻¹ de etanol após a fermentação. Como comparação, investigou a fermentação de glicerol por mistas culturas em meio alcalino. Os estudos indicaram que formação de etanol e 1,3-propanodiol-acetato foram as principais vias de formação de produtos catabólicos (Figura 3.3), portanto houve preferência pela desidratação (rota 2 na Figura 3.3). O substrato limitante das condições foram os principais fatores que afetaram a formação de etanol. Sob estas condições, até 60% do substrato de carbono foi convertido em etanol, numa proporção de 1:1.

Dharmadi et al. (2006) realizando a fermentação do glicerol com a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) em condições anaeróbias, observaram que com prazo de 84 h de crescimento ativo, o glicerol foi quase completamente consumido, alcançando uma concentração máxima nas células de 486,2 mg L⁻¹. O etanol representou cerca de 80% (base molar) dos bioprodutos. Após as 84 h foi necessária a disponibilização de CO₂ para o processo de fermentação de glicerol prosseguir. Este estudo revelou que em condições de meio ácido, em que a disponibili-

dade de CO₂ necessária para o crescimento celular foi maior e nesta condição a fermentação de glicerol prosseguiu de forma otimizada.

Após os testes com *E. coli* os mesmos autores repetiram os ensaios de fermentação utilizando a bactéria *Enterobacter aerogenes* HU-101 para a produção sinérgica de hidrogênio e etanol utilizando como substrato meio sintético nutritivo com extrato de levedura e triptona com suplementação de glicerol. Foi observado que quando o glicerol foi diluído para 80 mmol L⁻¹ com o meio sintético, após 24 h todo o glicerol foi completamente consumido, obtendo-se hidrogênio a 0,89 mol de H₂ e 1,0 mol de etanol por cada mol de glicerol consumido. Constatou-se que utilizando o meio de sintético como diluente poderia aumentar a taxa de conversão do glicerol e aumentar as taxas de produção de hidrogênio e etanol. Outro fato observado foi que o metanol residual proveniente da transesterificação de óleos e gorduras não apresentou qualquer efeito negativo, ao passo que a alta salinidade do meio com glicerol bruto inibiu o crescimento celular.

Com base nos estudos realizados por diversos autores, Xiu et al. (2007) elaboraram um mapa metabólico geral que contém as rotas e bioprodutos resultantes de cada rota (Figura 3.3). Na Figura 3.3 é possível observar a rota bioquímica da fermentação do glicerol para formação do etanol. As enzimas-chave e os genes correspondentes para a fermentação do glicerol têm sido identificados e caracterizados somente em *Citrobacter freundii* e *Klebsiella pneumoniae*. Após a entrada do glicerol na célula por difusão simples ou facilitada (Figura 3.3), este pode ser metabolizado por dois modos paralelos (rota 1 e 2 em vermelho na Figura 3.3) compreendendo quatro enzimas codificadas pelo regulon DHA.

Analisando a rota 1 na Figura 3.3 após a entrada do glicerol na célula por difusão, este pode ser metabolizado por dois modos paralelos compreendendo quatro enzimas codificadas pelo regulon DHA. A rota para formação do biohidrogênio é a que ocorre a oxidação do glicerol a dihidroxiacetona (DHA) na presença da enzima glicerol desidrogenase (GDH) com a geração de equivalentes redutores (NADH₂), ou seja, o NAD retira moléculas de H₂ do meio tornando-se NADH₂.

Após isso, na presença da dihidroxiacetona, a molécula de ATP transforma-se em ADP, isso faz com que a dihidroxiacetona fique fosforilada, resultando na molécula dihidroxiacetona fosfato (P- dihidroxiacetona) a qual é direcionada para o metabolismo central na forma de gliceraldeído-3-fosfato. O gliceraldeído-3-fosfato devido a oxidação se transforma em fosfoenolpiruvato, na presença das moléculas de NAD que se transforma em NADH₂ e ADP que se transforma em ATP. Essa molécula de fosfoenolpiruvato com a presença do ADP perde o radical fosfato transformando-se em piruvato e o ADP que estava presente em ATP. Diferente da rota de produção do biohidrogênio, para produção do etanol o piruvato deve ser obrigatori-

amente convertido a acetilcoenzima A (acetil-CoA), com a perda de dióxido de carbono (Figura 3.3).

Assim que formado, a acetil-CoA na presença de NADH_2 sofre uma redução transformando-se em acetaldeído e a molécula de NADH_2 em NAD , devido à perda de elétrons ocorrida na redução. Em seguida a molécula de acetaldeído na presença da molécula de NADH_2 sofre outra redução transformando-se em etanol e a molécula de NADH_2 em NAD , devido à perda de elétrons ocorrida na redução. Como produto final do ciclo metabólico para essa rota tem-se o etanol gerado na fermentação (Figura 3.3).

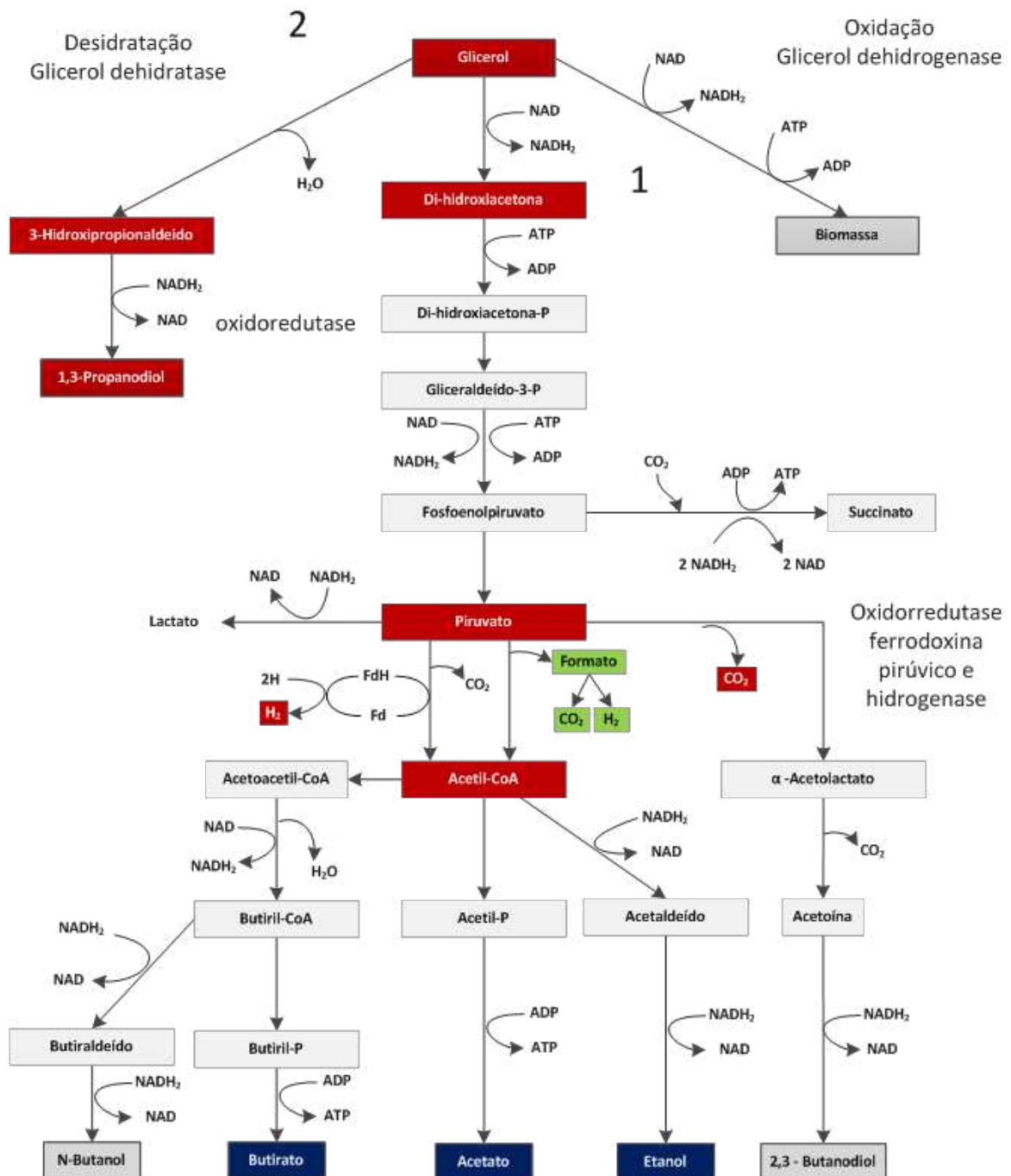


Figura 3.3- Vias metabólicas de assimilação de glicerol por microrganismos em geral e seus possíveis bioprodutos adaptado de Xiu et al. (2007). Fonte: Própria

Com base na rota bioquímica apresentada na Figura 3.3 e, utilizando técnicas de engenharia genética, Oh et al. (2011) apresentaram uma versão de *Klebsiella pneumoniae* modificada com a super expressão dos genes PDC e ADH provenientes da *Zymomonas mobilis* que auxiliam na regulação enzimática e conversão da dihidroxiacetona (DHA) no produtos intermediários necessários para produção do etanol. Os autores observaram que no processo fermentativo utilizando *Klebsiella pneumoniae* não modificada geneticamente foi obtido uma concentração máxima de etanol de 21,5 g L⁻¹ em condições de fermentação otimizadas. Todavia, no processo fermentativo com as mesmas condições otimizadas, utilizando *Klebsiella pneumoniae* modificada geneticamente foi obtido uma concentração máxima de etanol de 25 g L⁻¹. Yomano et al. (1998), Zhang et al. (2007), Yazdani e Gonzalez (2008), Cofré, et al. (2012) realizaram técnicas idênticas a Oh et al. (2011) utilizando bactérias *Escherichia coli* geneticamente modificada fermentando glicerol com o objetivo de produção de etanol. Os autores concluíram que modificações genéticas em bactérias produtoras de etanol podem aumentar a taxa de produção do etanol sem encarecer o processo fermentativo.

O grande desafio para a utilização da glicerina bruta para produção de químicos é a obtenção de linhagens microbianas eficientes no metabolismo de glicerina que também sejam tolerantes a compostos inibitórios, tais como sais e solventes orgânicos, presentes nessa glicerina. De acordo com Almeida et al. (2011) esse desafio pode ser superado pela bioprospecção da diversidade microbiana de diferentes ambientes, já que linhagens dentro de uma mesma espécie respondem de forma diferentemente a compostos inibitórios e/ou a diferentes fontes de carbono.

Com base nos estudos realizados por Hong et al. (2009) e Choi et al. (2011), técnicas de bioprospecção foram utilizadas para o isolamento de linhagens microbianas capazes de converter glicerina em etanol (CHOI et al., 2011) ou em ácido lático (HONG et al., 2009). Com o conhecimento da rota metabólica apresentada na Figura 3.3 e com o interesse constante na produção de etanol, outros pesquisadores vêm estudando e otimizando métodos de fermentação anaeróbia para produção individual do etanol ou conjunta de etanol e outro bioproduto devido à diversidade vias que o glicerol pode ser degradado.

Hu e Wood (2010) estudaram a produção de hidrogênio e etanol de forma conjugada através da fermentação do glicerol com a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*). Inicialmente os autores utilizaram uma cepa de *E. coli* BW25113 frdC e adaptaram ela fazendo seu crescimento com glicerol. Após a adaptação com técnicas de engenharia genética a mesma foi modificada com a enzima fumarato redutase, esta mutação reduziu a repressão da síntese de hi-

drogênio durante a fermentação de glicerol, fazendo com que a produção de hidrogênio pelas vias metabólicas apresentadas na Figura 3.3 ocorresse continuamente sem intervenção enzimática ou de outro princípio celular, essa nova cepa melhorada foi denominada de *E. coli* HW2. Os autores descrevem que após o melhoramento genético, a produção de hidrogênio pela a cepa de *E. coli* HW2 foi 20 vezes maior que a registrada pela cepa *E. coli* BW25113 frdC, chegando a taxa de produção de $0,68 \pm 0,16 \text{ mmolH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ quando cultivada em glicerol. Também foi observado que quando cultivada em glicerol a cepa de *E. coli* HW2 apresentou uma velocidade de crescimento de $0,25 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$, portanto, 5 vezes maior que a velocidade de crescimento da cepa *E. coli* BW25113 frdC, sendo considerado um valor alto para velocidade de crescimento em condições anaeróbias, o que poderá estimular seu uso em reatores anaeróbios projetados para essa finalidade. Corroborando com o aumento da produção de hidrogênio, a atividade da enzima desidrogenase da cepa *E. coli* HW2 aumentou 4 vezes em comparação a cepa da *E. coli* BW25113 frdC. Além disso, um estudo de todo o transcriptoma revelou que vários caminhos que diminuem o rendimento de conversão do glicerol em hidrogênio foram reprimidos depois do melhoramento genético da cepa *E. coli* BW25113 frdC. Em resposta a repressão um caminho benéfico que codifica a enolase foi criado na nova cepa *E. coli* HW2. Os autores verificaram que com a nova cepa (*E. coli* HW2) foi possível produzir uma quantidade de etanol 5 vezes maior que a produção obtida pela cepa *E. coli* BW25113 frdC, devido as modificações genéticas. Os autores concluíram que ao modificar e estimular a rota de produção de hidrogênio é possível também aumentar a produção de etanol, portanto, ambos podem ser produzidos sinergicamente sem problemas bioquímicos para o microrganismo.

Com base na Figura 3.3 nota-se que além do hidrogênio e etanol outros compostos químicos com potencial industrial como 2,3 butanodiol, acetato (ácido lático) butirato, n-butanol e 1,3- propanodiol podem ser produzidos pela fermentação da glicerina. A conversão microbiana de glicerol em vários compostos foi investigada com particular foco na produção de 1,3-propanodiol, que pode ser aplicado como ingrediente de base de poliésteres. A fermentação de glicerol em 1,3-propanodiol foi estudada utilizando microrganismos tais como *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, o *Clostridium butyricum* e *Enterobacter agglomerans*.

Gallardo et al. (2014) estudaram a produção de butanol e 1,3-propanodiol através da fermentação do glicerol residual utilizando cultura pura de *Clostridium pasteurianum* DSM 525. Além disso, os autores avaliaram o efeito da concentração das impurezas do glicerol que podem atuar como inibidores biológicos e o efeito da suplementação nutricional com butiratos de metilo e etilo composição do meio de cultura no processo fermentativo. Os resultados obtidos pelos autores mostraram que o rendimento de produção dos bioprodutos butanol e 1,3-

propanodiol é dependente da concentração inicial do substrato. Além disso, foi evidenciado a natureza competitiva entre as vias metabólicas para formação do butanol e 1,3-propanodiol, sendo que a partir da concentração de substrato de 35 g L^{-1} foi possível observar uma tendência para a produção do butanol e em concentrações menores que essa uma tendência para maior produção de 1,3-propanodiol.

A suplementação nutricional do meio de cultura também demonstrou influencia na produção dos bioprodutos butanol e 1,3-propanodiol, sendo que a suplementação do meio com butiratos de metilo e etilo resultou numa produção de butanol 45% maior e numa produção de 1,3-propanodiol menor que quando comparado com a produção do meio nutricional não suplementado.

Outra forma de suplementação nutricional testada foi o aumento das concentrações de NH_4Cl e FeCl_3 que de acordo com os mesmos autores são nutrientes limitantes para a produção dos bioprodutos desejados. Os autores verificaram que o aumento na concentração desses nutrientes respondeu de forma semelhante a suplementação com butirato, portanto propiciando uma produção de butanol maior que de 1,3-propanodiol. Os outros resultados apresentados pelos autores sugerem que além dos fatores nutricionais referentes a suplementação dos meios de cultura que afetaram o processo fermentativo, a formação do butanol quando em excesso no meio pode provocar inibição para o crescimento da bactéria *Clostridium pasteurianum* DSM 525 afetando a degradação do glicerol.

Gallardo et al. (2014) observaram que a concentração inicial de glicerol de 45 g L^{-1} é degradada até atingir a concentração residual de aproximadamente 15 g L^{-1} sendo que a partir desta concentração ocorreu a estabilização do processo fermentativo, devido a inibição causada pelo butanol formado. Além disso, foi possível obter simultaneamente o butanol e o 1,3-propanodiol devido a diferença entre as rotas fermentativas. De acordo com os autores isso só foi possível devido a concentração inicial acima de 35 g L^{-1} e devido ao alto tempo de fermentação (300 h) propiciando que o glicerol fosse degradado tanto pela via reductiva para formação do 1,3-propanodiol, quanto pela via oxidativa para a formação do butanol (Figura 3.3). Os autores ainda mencionam que devido a suplementação do meio de cultura com butiratos de metila e etila foi observado uma preferência da via oxidativa para formação de butanol, prejudicando a via para formação do etanol. Os autores concluíram, com base nos resultados obtidos, que embora seja possível a formação de dois bioprodutos provenientes da via oxidativa, a concentração de um bioproducto sempre ficará em detrimento do outro.

O glicerol pode ser utilizado para produção de diversos bioprodutos de interesse industrial. No entanto, a produção biológica de H_2 , metano e etanol a partir de glicerol ainda são

mais atraentes porque se espera que estas sejam futuras fontes de energia limpa e o etanol possa ser usado como uma matéria-prima e um suplemento para gasolina.

3.6- PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO

O gás hidrogênio (H_2) é uma fonte de combustível limpo, com alta produção de energia (122 kJ g^{-1}). Ele é considerado uma fonte de combustível promissora no futuro, não produz nenhum gás de efeito estufa, sendo a água o único produto resultante de sua combustão. Apesar de seu tremendo potencial como um combustível “limpo e verde”, atualmente 95% do hidrogênio é produzido de gás sintetizado, usando fontes não renováveis de combustível fóssil tais como o gás natural, óleo, e carvão (KOTAY e DAS, 2008).

O maior obstáculo à utilização de hidrogênio como combustível é a sua indisponibilidade na natureza e a necessidade de encontrar métodos de produção a baixo custo. A transição de uma economia baseada nos combustíveis fósseis para uma economia do hidrogênio configura enormes desafios técnicos em nível da produção, armazenamento e distribuição do mesmo. A carência de hidrogênio não está limitada a sua utilização como fonte energética, mas produção de certos produtos químicos, na hidrogenação de óleos e gorduras na indústria alimentícia, na produção de equipamentos eletrônicos e no processamento do aço (KOTAY e DAS, 2008; WANG e WAN, 2009).

Atualmente, apenas quatro processos básicos podem ser utilizados para a produção do gás hidrogênio a partir de fontes primárias de energia não-fósseis: eletrólise da água; processos termoquímicos; processos radiolíticos e processos biológicos. As formas convencionais de produção de hidrogênio apresentam balanço energético desfavorável, uma vez que para a geração de hidrogênio via eletrólise consome-se de 4,5 a 5 kWh m^{-3} . Para gerar H_2 em eletrolizadores industriais de alta eficiência e na reforma de vapor de metano são necessárias à utilização de alta quantidade de energia para propiciar temperaturas de 970 a 1100 K e pressões superiores a 3,5 MPa (DEMIRBAS et al., 2011).

A geração biológica de hidrogênio como um bioproduto do metabolismo de microrganismos é uma área de desenvolvimento biotecnológico, que oferece uma produção de hidrogênio a partir de uma variedade de recursos renováveis. A produção biológica de hidrogênio pela fermentação anaeróbica de substratos orgânicos promete ser um meio econômico e sustentável (PALOMINO-ROMERO et al., 2012).

Sá et al. (2013) relatam que a produção de hidrogênio por fermentação tem sido tratada com pouca atenção, comparado com a produção por microrganismos fotossintéticos que tem sido extensivamente estudada. Os estudos da produção de hidrogênio via utilização de açuca-

res (glicose) como substratos são mais comuns na literatura. Poucos estudos da produção de hidrogênio a partir do glicerol têm sido encontrados na literatura.

De acordo com Lo et al. (2013), a obtenção de hidrogênio por via biológica pode ocorrer por meio de dois processos: fotossintético e processo fermentativos (*dark* fermentação), sendo que a fermentação é tecnicamente mais simples quando comparado com os fotossintéticos e apresenta bons rendimentos tendo como vantagens altas velocidades de produção de hidrogênio, taxa de produção constante, diversas fontes de carbono podem ser utilizadas como matéria-prima e o crescimento dos microrganismos fermentativos é rápido. Destes fatos decorre que a quantidade de energia necessária ao processo global é menor.

A dificuldade da fermentação está em selecionar culturas de microrganismos que não contenham nenhum tipo de microorganismo consumidor de hidrogênio, tais como arqueias metanogênicas hidrogenotróficas ou bactérias sulforetadoras (XIAO e LIU, 2009; DONG et al., 2010; LUO et al., 2010). A produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia de bactérias em cultura pura vem sendo estudada para um grande grupo de bactérias puras fermentativas assim como: *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella pneumoniae* (SÁ et al., 2013).

Alguns pesquisadores utilizaram microrganismos anaeróbios naturais do lodo de digestores e reatores anaeróbios (cultura mista) para gerar hidrogênio a partir de celulose em cultivos em batelada. O hidrogênio produzido a partir de biomassa e/ou da fração biodegradável de resíduos, para utilização como biocombustível é também denominado de biohidrogênio (SÁ et al., 2013).

De acordo com Demirbas et al. (2011), a produção de biohidrogênio combinada com o tratamento de resíduos orgânicos integra os princípios do desenvolvimento sustentável e da minimização e tratamento de resíduos, numa clara aproximação as chamadas "tecnologias verdes". Os critérios a serem levados em conta na escolha do tipo de resíduo a ser usado na produção de biohidrogênio são: a disponibilidade, custo, conteúdo em hidratos de carbono e biodegradabilidade. Também devem ser consideradas a seleção do inóculo, a seleção das rotas metabólicas e das populações microbianas e as condições operatórias de pH, a temperatura e a concentração do substrato (XIAO e LIU, 2009; DONG et al., 2010; LUO et al., 2010, DEMIRBAS et al., 2011).

A rota bioquímica de formação do hidrogênio a partir da fermentação do glicerol é apresentada na Figura 3.3. Analisando a rota 1 em vermelho na Figura 3.3 após a entrada do glicerol na célula por difusão, este pode ser metabolizado por dois modos paralelos compreendendo quatro enzimas codificadas pelo regulon DHA. A rota para formação do biohidrogênio é a que ocorre a oxidação do glicerol a dihidroxiacetona (DHA) na presença da enzima glicerol

dehidrogenase (GDH) com a geração de equivalentes redutores (NADH_2), ou seja, o NAD retira moléculas de H_2 do meio tornando-se NADH_2 . Após isso, na presença da dihidroxiacetona, a molécula de ATP transforma-se em ADP, isso faz com que a dihidroxiacetona fique fosforilada, resultando na molécula dihidroxiacetona fosfato (P-dihidroxiacetona) a qual é direcionada para o metabolismo central na forma de gliceraldeído-3-fosfato. O gliceraldeído-3-fosfato devido a oxidação se transforma em fosfoenolpiruvato, na presença das moléculas de NAD que se transforma em NADH_2 e ADP que se transforma em ATP. Essa molécula de fosfoenolpiruvato com a presença do ADP perde o radical fosfato transformando-se em piruvato e o ADP que estava presente em ATP. É a partir deste ponto que se pode observar a formação do biohidrogênio (circulados de vermelho e verde), como composto residual metabólico da conversão do piruvato em outro produto bioquímico (Figura 3.3).

Depois o piruvato é então convertido a acetilcoenzima A (acetil-CoA), dióxido de carbono e hidrogênio pela oxidorreductase ferredoxina pirúvico e hidrogenase, sendo este o primeiro caminho que se pode obter o biohidrogênio (circulado de vermelho a esquerda). O piruvato também pode ser convertido a acetil-CoA e formato, e o formato pode ser prontamente convertido a hidrogênio e a dióxido de carbono, sendo essa a segunda forma de se obter o biohidrogênio (circulado de verde à direita).

Com base nos conhecimentos adquiridos com as rotas metabólicas apresentadas na Figura 3.3, alguns cientistas vêm publicando trabalhos sobre a utilização de reatores anaeróbios para degradação de glicerol visando a produção e obtenção do biohidrogênio.

Lo et al. (2013) estudaram o processo de dark fermentação anaeróbia do glicerol na sua forma pura e residual para a produção de biohidrogênio utilizando culturas puras de *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, e *Klebsiella sp.* Dentre as culturas avaliadas as bactérias *Clostridium pasteurianum* apresentaram o melhor desempenho para a produção de biohidrogênio nas seguintes condições otimizadas para fermentação: temperatura do meio de $35\text{ }^\circ\text{C}$; pH inicial em 7; velocidade de agitação de 200 rpm; concentração de glicerol de 10 g L^{-1} para ambos os tipos de glicerol. Os autores concluíram que, quando se utilizou glicerol bruto como fonte de carbono para a fermentação e produção de biohidrogênio, a taxa média de produção de H_2 chegou a $103,1 \pm 8,1\text{ mL L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ e rendimento de $0,5 \pm 0,02$ mol de H_2 formado por mol de glicerol degradado. Já quando se utilizou glicerol puro como fonte de carbono para a fermentação e produção de biohidrogênio, a taxa média de produção de H_2 chegou a $166 \pm 8,7\text{ mL L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ e rendimento de $0,77 \pm 0,05$ mol de H_2 formado por mol de glicerol degradado. Com os resultados obtidos os autores concluíram que os macros e micronutrientes são essenciais para formação do biohidrogênio e também demonstrou o elevado

potencial para utilização do glicerol proveniente da produção do biodiesel na produção sustentável e economicamente viável de biohidrogênio.

Sá et al. (2013) e Sá et al. (2014) também ressaltam as vantagens da dark fermentação anaeróbia em relação a outros processos biológicos como biofotólise direta, biofotólise indireta e foto-fermentação. Além disso, ambos autores também enfocam a importância dos nutrientes presentes no glicerol para maior desempenho na produção de hidrogênio e na necessidade de pré-tratamentos do inóculo quando este é representado por culturas mistas como por exemplo lodo de reatores anaeróbios retirados de estações de tratamento de efluentes. Os autores mencionam que os pré-tratamentos mais utilizados são os térmicos, as lavagens com soluções ácidas e a aclimatização do inóculo com substrato específico na tentativa de selecionar a cultura mista inicial e deixa-la com um grupo específico de bactérias, sendo que as mais desejadas são: *Clostridium* sp.; *Clostridium butyricum*; *Clostridium beijerinckii*; *Citrobacter freundii*; *Enterobacter cloacae*; *Enterobacter aerogenes*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*, pois estas vem apresentando os melhores rendimentos na produção do biohidrogênio.

Bravo et al. (2015) estudaram a influência da COV_A na produção de biohidrogênio em um reator anaeróbio com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano operando em batelada (AnSBBR) no tratamento da água residuária proveniente da produção de biodiesel contendo glicerol como única fonte de carbono. O reator AnSBBR estudado tinha 5 L de volume total com 3,5 L de volume reacional com biomassa imobilizada e 1,5 L para passagem de líquido sendo operado em condição mesofílica a 30 ° C. Seis COV_A foram geradas a partir da combinação de tempos de ciclo entre 3 e 4 h e concentrações de DQO afluente de 3000, 4000, e 5000 mg L⁻¹ gerando valores de COV_A em termos de DQO variando entre 7,6 e 16,2 g L⁻¹ d⁻¹. Os autores não encontraram relação clara entre a carga orgânica volumétrica aplicada e a produção de hidrogênio. A maior produção hidrogênio foi obtida com a concentração de DQO afluente de 5000 mg L⁻¹ e COV_A de 12,9 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO obtendo um biogás com a fração molar de hidrogênio de 67,5 mol m⁻³ d⁻¹. Esta condição também atingiu o maior rendimento molar por causa do maior valor da carga aplicada com no maior valor de concentração da matéria orgânica afluente.

Outro fator que Bravo et al. (2015) utilizaram para justificar a alta produção de hidrogênio foi o pré-tratamento térmico e aclimatização do lodo utilizado para inóculo. A utilização de glicerol bruto como uma única fonte de carbono exibiu uma clara desvantagem para a produção de hidrogênio em comparação com glicerol puro. Os autores indicam o uso do glicerol puro em estudos de pesquisa além de mencionarem a necessidade da suplementação nutricional com macro e micronutrientes para a produção de biohidrogênio.

3.7- PRODUÇÃO DE METANO

De acordo com Chernicharo (2007), o processo anaeróbio tradicionalmente estudado em reatores anaeróbios tratando diversos tipos de águas residuárias apresenta uma rota geral de biodegradação onde a matéria orgânica sofre quatro tipos principais de reações.

Primeiramente as bactérias anaeróbias hidrolíticas produzem exoenzimas que quebram os compostos orgânicos complexos em compostos mais simples (açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos), tal procedimento é denominado hidrólise. Após os monômeros orgânicos são convertidos em hidrogênio, bicarbonato, ácidos acético, propiônico e butírico e outros compostos orgânicos, tais como etanol e ácido lático por bactérias acidogênicas, tal processo é denominado acidogênese. Os produtos da acidogênese são reduzidos biologicamente gerando acetato ou hidrogênio e dióxido de carbono por ação de bactérias acetogênicas esse processo é denominado acetogênese. Após a acetogênese os produtos gerados são utilizados pelas arqueias metanogênicas para a produção de metano sendo que as arqueias metanogênicas acetoclásticas, utilizam o acetato para a produção de metano. E as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas utilizam o H_2 e CO_2 para formação do metano. Esse processo é denominado metanogênese. Ainda de acordo com Chernicharo (2007) em águas residuárias que contém compostos de enxofre em sua composição, o sulfato é reduzido a sulfeto, sendo liberado principalmente na forma de gás sulfídrico através do biogás.

Yazdani e Gonzalez (2007) mostram que um grande número de microrganismos pode crescer em meio contendo glicerol e utilizá-lo como fonte de carbono e energia. A assimilação do glicerol pode ocorrer por transporte passivo simples ou transporte ativo facilitado (Figura 3.2), tanto em condições aeróbias (RYWINSKA et al., 2013), quanto em condições anaeróbias (YAZDANI e GONZALEZ, 2007).

De acordo com Biebl e Sproer (2002), ao entrar nas células das bactérias anaeróbias, o glicerol é degradado em rotas metabólicas fermentativas que já estão bem estabelecidas e podem ocorrer por via redutora ou por via oxidativa (Figura 3.4).

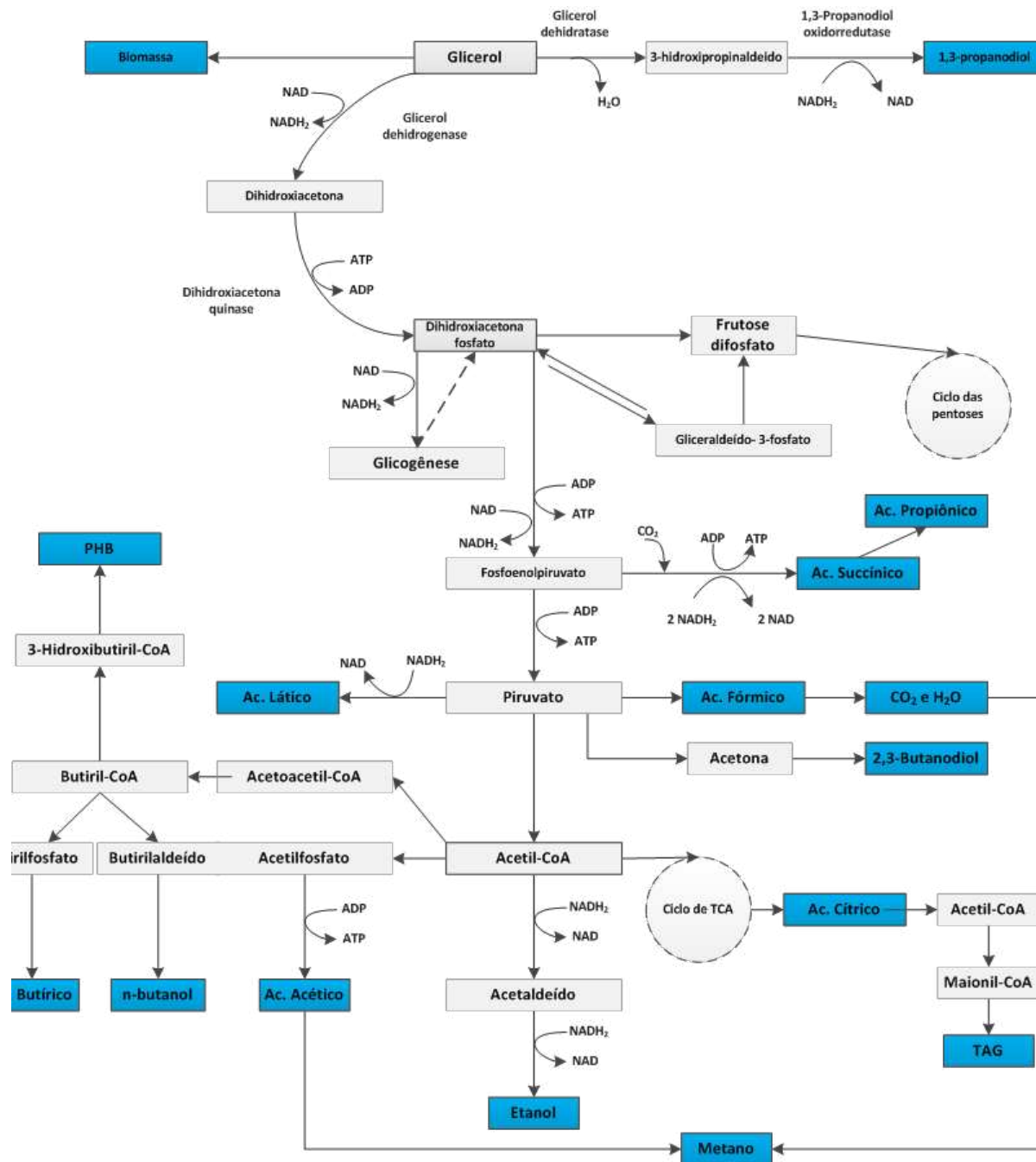


Figura 3.4- Esquema das rotas metabólicas de fermentação do glicerol até metano adaptado de Albuquerque (2014). Fonte: Própria.

A Figura 3.4 refere-se ao esquema das rotas metabólicas de fermentação do glicerol até metano elaborado por Albuquerque (2014) mostrando com detalhes o processo de degradação do glicerol para formação do metano e outros bioprodutos.

A via redutora para degradação do glicerol é descrita na tanto Figura 3.3 (via 1) quanto na Figura 3.4, onde o glicerol sofre um processo de desidratação, intermediado pela coenzima *glicerol desidratase*, produzindo 3- hidroxi propionaldeído, que por sua vez é reduzido a 1,3-propanediol mediado pela enzima 1,3-propanediol desidrogenase.

A via oxidativa apresentada na Figura 3.3 (via 2) e na Figura 3.4 consiste em desidrogenar o glicerol, através da enzima glicerol desidrogenase, formando o composto dihidroxiacetona que, após sofrer fosforilação por intermédio da enzima dihidroxiacetona quinase, pode ser convertido a succinato, que é posteriormente convertido a propionato, ou a piruvato. As reações que levam à formação de compostos a partir de piruvato variam de acordo com as condições ambientais e com as enzimas que mediam a reação, ou seja, de organismo para organismo, podendo originar compostos mais simples, tais como 2,3-butanediol, lactato, butirato, etanol, formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (Figura 3.3). Após a formação destes bioprodutos, como foi observado na Figura 3.4, o metano não é formado diretamente nas rotas redutiva e oxidativa, pois sua formação é dependente de dois produtos metabólicos da via oxidativa que são o ácido acético, o CO_2 e H_2 .

O ácido acético é reduzido a acetato gerando assim H_2 para o meio. Esse acetato é usado pelas arqueias metanogênicas acetoclásticas para produção de metano como descrito por Chernicharo (2007). Já o NADH_2 que pode ser utilizado tanto na formação de ácido butírico quanto de etanol pode ser oxidado e produzir hidrogênio. O hidrogênio nesta condição e também na redução do ácido fórmico podem ser utilizados junto com o CO_2 produzido na redução do ácido fórmico a formiato para produção de metano pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas.

Visto o exposto quando o processo anaeróbico visa a geração de energia (metano e hidrogênio), devem estar presentes microrganismos formadores de formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (na forma de íon bicarbonato), uma vez que estes são os únicos compostos que podem ser convertidos diretamente a metano (CH_4).

Chernicharo (2007) menciona que nem todas as reações de acetogênese para transformar o ácido acético em acetato, ocorrem espontaneamente sob condições ambientais padrões (pH neutro, 25°C e 1 atm), como é o caso do propionato, butirato e etanol mostrados na Figura 3.3. Portanto, é necessário que haja um mecanismo de remoção de H_2 do meio, e assim ocorra o deslocamento da reação no sentido de formar acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (na forma de íon bicarbonato) para que com isso haja a formação posterior do metano.

O principal mecanismo de remoção de H_2 do meio é o seu consumo pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas. Quando este consumo é suficiente para manter uma pressão de H_2 no meio entre 10^{-4} e 10^{-6} atm, a degradação de propionato, butirato ou etanol se torna exergônica, liberando energia para as bactérias acetogênicas, tornando essas reações termodinamicamente favoráveis (CHERNICHARO, 2007). Posteriormente, os subprodutos da acetogênese são assimilados por arqueias metanogênicas acetoclásticas e convertidos a CH_4 e CO_2 como descrito por Chernicharo (2007). Diversos trabalhos da literatura descrevem o uso do glicerol

como fonte de carbono para geração de metano. Esse glicerol pode ser encontrado tanto como soluto diluído na água residuária proveniente da produção do biodiesel, quanto residual digerido individualmente ou em parceria com outros substratos nos processos de co-digestão anaeróbia.

López et al. (2009) avaliaram o desempenho e a estabilidade do processo de digestão anaeróbia na produção de biogás a partir da degradação de glicerol pré-tratado quimicamente para remoção de impurezas. Seis reatores em escala de bancada (volume útil de 1 L) foram alimentados em batelada, cada um com um tipo diferente de inóculo (granular e não-granular). Os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou lodo granular digerindo glicerol destilado, podendo alcançar uma produção específica de metano de até $0,411 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ de glicerol com COV_A entre 0,92 e $2,00 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO.

Forrest et al. (2010) utilizaram microrganismos halófilos, oriundo de sedimentos marinhos como inóculo de um reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais, para converter glicerol em ácidos orgânicos, interrompendo a etapa de metanogênese através da adição de iodofórmio. Os autores conseguiram uma eficiência em conversão de DQO de até 56% sendo que 74% do total de DQO convertida tornou-se ácido acético e 26% converteu-se ácido butírico, ou seja, caso a metanogênese não fosse interrompida, a produção à metano poderia ocorrer de forma acentuada devido ao alto teor de ácido acético no meio.

3.8- REATORES ANAERÓBIOS OPERANDO EM BATELADA

Um processo batelada é aquele que funciona em ciclos de produção de produtos. Um reator batelada opera sem entrada e saída de reagentes ou produtos durante o processamento da reação. Os reagentes são introduzidos no reator e, até que a reação processe o reator não é aberto. Após completada a reação o reator é descarregado e os produtos são obtidos.

3.8.1- REATORES ANAERÓBIOS OPERANDO EM BATELADAS SEQUENCIAIS COM BIOMASSA GRANULADA E AGITAÇÃO MECÂNICA (ANSBR)

Selma et al. (2010) estudaram a remoção da matéria orgânica e produção de metano através do tratamento da ARIB em AnSBR. A estabilidade e eficiência do reator foram analisadas em função do aumento de COV_A e do tempo de enchimento do reator. O AnSBR tinha 5 L foi operado à $30 \text{ }^\circ\text{C}$ em ciclos de 8 h com intensidade de agitação de 50 rpm promovida por um impelidor tipo turbina com seis lâminas planas, tratando 2 L de efluente por ciclo. Os autores submeteram ao reator um aumento progressivo da carga orgânica definida pelo au-

mento da DQO afluente (500, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹) e em função de diferentes tempos de enchimento na condição em batelada (tempo de enchimento de 10 min) e batelada alimentada seguida de batelada (tempos de enchimento de 2 e 4 h).

A eficiência de remoção de matéria orgânica encontrada por Selma et al. (2010) foi de 95, 85 e 73% para os ensaios em batelada e DQO afluente de 500, 1000 e 2000 mg L⁻¹ (0,60, 1,29 e 2,44 g L⁻¹ d⁻¹), respectivamente, não se obtendo estabilidade operacional para concentração de 3000 mg L⁻¹ (3,82 g L⁻¹ d⁻¹). A eficiência de remoção foi melhorada com o aumento do tempo de enchimento, sendo de 85% para a condição de 1000 mg L⁻¹ e tempos de enchimento de 2 e 4 h, e de 80 e 77% para a condição de 2000 mg L⁻¹, para tempos de enchimento de 2 e 4 h, respectivamente, concluindo que a alimentação gradual melhorou a remoção e suavizou os perfis de matéria orgânica e ácidos voláteis ao longo do ciclo. A relação entre volume de metano formado e matéria orgânica consumida foi de 78 a 96 mL de CH₄ por g de DQO nas CNTP com média de 70% da composição do biogás quantificado por cromatografia gasosa.

Um modelo cinético de primeira ordem foi ajustado aos valores experimentais obtidos por Selma et al. (2010), o qual considerava o consumo de matéria orgânica, produção e consumo de ácidos voláteis totais e produção de metano. Nesse modelo foi considerada a existência de uma concentração residual tanto de matéria orgânica, quanto de ácidos voláteis totais. O ajuste foi feito para as condições com 500 a 2000 mg L⁻¹ e tempo de enchimento de 10 min (batelada) e também com 1000 e 2000 mg L⁻¹ e tempo de enchimento de 2 e 4 h (batelada alimentada). A análise cinética conseguiu explicar o comportamento dos ensaios em batelada, mostrando-se importante na determinação do tempo de reação necessário para garantir uma boa qualidade do efluente em termos de concentração de matéria orgânica. Além disso, foi possível distinguir as eficiências na condição de final de ciclo e ao longo do ciclo, por exemplo, mesmo que as eficiências de remoção tenham aproximadamente as mesmas para os três tempos de enchimento. A operação em batelada alimentada de 4 h atingiu esse patamar de estabilidade final em um intervalo de tempo menor, mostrando que a alimentação gradual pode apresentar a vantagem de uma possível redução no tempo de ciclo, além de reduzir o valor máximo de concentração de matéria orgânica e de ácidos voláteis totais alcançados ao longo do ciclo dentro do reator. O estudo cinético através do modelo que considera o consumo de matéria orgânica, produção e consumo de ácidos voláteis totais e produção de metano, conseguiu explicar o comportamento dos ensaios em batelada e batelada alimentada.

Silva et al. (2013) utilizaram um AnSBR com volume total de 5 L operado em fase mesofílica (30 °C) contendo biomassa granular como inóculo no tratamento da ARIB. A água residuária utilizada tinha o glicerol como única fonte de matéria orgânica, os autores avalia-

ram a estabilidade do processo e eficiência de remoção de DQO. O AnSBR foi submetido a variações de COV_A devido a modificação da DQO afluyente aplicada entre 1000 a 3000 $mg L^{-1}$ e do tempo de alimentação do reator com as combinações de 8 h para tempo de ciclo e com tempos de alimentação de 10 min e 4 h de tempo de alimentação, também foram realizados ensaios com o reator submetido a 4 h de tempo de ciclo com tempos de alimentação de 10 min ou 2 h.

Para a DQO afluyente de 1000 $mg L^{-1}$ com as combinações de tempos de ciclo os valores de COV_A foram de 1,18 a 1,29 $g L^{-1} d^{-1}$, os maiores valores de parâmetros cinéticos ($1,03 h^{-1}$) e foram obtidos no ensaio de com tempo alimentação de 10 min e tempo de ciclo de 8 h. Para a DQO afluyente de 2000 $mg L^{-1}$ com as combinações de tempos de ciclo os valores de COV_A foram de 2,38 a 2,52 $g L^{-1} d^{-1}$, os maiores valores de parâmetros cinéticos ($1,08 h^{-1}$) e foram obtidos no ensaio de com tempo alimentação de 2 min e tempo de ciclo de 4 h. Para a DQO afluyente de 3000 $mg L^{-1}$ com as combinações de tempos de ciclo os valores de COV_A foram de 3,71 a 3,89 $g L^{-1} d^{-1}$, o melhor desempenho foi obtido no ensaio de com tempo alimentação de 4 horas e tempo de ciclo de 8 h. Os autores concluíram que com os parâmetros operacionais obtidos foi possível observar resultados de eficiência de remoção de DQO entre 58 e 84%. A produção específica de metano variou entre 41,1 e 93,7 mL de CH_4 por grama de DQO removida com porcentagem de metano no biogás entre 64 e 74%, e concentração da fração molar de metano no biogás entre 2,29 a 13,9 $mmol L^{-1}$.

3.8.2- REATORES ANAERÓBIOS OPERANDO EM BATELADA COM BIOMASSA IMOBILIZADA (ANSBBR)

Lovato et al. (2012) avaliaram o efeito de diferentes tempos de alimentação (2, 4 e 6 h) e aumento progressivo de COV_A em termos de DQO (4,5; 6,0 e 7,5 $g L^{-1} d^{-1}$) na remoção de matéria orgânica e produção de metano de um reator anaeróbio operando em batelada com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano (AnSBBR). Os autores utilizaram como substrato a ARIB contendo glicerol como única fonte de matéria orgânica. A mistura entre água residuária e biomassa imobilizada foi realizada por recirculação da fase líquida. O tempo de alimentação demonstrou efeito no desempenho do reator sendo este efeito mais pronunciado quando o reator foi submetido aos diferentes valores de COV_A .

Para o valor de COV_A de 4,5 $g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO o maior valor de eficiência de remoção de DQO alcançado foi de 87% com tempo de alimentação de 4 horas. Para a mesma COV_A com os tempo de alimentação de 2 e 6 horas a eficiência de remoção de matéria orgânica obtida foi de 83%. Para o valor de COV_A de 6 $g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO, o maior valor

de eficiência de remoção de DQO alcançado foi de 84% para os tempos de alimentação de 4 e 6 h. Para a mesma COV_A com tempo de alimentação de 2 h a eficiência de remoção de matéria orgânica obtida foi de 71%. Para o valor de COV_A de $7,5 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO, o valor de eficiência de remoção de DQO alcançado foi de 77% para o tempo de alimentação de 4 h. Neste valor de COV_A não foi avaliado outro valor de tempo de alimentação. Os autores concluíram que tempos de alimentação acima de 4 h (mais longos) favoreceram a minimização da concentração de ácidos voláteis totais durante o ciclo e quantificados após o mesmo no efluente, garantindo a estabilidade e a segurança do processo.

Bezerra et al. (2011) realizaram um estudo similar ao de Lovato et al. (2012), analisando o efeito da variação da COV_A na produção de metano em um AnSBBR durante o tratamento da ARIB. A biomassa também se encontrava imobilizada em espuma de poliuretano. Os valores de COV_A em termos DQO aplicadas foram de 1,5, 3,0, 4,5 e $6,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ resultando as seguintes eficiências de remoção de DQO 92, 81, 67 e 50% para a análise de DQO solúvel, e 91, 80, 63 e 47%, para a análise de DQO_T , respectivamente. As concentrações efluentes de ácidos voláteis totais foram avaliadas para cada carga aplicada observando concentrações de 42, 145, 386 e 729 mg L^{-1} em termos de ácido acético, respectivamente. Os autores concluíram que o aumento da COV_A em termos DQO de 1,5 para $4,5 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ aumentou a produção volumétrica de metano por massa de substrato removido de 29,5 para 55,5 mL de CH_4 por g de DQO removida. No entanto, ao aumentar a COV_A de 4,5 para $6 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ esta mesma produção caiu de 55,5 para 36 mL de CH_4 por g de DQO removida. Os autores justificaram que essa queda foi devido à maior concentração de ácidos voláteis no reator, sendo assim nem a maior a suplementação de alcalinidade no afluente, sob a forma de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) de 1,3 g de $NaHCO_3$ por g de DQO afluente foi suficiente para manter o pH próximo a estabilidade do processo.

3.9- CO-DIGESTÃO DO GLICEROL COM OUTROS RESÍDUOS

Muitas pesquisas têm sido conduzidas a fim de descobrir novas aplicações para o glicerol dentre elas a co-digestão anaeróbia. Define-se co-tratamento uma operação unitária ou processo utilizado para tratar, ao mesmo tempo dois ou mais tipos de resíduo. Em condições anaeróbias o co-tratamento é denominado como digestão anaeróbia conjunta ou co-digestão anaeróbia. Segundo Mata-Alvarez et al. (2014), essa técnica vem sendo explorada intensamente nas em diversos setores, com destaque para as ciências agrárias com os resíduos originados na produção animal e resíduos agroindustriais devido as características individuais destes resíduos e à melhoria que ocorre quando associados.

Mata-Alvarez et al. (2014) apontam como vantagens para o uso da co-digestão anaeróbia a melhoria no balanço de nutrientes e taxas de digestão, equalização de particulados, facilidade no controle da relação C/N, os autores também apontam que a produção de biogás na co-digestão é sempre maior que no processo anaeróbio separado. Os mesmos autores descrevem que o uso do processo de co-digestão com resíduos agrícolas gera como produto final um ótimo fertilizante para solos. Como desvantagem os autores descrevem a necessidade de pré-tratamento adicional a muitos tipos de resíduo para que a co-digestão funcione, o requerimento de mistura, requerimento de higienização e estabilização dependendo do tipo de resíduo utilizado ou até restrição de uso da terra para o material digerido.

Outros benefícios da co-digestão são apontados por Sosnoski et al. (2003), como diluição de potenciais compostos tóxicos, melhor balanço de nutrientes, aumento da taxa aceitável de matéria orgânica biodegradável. Holm-Nielsen et al. (2007) afirmam que a produção de biogás que a co-digestão anaeróbia produz maior volume de biogás e maior taxa de digestão quando comparado com o processo anaeróbio individual.

No setor agrícola, uma possível solução para processar biomassa de culturas é a co-digestão com esterco animal, o mais abundante resíduo agrícola existente. O uso de esterco de suínos e bovinos como substrato básico para co-digestão tem a vantagem da alta capacidade de tamponamento do pH promovida pelo esterco e sua complexa composição que pode balancear alguma falta de elemento traço ou nutriente (WEILAND, 2003). Em adição à produção de energia renovável, digestão anaeróbia controlada de esterco animal reduz a emissão de gases causadores do efeito estufa, nitrogênio e odor do manejo agrícola, e intensifica a reciclagem de nutrientes dentro da agricultura (AMON et al., 2006). Além disso, a maioria dos estercos animais é composta por microrganismos o que auxiliam como inóculo na co-digestão anaeróbia.

A co-digestão tem sido usada em escala real, especialmente na Europa, onde muitos projetos novos de estações de tratamento de esgoto preveem a adição de co-substratos, como restos de alimentos, resíduos de gorduras, lodo de flotação, etc. No setor agrícola, há mais de 1600 estações de digestão anaeróbia em funcionamento na Alemanha, digerindo altas quantidades de co-substratos junto com esterco. Na Suécia e Dinamarca, resíduos agrícolas são tratados em estações anaeróbias, e o material digerido é reciclado até as fazendas e o biogás é usado como fonte de eletricidade (AYOUB e ABDULLAH, 2007).

Em fazendas produtoras de biodiesel já foram realizados experimentos com a co-digestão de diferentes resíduos a fim de gerar biogás, como uma mistura de torta de oleaginosas, glicerol e resíduo animal (HEAVEN et al., 2011). Alguns problemas da aplicação da co-

digestão em larga escala são os custos com transporte dos substratos, além de que alguns desses substratos não reagem bem em conjunto.

Além disso, experimentos recentes com co-digestão, aplicando-se glicerol a misturas de águas residuais de matadouro, resíduos sólidos urbanos, dejetos de suínos, silagem de milho e farelo de canola, têm mostrado um aumento significativo na produção de metano. No entanto, a fim para manter um processo de digestão estável, a quantidade de glicerol adicionada possuía um nível de concentração limite (AMON et al., 2006; HOLM-NIELSEN et al., 2007; FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009). Estes resultados demonstram que o glicerol pode ser aplicado vantajosamente, mas uma estratégia de controle estrito é necessária para regular a quantidade adicionada para evitar o risco de sobrecarga orgânica.

Fountoulakis e Manios (2009) estudaram a viabilidade da co-digestão anaeróbia do glicerol residual não beneficiado proveniente da indústria do biodiesel com lodo de esgoto em estações de tratamento de águas residuais da cidade de Heraklion na Grécia. Os autores obtiveram neste experimento determinar a concentração limitante de glicerol na alimentação e a produção de metano com e sem suplementação de glicerol. O experimento foi realizado com digestores anaeróbios operaram em batelada e em fluxo contínuo a 35 °C. Para o experimento em batelada foram utilizados 3 digestores inoculados com 1 L de lodo da ETE, sendo o primeiro suplementado com glicerol numa proporção 1% (v/v), o segundo com 3% (v/v) e o terceiro não foi suplementado com glicerol. O tempo de detenção hidráulica dos digestores foi de 60 d. O digestor operando de forma contínua tinha 3 L de volume útil e foi alimentado oito vezes por dia (a cada 3 h) a uma vazão de alimentação entre 120 e 130 mL d⁻¹, resultando em um TRH entre 23-25 d. A mistura líquida dentro do digestor foi agitada periodicamente, durante 15 min, duas vezes por hora. Inicialmente o digestor foi alimentado apenas com lodo da ETE durante 33 d, a partir do 34 d a alimentação foi feita com a mistura lodo de ETE e 1% (v/v) de glicerol.

O estudo realizado por Fountoulakis e Manios (2009) apresentou informações importantes por estudar e implementar a técnica de co-digestão anaeróbia em escala real. Os autores mostraram que o comportamento da co-digestão anaeróbia, mesmo quando se utiliza o mesmo substrato, apresenta diferenças quando realizada em reatores operando em batelada e reatores operando em fluxo contínuo. Outro fator observado a respeito do uso do glicerol na co-digestão é a importância do estudo que descreva a proporção ideal entre os resíduos antes de se iniciar o processo.

Razaviarani et al. (2013) estudaram o processo de co-digestão anaeróbia de lodo anaeróbio (primário e secundário) e lodo aeróbio proveniente de lodos ativados na proporção 3:1 (v/v), respectivamente, com glicerol residual não beneficiado proveniente da indústria do bio-

diesel. Os autores pretendiam avaliar o efeito sobre o desempenho do processo de adição de proporções crescentes de glicerina residual em lodo de esgoto para tratamento em digestores anaeróbios de 1300 L operados em escala piloto na estação de tratamento de águas residuais em Edmonton, Alberta, Canadá.

Os dois digestores foram operados em condição mesofílica (35 °C) com tempo de retenção celular com valor constante de 20 d, sendo que o primeiro foi abastecido apenas com lodo e o segundo lodo e glicerina em proporções constantes. O acréscimo de carga foi realizado no digestor 2 aumentando em 30, 50 e 80% o valor aplicado no digestor 1 utilizando glicerol. Portanto, o digestor 2 além do processo de co-digestão glicerol + lodo, ainda operou com cargas em termos de DQO com valor nominal de 100, 130, 150 e 180% maiores em relação ao digestor 1.

Os autores observaram que a maior proporção de glicerol residual que não causou efeito negativo no processo de co-digestão (digestor Test) foi de 23 e 35% do total de em termos de sólidos voláteis e DQO, resultando em cargas de 1,04 e 2,38 kg m⁻³ d⁻¹, respectivamente. Nesta faixa, a produção de biogás e taxas de produção de metano no digestor 2 (Test) foram 1,65 e 1,83 vezes maior do que no digestor 1 (control) que não recebeu glicerol, respectivamente. Todavia, foi observado instabilidade no processo de co-digestão para valores de carga próximos a 1,18 e 2,88 kg m⁻³ d⁻¹ em termos de sólidos voláteis e DQO, respectivamente. Os autores mencionaram que a adição de glicerol ao lodo para co-digestão aumenta a biodegradabilidade da mistura em relação ao lodo puro. Além disso, aumenta a fração solúvel de DQO em relação ao total podendo chegar a valores da relação DQO solúvel/DQO total a 0,98, sendo assim 14 vezes maior que o encontrado para o lodo puro. É devido a estas melhorias da mistura em relação aos substratos separados que a durante a co-digestão é observado melhor desempenho de remoção de matéria orgânica e produção de biogás do que quando o processo é realizado com os substratos separados. Todavia, existe um valor de carga máximo aceitável para o processo de co-digestão operar sem prejuízos de eficiência.

Nartker et al. (2014) e Razaviarani e Buchanan (2015) também estudaram o processo de co-digestão de glicerol com lodo de esgoto proveniente de estação de tratamento de efluentes domésticos. Ambos os autores também confirmaram os benefícios da co-digestão anaeróbia utilizando lodo de esgoto e glicerol, encontrando em seus trabalhos valores próximos aos já apresentados na literatura.

3.10- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após extensiva leitura e análise de diversos trabalhos para a realização desse estado da arte, algumas considerações podem ser feitas a respeito da geração e tratamento da ARB e ou glicerol:

- Existem alguns processos de conversão de óleos a biodiesel, como a transesterificação e a esterificação e suas variantes. A quantidade de matérias-primas disponíveis é alta e as características físico-químicas destas variam tanto para espécies diferentes quanto à distribuição geográfica para uma mesma espécie. Os catalisadores que podem ser utilizados no meio reacional são diversos. Os tipos de álcoois utilizados também dependem do processo escolhido. Todos estes fatores fazem com que as ARB possuam características bastante variáveis.
- Ainda não existe uma condição rotulada como alternativa mais ou menos vantajosa para o tratamento do glicerol seja na forma diluída como ARB ou glicerol residual de forma individual. Entretanto, táticas de locação estratégica da indústria, gerenciamento e produção controlada de resíduos e planejamento industrial devem ser consideradas durante a estruturação e construção do parque industrial.

Em relação ao tratamento anaeróbio do glicerol individualmente na forma de ARIB ou ARB é possível destacar as seguintes vantagens:

- O glicerol diluído nos demais resíduos aquosos provenientes da agroindústria de biodiesel é uma fonte de carbono simples e como geralmente nas águas residuárias este composto é a única fonte de carbono o tratamento fica mais fácil.
- A alcalinidade da ARB pode ser facilmente controlada com o acréscimo de agentes alcalinizantes, diminuindo a probabilidade do azedamento do reator. Além disso, o fato da ARB apresentar-se no estado aquoso e menor viscosidade que o glicerol puro, é mais fácil dissolver o agente alcalinizante no meio diferente do resíduo no estado semi-sólido utilizado no processo de co-digestão.
- Para o tratamento da ARB visando remoção de matéria orgânica e óleos e graxas é possível aplicar processos como adsorção, coagulação/floculação e processos oxidativos avançados, devido se tratar de uma matriz orgânica solúvel. Já esse processo não poderia ser aplicado em misturas mais grosseiras como glicerol com esterco bovino, glicerol com lodo de esgoto, exigindo processos de tratamento mais robustos.

Em relação ao tratamento anaeróbio do glicerol individualmente na forma de ARIB e ARB, é possível destacar as seguintes desvantagens:

➤ Geralmente a ARB não apresenta nutrientes em sua composição, exigindo neste caso, que sejam inseridos nutrientes para controle da relação entre a matéria orgânica: nitrogênio: fósforo (DQO:N:P), o que encarece o processo de tratamento. Além disso, por estar diluído na ARB, este resíduo deve ser tratado *in loco* dificultando seu transporte.

Em relação ao tratamento anaeróbio do glicerol em processo de co-digestão anaeróbia com outro substrato, é possível destacar as seguintes vantagens:

➤ Todos os trabalhos estudados mostraram que a produção de biogás na co-digestão é maior quando comparada a produção de biogás na digestão anaeróbia do glicerol diluído (ARIB ou ARB).

➤ O processo de co-digestão anaeróbia do glicerol com outro tipo de resíduo que contém nutrientes e alcalinidade própria pode substituir a necessidade de suplementação feita com compostos químicos (adubos), melhorando o balanço de nutrientes com facilidade no controle da relação C/N, além de ajudar no controle do tamponamento do meio.

➤ Grande parte dos trabalhos estudados demonstrou que o processo de co-digestão anaeróbia apresentou maiores taxas de digestão e equalização de particulados que os trabalhos realizados utilizando o glicerol puro.

➤ O uso do processo de co-digestão com resíduos agrícolas gera como produto final um ótimo fertilizante para solos.

➤ A mistura de substratos para realização do processo de co-digestão anaeróbia pode provocar diluição de potenciais compostos tóxicos, aumento da taxa aceitável de matéria orgânica biodegradável, aumento da concentração de material orgânico na fração solúvel em relação a concentração total.

Em relação ao tratamento anaeróbio do glicerol em processo de co-digestão anaeróbia com outro substrato, é possível destacar as seguintes desvantagens:

➤ Alguns substratos para serem utilizados em processos de co-digestão anaeróbia com glicerol devem antes passar por um pré-tratamento adicional.

➤ Na maioria das vezes a junção do glicerol com algum substrato sólido ou semi-sólido gera um resíduo final em estado semi-sólido (pastoso) e viscoso. Essas características exigem que o reator utilizado na co-digestão seja construído com misturadores e impelidores o que aumenta o custo do projeto e manutenção.

➤ Devido a união do glicerol com substratos onde estão presentes patógenos, para a possibilidade do reuso do resíduo resultante da co-digestão, existe a necessidade de uma posterior higienização e estabilização, dependendo do tipo de resíduo utilizado ou até restrição de uso da terra para o material digerido.

➤Necessidade do deslocamento do glicerol da indústria de produção do biodiesel até o local onde se encontra o outro resíduo. Geralmente próximo a região industrial produtora de biodiesel não ficam instaladas outras indústria e agroindustriais geradoras dos substratos utilizados na co-digestão. Em grande parte, para a co-digestão do glicerol com lodo de esgoto doméstico, dejetos bovinos, ou resíduos agroindustriais em geral, o glicerol é transportado até o local onde está presente o outro substrato, isso encarece e dificulta o projeto de tratamento via co-digestão anaeróbia.

Como foi observado em diversos trabalhos torna-se obrigatório a necessidade de estudar as relações entre as quantidades de cada substrato e os parâmetros operacionais necessários para a co-digestão antes da implementação da escala piloto, deixando o processo mais trabalhoso.

3.11- PERSPECTIVAS FUTURAS

Após o estudo do estado da arte foram observadas lacunas que devem ser preenchidas:

1. Em termos de caracterização da ARB ou glicerol residual, não foram encontrados na literatura parâmetros ensaios ecotoxicológicos que caracterizem a toxicidade aguda e crônica deste resíduo. Sugere-se que essa atividade seja feita visto que se a agroindústria produtora de biodiesel pode necessitar dispor o resíduo em corpos hídricos após o tratamento.
2. Novos estudos devem ser realizados com a finalidade otimizar e ampliar o espectro do entendimento dos fatores que influenciam o tratamento da ARIB ou ARB produzida por diversas matérias-primas e condições de processo.
3. Como não foram encontrados trabalhos referentes ao tratamento da ARB em escala industrial e ou piloto, espera-se que futuramente surjam mais trabalhos voltados a tratamento de ARB com reatores implantados no próprio pátio industrial.
4. Informações sobre o tratamento da ARIB ou ARB em reatores operando com fluxo contínuo são escassas. Espera-se que futuramente além do uso deste tipo de reator também sejam disponibilizados parâmetros cinéticos de crescimento da biomassa e hidrodinâmicos para o escalonamento dessas unidades.
5. Não foram encontrados trabalhos que relatam as características da diversidade microbiana e da ecologia microbiana da biomassa anaeróbia utilizada no tratamento da ARIB ou ARB em reatores anaeróbios.

3.11- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Produção Nacional de Biodiesel Puro: B100 (metros cúbicos)** 2016. <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1424207836187>. Acessado em Dezembro de 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO GÁS E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Resolução nº 45: Especificações do Biodiesel**. Brasília. 2014.

ALBUQUERQUE, M. F. G. **Tratamento do glicerol bruto proveniente da produção de biodiesel visando a geração de metano**. 2014. 80p. Dissertação (Mestre em Ciências). Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto/MG, 2014.

ALMEIDA, J.R.M. Microrganismos para produção de químicos a partir da glicerina bruta gerada na produção de biodiesel. **Boletim Técnico da Embrapa**. Circular Técnica 07, Brasília – DF. Dezembro, 2011.

ALPTEKIN, E.; CANAKCI, M.; SANLI, H. Evaluation of leather industry wastes as a feedstock for biodiesel production. **Fuel**, v. 95, p. 214–220, 2012.

ALVARADO, C. E.; NOYOLA, M. T. P.; VARALDO, H. M. P.; LEAL, E. R.; MENA, J. G.; SEIJAS, N. R. Energy analysis of in-series biohydrogen and methane production from organic wastes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 16587 – 16594, 2014.

AMON, T. H.; AMON, B.; KRYVORUCHKO, V.; BODIROZA, V.; PÖTSCH, E.; ZOLLITSCH, W. 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.

ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis. **Produção Nacional de Biodiesel Puro: B100 (metros cúbicos)** 2015. <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1424207836187>. Acessado em fevereiro de 2015.

AYOUB, M.; ABDULLAH, A. Z. 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, p. 2671– 2686, 2012.

BARBIRATO, F.; SOUCAILLE, F.; BORIES, A. Physiologic Mechanisms Involved in Accumulation of 3-Hydroxypropionaldehyde during Fermentation of Glycerol by *Enterobacter agglomerans*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, p.4405-4409, 1996.

BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.

BIEBL, H.; SPRÖER, C. Taxonomy of the glycerol fermenting Clostridia and description of *Clostridium diolis* sp. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 25, p. 491–497, 2002.

BLOMBERG, A.; ADLER, L. Roles of glycerol and glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺) in acquired osmotolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bacteriology**, v.171, p.1087-1092, 1989.

BRAVO, I. S. M.; LOVATO, G.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater: effects of organic loading, influent concentration, and cycle time. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, p. 1892-1914, 2015.

CASTANHEIRA, E. G.; GRISOLI, R.; FREIRE, F.; PECORA, V.; COELHO, S. T. Environmental sustainability of biodiesel in Brazil. **Energy Policy**, v. 65, p. 680–691, 2014.

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

CHAI, M.; TU, Q.; LU, M.; YANG, Y. J. Esterification pretreatment of free fatty acid in biodiesel production, from laboratory to industry. **Fuel Processing Technology**, v. 125, p. 106–113, 2014.

CHENG, K. K.; ZHANG, J. A.; LIU, D. H.; SUN, Y.; LIU, H. J.; YANG, M. D.; XU J. M. Pilot-scale production of 1,3-propanediol using *Klebsiella pneumoniae*. **Process Biochemistry**, v.42, p.740-744, 2007.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. DESA/UFMG, 2007. 359p.

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

COFRÉ, O.; RAMÍREZ, M.; GÓMEZ, J.M.; CANTERO, D. Optimization of culture media for ethanol production from glycerol by *Escherichia coli*. **Biomass and Bioenergy**, v. 37, p. 275 – 281, 2012.

COSTA, A. O.; OLIVEIRA, L. B.; LINS, M. P. E.; SILVA, A. C. M.; M.S.M.ARAUJO, M. S. M.; PEREIRA JR, A. O.; ROSA, L. P. Sustainability analysis of biodiesel production: A review on different resources in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 407–412, 2013.

DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R.S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.

DEMIRBAS, A. **Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines**. Springer-Verlag London Limited: Espanha, 2011.

DHAMARDI, Y.; MURARKA, A.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol by *Escherichia coli*: A new platform for metabolic engineering. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 94, p. 821 – 829, 2006.

DILLIS, S.S.; APPERSON, A.; SCHMIDT, M.R.; SAIER, M.H. Carbohydrate transport in bacteria. **Microbiology Reviews**, v.44, p.385-418, 1980.

DONG L, ZHENHONG Y, YONGMING S, LONGLONG M. Evaluation of pretreatment methods on harvesting hydrogen producing seeds from anaerobic digested organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 8234 -8240, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Oleaginosas e seus óleos: vantagens e desvantagens para produção de biodiesel**. Brasília. Editora: Embrapa, 2016. 30 p.

FORREST, A. K.; SIERRA, R.; HOLTZAPPLE, M. H. Effect of biodiesel glycerol type and fermentor configuration on mixed-acid fermentations. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 9185–9189, 2010.

FOUNTOULAKIS, M., MANIOS, T. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3043–3047, 2009.

GALLARDO, R.; ALVES, M.; RODRIGUES, L. R. Modulation of crude glycerol fermentation by *Clostridium pasteurianum* DSM 525 towards the production of butanol. **Biomass and Bioenergy**, v. 71, p. 134 – 143, 2014.

GANCEDO, C; GANCEDO, J.M; SOLS, A. Glycerol Metabolism in Yeasts. **European Journal of Biochemistry**, v.6, n.2, p.165-172, 1968.

GANCEDO, C.; SERRANO, R. Energy-yielding metabolism. In: Rose AH, Harrison JS (eds) **The yeasts III**. New York: Academic Press, 1989, p. 205–259.

GHOLAMI, Z.; ABDULLAH, A. Z.; LEE, K. T. Dealing with the surplus of glycerol production from biodiesel industry through catalytic upgrading to polyglycerols and other value-added products. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p.327-341, 2014.

GONZÁLEZ-PAJUELO, M.; MEYNIAL-SALLES, I.; MENDES, F.; SOUCAILLE, P.; VASCONCELOS, I. Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol: Physiological comparison of a natural producer, *Clostridium butyricum* VPI 3266, and an engineered strain, *Clostridium acetobutylicum* DG1(pSPD5). **Applied and Environment Microbiology**, v.72, p. 96-101, 2006.

HAUGE, J. G.; KING, T. E.; CHELDELIN, V. H. Oxidation of dihydroxyacetone via the pentose cycle in *Acetobacter suboxydans*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 214, p. 11-16, 1955.

HE, Q. S.; MCNUTT, J.; YANG, J. Utilization of the residual glycerol from biodiesel production for renewable energy generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, p. 63–76, 2017.

HEAVEN, S.; SALTER, M.; BANKS, J. Integration of on-farm production with anaerobic digestion to maximize energy yield and greenhouse gas savings from process and farm residues. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 7784-7793, 2011.

- HOLM-NIELSEN, J. B.; LOMBORG, C. J.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; ESBENSEN, K. H. Online near infrared monitoring of glycerol-boosted anaerobic digestion processes: evaluation of process analytical technologies. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 99, p. 302–313, 2007.
- HOLST, B.; LUNDE, C.; LAGES, F.; OLIVEIRA, R.; LUCAS, C.; KIELLAND, B.M. *GUP1* and its close homologue *GUP2*, encoding multimembranes panning proteins involved in active glycerol uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular Microbiology**, v.37, p.108-124, 2000.
- HONG, A. A.; CHENG, K. K.; PENG, F.; ZHOU, S.; SUN, Y.; LIU, C. M.; LIU, D. H. Strain isolation and optimization of process parameters for bioconversion of glycerol to lactic acid. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, p. 1576–1581, 2009.
- HU, H.; WOODA, T. K. An evolved *Escherichia coli* strain for producing hydrogen and ethanol from glycerol. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 391, p. 1033–1038, 2010.
- ITO, T.; NAKASHIMADA, Y.; SENBA, K.; MATSUI, T.; NISHIO, M. Hydrogen and Ethanol Production from Glycerol-Containing Wastes Discharged after Biodiesel Manufacturing Process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, p. 260-265, 2005.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel from *Jatropha* in India: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 763-771. 2010.
- JARVIS, G. N.; MOORE, E.R.B.; 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- 174, 1997.
- JOHNSON, D. T.; TACONI, K.A. The glycerin glut: options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. **Environmental Progress**, v. 26, p. 338–348, 2009.
- KOTAY, S. M.; DAS, D. Biohydrogen as a renewable energy resource e prospects and potentials. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 258-263, 2008.
- LAGES, F.; SILVA-GRAÇA, M.; LUCAS, C. Active glycerol uptake is a mechanism underlying halotolerance in yeasts: a study of 42 species. **Microbiology**, v. 45, p. 2577-2585, 1999.
- LAGES, F.; LUCAS, C. Contribution to the physiological characterization of glycerol active uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v. 1322, p. 8-18, 1997.
- LIN, L.; CUNSHAN, Z.; VITTAYAPADUNG, S.; XIANGQIAN, S.; MINGDONG, D. Opportunities and challenges for biodiesel fuel. **Applied Energy**, v. 88, p. 1020–1031, 2011.
- LÓPEZ, J. A. S.; SANTOS, M. A. M.; PÉREZ, A. F. C.; MARTÍN, A. M. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5609–5615, 2009.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007-2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J.A.D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 128-137, 2015.

LO, Y. C.; CHEN, X. J.; HUANG, C. Y.; YUAN, Y. J. CHANG, J. S. Dark fermentative hydrogen production with crude glycerol from biodiesel industry using indigenous hydrogen-producing bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 15815 – 15822, 2013.

LUO, G.; ZOU, Z.; WANG, W.; ZHOU, Q. Evaluation of pretreatment methods on mixed inoculum for both batch and continuous thermophilic biohydrogen production from cassava stillage. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 959 – 964, 2010.

LUYTEN, K.; ALBERTYN, J.; SKIBBE, W. F.; PRIOR, B. A.; RAMOS, J.; THEVELEIN J. M.; HOHMANN, S. Fps1, a yeast member of the MIP family of channel proteins, is a facilitator for glycerol uptake and efflux and is inactive under osmotic stress. **EMBO Journal**, v.14, p.1360-71, 1995.

MATA-ALVAREZ, J.; DOSTA, J.; ROMERO-GÜIZA, M.S.; FONOLL, X.; PECES, M.; ASTALS, S. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412-27, 2014.

MOAT, A.G.; FOSTER, J.W.; SPECTOR, M.P. Central pathways of carbohydrate metabolism. Em: **Microbial physiology**, Moat AG, Foster JW and Spector MP (eds), New York: Wiley-Liss, 2002, p.363.

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

NARTKER, S.; AMMERMAN, M.; AURANDT, J.; STOGSDIL, M.; HAYDEN, O.; ANTLE, C. Increasing biogas production from sewage sludge anaerobic co digestion process by adding crude glycerol from biodiesel industry. **Waste Management**, v. 34, p. 2567–2571, 2014.

NAKAMURA, C.E.; GATENBY, A.A.; HSU, A.K-H.; LA-REAU, R.D.; HAYNIE, S.L.; DIAZ-TORRES, M.; TRIMBUR, D.E.; WHITED, G.M.; NAGARAJAN. V.; PAYNE, M.S.; PICATAGGIO, S.K.; NAIR, V.R. Method for the production of 1,3 propanediol by recombinant microorganisms. **US Patent 6,013,494**, 11 Jan 2000.

NATIONAL BIODIESEL BOARD. **Biodiesel Basics (2016)**. Disponível em: <<http://biodiesel.org/what-is-biodiesel/biodiesel-basics>>. Acesso em: 26 set. 2016.

NEVES, L.; LAGES, F.; LUCAS, C. New insights on glycerol transport in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, v. 565, p. 160-162, 2004.

NGAMLERDPOKIN, K.; KUMJADPAI, S.; CHATANON, P.; TUNGMANEE, U.; CHUENCHUANCOM, S.; JARUWAT, P. Remediation of biodiesel wastewater by chemical-and electro-coagulation: a comparative study. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p. 2454–2460, 2011.

OLIVEIRA, R., LAGES, F., SILVA-GRAÇA, M.; LUCAS, C. Fps1p channel is a mediator of the major part of glycerol passive diffusion in *Saccharomyces cerevisiae*. Artefacts and re-definitions, **Biochemistry and Biophysics Acta** , v.1613, p.57-71, 2003.

OH, B. R.; SEO, J. W.; HEO, S. Y.; HONG, W. K; LUO, L. H.; JOE, M.; PARK, D.; KIM, C. H.. Efficient production of ethanol from crude glycerol by a *Klebsiella pneumoniae* mutant strain. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3918–3922, 2011.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Conferência mundial das nações unidas sobre mudança climática** (2016). Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/cop21/>>. Acesso em: 26 set. 2016.

PADULA, A. D; SANTOS, M. S.; FERREIRA, L.; BORENSTEIN, D. The emergence of the biodiesel industry in Brazil: Current figures and future prospects. **Energy Policy**, v. 44, p.395-405, 2012.

PALOMINO-ROMERO, J. A.; LEITE, O. M.; EGUILUZ, K. I. B.; SALAZAR-BANDA, G. R.; SILVA, D. P.; CAVALCANTI, E. B. Tratamentos dos efluentes gerados na produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 35, p. 367-378, 2012.

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

PIMENTA, G. G.; OLIVEIRA, L. R. R. **Produção de etanol**. Apostila online. FACIT- Faculdade de Ciência e Tecnologia de Montes Claros. Montes Claros- MG. Outubro, 2010.

PITAKPOOLSIL, W.; HUNSOM, M. Adsorption of pollutants from biodiesel wastewater using chitosan flakes. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, p. 963–971, 2013.

POTT, R. W. M.; HOWE, C. J.; DENNIS, J. S. Photofermentation of crude glycerol from biodiesel using *Rhodospseudomonas palustris*: comparison with organic acids and the identification of inhibitory compounds. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 725–730. 2013.

RATTANAPAN, C.; SAWAIN, A.; SUKSAROJ, T.; SUKSAROJ, C. Enhanced efficiency of dissolved air flotation for biodiesel wastewater treatment by acidification and coagulation processes. **Desalination**, v. 280, p. 370–377, 2011.

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

RENEWABLE ENERGY POLICY NETWORK FOR THE 21ST CENTURY (REN21). **Renewables global status report (2016)**. Paris: REN21, 2016.

RINCÓN, L. E.; JARAMILLO, J. J.; CARDONA, C. A. Comparison of feed stocks and technologies for biodiesel production: An environmental and techno-economic evaluation. **Renewable Energy**, v. 69, p. 479 – 487, 2014.

RIVALDI, J. D. **Aproveitamento biotecnológico do glicerol derivado da produção de biodiesel para a obtenção de biomassa e ribonucleotídeos**. 2008. 125 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo.

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

RYMOWICZ, W.; RYWINSKA, A.; ZAROWSKA, B.; JUSZCZYK, P. Citric acid production from raw glycerol by acetate mutants of *Yarrowia lipolytica*. **Chemistry Papers**, v.60, p.391-394, 2006.

RYWINSKA, A.; JUSZCZYK, P.; WOJTATOWICZ, M.; ROBAK, M.; LAZAR, Z.; TOMASZEWSKA, L.; RYMOWICZ, W. Glycerol as a promising substrate for *Yarrowia lipolytica* biotechnological applications. **Biomass and Bioenergy**, v. 148, p. 148-166, 2013.

SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia – aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, v. 37, p. 857-867, 2014.

SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; OLIVEIRA, T. C.; OLIVEIRA, E. M. M.; MATOS, A.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Pentoses, hexoses and glycerol as substrates for biohydrogen production: An approach for Brazilian biofuel integration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 2986 – 2997, 2013.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SOLOMONS, T. W. G.; Fryhle, C. B. **Química Orgânica**, vol. 1 e 2. 9 ed. LTC, 2009.

SOSNOWSKI, P.; WIECZOREK, A.; LEDAKOWICZ, S. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. **Advances in Environmental Research**. v. 7, p: 609-616, 2003.

SUEHARA, K.; KAWAMOTO, Y.; FUJII, E.; KOHDA, J.; NAKANO, Y.; YANO, T. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, p. 437–442, 2005.

- TOSCANO, L.; MONTERO, G.; STOYTCHIEVA, M.; CAMPBELL, H.; LAMBERT, A. Preliminary assessment of biodiesel generation from meat industry residues in Baja California, Mexico. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 26 -31, 2011.
- VELJKOVIĆ, V. B.; STAMENKOVIĆ, O. S.; TASIĆ, M. B. The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 32, p. 40-60, 2014.
- VOEGELE, R.T.; SWEET, G.D.; BOOS, W. Glycerol kinase of *Escherichia coli* is activated by interaction with the glycerol facilitator. **Journal of Bacteriology**, v.175, p.1087-1094, 1993.
- WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 799-811, 2009.
- WEILAND, P. Production and energetic use of biogas from energy crops and 157 wastes in Germany. **Applied Biochemical Biotechnology**. V.109, p: 263–274, 2003
- XIU, Z-L.; CHEN, X.; SUN, Y-Q.; ZHANG, D-J. Stoichiometric analysis and experimental investigation of glycerol–glucose co-fermentation in *Klebsiella pneumonia* under microaerobic conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v.33, p.42-45, 2007.
- YANG, L.; TAKASE, M.; ZHANG, M.; ZHAO, T.; WU, X. Potential non-edible oil feedstock for biodiesel production in Africa: A survey. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p.461-477, 2014.
- YANG, C. Y.; FANGA, Z.; LI, B.; LONG, Y. F. Review and prospects of Jatropha biodiesel industry in China. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 2178– 2190, 2012.
- YAZDANI, S.S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinions on Biotechnology**. v. 18, p. 213, 2007.
- YAZDANI, S.S.; GONZALEZ, R. Engineering *Escherichia coli* for the efficient conversion of glycerol to ethanol and co-products. **Metabolic Engineering**, v. 10, p. 340 – 351, 2008.
- YOMANO, L.P.; YORK, S.W.; INGRAM, L.O. Isolation and characterization of ethanol-tolerant mutants of *Escherichia coli* KO11 for fuel ethanol production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p. 132–138, 1998.
- ZHAO, Y-N.; CHEN, G.; YAO, S-J. Microbial production of 1,3-propanediol from glycerol by encapsulated *Klebsiella pneumoniae*. **Biochemistry Engineering Journal**, v.32, p.93-99, 2006.

CAPÍTULO 4- FATORES QUE INFLUENCIAM NA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA PRESENTE NA ÁGUA RESIDUÁRIA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL (ARIB) VIA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA

RESUMO

O estímulo econômico e ambiental para a produção do biodiesel provocou um aumento na produção do glicerol que misturado a outros resíduos líquidos da produção do biodiesel transformou-se no problema ambiental denominado água residuária da indústria de biodiesel (ARB). Objetivou-se neste trabalho estudar-se os fatores que influenciam no processo de biodegradação do glicerol visando a remoção otimizada de matéria orgânica da água residuária da indústria de biodiesel formulada sinteticamente (ARIB). Os fatores avaliados foram pH, temperatura, agitação, demanda química de oxigênio (DQO) afluyente, massa de inóculo e tempo de reação. Os resultados obtidos indicaram que os fatores agitação, temperatura, massa de inoculação e tempo de reação possuem influência direta na eficiência de remoção de DQO da ARIB. O reator avaliado operou com valores de eficiência e cargas aplicadas acima dos valores estabelecidos pela literatura. O modelo matemático gerado neste trabalho pode ser utilizado para previsão, controle de processos e escalonamento do reator.

Palavras-chaves: processo descontínuo; impelidor modificado; modelamento; fatorial fracionado, glicerol.

4.1- INTRODUÇÃO

O biodiesel é um combustível produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais por meio de um processo químico chamado transesterificação onde estes reagem com um tipo de álcool e catalizadores, produzindo um éster metílico de ácido graxo (biodiesel) e glicerol que deve ser refinado para a comercialização (RINCÓN et al., 2014; ULLAH et al., 2015).

De acordo com Johnson e Taconi (2009) e Pott et al. (2014) refinar todo o glicerol bruto produzido é inviável economicamente, por isso, muitos produtores de biodiesel vêm descartando o mesmo para evitar custos com o beneficiamento, gerando um desperdício. Daud et al. (2014) descrevem que atualmente o glicerol não purificado para comercialização é geralmente misturado com outros subprodutos aquosos da indústria de biodiesel gerando a chamada água residuária da indústria de biodiesel (ARB).

Com o enfoque na produção de bioenergia, os processos anaeróbios vêm sendo largamente estudados como alternativa para aproveitamento do glicerol residual como fonte de matéria orgânica para produção de metano. Neste contexto, o uso do reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com biomassa granulada e agitação mecânica (AnSBR) é considerado uma alternativa para o tratamento da ARB, pois oferece melhor controle da qualidade do efluente tratado, eficiência de remoção da matéria orgânica, operação simples e estável do sistema, possibilitando a produção de metano através da biodegradação do glicerol (SELMA et al., 2010, CASTRILLÓN et al., 2013; SILVA et al., 2013).

A produção volumétrica de metano está diretamente ligada à quantidade de DQO removida durante o processo anaeróbio, sendo esta correlação denominada rendimento “Yield” e representada pela letra Y. Bezerra et al. (2011) tratando ARIB em um reator anaeróbio de leito fixo operando em bateladas sequenciais (AnSBBR) sob o aumento de carga orgânica de 1,5 para 6,0 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO, obtiveram valores de eficiências de remoção de DQO de 50 a 92% e determinaram que a produção volumétrica de metano variou de 29,5 a 55,5 mL de CH₄ por grama de DQO removida. Silva et al. (2013) tratando ARIB em um AnSBR sob o aumento de COV_A em termos de DQO de 1,23 para 2,52 g L⁻¹ d⁻¹ obtiveram valores de eficiências de DQO de 58 a 84% e determinaram que a produção volumétrica de metano variou de 41,1 a 93 mL de CH₄ por grama de DQO removida. Portanto, para otimizar a produção de metano em reatores anaeróbios é necessário primeiramente investigar os fatores que interferem na eficiência de remoção da DQO proveniente do glicerol. Com o entendimento dos efeitos entre as interações dos principais parâmetros que influenciam na eficiência de remoção de DQO, e sua geração proporcional de metano, é possível maximizar a produção de bioenergia diminuindo o efeito nocivo deste resíduo.

Os fatores que podem influenciar na degradação do glicerol em reatores anaeróbios do tipo AnSBR estão ligados a aspectos fundamentais como o tamponamento do meio em termos de pH, acidez e alcalinidade (METCALF e EDDY, 2015; PEREIRA et al., 2013); temperatura de operação do reator (LIM e FOX, 2011); velocidade de agitação (NOVAES et al., 2010); massa de microrganismos presentes no meio para cada COV_A (SELMA et al., 2010; SILVA et al., 2013); DQO afluente ao reator (SELMA et al., 2010, BEZERRA et al., 2011; LOVATO et al., 2012; SILVA et al., 2013); e tempo de reação entre a ARIB e a biomassa (BEZERRA et al., 2011; LOVATO et al., 2012).

Nesse contexto, avaliou-se os efeitos sinérgicos de diferentes níveis de pH, temperatura, agitação, DQO afluente ao AnSBR, massa de inóculo e tempo de reação na biodegradação anaeróbia do glicerol presente na ARIB durante o seu tratamento em AnSBR, com o objetivo

de determinar quais destes seis fatores influenciam significativamente na eficiência de remoção de DQO da ARIB.

4.2- MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1- APARATO EXPERIMENTAL GERAL

O AnSBR, utilizado no experimento foi construído em acrílico e tinha banho termostático para controle de temperatura (10 a 90 °C), regulador para velocidade de agitação (0 a 40 rpm) e registro de descarte de lodo instalado na base do reator. O volume total do reator foi de 6,8 L sendo 5,0 L de volume útil para reação e 1,8 L (*headspace*) para armazenamento do biogás produzido durante o processo de biodegradação. Fixadas na parte superior da tampa do reator foram instaladas duas válvulas uma para saída de biogás onde foi acoplado um gasômetro para a medição do mesmo e outra para encaixe da tubulação utilizada para recalque do afluente (abastecimento do reator) e sucção do sobrenadante (descarte) que foi analisado, via bombeamento com bomba peristáltica de deslocamento positivo (Figura 4.1).

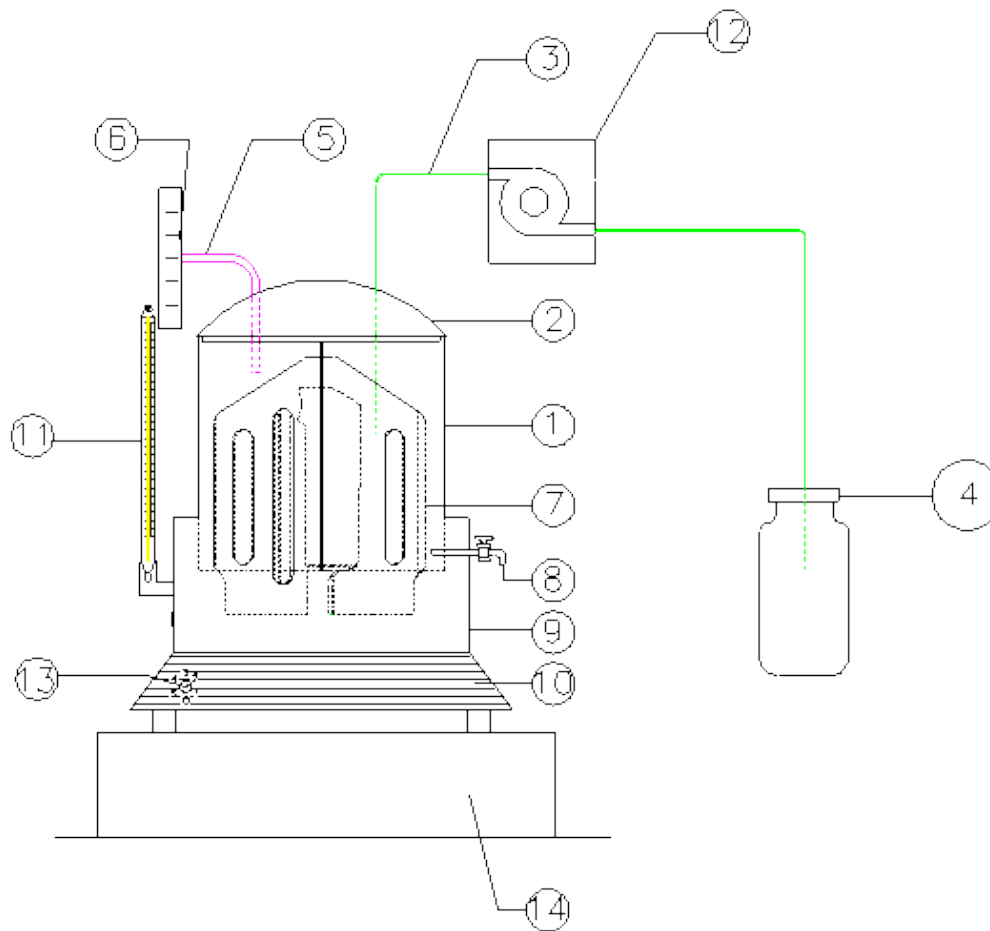


Figura 4.1- AnSBR utilizado para tratamento da ARIB.

1- Corpo do volume reacional do reator. 2- Parte superior do reator (tampa). 3- Tubulação para recalque da ARIB afluente e sucção da ARIB tratada (sobrenadante) após a decantação. 4- Recipiente para armazenamento tanto da ARIB afluente quanto tratada. 5- Tubulação para condução do biogás até o gasômetro. 6- Gasômetro. 7- Impelidor do AnSBR (Figura 2). 8- Registro para descarte da biomassa. 9- Banho termostático para manutenção de temperatura. 10- Região com dispositivos elétricos utilizados para controle da temperatura e agitação do impelidor. 11- Termômetro digital acoplado ao banho termostático para registro da temperatura continuamente. 12- Bomba utilizada para sucção de afluente e recalque de efluente. 13- Controlador de temperatura. 14- Suporte para o reator.

Novaes et al. (2010) menciona a necessidade de construção de chicanas internas em AnSBR que operam com impelidores tradicionais do tipo pás e turbinas, para evitar a existência de zonas de reação inativas nas regiões periféricas do reator. Assim na tentativa de substituir tal estrutura física foi desenvolvido um impelidor em acrílico exclusivamente para este processo, com aberturas estratégicas para maior homogeneização da biomassa com a ARIB, visando propiciar uma condição de mistura completa no reator (Figura 4.2).

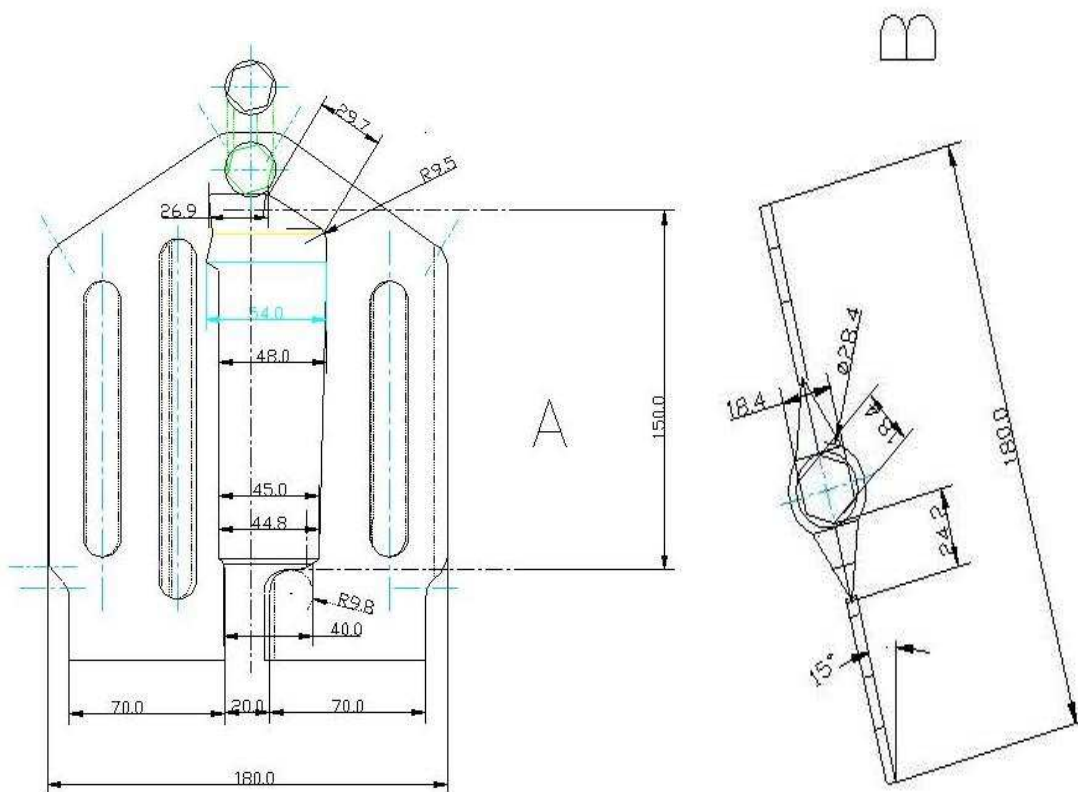


Figura 4.2- Planta do impelidor utilizado no AnSBR. A. Corte transversal da peça. B. Vista superior da peça (medida em mm).

4.2.2- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para realização de cada batelada, a biomassa foi inoculada no AnSBR que em seguida recebia o volume de ARIB durante o tempo de alimentação (T_A) fixado em 10 min. Em seguida, a temperatura do banho termostático do reator foi ajustada ao valor desejado (Tabela 4.1), sendo que ao fim do T_A , todo o sistema (biomassa-ARIB) apresentava-se em equilíbrio de temperatura. O impelidor foi ligado atingindo a velocidade de agitação desejada para a batelada (Tabela 4.1), sendo essa condição mantida durante todo tempo de reação (T_R) que foi variável para cada batelada (Tabela 4.1). Ao término do T_R o motor do impelidor do AnSBR foi desligado e iniciou a etapa de sedimentação da biomassa, sendo fixado um tempo de sedimentação (T_S) em 30 min para todas as bateladas. Em seguida iniciava-se a retirada de 1 L do sobrenadante formado após a sedimentação. O período de retirada foi denominado de tempo de descarte (T_D), sendo fixados em 10 min para todas as bateladas. O sobrenadante retirado foi utilizado para as análises físico-químicas descritas na Tabela 4.3. Ao encerrar o tempo de ciclo de cada batelada todo material presente no reator (biomassa e ARIB) foi descartado e o reator higienizado para iniciar uma próxima batelada com nova biomassa e ARIB.

A ARIB utilizada durante todo o experimento foi formulada com glicerol comercial (única fonte de matéria orgânica) e NaHCO_3 com grau pureza “puro para análise” (PA) ambos dissolvidos em água destilada como descrito nos estudos realizados por Silva et al. (2013) e Lovato et al. (2015). Os valores de T_A , T_S e T_D submetidos ao AnSBR utilizado foram fixados com base nos estudos realizados por Silva et al. (2010). A biomassa utilizada durante todo o experimento foi proveniente do reator anaeróbio de manta de lodo utilizado no tratamento de esgoto sanitário localizado no bairro Violeira na cidade de Viçosa. Após coletada e caracterização da biomassa a mesma foi armazenada em galões de 25L e refrigerada em freezer a 2°C . Antes de cada ensaio, o galão era homogeneizado e o volume necessário para o experimento foi retirado da refrigeração e caracterizado com 24 horas de antecipação do ensaio. Os valores médios e o desvio padrão encontrado entre os galões para os parâmetros analisados estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1- Parâmetros de caracterização da biomassa anaeróbia utilizada como inóculo do AnSBR neste estudo

Parâmetro	Concentração (Média \pm DP)
Sólidos Totais (ST)	$43575 \pm 1057 \text{ mg L}^{-1}$
Sólidos Voláteis Totais (SVT)	$25229 \pm 672 \text{ mg L}^{-1}$
Sólidos Fixos Totais (SFT)	$18345 \pm 427 \text{ mg L}^{-1}$
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	$1594 \pm 7 \text{ mg L}^{-1}$
Fósforo Total (P_T)	$766 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$
Sódio Total (Na^+)	$121,7 \pm 7,8 \text{ mg L}^{-1}$
Potássio Total (K^+)	$49,8 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$

A relação SVT/ST média do lodo utilizado foi de 0,58, as concentrações de NTK e P_T presentes na biomassa junto com a DQO proveniente da ARIB propiciaram para cada batelada relações DQO:N:P entre 1000:5:1 e 350:5:1 o que, de acordo com Metcalf e Eddy (2015), mostra-se apropriado para o processo anaeróbio.

4.2.3- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental utilizado foi do tipo fatorial fracionado (2^{k-p}) considerando os 6 fatores (F_i): pH (F1); temperatura (F2); velocidade de agitação (F3); massa de microrganismos inoculada em termos de sólidos suspensos voláteis (F4); DQO_T afluyente ao AnSBR (F5) e tempo de reação entre a ARIB e biomassa (F6). Ambos os fatores foram possuía três níveis: alto (+1), médio ou central (0) e baixo (-1), como descrito na Tabela 4.2.

Tabela 4.2- Fatores avaliados na matriz 2^{k-3} e valores dos níveis alto (+1), baixo (-1) e médio (0) de cada fator.

Fatores	Níveis		
	+1	0	-1
F1	8	7	6
F2 (°C)	50	40	30
F3 (rpm)	40	20	0
F4 (mg de SSV)	50458,9	25860,2	1261,5
F5 (mg L⁻¹)	30000	16500	3000
F6 (h)	24	16	8

F1: potencial hidrogeniônico. F2: Temperatura. F3: Velocidade de agitação. F4: massa de inóculo. F5: DQO_T do afluente. F6: tempo de reação.

Como podem ser observados na Tabela 4.1 os níveis centrais são equidistantes dos valores extremos (níveis alto e baixo). Os intervalos adotados foram baseados nas seguintes literaturas: pH - Speece (1996) e Chernicharo (2007). Temperatura - Metcalf e Eddy (2015) e Lim e Fox (2011). Agitação - Novaes et al. (2010). Massa de inóculo - A inoculação foi realizada com biomassa de concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) constante de 25.229,44 mg L⁻¹, considerando a porcentagem de volume inoculado do reator, sendo estabelecido como o valor máximo a porcentagem de 40% avaliada por Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013), e como mínimo o valor de 1%. DQO_T da ARIB afluente- Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011), Lovato et al. (2012), Silva et al. (2013), Daud et al. (2014). Tempo de reação - Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011), Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013).

Após a determinação dos níveis de cada fator foi confeccionada a matriz experimental do tipo fatorial fracionado (2^{k-3}) apresentada na Tabela 4.3, visando obter os a interação entre os fatores que influenciam no processo. As técnicas de confundimento (CALADO e MONTGOMERY, 2003) utilizadas para geração das colunas F4, F5 e F6 foram as resultantes da multiplicação entre as colunas F1, F2 e F3 para geração da coluna F4; multiplicação das colunas F1 e F2 para geração da coluna F5 e a multiplicação das colunas F1 e F3 para geração da coluna F6.

Tabela 4.3- Matriz com o planejamento experimento do tipo 2^{k-3} com os valores de cada fator utilizados sinergicamente em cada ensaio.

Ensaio	Fatores					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
E1	6	30	0	1262	30000	24
E2	8	30	0	50456	3000	8
E3	6	50	0	50456	3000	24
E4	8	50	0	1262	30000	8
E5	6	30	40	50459	30000	8
E6	8	30	40	1262	3000	24
E7	6	50	40	1262	3000	8
E8	8	50	40	50459	30000	24

F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: concentração de DQO_T do afluente (mg L⁻¹). F6: tempo de reação (h).

Os 8 ensaios descritos na Tabela 4.3 estão apresentados de forma sequencial, mas foram realizados de forma aleatória em triplicata, totalizando um experimento de 24 ensaios. Como variável resposta da matriz experimental foi avaliada a eficiência na remoção de DQO da ARIB em cada ensaio sendo monitoradas as condições de tamponamento do reator.

Os resultados obtidos quanto à eficiência de remoção de DQO foram submetidos à análise estatística usando-se o programa STATISTICA 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA) para determinar quais fatores estudados foram estatisticamente significativos ao desempenho do processo. Utilizando os resultados obtidos foi desenvolvido o modelo matemático que descreve o efeito da interação entre os 6 fatores (Tabela 4.3) na remoção de DQO da ARIB durante o seu tratamento no AnSBR. A marcha de cálculo utilizada para confeccionar o modelo está descrita e exemplificada em Barros Neto et al. (2010). Após a geração do modelo, o mesmo foi calibrado com os dados do experimento e validado com outros 3 ensaios diferentes dos apresentados na Tabela 4.3, todavia obedecendo o intervalo entre os níveis descrito na Tabela 4.2. Os ensaios de validação do modelo matemático gerado também foram realizados em triplicata. Os valores adotados para os fatores nos ensaios de validação foram transformados em variáveis de conversão (VC) através da Equação 4.1.

$$VC = \frac{x - x_m}{\Delta x} \quad (4.1)$$

Onde:

x: valor utilizado para o fator avaliado.

x_m: valor dado ao ponto central do fator avaliado (Tabela 4.2).

Δx : amplitude de valor do fator avaliado, calculado pela diferença entre o valor do referido fator no nível e o mesmo no nível baixo (Tabela 4.2).

Os dados referentes ao tamponamento do reator para cada ensaio foram submetidos às análises de estatística descritiva utilizando o programa SISVAR, desenvolvido no Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Lavras (Ferreira, 2011) e a análise multivariada de componentes principais (ACP) no programa Action Stat da Equipe Estatcamp, que trabalha de forma integrada ao software Excel (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

Os valores de Carga Orgânica Volumétrica aplicada (COV_A) e Carga Orgânica Biológica (COB) e eficiência de remoção de DQO foram determinados utilizando as equações 4.2, 4.3 e 4.4 respectivamente.

$$COV_A = \frac{C_{DQO} \times V_{AR}}{T_R \times V_T} \quad (4.2)$$

$$COB = \frac{C_{DQO} \times V_{AR}}{T_R \times M_I} \quad (4.3)$$

$$E(\%) = \left(\frac{C_{DQO} \times DQO_{EF}}{C_{DQO}} \right) \times 100 \quad (4.4)$$

Onde:

C_{DQO} : DQO_T da ARIB afluente ($g L^{-1}$).

DQO_{EF} : DQO solúvel da ARIB efluente ($g L^{-1}$).

V_{AR} : Volume de ARIB utilizado no abastecimento do reator (L).

V_T : Volume total útil do reator (L).

M_I : Massa de inóculo inserida (g de SSV).

COV_A : Carga orgânica volumétrica aplicada ($g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO).

COB: Carga orgânica biológica aplicada ($g g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/SSV).

T_R : Tempo de reação (d).

E (%): Eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (%).

4.2.4- PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DO EXPERIMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS REALIZADAS

Na Tabela 4.4 estão apresentadas as análises físico-químicas e seus procedimentos metodológicos utilizados para o monitoramento da ARIB afluente e efluente do AnSBR durante o tratamento e da biomassa utilizada como inóculo do reator.

Tabela 4.4- Exames, determinações, procedimentos e fontes metodológicas utilizadas nas análises físico-químicas da ARIB e biomassa realizados durante o experimento.

Exames e Determinações	Procedimentos	Referência
pH	Método com eletrodo laboratorial: 4500 - H+ B	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Alcalinidades: a ácidos a voláteis totais (A-AVT), total (AT), parcial (AP), intermediária (AI) e bicarbonato (AB).	Titulação Potenciométrica	Ripley et al. (1986) e Jenkins et. al (1983)
Demanda Química de Oxigênio: Total (DQO _T) e Solúvel (DQO _S)	5220-D: Método Colorimétrico com digestão em refluxo fechado.	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Sólidos Totais (ST), Fixos (SFT), Voláteis (SVT) e Sólidos Suspensos Totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV) do lodo	2540-B; 2540-D; 2540-E	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Ácidos Voláteis Totais (AVT)	Titulação Potenciométrica	Dilallo e Albertson (1961)
Nitrogênio total Kjeldahal (NTK) da biomassa	4500-NH ₃ C.; 4500-Norg A.; 4500-Norg B: Método Macro-Kjeldahl e Método Titulométrico	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Fosforo total (P _T) da biomassa	4500 – PE: Método Ácido Ascórbico	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Sódio (Na ⁺) e Potássio (K ⁺) da biomassa	Tratamento da amostra com digestão ácida (ácido nítrico e perclórico) e filtração: 3030-B; 3030-H. Leitura pelo método de fotometria por emissão de chama: 3500- K; 3500-Na.	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Temperatura da ARIB (de operação)	Método laboratorial com termômetro digital: 2550-B	APHA, AWWA, WPCF (2012)

Os resultados de Demanda Química de Oxigênio: Total (DQO_T) e Solúvel (DQO_S) foram expressos em mg L⁻¹ em termos de O₂ proveniente do oxidante Dicromato de Potássio e consumido para estabilizar a matéria orgânica presente na amostra através da reação de oxirredução durante as 2h de digestão. Para realização das análises de Demanda Química de Oxigênio solúvel (DQO_S) e sólidos suspensos do lodo as amostras foram filtradas em filtro de microfibras de vidro com porosidade de 0,6 µm.

4.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1- INFLUÊNCIA DOS FATORES NO DESEMPENHO DO ANSBR EM TERMOS DE REMOÇÃO DE DQO DA ARIB

Na Tabela 4.5 estão apresentados os valores de COV_A e COB submetidas ao reator AnSBR em cada experimento junto aos resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos.

Tabela 4.5- Eficiência de remoção de DQO da ARIB em AnSBR operando nas oito condições analisadas.

Experimentos	V_{AR} (L)	Cargas aplicadas		E (%)	
		COV_A	COB	$\bar{x} \pm dp$	CV(%)
1	4,95	29,7	117,7	$10,4 \pm 1,0$	9,7
2	3,00	5,4	0,5	$44,3 \pm 4,9$	5,4
3	3,00	1,8	0,2	$44,1 \pm 12,6$	28,7
4	4,95	89,1	353,0	$3,6 \pm 1,5$	38,0
5	3,00	54,0	5,4	$34,6 \pm 1,9$	11,0
6	4,95	3,0	11,8	$23,4 \pm 1,1$	4,5
7	4,95	8,9	35,3	$3,6 \pm 1,4$	41,1
8	3,00	18,0	1,8	$43,8 \pm 1,0$	2,3
Média geral					26,0
Somatória dos desvios padrões					17,8

V_{AR} : volume de água residuária utilizado no abastecimento do reator (L). E: eficiência de remoção de DQO da ARIB (%). COV_A : carga orgânica volumétrica aplicada em termos de DQO ($g L^{-1} d^{-1}$). COB: carga orgânica biológica ($g g^{-1} d^{-1}$) em termos de DQO/SSV. CV: coeficiente de variação entre as repetições do ensaio (%).

Com base nos valores apresentados na Tabela 4.5 pode ser observado que o reator operou com valores de COV_A em termos de DQO entre 1,8 e 89,1 $g L^{-1} d^{-1}$ e valores de COB entre 0,2 e 353,0 $g g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/SSV, resultando em eficiências entre 3,6 e 44,3%. A biomassa utilizada não estava aclimatizada a ARIB. Em termos de faixa de cargas aplicadas para remoção de DQO da ARIB pode-se comparar os resultados obtidos na Tabela 4.5 com os obtidos por Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013).

Selma et al. (2010) estudaram a eficiência de remoção de DQO e produção de metano em um AnSBR com impelidor do tipo turbina com 6 pás, operando sob variação da COV_A via aumento progressivo da concentração afluente de DQO no tratamento da ARIB. Ao longo do experimento, o reator foi submetido a condições fixas de tempo de ciclo, temperatura e velocidade de agitação de 8 h, 30 °C e 50 rpm, com DQO afluentes de 500, 1000, 2000 e 3000 $mg L^{-1}$ com valores de COV_A em termos de DQO de 0,6; 1,29; 2,44 e 3,82 $g L^{-1} d^{-1}$ e valores de COB 15,2; 32,8; 62,1 e 97,2 $mg g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/STV obtendo eficiências de 93, 81, 66 e 40% com produções volumétricas de metano de 95,5; 83,8 e 78,1 $mL CH_4$ por g de DQO removida sendo que a produção de metano para a última carga não foi quantificada. Os

autores utilizaram biomassa aclimatizada a ARIB para dar partida e mantiveram no reator ao longo do experimento uma massa de lodo de 196,5 g de STV.

Selma et al. (2010) observaram que quanto maiores os valores de COV_A e COB aplicados ao AnSBR menor foi o valor da eficiência de remoção de DQO e produção volumétrica de metano. De acordo com estes autores os valores de COV_A em termos de DQO e COB em termos de DQO/STV máximos para operação do AnSBR tratando ARIB são $3,82 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $0,097 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente, para obtenção de eficiência de remoção de DQO de 40%. Assim, as condições operacionais com cargas superiores as estabelecidas por Selma et al. (2010) provocariam eficiências menores que 40% ou até o colapso do AnSBR.

Os resultados apresentados na Tabela 4.5 mostram que o AnSBR utilizado neste trabalho mesmo submetido a valores de COV_A em termos de DQO ($1,8$ a $18 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e COB ($0,2$ a $1,8 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO/SSV) acima do estabelecido por Selma et al. (2010) conseguiu operar com eficiências de remoção de DQO médias entre 43,8 a 44,3%, mostrando-se vantajoso para a indústria de biodiesel, por operar com maior volume de ARIB e até concentrações maiores que a estabelecida pela literatura de projeto. Além disso, de acordo com a Tabela 4.5 diferentes valores de COV_A e COB aplicados ao AnSBR podem promover a mesma eficiência de remoção de DQO. Isso ressalta a hipótese levantada neste estudo, de que outros fatores ambientais (pH e temperatura), operacionais utilizados para o cálculo das cargas COV_A e COB tais como T_R , C_{DQO} e M_I (equações 4.1 e 4.2), fatores hidráulicos como agitação e biológicos como grau de adaptação da biomassa podem interferir no processo de biodegradação anaeróbia da ARIB.

Para investigação dentre quais fatores apresentados na Tabela 4.1 influenciavam no desempenho do processo, os valores obtidos nos experimentos 1 a 8 (Tabela 4.5) foram submetidos à análise de variância (Tabela 4.6) e os resultados expressados por meio do gráfico de Pareto (Figura 4.3).

Tabela 4.6- Análise de variância (ANOVA) realizada com os resultados da Tabela 4.4.

Fatores	SQ	GL	QM	f_{cal}	p
F1	3,511	1	3,511	0,1447	0,7090
F2	116,689	1	116,689	4,8093	0,043*
F3	185,37	1	185,37	7,64	0,014*
F4	5922,042	1	5922,04	244,076	0,000*
F5	4,735	1	4,735	0,1951	0,6640
F6	474,193	1	474,193	19,5437	0,0004*
Erro puro	388,21	16	24,263		
SQT	7293,24	23			

F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: DQO_{TOTAL} do afluente (mg L⁻¹). F6: tempo de reação (h). SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; f_{cal} : f calculado; SQT: soma de quadrados totais. * estatisticamente significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$).

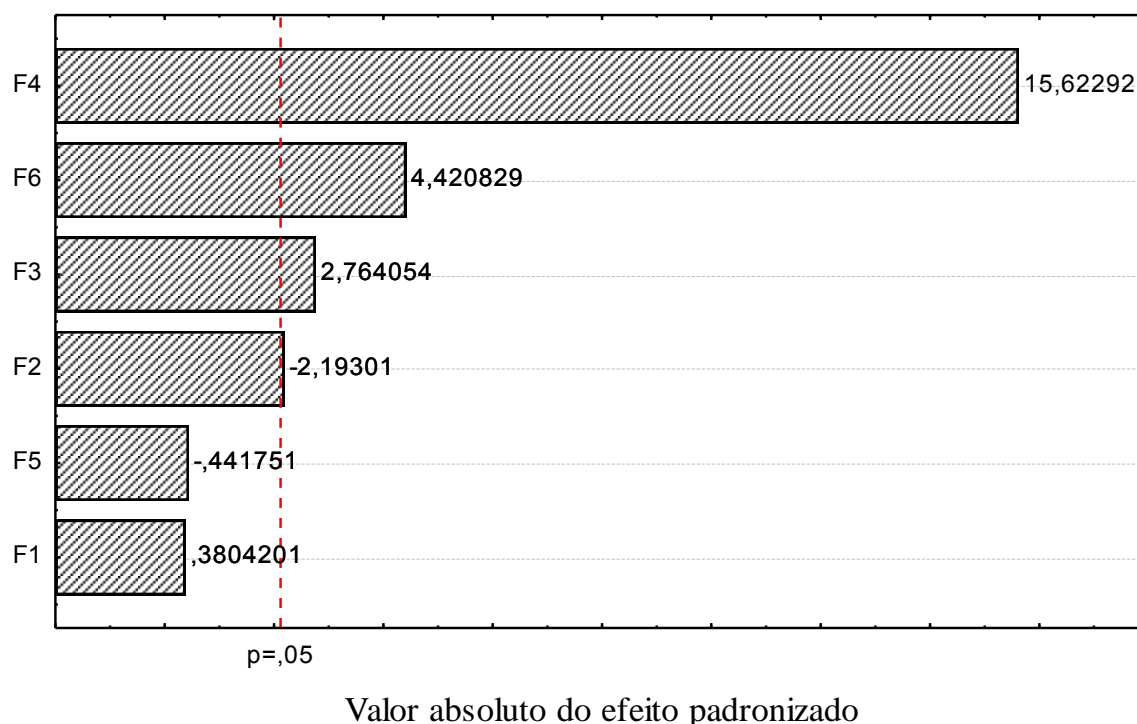


Figura 4.3- Gráfico de Pareto elaborado dos resultados de remoção de DQO para os fatores F1 a F6 apresentados na Tabela 4.5 (Quadrado médio do erro puro de 24,26315). F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: DQO_T do afluente (mg L⁻¹). F6: tempo de reação (h).

Os resultados apresentados na Tabela 4.6 mostram que os fatores temperatura, agitação, massa de inóculo e tempo de reação foram estatisticamente significativos ao nível de 5% ($p < 0,05$). Portanto, estes são os fatores que influenciam na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol. Já os fatores pH da ARIB afluente ao AnSBR e C_{DQO} do afluente não apresentaram significância estatística ao nível de 5% ($p > 0,05$), sendo assim, não demonstraram influência no processo de biodegradação, quando avaliados dentro da faixa descrita na Tabela 4.1.

A Figura 4.3 além de ressaltar os fatores que demonstraram ser influentes na remoção de DQO da ARIB indica a tendência de cada fator para sua otimização. Os valores positivos do efeito padronizado estimado para os fatores F3, F4 e F6 demonstram que em relação ao intervalo analisado quanto maior o valor adotado maior será a eficiência de remoção de DQO. Já o valor negativo para o fator F2 demonstra, em relação ao intervalo analisado, que quando menor o valor adotado maior será a eficiência de remoção de DQO.

Com base nos resultados obtidos (Figura 4.3) como análise exploratória pode-se inferir que AnSBR com agitação mecânica utilizados no tratamento da ARIB devem operar com agitação (F3) de 40 rpm visto que valores maiores que este provocam cisalhamento na biomassa granular (NOVAES et al., 2010).

A massa de inoculação (F4) deverá ser maior que 50456 mg de SSV que foi o valor máximo utilizado nesse experimento, todavia, recomenda-se que o volume ocupado pela biomassa seja no máximo 40% do volume útil do reator (SELMA et al., 2010; SILVA et al., 2013).

Em termos de tempo de reação (F6) espera-se obter um valor ótimo próximo de 24 h que foi o máximo testado neste experimento, entretanto este deverá ser adequado para atender a condição industrial.

Para a temperatura de operação do AnSBR (F2) espera-se obter um valor ótimo próximo a 30 °C, que foi o menor valor avaliado neste trabalho. Para a concentração de DQO_T afluente (F5) indica-se a operação do AnSBR com concentrações de DQO próximas ao valor de 30000 mg L⁻¹, visto que está é a concentração média encontrada atualmente nas agroindústrias que produzem a ARIB (DAUD et al., 2014).

Em relação ao fator F1, mesmo não havendo diferença estatística significativa entre os valores de pH inicial 6 e 8, deve-se analisar o efeito deste na geração e/ou consumo das alcalinidades e ácidos voláteis antes da escolha do pH da ARIB o que conseqüentemente influenciará na decisão da inserção ou não de agentes alcalinizantes.

4.3.2- MODELO MATEMÁTICO DE DESEMPENHO DO REATOR: GERAÇÃO, CALIBRAÇÃO E ANÁLISES DOS RESÍDUOS

Utilizando os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos para cada experimento (Tabela 4.6), foram calculados os efeitos de cada fator no desempenho do processo em termos de remoção de DQO (Tabela 4.7).

Tabela 4.7- Valores dos efeitos e coeficientes de regressão para o modelo que descreve a eficiência de remoção de DQO em função dos fatores analisados.

Fatores	Efeitos	Erro puro padronizado	Coefficientes do modelo	<i>p</i>	IC _{95%} do efeito (inferior;superior)	Coefficiente do erro padrão	IC _{95%} do modelo (inferior;superior)
F1	0,8	2,0	0,4	0,71	- 3,5 ; 5	1,0	- 1,7 ; 2,5
F2	-4,4	2,0	-2,2	0,04*	- 8,7 ; - 0,1	1,0	-4,4 ; -0,1
F3	5,6	2,0	2,8	0,01*	1,3 ; 9,8	1,0	0,6 ; 4,9
F4	31,4	2,0	15,6	<0,01**	27,2 ; 35,7	1,0	13,6; 17,8
F5	-0,9	2,0	-0,4	0,66	- 5,2 ; 3,4	1,0	-2,6; 1,7
F6	8,9	2,0	4,4	<0,01**	4,6 ; 13,2	1,0	2,3 ; 6,6
Média geral	26,0	2,0	25,8	<0,01**	23,8 ; 28,1	1,0	23,8 ; 28,1

F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: DQO_T do afluente (mg L⁻¹). F6: tempo de reação (h). * estatisticamente significativo ao nível de 5% (*p*<0,05).

Respeitando os intervalos de atuação de cada fator avaliado (Tabela 4.1) e utilizando os fatores nos níveis apresentados na Tabela 4.2 para cada experimento como variáveis independentes e os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos para cada experimento (Tabela 4.3) como única variável resposta, portanto dependente, foi gerada a Equação 4.5.

$$E (\%) = 26 + 0,4 (F1) - 2,2 (F2) + 2,8(F3) + 15,7 (F4) - 0,4(F5) + 4,4 (F6) \quad (4.5)$$

A Equação 4.4 correlaciona os fatores analisados com a eficiência de remoção de DQO. O modelo apresentado (Equação 4.5) após calibrado e validado pode ser utilizado para previsão de valores de eficiência em função dos parâmetros operacionais (fatores) submetidos ao AnSBR. A calibração do modelo (Equação 4.4) pode ser verificada na Figura 4.4, onde mostra que os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos pelo desempenho do AnSBR na condição de experimental são semelhantes aos dados de eficiência de remoção de DQO estimados pelo modelo descrito na Equação 4.4 com o valor do quadrado médio do erro puro de 24,26.

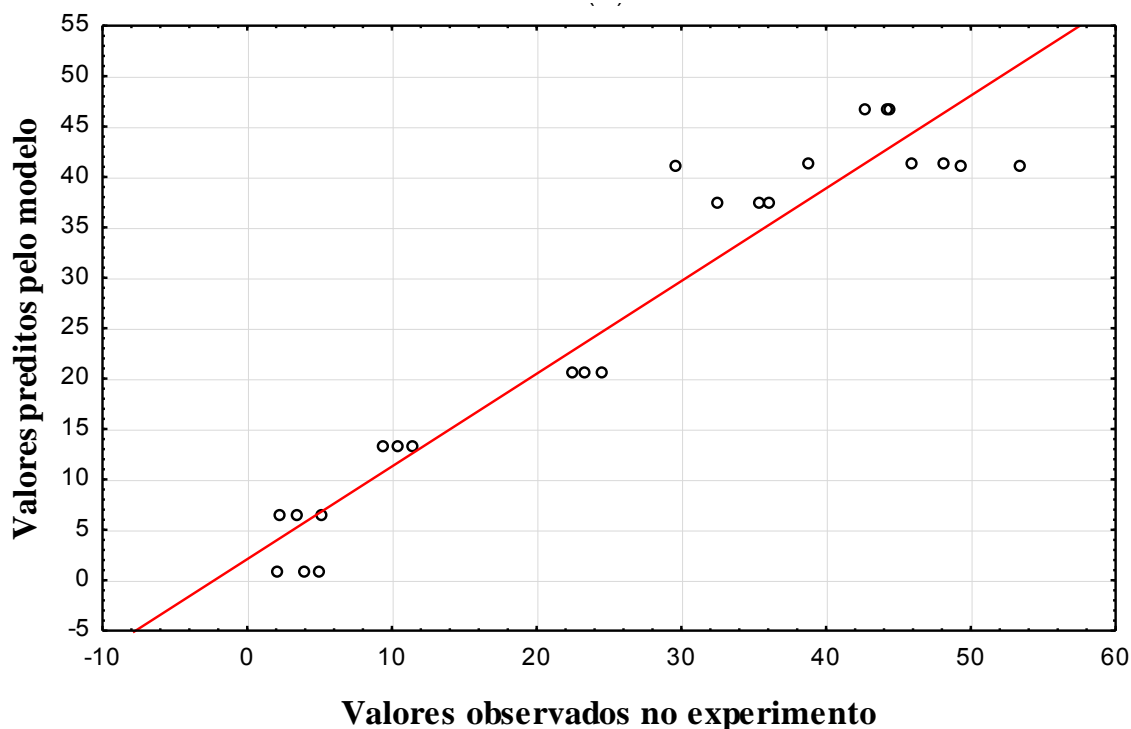
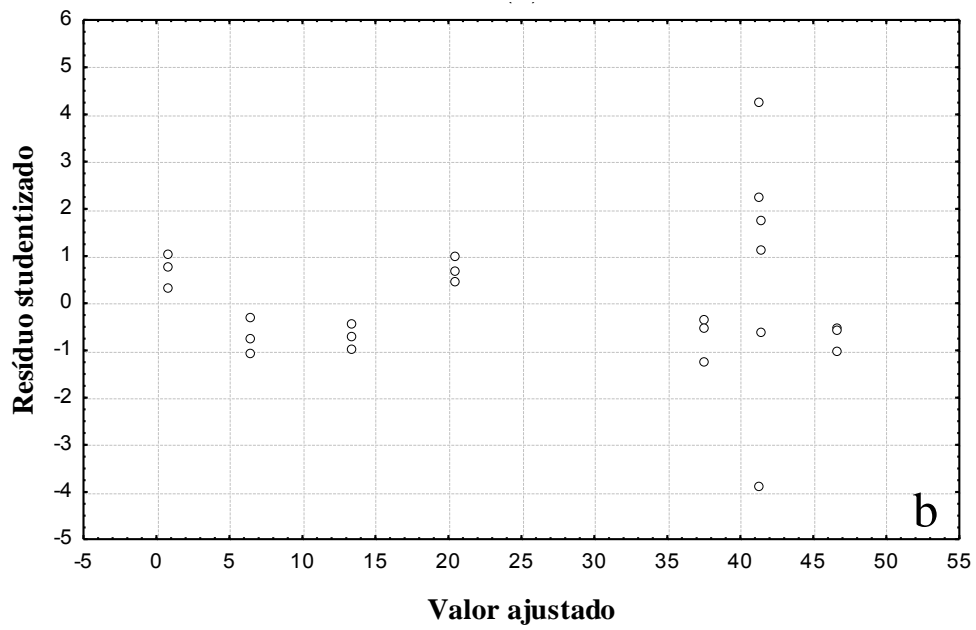
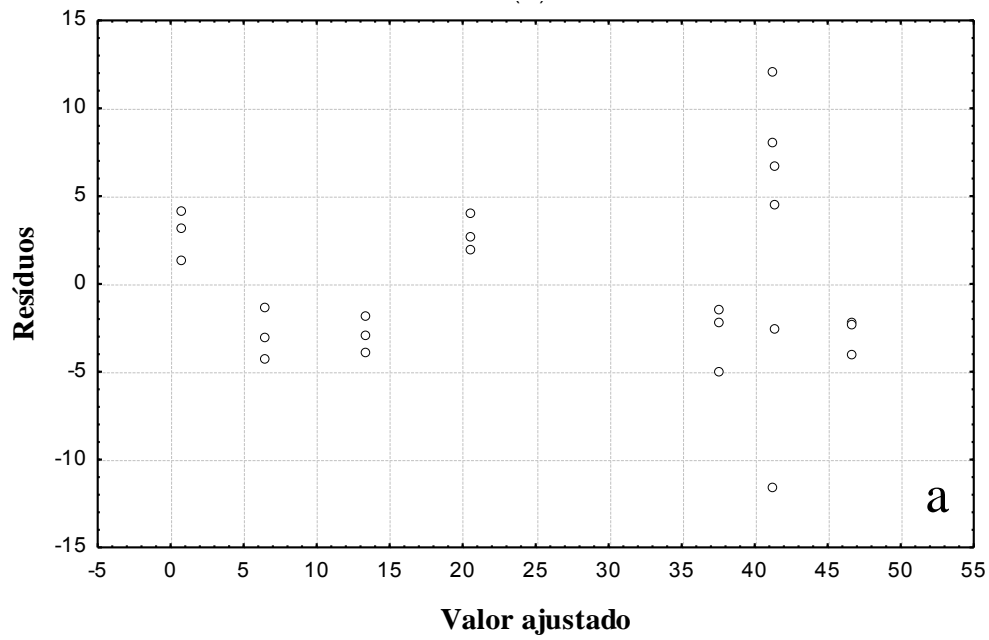


Figura 4.4- Eficiência de remoção de DQO observados experimentalmente vs resultados de eficiência de remoção de DQO estimadas pelo modelo da Equação 4.5.

A Figura 4.4 indica que o modelo apresentado na Equação 4.5 é capaz de prever os resultados de remoção de DQO com base nos fatores F1, F2, F3, F4, F5 e F6. Calado e Montgomery (2003) estabelecem que além da capacidade de previsão dada pela calibração do mo-

delo, deve-se sinergicamente investigar a adequabilidade do modelo de regressão (Equação 4.5) utilizando a análise dos resíduos do modelo gerado (Figura 4.5).



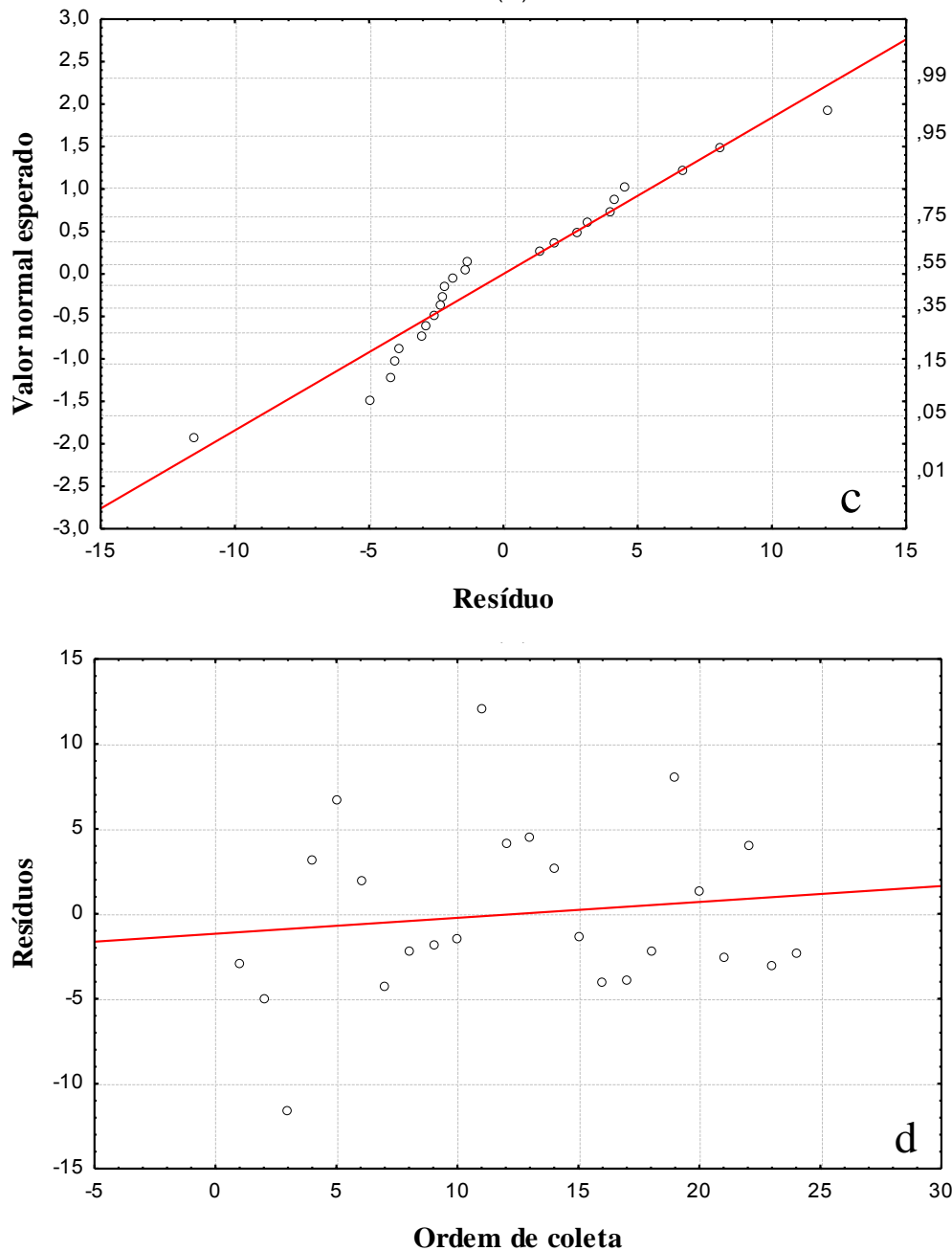


Figura 4.5 - Análise dos resíduos do modelo apresentado na Equação 4.5. a- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos. b- Diagnóstico dos *Outliers* dos resíduos. c- Normalidade dos dados referentes ao resíduo do modelo estatístico. d- Diagnóstico da independência dos resíduos.

Calado e Montgomery (2003) mencionam que na análise dos resíduos deve-se inicialmente avaliar a homoscedasticidade dos resíduos além dos *outliers* com valores studentizados.

Homoscedasticidade é a hipótese de que os erros entre valor observado experimentalmente (Tabela 4.5) e valor teórico previsto no modelo (Equação 4.5) tenha média zero e variância constante quando se faz um modelo estatístico, caso essa exigência seja atendida consi-

dera-se estatisticamente válida a calibração do modelo (Figura 4.4) descrito na Equação 4.5. Caso a suposição de homoscedasticidade não seja válida, o modelo descrito pela Equação 4.5 encaixa-se na condição de heteroscedasticidade. Para o diagnóstico de heteroscedasticidade, tenta-se encontrar alguma tendência no gráfico (Figura 4.5a). Por isso, se os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do 0, sem nenhum comportamento ou tendência, temos indícios de que a variância dos resíduos é homoscedástica. Já a presença de "funil" é um indicativo da presença de heteroscedasticidade (CALADO e MONTGOMERY, 2003; BARROS NETO et al., 2010).

Os resultados do diagnóstico da análise de homoscedasticidade dos resíduos estão apresentados na Figura 4.5a que mostra a relação entre os valores dos resíduos versus valores ajustados ou preditos para cada um dos 24 experimentos. Analisando a Figura 4.5a observa-se que os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do 0, sem nenhuma tendência ou relação linear, indicando que a variância dos resíduos é homoscedástica. De acordo com Calado e Montgomery (2003) neste caso, os erros padrões dos estimadores obtidos pelo método dos mínimos quadrados são corretos e, portanto a inferência estatística é válida. Também é possível afirmar que os coeficientes do modelo (Tabela 4.3) são os melhores estimadores de mínima variância por não serem tendenciosos.

Após o teste de homoscedasticidade os valores de resíduos studentizados foram utilizados para avaliar se havia *outliers* (Figura 4.5b). De acordo com Calado e Montgomery (2003) *outliers* dos resíduos são pontos atípicos, ou seja, com comportamento diferente dos demais. Os autores mencionam que essa análise é de grande importância porque se um *outlier* for influente, ele interfere sobre a função de regressão ajustada (a inclusão ou não do ponto modifica substancialmente os valores ajustados). Mas uma observação mesmo considerada um *outlier* não quer dizer que consequentemente é um ponto influente. Por isso, um ponto pode ser um *outlier* em relação a Y ou a X e pode ou não ser um ponto influente.

Os resultados para determinação do diagnóstico da existência de *outliers* estão apresentados na Figura 4.5b. Os resíduos studentizados têm variâncias constantes, o que consequentemente, torna muito prática à procura por *outliers*. De acordo com Box et al. (1978) qualquer observação fora do intervalo -3 e 3 pode ser considerada um *outlier* e deve-se avaliar o impacto dessa perturbação nas estimativas dos valores da variável resposta pelo modelo. Se não existem pontos influentes, pode-se confiar mais no modelo proposto. Com base na Figura 4.5b é possível perceber que dos 24 dados apenas 2 dados apresentaram-se fora do intervalo citado sendo estes considerados *outliers*. Assim, para medir o impacto da presença destes dois *outliers* procedeu-se com a validação do modelo. Para modelos de desempenho de AnSBR, essa comparação testa a habilidade do modelo tanto em simular o processo quanto prever re-

sultados de desempenho quando se modifica os parâmetros de operacionalização, produzindo corretas estimativas sobre o desempenho do reator no final do ciclo.

Para a validação matemática do modelo descrito na Equação 4.5 foram realizados três experimentos diferentes dos descritos na Tabela 4.2, com os fatores apresentados na Tabela 4.8, denominados experimentos de validação. Os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos de validação foram comparados com o valor teórico previsto pelo modelo (Equação 4.5), quando alimentado com as mesmas variáveis de entrada utilizadas no experimento (fatores). Se os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos de validação mostrarem-se dentro do intervalo de confiança ($IC_{95\%}$) previsto pelo modelo significa que não existe diferença estatística significativa ao nível de 5% ($p > 0,05$), portanto a presença dos 2 *outliers* não afeta a capacidade do modelo em prever resultados. Todavia, se os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos de validação não estiverem dentro do $IC_{95\%}$ previsto pelo modelo significa que existe diferença estatística significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$), portanto a presença dos 2 *outliers* afeta a capacidade do modelo em prever resultados. Os dados referentes à validação matemática do modelo descrito na Equação 4.4 estão apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8- Dados para a comparação entre os valores médios obtidos para cada experimento de validação (x_v) e valores previstos pelo modelo.

Validação	Fatores						Valor obtido no experimento	Valor previsto no modelo
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	$x_v \pm dp$	$IC_{95\%}$
A	7	40	0	25860,2	15990,8	16	$23,2 \pm 3,2$	20,2 ; 26,2
B	7,6	33	0	45412	3000	10	$34,5 \pm 0,5$	29,8 ; 39,3
C	6	46	40	8000	5501,2	17	$16,5 \pm 0,5$	12,0 ; 21,1

F1: pH (adimensional). F2: temperatura (°C). F3: agitação (rpm). F4: massa de inóculo (mg de biomassa em termos de SSV). F5: DQO_{Total} do afluente (mg L⁻¹). F6: tempo de reação (h). dp: desvio padrão entre as repetições do ensaio.

Como podem ser observados na Tabela 4.8 os valores médios obtidos nos experimentos de validação A, B, e C apresentam-se dentro do intervalo estabelecido pelo modelo, portanto, os valores de eficiência de remoção de DQO previstos pelo modelo descrito na Equação 4.5 são estatisticamente iguais ao nível de 5% ($p > 0,05$) em relação aos valores obtidos experimentalmente. Portanto, os *outliers* não interferem sobre a função de regressão ajustada, sendo assim os estimadores obtidos pelo método dos mínimos quadrados (Equação 4.5) são corretos e o modelo mostrou-se com robustez para previsão de dados (Tabela 4.8), sendo a inferência estatística válida.

Além do diagnóstico de homoscedasticidade e dos *outliers* dos resíduos, Rodrigues e Iemma (2005) afirmam que o modelo estatístico (Equação 4.5) deve atender as condições

estatísticas onde os erros de ajustamento sejam normalmente distribuídos (Figura 4.5c) e independentes (Figura 4.5d).

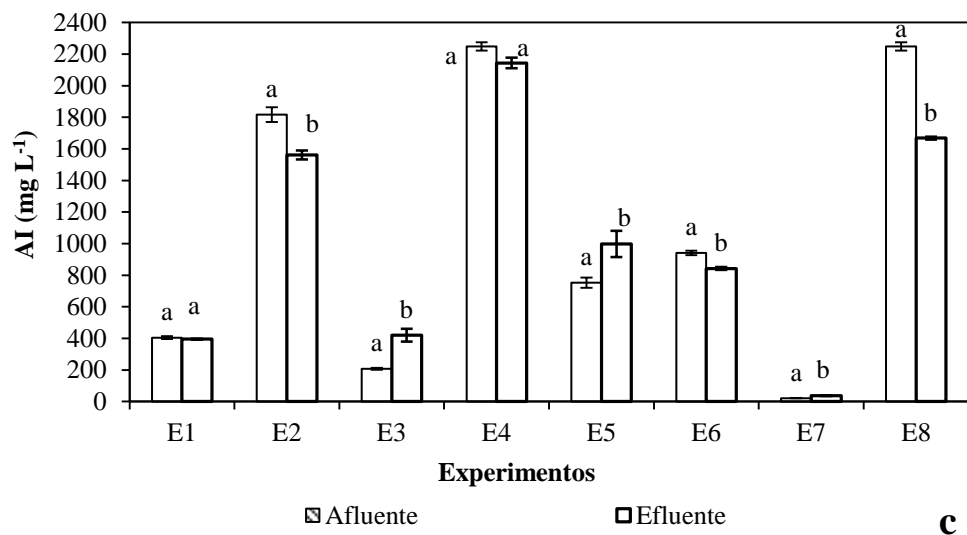
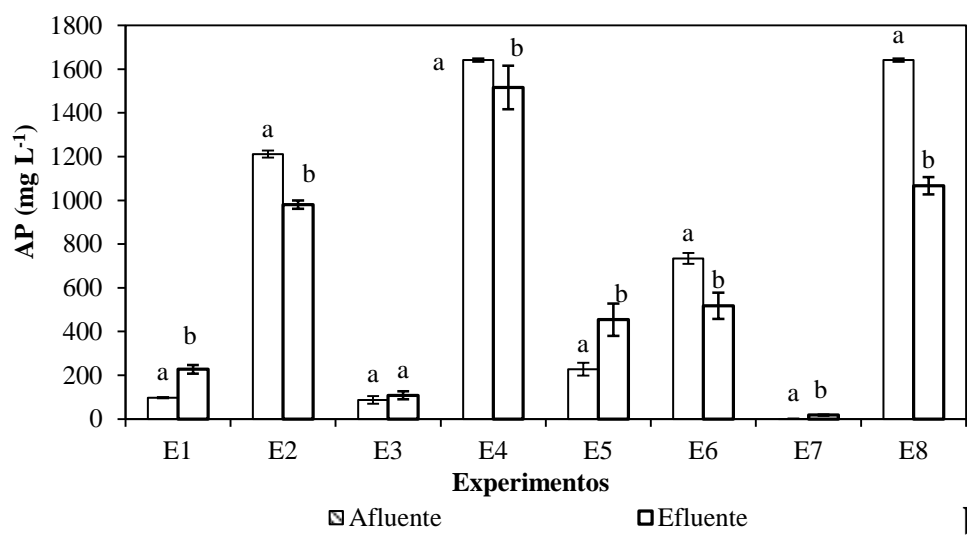
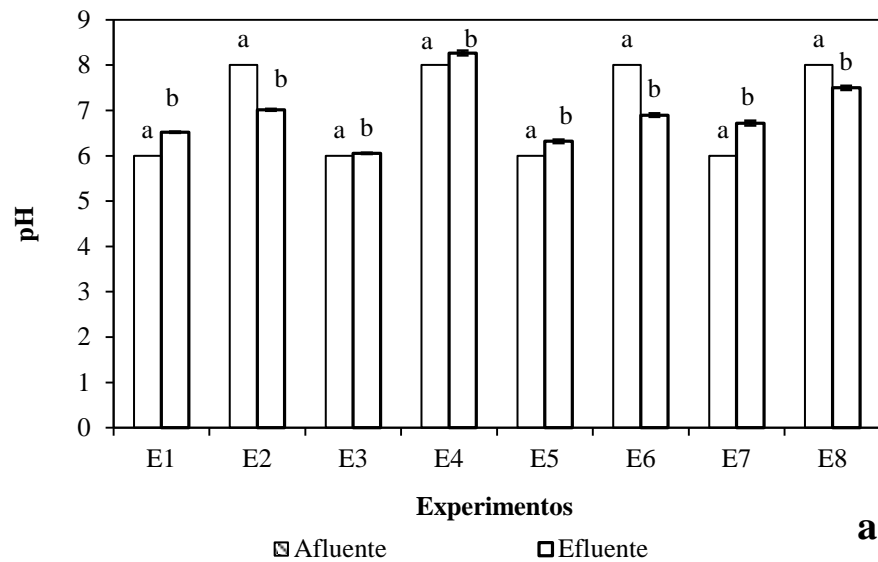
A terceira análise realizada foi o diagnóstico da normalidade dos resíduos (Figura 4.5c). De acordo com Calado e Montgomery (2003) e Barros Neto et al. (2010) o modelo descrito na Equação 4.5 só pode ser usado se os dados referentes aos resíduos atenderem a condição de normalidade, portanto, caso o teste aponte que esta premissa é inválida, os resultados da regressão (Tabela 4.7) e o modelo descrito pela Equação 4.5 não podem ser usados. Neste caso, o experimento para geração do modelo deve ser modificado (introduzindo outras variáveis explanatórias, ou mudando o tipo do modelo ou planejamento) para que os erros se comportem como uma variável normal. Calado e Montgomery (2003) e Rodrigues e Iemma (2005) mostram que quando os pontos seguem o comportamento da reta (não estão distantes dela), temos indícios de que os erros são normalmente distribuídos. Visto o exposto, observando o comportamento apresentado na Figura 4.5c é possível inferir que os dados referentes aos resíduos do modelo estatístico seguem o comportamento de normalidade necessário para a utilização do mesmo para previsão e simulação dos resultados.

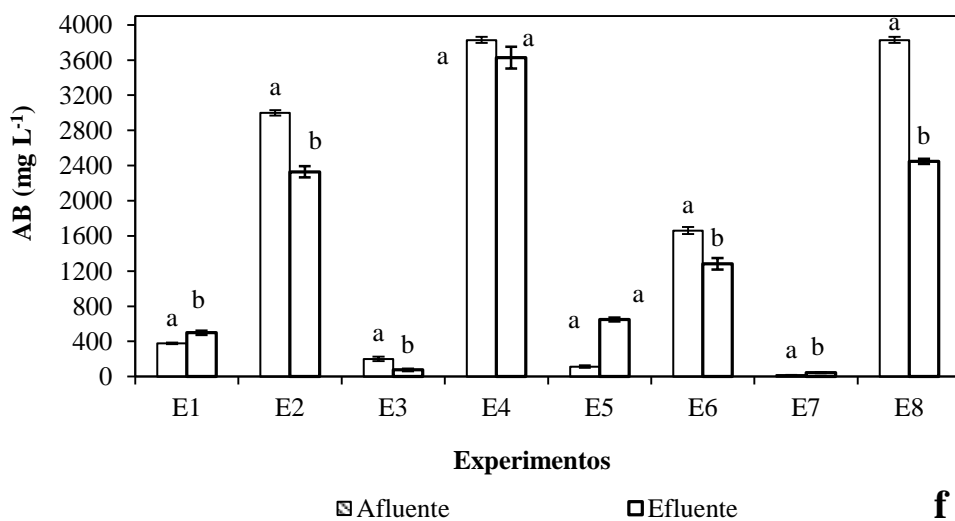
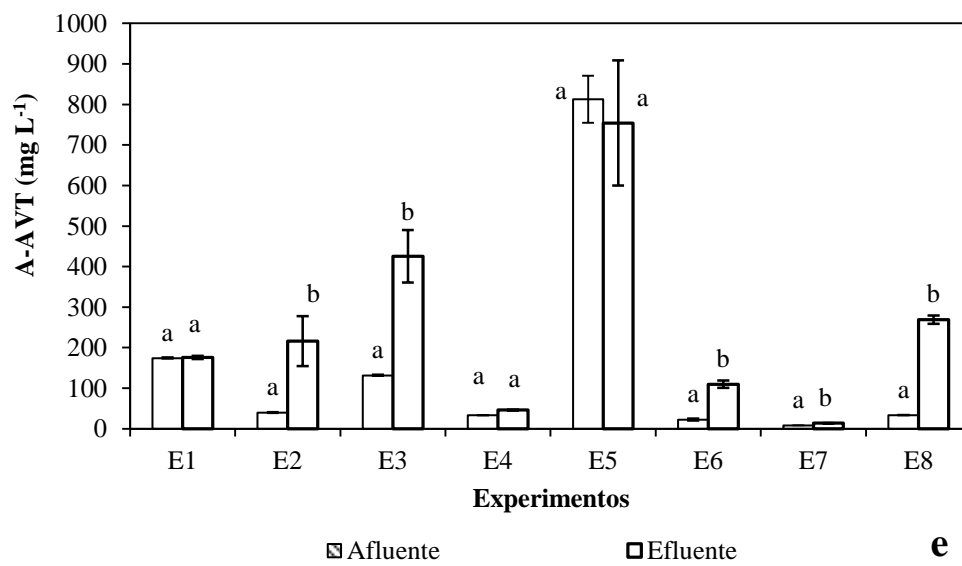
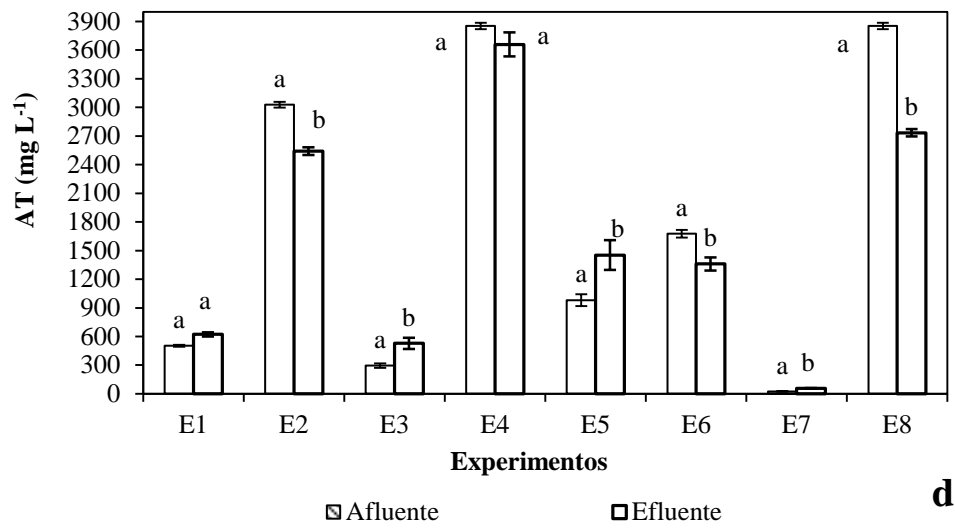
A quarta análise realizada foi o diagnóstico da independência dos resíduos. (Figura 4.5d). De acordo com Rodrigues e Iemma (2005) para verificar a hipótese de independência dos resíduos deve ser utilizada a relação dos resíduos versus a ordem da coleta dos dados dos 24 experimentos ou número de casos. Ao avaliar o referido gráfico apresentado na Figura 4.5d não foi possível perceber uma tendência dos 24 pontos, ou seja, não há indícios de dependência dos resíduos.

Com base nos resultados apresentados na Figura 4.5 é possível inferir que os resíduos do modelo descrito na Equação 4.5 atendem as condições de normalidades, homoscedasticidade e independência. Além disso, os *outliers* dos resíduos com valores studentizados não influenciaram na capacidade de previsão ou indicaram perturbação nas estimativas dos parâmetros podendo-se confiar no modelo proposto. Com base nos experimentos de calibração (Tabela 4.7) e validação (Tabela 4.8) é possível afirmar que o modelo descrito na Equação 4.5 possui robustez, podendo este ser utilizado para previsão e simulação de dados, controle de processos e escalonamento do AnSBR utilizados para o tratamento da ARIB, desde que obedidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do modelo (Tabela 4.1).

4.3.3– AVALIAÇÃO DO PH, ACIDEZ E ALCALINIDADE EM CADA EXPERIMENTO

Os valores de pH, acidez e alcalinidades encontrados para o afluente e efluente de cada experimento estão apresentados na Figura 4.6.





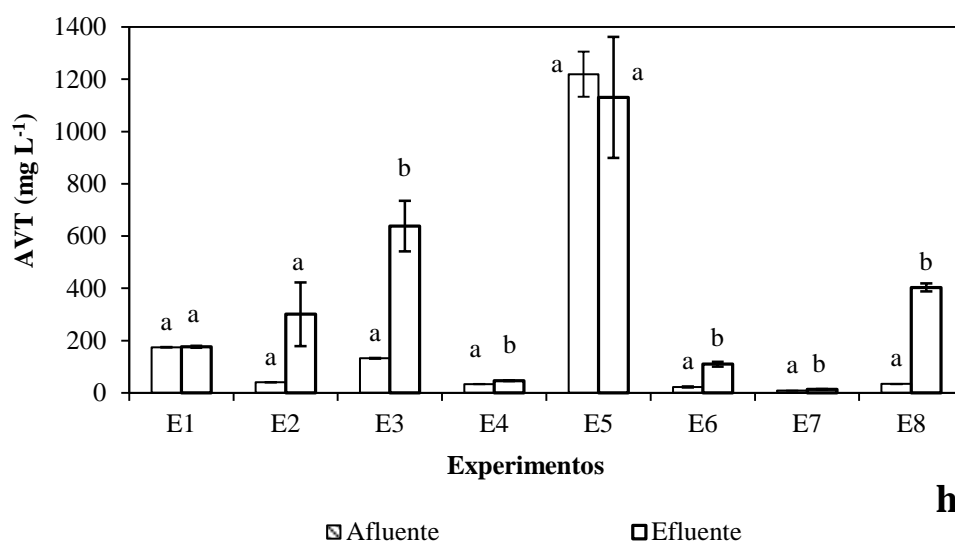
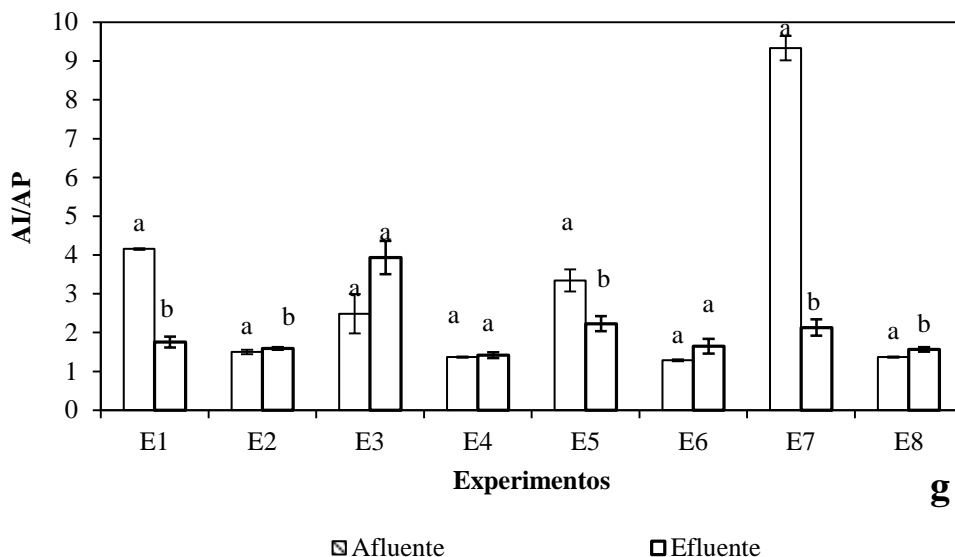


Figura 4.6. Comportamento do pH, acidez e alcalinidades do afluente e efluente de cada experimento. Legenda- AP: Alcalinidade Parcial. AI: Alcalinidade Intermediária. AT: Alcalinidade Total. AB: Alcalinidade Bicarbonato. A-AVT: Alcalinidade a Ácidos Voláteis. AVT: Ácidos Voláteis Totais. Unidades- pH e AI/AP: adimensional. AP, AI, AT, AB, A-AVT: mg L^{-1} em termos de CaCO_3 . AVT: mg L^{-1} em termos de CH_3COOH

Como mostrado na Tabela 4.2 foram realizados 4 experimentos com pH afluente de 6 (E1, E3, E5 e E7) e outros 4 experimentos com pH afluente de 8 (E2, E4, E6, E8), os resultados relacionados aos valores de pH afluente e efluente de cada experimento estão apresentados na Figura 4.6a. Analisando os experimentos com o mesmo pH afluente observa-se que embora esses valores tenham sido mantidos constantes, as alcalinidades parcial (Figura 4.6b), intermediária (Figura 4.6c), total (Figura 4.6d), à ácidos voláteis (Figura 4.6e) e bicarbonato (Figura 4.6f) apresentaram concentrações variáveis. Isso ocorreu porque a água destilada utilizada na formulação da ARIB possuía pH inicial entre 5,7 a 6 necessitando de diferentes massas de bicarbonato de sódio em cada experimento para ajustar o valor do pH, resultando em diferentes valores de alcalinidades.

Analisando as Figuras 4.6c e 4.6d observa-se que as alcalinidades intermediária e total tiveram um comportamento semelhante indicando interação entre as mesmas. O mesmo não foi observado para as demais alcalinidades.

Para os experimentos E2, E3 e E8 onde foram obtidos os maiores valores de remoção de DQO (Tabela 4.5) foi observado que nos experimentos E2 e E8 houve uma tendência de consumo das AI, AP, AT e AB, sendo que o consumo da AB foi o mais pronunciado. A mesma tendência de consumo das AI, AP e AT não foram claramente observadas para o experimento E3 que apresentou consumo apenas da AB e geração das demais alcalinidades (Tabela 4.9). Além disso, para os experimentos E2, E3 e E8 houve geração da A-AVT e na concentração de AVT no AnSBR durante os referidos experimentos considerando a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o afluente e o efluente (Figura 4.6).

Tabela 4.9- Variação entre os valores afluente e efluente dos parâmetros de tamponamento e indicativa de geração (Δ negativo) e consumo (Δ positivo).

Experimento	Variação (Δ = valor afluente - valor efluente)							
	Δ pH (A1)	Δ AI (A2)	Δ AP (A3)	Δ AT (A4)	Δ A-AVT (A5)	Δ AI/AP (A6)	Δ AVT (A7)	Δ AB (A8)
E1	-0,52	-129,75	9,05	-120,70	-1,60	2,40	-1,60	-119,56
E2	0,98	230,83	255,00	485,83	-176,00	-0,09	-261,00	671,14
E3	-0,05	-20,83	-211,67	-232,50	-293,20	-1,45	-505,80	126,62
E4	-0,27	125,30	105,00	192,93	-12,80	-0,05	-12,80	202,01
E5	-0,32	-226,63	-245,88	-472,50	59,00	1,12	88,50	-535,34
E6	1,10	217,07	99,56	316,63	-87,30	-0,37	-87,30	378,61
E7	-0,72	-15,39	-15,13	-30,43	-5,41	7,20	-5,41	-26,59
E8	0,50	575,05	581,00	1118,68	-235,20	-0,20	-369,70	1381,16

Δ : variação entre o valor afluente e efluente encontrado na ARIB. Δ pH: variação do valor de pH. Δ AI: variação do valor da alcalinidade intermediária. Δ AP: variação da alcalinidade parcial. Δ AT: variação da alcalinidade total. Δ AI/AP: variação entre os valores da relação de Ripley. Δ A-AVT: variação da alcalinidade a ácidos voláteis. Δ AVT: variação da ácidos voláteis totais. Δ AB: variação da alcalinidade bicarbonato.

Pereira et al. (2013) explicam que a geração ou consumo das AT, AP, AI, AB, A-AVT e dos AVT em reatores anaeróbios podem ocorrer devido a composição da água residuária, parâmetros operacionais aplicados aos reatores e valor de pH afluente. Como a composição da ARIB era padrão em todos os ensaios (água destilada, glicerol e bicarbonato de sódio), acredita-se que o comportamento do tamponamento estava vinculado as condições operacionais do reator e valor do pH afluente para cada experimento (Tabela 4.2). Para explicar esse comportamento apresentado na Tabela 4.9 foi utilizada uma análise de componentes principais (ACP) para correlacionar de forma multivariada às condições operacionais (Tabela 4.2) com as vari-

ações dos parâmetros de tamponamento apresentadas na Tabela 4.9, os resultados estão apresentados na Figura 4.7.

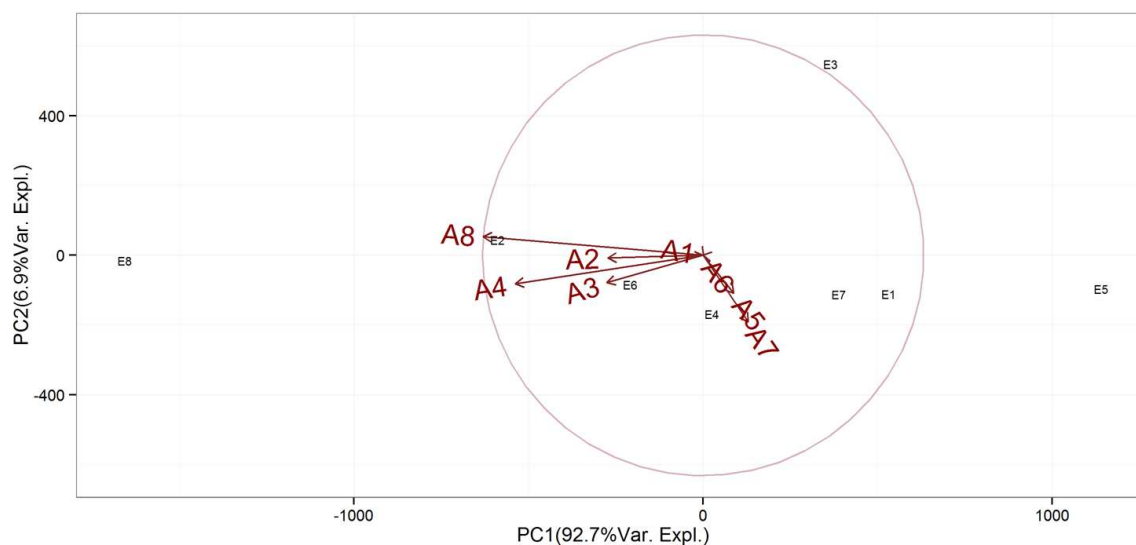


Figura 4.7- Resultado da análise de componentes principais utilizando os resultados apresentados na Tabela 8. Legenda - A1: ΔpH . A2: ΔAI . A3: ΔAP . A4: ΔAT . A5: $\Delta\text{AI/AP}$. A6: $\Delta\text{A-AVT}$. A7: ΔAVT . A8: ΔAB .

A Figura 4.7 mostra as componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) que explicam as variações ocorridas, sendo que apenas a PC1 explica 92,7% da variação total. De acordo com Munoz et al. (1992) em um gráfico de ACP, vetores com medidas mais distantes de zero, correspondem a variações com maior influência sobre o valor da componente principal (CP), enquanto que vetores mais próximos de zero, indicam variáveis com pequena influência sobre a CP. Na Figura 4.7 os vetores A1, A5 e A6 com pesos de -0,0005, 0,001 e 0,09 respectivamente, possuem tamanho reduzido, estão próximos ao zero e indicam atributos nos quais as amostras pouco diferem entre si, portanto as componentes ΔpH , $\Delta\text{AI/AP}$ e $\Delta\text{A-AVT}$, não foram influenciadas pelos fatores apresentados na Tabela 4.2. Já os vetores A2, A3, A4, A7 e A8 mostram-se distantes do zero, tendo importância semelhante para explicar as variações entre as amostras. Isso indica que as componentes ΔAB , ΔAI , ΔAP , ΔAT e ΔAVT foram influenciadas pelos fatores apresentados na Tabela 4.2. Para determinar quais fatores apresentados na Tabela 4.2 influenciaram as componentes ΔAB , ΔAI , ΔAP , ΔAT e ΔAVT deve-se fazer a análise dos scores.

A análise dos escores permitiu a caracterização de tendências entre os experimentos separando-os em dois grupos, sendo o grupo 1 composto pelos experimentos E2, E4, E6 e E8 (à esquerda) e o grupo 2 composto pelos experimentos E1, E3, E5 e E7 (à direita). Entre os fatores avaliados (Tabela 4.2), foi possível observar que aquele que difere de forma padrão esses dois grupos é o pH inicial. Na Figura 4.7 foi possível observar que a ACP separou os experi-

mentos de acordo com esse fator. Na CP1 os experimentos com valor de pH inicial igual a 8 (E2, E4, E6 e E8) foram separados dos experimentos com valor de pH inicial igual a 6 (E1, E3, E5 e E7). A análise dos “loadings” permite a caracterização de tendências entre as variáveis. Assim, pode-se inferir com base na Figura 4.7 que os experimentos E2, E4, E6 e E8 influenciaram as componentes principais ΔAB , ΔAI , ΔAP e ΔAT , enquanto os experimentos E1, E3, E5 e E7 influenciaram a componente principal ΔAVT . Portanto, o consumo das alcalinidades AB, AI, AP, AT e produção de AVT está vinculado ao pH inicial da ARIB, portanto a manutenção do tamponamento ao longo do processo de tratamento está vinculada ao pH inicial da ARIB.

Lovato et al. (2015) utilizaram um AnSBBR no tratamento anaeróbico da ARIB com pH entre 7,5 e 8,2; DQO, AVT e AT entre 1000 a 5000 mg L⁻¹, 0 a 100 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH, 100 a 175 mg L⁻¹ em termos de CaCO₃. O reator operou com COV_A entre 2,6 e 17,1 kg m⁻³ d⁻¹ em termos de DQO com tempos de ciclo de 3 a 4 h com eficiências de remoção de DQO de 20 a 40%, consumo de AT com concentração efluente chegando a zero e geração de AVT com concentração efluente chegando a 1000 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH. De acordo com os autores a ARIB ao ser tratada com processos anaeróbios gera compostos intermediários da degradação como ácidos acético, butírico, propiônico, valérico, caprótico e álcoois como butanol e etanol que acidificam o meio consumindo a alcalinidade e diminuindo o pH efluente.

Visto o exposto, ao utilizar o tratamento anaeróbico para degradação do glicerol poderá ocorrer uma produção de compostos intermediário da biodegradação anaeróbia, como ácidos voláteis totais, ao longo do processo, sendo necessário o controle da alcalinidade para tamponá-los. O controle do tamponamento do reator está diretamente ligado a sua eficiência, pois como foi mostrado por Lovato et al. (2015) a alta produção de AVT e consumo total da alcalinidade no reator promoveu o azedamento do meio prejudicando o desempenho do reator que foi reduzido para 20%, operando com AT afluentes entre 100 a 175 mg L⁻¹. em termos de CaCO₃.

Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013) mencionam que a relação massa de bicarbonato de sódio (alcalinizante) adicionada ao afluente, por massa de DQO do afluente possui relação direta com o tamponamento do reator. Todavia, em termos de alcalinidades, não há um consenso de qual tipo de alcalinidade (AT, AI, AP, AB, A-AVT) seria influente para suplementação da relação alcalinidade/DQO afluente, ou se a concentração inicial de AVT, em termos de AVT/DQO afluente poderia interferir no processo. Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013) ainda explicam que essa relação pode variar de acordo com o tempo de reação submetido ao reator batelada e DQO da ARIB afluente.

Para avaliar o efeito das relações de massas das alcalinidades afluentes/massa da DQO afluente e massa de AVT afluente/massa de DQO afluente as concentrações de DQO afluente (Tabela 4.2) e as AT, AP, AI, A-AVT, AB e AVT (Figura 4.6) foram transformadas em massa com base no volume de ARIB utilizado no abastecimento (Tabela 4.5) e as respectivas relações para cada experimento foram determinadas (Tabela 4.10).

Tabela 4.10- Relação entre as massas de alcalinidade ou AVT afluentes e as massas de DQO afluentes utilizadas em cada experimento

Ensaio	Relações m/m de alcalinidade/DQO (CaCO_3/O_2) ou AVT/DQO						Eficiência (%)
	$(\text{CH}_3\text{COOH}/\text{O}_2)$						
	AP/DQO (B1)	AI/DQO (B2)	AT/DQO (B3)	A-AVT/DQO (B4)	AVT/DQO (B5)	AB/DQO (B6)	
E1	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	10,4
E2	0,40	0,61	1,01	0,01	0,01	1,00	44,3
E3	0,03	0,07	0,10	0,04	0,04	0,07	44,1
E4	0,05	0,07	0,13	0,00	0,00	0,13	3,6
E5	0,01	0,03	0,03	0,03	0,04	0,00	34,6
E6	0,24	0,31	0,56	0,01	0,01	0,55	23,4
E7	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	3,6
E8	0,05	0,07	0,13	0,00	0,00	0,13	43,8

Legenda – AP/DQO: Relação entre a massa de AP e a massa de DQO. AI/DQO: Relação entre a massa de AI e a massa de DQO. AT/DQO: Relação entre a massa de AT e a massa de DQO. A-AVT/DQO: Relação entre a massa de A-AVT e a massa de DQO. AVT/DQO: Relação entre a massa de AVT e a massa de DQO. AB/DQO: Relação entre a massa de AB e a massa de DQO.

Para determinar qual o tipo de alcalinidade que influencia o processo de biodegradação anaeróbia e qual seria o valor da relação que se mostrou influente, os valores apresentados na Tabela 4.9 foram relacionadas em forma de ACP, considerando a interação multivariada entre os valores das razões AP/DQO, AI/DQO, AT/DQO, A-AVT/DQO, AB/DQO com a eficiência de remoção de DQO em cada experimento (Figura 4.8).

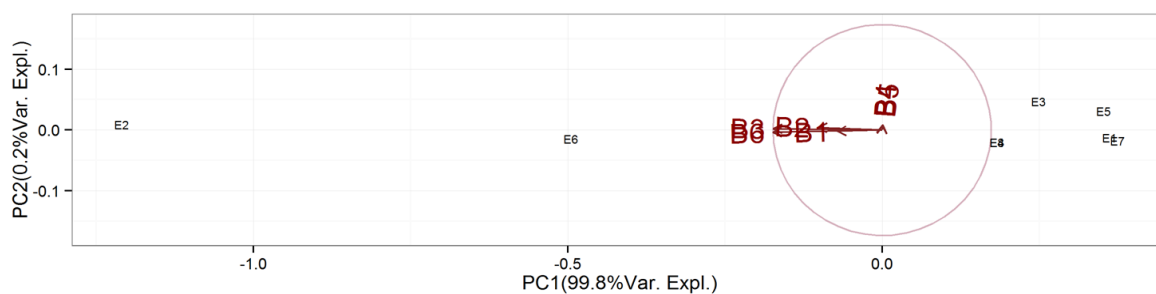


Figura 4.8- Resultado da Análise de Componentes Principais utilizando os resultados apresentados na Tabela 4.9. Legenda – B1: AP/DQO. B2: AI/DQO. B3: AT/DQO. B4: A-AVT/DQO. B5: AVT/DQO. B6: AB/DQO.

A Figura 4.8 apresenta os gráficos “biplots” dos componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) para os experimentos E1 a E8 (Tabela 4.9) sendo que apenas a PC1 explica 99,8% do comportamento experimental. A análise dos “scores” permitiu a separação dos experimentos E2 e E6 dos demais, sendo que o experimento E2 apresentou a maior eficiência de remoção. A análise dos “loadings” permitiu a caracterização de tendências entre as variáveis. Observando-se ao longo do eixo da CP1, as variáveis AB/DQO, AT/DQO, AI/DQO e AP/DQO estão distanciadas do zero com pesos negativos de -0,63, -0,63, -0,37 e -0,26 respectivamente na PC1 mostrando que esses parâmetros possuem influência na remoção de DQO. O valor negativo dos pesos indica que, quanto maior for o valor da relação, menor será o valor dessa componente e maior será o valor da eficiência de remoção de DQO prevista para o experimento. Já as relações A-AVT/DQO e AVT/DQO não afetaram a PC1, pois os seus valores estão próximos ao zero com pesos de 0,002 e 0,004, respectivamente.

Com base nos resultados obtidos é possível inferir que as alcalinidades bicarbonato (AB) e total (AT) são as alcalinidades mais influentes no processo anaeróbio (com pesos de 0,63 e tamanho dos vetores equivalentes) e que quanto maior for à relação AB/DQO e AT/DQO maior será a eficiência de remoção prevista no processo. Os maiores valores para a relação AB/DQO e AT/DQO testados foram 1 e 1,01, respectivamente, no experimento E2, propiciando a maior eficiência de remoção de DQO encontrada entre todos os experimentos (Tabela 4.9). Selma et al. (2010) sugerem relações massa/massa (m/m) de $\text{NaHCO}_3/\text{DQO}$ entre 1 e 1,5 para manutenção do tamponamento em reatores AnSBR tratando ARIB, sendo o valor encontrado neste trabalho para o experimento E2 dentro do estabelecido pelos autores como ideal, o que pode ter auxiliado o processo na obtenção da maior eficiência dentre os experimentos.

Silva et al (2013) fixando a relação de $\text{NaHCO}_3/\text{DQO}$ em 1,5 como estabelecido por Selma et al. (2010), avaliou o efeito do tempo de ciclo, alcalinidade e DQO afluentes e observou que além da relação massa/massa de alcalinidade/DQO outros fatores, provavelmente operacionais, influenciam sinergicamente ao tamponamento, o que explica os resultados obtidos nos experimentos E3 e E8 que não operaram com as relações AB/COD e TA/COD entre 1 e 1,5.

Como foi mostrado na Tabela 4.6 e Figura 4.3 o fator F1 referente ao valor do pH inicial da ARIB não demonstrou influencia estatisticamente significativa na eficiência de remoção de DQO. Todavia, como foi mostrado nas ACP (Figuras 4.7 e 4.8) este fator determina as concentrações iniciais das AB, AT, AI e AP na ARIB e influencia no comportamento do seu consumo (Figura 4.7). Além disso, de acordo com a Figura 4.8 o pH inicial da ARIB com

valor 8 deve ser suficiente para manter o tamponamento do meio propiciando uma AB e AT para a manutenção das relações AB/DQO e AT/DQO entre 1 e 1,5.

4.4- CONCLUSÕES

Os fatores temperatura de operação, agitação, massa de inóculo e tempo de reação mostraram-se como os mais influentes na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol.

O modelo matemático gerado neste trabalho pode ser utilizado para previsão e simulação de dados de eficiência, controle de processos e escalonamento de reatores AnSBR utilizados para o tratamento da ARIB, desde que obedecidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do mesmo.

O novo impelidor testado mostrou-se promissor para utilização em reatores AnSBR no tratamento da ARIB considerando-se os dados de eficiência obtidos.

O pH inicial da ARIB embora não tenha se mostrado um fator estatisticamente significativo deve ser considerado influencia direta no tamponamento do reator AnSBR. Os efeitos do pH inicial e as alcalinidades afluentes devem ser melhor estudados na tentativa de evitar azedamentos do reator devido ao consumo excessivo de alcalinidade.

4.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA- AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd. ed. Washington. D.C.: APHA/AWWA/WEF, 2012.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Porto Alegre: Editora Bookman, 2010, 413 p.

BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.

BOX, E. G. P.; HUNTER, W. G. E.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building**. New York: John Wiley, 1978.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos**. Rio de Janeiro: Editora e-papers, 2003, 260 p.

CASTRILLÓN, L.; FERNÁNDEZ-NAVA, Y.; ORMAECHEA, P.; MARAÑÓN, E. Methane production from cattle manure supplemented with crude glycerin from the biodiesel industry in CSTR and IBR. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 312–317, 2013.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2007. 359p.

DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R.S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.

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

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**. v.35, p. 1039-1042, 2011.

JENKINS, S. R., MORGAN, J. M., SAWYER, C. L. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 55, p. 448-453, 1983.

JOHNSON, D. T., TACONI, K. A. The glycerin glut: options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. **Environmental Progress**, v. 26, p. 338–348, 2009.

LIM, J. S.; FOX, P. E. A kinetic evaluation of anaerobic treatment of swine wastewater at two temperatures in a temperate climate zone. **Bioresource Technology**, v.102, p. 3724–3729, 2011.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007-2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 128–137, 2015.

METCALF; EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. New York: McGraw-Hill, 2015. 1334 p.

MUNOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240p.

NOVAES, L. F.; SARATT, B. L.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and agitation on the performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1647–1656, 2010.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MOTTERAN, F. Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of Anaerobic Baffled Reactor in series with Up-

flow Anaerobic Sludge Blanket reactor in the treatment of pig farming wastewater. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, p. 477-483, 2013.

POTT, R. W. M.; HOWE, C. J.; DENNIS, J. S. The purification of crude glycerol derived from biodiesel manufacture and its use as a substrate by *Rhodopseudomonas palustris* to produce hydrogen. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 464–470, 2014.

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, p. 406-411, 1986.

RINCÓN, L. E.; JARAMILLO, J. J.; CARDONA, C. A. Comparison of feedstocks and technologies for biodiesel production: An environmental and techno-economic evaluation. **Renewable Energy**, v. 69, p. 479–487, 2014.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos – uma estratégia sequencial de planejamentos**. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. 325 p.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville: Archae Press, 1996. 394 p.

ULLAH, F.; DONG, L.; BANO, A.; PENG, Q.; HUANG, J. Current advances in catalysis toward sustainable biodiesel production. **Journal of the Energy Institute**, v.1, p. 1-11, 2015.

CAPÍTULO 5- OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE REMOÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM REATOR ANAERÓBIO OPERANDO EM BATELADAS SEQUENCIAIS NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

RESUMO

Um ciclo típico do AnSBR compreende quatro etapas: alimentação, reação, sedimentação e descarga. Durante a reação os parâmetros tempo de reação entre a biomassa e substrato, massa de inóculo (biomassa) disponível para reação e temperatura operacional do reator mostraram-se como as variáveis mais influentes no desempenho do processo. Objetivou-se neste trabalho aprimorar o processo de biodegradação do glicerol visando à eficiência de remoção de DQO da ARIB otimizando os fatores temperatura, massa de inóculo e tempo de reação. Os resultados obtidos indicaram que o fator massa de inóculo influencia em maior peso a eficiência de remoção de DQO. Os fatores temperatura e tempo de reação mostraram possuir maior influência sobre o comportamento dos parâmetros responsáveis pelo tamponamento do reator AnSBR como concentração de ácidos voláteis totais e concentração das alcalinidades total, parcial, intermediária, a ácidos voláteis totais e bicarbonato. O reator AnSBR avaliado, mesmo trabalhando sob cargas aplicadas acima dos valores registrados na literatura, apresentou desempenho satisfatório. O modelo matemático gerado neste trabalho pode ser utilizado para previsão, controle de processos e escalonamento do reator.

Palavras-chaves: processo descontínuo; impelidor modificado; AnSBR; delineamento composto central, glicerol.

5.1- INTRODUÇÃO

O biodiesel é um combustível produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais por meio de um processo químico chamado transesterificação, no qual estes óleos reagem com um tipo de álcool e catalisadores, produzindo um éster metílico de ácido graxo (biodiesel) e glicerol, que deve ser refinado para a comercialização (RINCÓN et al., 2014; ULLAH et al., 2015).

Embora o glicerol possua valor comercial como co-produto, sendo muitas vezes aproveitado como tal, o processo de produção de biodiesel gera entre 10 e 18% (base mássica) de glicerol que, com a crescente produção do biocombustível pretendida para os próximos anos, dificilmente poderá ser vendida na sua totalidade como matéria-prima para as indústrias sendo

este misturado aos outros resíduos líquidos do processo de produção de biodiesel gerando a água residuária proveniente da produção de biodiesel (ARIB).

Com o enfoque na produção de bioenergia, os processos anaeróbios vêm sendo largamente estudados como alternativa para aproveitamento do glicerol residual presente na ARIB como fonte de matéria orgânica para produção de metano. Neste contexto, o uso do reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com biomassa granulada e agitação mecânica (AnSBR) é considerado uma alternativa para o tratamento ARIB, pois oferece melhor controle da qualidade do efluente tratado, eficiência de remoção da matéria orgânica, operação simples e estável do sistema, possibilitando a produção de metano por meio da biodegradação do glicerol (SELMA et al., 2010, CASTRILLÓN et al., 2013; SILVA et al., 2013).

Um ciclo típico do AnSBR compreende quatro etapas: a primeira etapa referente a alimentação que pode ter o tempo de enchimento variável; a segunda etapa denominada reação, em que ocorre as biotransformações dos constituintes do esgoto por microrganismos; a terceira etapa denominada sedimentação onde a biomassa que se encontra na forma granulada é separada por gravidade do sobrenadante e a quarta etapa denominada de descarga, realizada para a retirada do líquido tratado e clarificado denominado sobrenadante (SELMA et al., 2010; SILVA et al., 2013).

Oliveira et al. (2010), Novaes et al. (2010) e Liang et al. (2010) afirmam que diversas vantagens podem ser atribuídas a utilização dos AnSBR para tratamento de águas residuárias, como melhor controle da qualidade do efluente, alta eficiência de remoção da matéria orgânica e operação simples e estável do sistema. Entretanto, a ocorrência de zonas mortas, alto tempo de sedimentação, arraste de sólidos e inibição devido à sobrecarga orgânica são alguns dos problemas que afetam o desempenho do tratamento de águas residuárias. Dentre os aspectos tecnológicos pode ser destacada a aplicação do AnSBR visando à remoção de matéria orgânica para obtenção de metano produzido na biotransformação dos compostos poluentes. De acordo com Silva et al. (2013) no caso da ARIB a produção volumétrica de metano está diretamente ligada ao processo de biodegradação do glicerol presente na ARIB que pode ser monitorado através da quantidade de DQO removida durante o processo anaeróbio.

Estudos sobre a influência de diferentes variáveis de processo têm sido encontrados na literatura, cujos trabalhos apresentam como objetivo principal o conhecimento qualitativo e quantitativo da relação dessas variáveis com a eficiência e estabilidade na procura da otimização do sistema. A otimização do processo de tratamento de águas residuárias em reatores AnSBR certamente incentivaria a aplicação dessa configuração de biorreator, contribuiria para o entendimento da operacionalização e monitoramento do processo, além de possibilitar o projeto de escalonamento do reator para uso industrial.

Conforme registrado no capítulo 4, por meio de análise exploratória, concluiu-se que os fatores que influenciaram na remoção de DQO proveniente do glicerol presente na ARIB foram temperatura de operação do reator, a massa de inóculo e o tempo de reação e que seus valores otimizados estariam dentro do intervalo de 35 a 45 °C; 43567 a 87133 mg de SSV e 16 a 24 h, respectivamente, fixando a velocidade de agitação do impelidor em 40 rpm.

Visto o exposto, o objetivo deste trabalho foi o aprimoramento do processo de remoção de matéria orgânica proveniente do glicerol presente na ARIB. Para isso foram feitas a otimização dos parâmetros que influenciam no processo de biodegradação do glicerol (tempo de reação, a massa de inóculo e a temperatura de operação do reator) e o desenvolvimento de um modelo matemático para simulação e controle processo de tratamento ou até levantamento de parâmetros de projeto.

5.2- MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1- APARATO EXPERIMENTAL GERAL

O reator AnSBR (Figura 4.1) e o impelidor (Figura 4.2) utilizados neste experimento foram descritos no item 4.2.1

5.2.2- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para realização de cada batelada, uma quantidade de biomassa foi inoculada no AnSBR sendo que em cada experimento foi utilizada uma massa de microrganismos diferente como registrado na Tabela 5.3. Em seguida, ao longo do tempo de alimentação (T_A) fixado em 10 min para todas as bateladas, o reator foi enchido com um volume de ARIB com concentração de DQO_T e valor de pH iniciais fixados em 30000 mg L⁻¹ e 8, respectivamente. O volume de ARIB utilizado para enchimento do reator (V_{AR}) foi variável devido aos diferentes volumes de biomassa presentes no reator, os valores V_{AR} utilizados em cada experimento estão apresentados na Tabela 5.5.

A temperatura do banho termostático do reator foi ajustada ao valor desejado para a referida batelada (Tabela 5.3), sendo que ao fim do T_A , todo o sistema (biomassa-ARIB) apresentava-se em equilíbrio de temperatura. Em seguida, o impelidor foi ligado e à velocidade de agitação ajustada para 40 rpm, sendo essa condição permanecida durante todo tempo de reação (T_R) que foi variável para cada batelada (Tabela 5.3). Ao término do T_R o motor do impelidor do reator AnSBR foi desligado e iniciou-se a etapa de sedimentação da biomassa, sendo fixado um tempo de sedimentação (T_S) em 30 min para todas as bateladas. Em seguida

iniciava-se a retirada de 1 L do sobrenadante formado após a sedimentação. O período de retirada foi denominado de tempo de descarte (T_D), sendo fixado em 10 min para todas as bateladas. O sobrenadante retirado foi utilizado para as análises físico-químicas descritas na Tabela 4.4 no capítulo 4. Ao fim do processo completo a soma dos valores de T_A , T_R , T_S e T_D resultava no tempo de ciclo (T_C). Como são mostrados na Tabela 5.3 os valores de T_R são variáveis, assim o valor de T_C utilizado para cada experimento foi de 13,8 a 27,8 h. Ao encerrar o T_C de cada batelada todo material presente no reator (biomassa e ARIB) foi descartado e o reator higienizado para iniciar uma próxima batelada com nova biomassa e ARIB.

A ARIB utilizada durante todo o experimento foi formulada com glicerol comercial (única fonte de matéria orgânica) e bicarbonato de sódio PA ambos dissolvidos em água destilada como descrito nos estudos realizados por Silva et al. (2013) e Lovato et al. (2015). Os valores de T_A , T_S e T_D submetidos ao AnSBR utilizado foram fixados com base nos estudos realizados por Silva et al. (2010). A biomassa utilizada durante todo o experimento foi proveniente do reator anaeróbio de manta de lodo utilizado no tratamento de esgoto doméstico e apresentava as características descritas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1- Concentrações dos parâmetros relacionados a biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR.

Parâmetro	Concentração (média \pm DP)
Sólidos totais (ST)	74585 \pm 573 mg L ⁻¹
Sólidos voláteis totais (SVT)	43567 \pm 380 mg L ⁻¹
Sólidos fixos totais (SFT)	31018 \pm 329 mg L ⁻¹
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	1912 \pm 10 mg L ⁻¹
Fósforo total (P _T)	862 \pm 11 mg L ⁻¹
Sódio total (Na ⁺)	128,0 \pm 7,9 mg L ⁻¹
Potássio total (K ⁺)	55,3 \pm 7,8 mg L ⁻¹

A relação SVT/ST do lodo utilizado foi de 0,58, as concentrações de NTK e P_T presentes na biomassa junto com a DQO proveniente da ARIB propiciaram para cada batelada relações DQO:N:P entre 1000:5:1 e 350:5:1 o que, de acordo com Chernicharo (2007), mostra-se apropriado para o processos anaeróbios.

5.2.3- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental utilizado foi do tipo delineamento composto central (DCC) considerando os 3 fatores (F_i): temperatura (F_1); massa de microrganismos inoculada em termos de sólidos voláteis totais (F_2) e tempo de reação entre a ARIB e biomassa (F_3). Os

fatores F1, F2 e F3 possuíam três níveis: alto (+1), médio ou central (0) e baixo (-1), como descrito na Tabela 5.2.

Tabela 5.2- Fatores avaliados na matriz do DCC valores dos níveis alto (+1), baixo (-1) e médio (0) de cada fator.

Fatores	Níveis		
	+1	0	-1
Temperatura (°C)	45	40	35
M. I. (mg de SSV)	87133	65350	43567
T _R (h)	24	20	16

F1- Temperatura. F2- M.I.: massa de inóculo. F3- T_R: tempo de reação.

Como podem ser observados na Tabela 5.2 os níveis centrais são equidistantes dos valores extremos (níveis alto e baixo). Os intervalos adotados foram baseados nos resultados obtidos através de uma análise exploratória realizada no Capítulo 4. Após a determinação dos níveis de cada fator foi confeccionada a matriz apresentada na Tabela 5.3, visando otimizar a interação entre os fatores F1, F2 e F3.

Tabela 5.3- Matriz com o planejamento experimento do tipo DCC com os valores de cada fator utilizados sinergicamente em cada experimento.

Pontos da matriz	Experimento	Temperatura (°C)	Massa de inóculo (mg de SSV)	T _R (h)
	1	35	43567	16
	2	35	43567	24
	3	35	87133	16
	4	35	87133	24
	5	45	43567	16
	6	45	43567	24
Pontos fatoriais e axiais	7	45	87133	16
	8	45	87133	24
	9	32	65350	20
	10	48	65350	20
	11	40	28754	20
	12	40	101990	20
	13	40	65350	13
	14	40	65350	27
Ponto central	15	40	65350	20

Os 15 experimentos da Tabela 5.3 estão apresentados de forma sequencial, mas foram realizados de forma aleatória sendo os experimentos referentes aos pontos fatoriais e axiais realizados em duplicata e o experimento do ponto central realizado com 6 repetições. Como variável resposta da matriz experimental foi avaliada a eficiência na remoção de DQO da ARIB em cada experimento, e foi monitorado o tamponamento do reator durante cada experimento.

Os resultados obtidos quanto à eficiência de remoção de DQO foram submetidos à análise estatística com auxílio do programa STATISTICA 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA) para determinar quais fatores estudados foram significativos no desempenho do processo. Utilizando os resultados obtidos foi desenvolvido o modelo matemático que descreve o efeito da interação entre os 3 fatores (Tabela 5.3) na remoção de DQO da ARIB durante o seu tratamento no AnSBR. A marcha de cálculo utilizada para confeccionar o modelo está descrita e exemplificada em Barros Neto et al. (2010). Após a geração do modelo, o mesmo foi calibrado com os dados do experimento e validado com outros 3 experimentos diferentes dos apresentados na Tabela 5.3, todavia obedecendo o intervalo entre os níveis descrito na Tabela 5.2. Os experimentos de validação do modelo matemático gerado foram realizados em triplicata.

Os dados referentes ao tamponamento do reator para cada experimento foram submetidos às análises de estatística descritiva e teste de médias (teste t) entre o afluente e efluente utilizando software SISVAR (FERREIRA et al., 2003). A análise multivariada de componentes principais (ACP) foi realizada em Programa Action Stat da Equipe Estatcamp (Cidade, Brasil), que trabalha de forma integrada ao software Excel (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

Os valores de COV_A , COB e a eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO foram determinados utilizando as equações 4.2; 4.3 e 4.4 respectivamente, descritas no Capítulo 4.

5.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1- INFLUÊNCIA DOS FATORES NO DESEMPENHO DO REATOR ANSBR EM TERMOS DE REMOÇÃO DE DQO DA ARIB

Na Tabela 5.4 estão apresentados os valores de cargas COV_A e COB submetidas ao AnSBR em cada experimento junto aos resultados de E (%) obtidos nos experimentos.

Tabela 5.4- Eficiência de remoção de DQO da ARIB em AnSBR operando nas 15 condições analisadas.

Experimentos	V _{AR}	Temperatura (°C)	COV _A	COB	E (%)
1	4	35	36,0	4,1	19,5 ± 0,6
2	4	35	24,0	2,8	21,3 ± 1,7
3	3	35	27,0	1,5	48,1 ± 0,3
4	3	35	18,0	1,0	43,1 ± 0,5
5	4	45	36,0	4,1	24,95 ± 0,9
6	4	45	24,0	2,8	21,0 ± 3,2
7	3	45	27,0	1,5	43,6 ± 0,5
8	3	45	18,0	1,0	44,1 ± 4,2
9	3,5	31,6	25,2	1,9	35,8 ± 1,5
10	3,5	48,4	25,2	1,9	36,2 ± 1,0
11	4,3	40	31,2	5,4	14,9 ± 2,1
12	2,7	40	19,1	0,9	55,6 ± 0,5
13	3,5	40	38,0	2,9	34,4 ± 5,4
14	3,5	40	18,9	1,4	33,9 ± 2,8
15	3,5	40	25,2	1,9	40,3 ± 5,4

V_{AR}: volume de água residuária utilizado no abastecimento do reator (L). E: Eficiência de remoção de DQO da ARIB (%). COV_A: carga orgânica volumétrica (g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO). COB: carga orgânica biológica (g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO/SSV).

Com base nos valores apresentados na Tabela 5.4 pode ser observado que o AnSBR operou com valores de COV_A em termos de DQO entre 18 e 38 g L⁻¹ d⁻¹, valores de COB entre 0,9 e 5,4 g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO/SSV, resultando em eficiências entre 14,9 e 55,6%. A biomassa utilizada não estava aclimatizada à ARIB e os ensaios foram realizados com valores de T_R e T_C variando de 13 a 27 h e 13,8 a 27,8 h; respectivamente. Em termos de faixa de cargas aplicadas para remoção de DQO da ARIB pode-se comparar os resultados obtidos neste trabalho (Tabela 5.4) com os resultados encontrados na literatura referentes ao uso de reatores anaeróbios operando em batelada no tratamento da ARIB (Tabela 5.5).

Tabela 5.5- Resultados obtidos por diferentes pesquisadores que estudaram o tratamento da ARIB em reatores anaeróbios operando em batelada com biomassa imobilizada (AnSBBR) e com biomassa granulada e agitação mecânica (AnSBR).

Autor	Reator	COV _A (g L ⁻¹ d ⁻¹)	COB (g g ⁻¹ d ⁻¹)	T _c (h)	T (°C)	E (%)
Selma et al. (2010)	AnSBR	0,6	15,2	8	30	93
		1,29	32,8			81
		2,44	62,1			66
		3,82	97,2			40
Bezerra et al. (2011)	AnSBBR	1,5	29,9	8	30	91
		3	60,1			80
		4,5	90			63
		6	119,8			47
Silva et al. (2013)	AnSBR	1,23	89,5	8	30	79
		2,52	184			72
		1,29	94,3	4		84
		2,49	181,9			71
		3,77	275,5			58

AnSBR: reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com agitação e biomassa granulada. AnSBBR: reator anaeróbio operando em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada e mistura por recirculação da ARIB. COV_A: carga orgânica volumétrica aplicada (g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO). COB: carga orgânica biológica (g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO/SVT). T_c: tempo de ciclo (h). T: temperatura de operação do reator (°C). E: eficiência de remoção de DQO da ARIB (%).

A Tabela 5.5 indica que Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011) e Silva et al. (2013) avaliaram reatores anaeróbios operando em batelada no tratamento da ARIB com cargas aplicadas entre 0,6 e 6 g L⁻¹ d⁻¹ abaixo dos valores utilizados neste trabalho 18 a 38 g L⁻¹ d⁻¹ como mostrado na Tabela 5.4. Os valores de COV_A mostrados na Tabela 5.5 ficaram abaixo dos valores utilizados neste trabalho (Tabela 5.4) devido a ARIB utilizada nos trabalhos de Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011) e Silva et al. (2013) ter DQO entre 500 a 3000 mg L⁻¹; 980 a 3954 mg L⁻¹ e 1000 a 3000 mg L⁻¹, respectivamente, enquanto neste trabalho foi utilizada ARIB com DQO de 30000 mg L⁻¹. De acordo com Daud et al. (2014) a DQO presente na ARIB produzida em escala industrial encontra-se entre 19000 e 37000 mg L⁻¹ com a previsão aumento de concentração devido a inserção de glicerol não beneficiado, justificando a importância de estudos do tratamento da ARIB com concentrações acima das avaliadas por Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011) e Silva et al. (2013).

Bodik et al. (2002) explica que devido ao aumento da DQO da ARIB utilizada para alimentação do reator deve-se avaliar sinergicamente o aumento do tempo de reação necessário para degradação da mesma, isso levou a experimentação de tempos de reação e consequentemente tempos de ciclos maiores que os utilizados na Tabela 5.5.

Comparando os resultados de eficiência apresentados nas Tabelas 5.4 e 5.5 é possível observar que o reator AnSBR utilizado neste trabalho operando com valores de COV_A entre 3 e 7 vezes maiores que os previstos na literatura foi capaz de promover o tratamento da ARIB

a eficiências próximas aquelas esperadas para operação com cargas menores. Isso porque neste trabalho operando com COV_A entre 19 e 27 $g L^{-1} d^{-1}$ foi possível obter valores de eficiência entre 48 e 56%, próximos aos valores de 40, 47 e 58% obtidos por Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011) e Silva et al. (2013) utilizando COV_A com valores de 3,82; 6 e 3,8 $g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO, respectivamente. Através dessa mesma análise é possível afirmar que diferentes valores de COV_A e COB aplicados ao AnSBR podem promover valores de eficiência de remoção de DQO próximos. Isso ressalta a hipótese levantada no capítulo 4 de que dentre os diversos fatores ambientais a temperatura é o que possui maior influência no desempenho de AnSBR junto fatores operacionais e hidráulicos. Para investigação dentre quais fatores apresentados na Tabela 5.2 influenciaram no desempenho do processo, os valores obtidos nos experimentos 1 a 15 (Tabela 5.4) foram submetidos à análise de variância (Tabela 5.6).

Tabela 5.6- Análise de variância (ANOVA) realizada com os resultados da Tabela 5.4.

Fator	SQ	GL	QM	f_{cal}	p
F1 (L)	0,735	1	0,735	0,0547	0,817610
F1 (Q)	82,007	1	82,007	6,0977	0,023189*
F2 (L)	3779,069	1	3779,069	280,9964	0,000000*
F2 (Q)	103,900	1	103,900	7,7256	0,011945*
F3 (L)	8,047	1	8,047	0,5984	0,448715
F3 (Q)	146,172	1	146,172	10,8688	0,003793*
F1 (L) x F2 (L)	18,684	1	18,684	1,3893	0,253080
F1 (L) x F3 (L)	0,019	1	0,019	0,0014	0,970482
F2 (L) x F3 (L)	1,216	1	1,216	0,0904	0,766959
Erro Puro	255,528	19	13,449		
SQT	4329,267	33			

F1: Temperatura (°C). F2: massa de inóculo (mgSSV). F3: Tempo de reação (h). SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; f_{cal} : f calculado; SQT: soma de quadrados totais. * estatisticamente significativo ao nível de 5% ($p \leq 0,05$).

Como pode ser observado na Tabela 5.6 os fatores temperatura (F1), massa de inóculo (F2) e tempo de reação (F3) mostraram-se estatisticamente significativos ao nível de 5% ($p \leq 0,05$). Os fatores F1 e F3 apresentaram-se significativos apenas através da interação quadrática entre os dados. Já o fator F2 mostrou-se significativo tanto para a interação linear quanto para a quadrática entre os dados. Isso indica que estes fatores influenciam na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol de formas diferentes. O comportamento das interações quadrática e linear entre os valores dos fatores F1, F2 e F3 com os valores de eficiência de remoção de DQO estão apresentados na Figura 5.1.

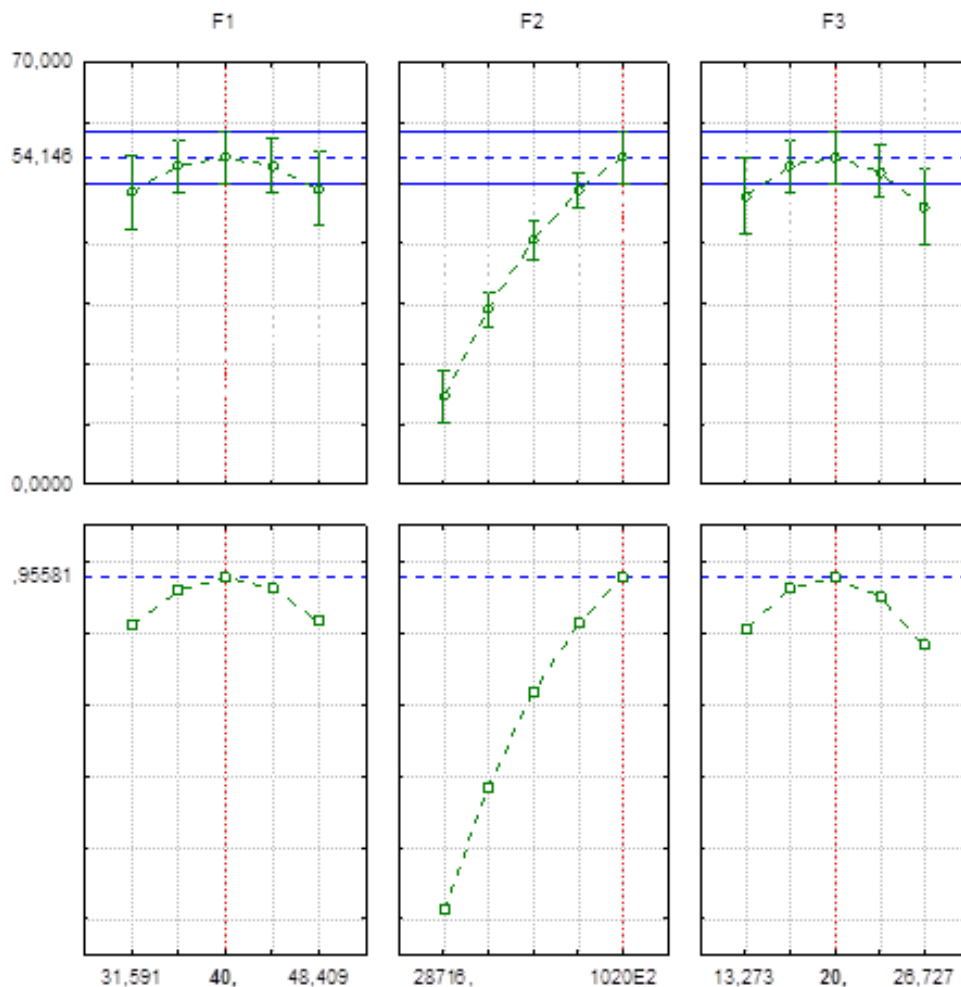
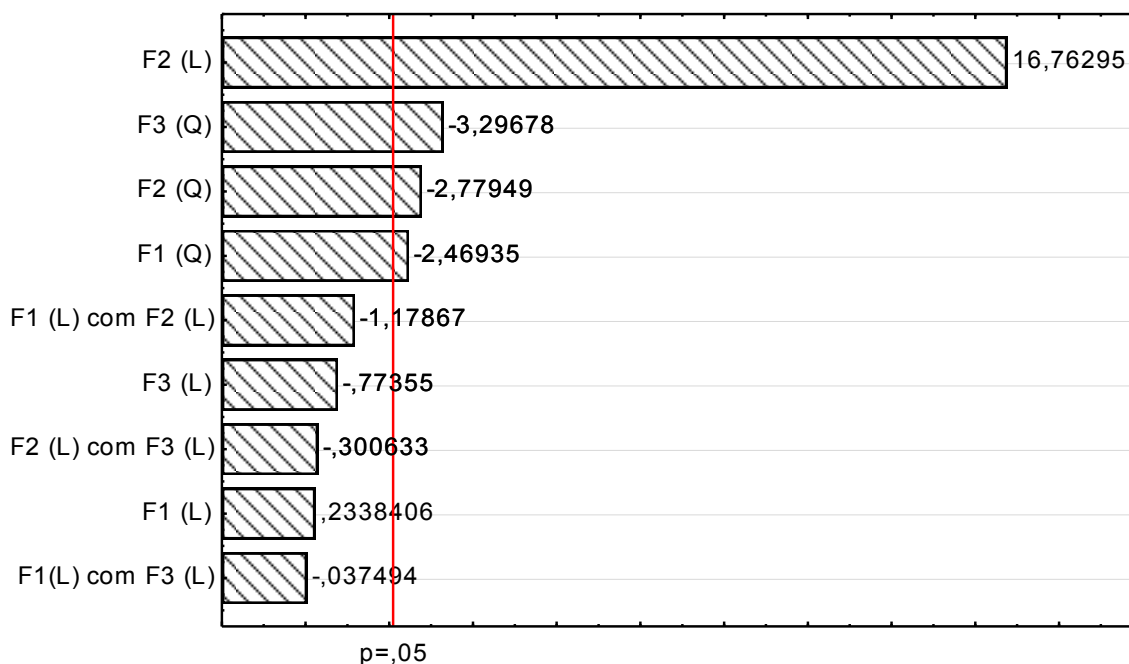


Figura 5.1- Blocos elaborados no software Statistica 10.0 para indicação do efeito das interações linear e quadrática dos fatores F1, F2 E F3 (região horizontal) com os resultados de remoção de DQO em cada situação (região vertical). Legenda- F1: Temperatura (°C). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h).

Para os fatores F1 e F3 a interação quadrática significa que o aumento destes valores promove o aumento da eficiência de remoção de DQO até que este atinja o máximo valor possível para eficiência de remoção. Após este ponto o aumento dos valores referentes aos fatores F1 e F3 promove à redução dos valores de eficiência de remoção de DQO comportando-se como uma parábola, demonstrando a interação quadrática (Figura 5.1).

Para o fator F2 o mesmo possui tanto uma interação linear quanto quadrática com os valores de eficiência de remoção de DQO, todavia a interação linear teve um efeito mais pronunciado (Figura 5.1) dentre os valores de MI testados. Entretanto ao analisar o perfil do gráfico que mostra o comportamento dos valores de E (%) em função dos valores de F2 (Figura 5.1) é possível perceber uma tendência de concavidade no final do perfil, sugerindo que se os maiores valores que 102 g de SSV tivessem sido utilizados para F2 provavelmente uma parábola teria sido observado a partir do ponto ótimo, indicando uma interação quadrática com

efeito menos pronunciado em relação a interação linear (Figura 5.2). Os valores dos efeitos de cada fator em cada interação estão apresentados na Figura 5.2.



Valor absoluto do efeito padronizado

Figura 5.2- Gráfico de Pareto elaborado com os resultados de remoção de DQO para os fatores F1 a F3 apresentados na Tabela 5.4. Legenda - F1: Temperatura (°C). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h). L: Interação linear. Q: Interação quadrática.

Na Figura 5.2 pode ser observado que os fatores F1 (Q), F2 (L), F2 (Q) e F3 (Q) ultrapassam a fronteira de Pareto ($p=0,05$), isso indica que esses fatores são influentes na remoção de DQO da ARIB. O valor positivo para o efeito do fator F2 (Q) demonstra que em relação ao intervalo analisado (Tabela 5.2) quanto maior o valor adotado maior será a eficiência de remoção de DQO. Já os valores negativos para os efeitos dos fatores F1 (Q), F2 (Q), F3 (Q) demonstram que em relação ao intervalo analisado (Tabela 5.2), quanto menor o valor adotado maior será a eficiência de remoção de DQO.

Com base nos resultados obtidos nas Figuras 5.1 e 5.2 como análise exploratória no processo de otimização pode-se inferir que mantendo o pH da ARIB em 8; a DQO afluente de 30000 mg L^{-1} e intensidade de agitação de 40 rpm os valores ideais para otimizar o processo de remoção de DQO no AnSBR tratando ARIB os valores ideais para os fatores F1, F2 e F3 seriam $40 \text{ }^\circ\text{C}$; 101990 mg de SSV e 20 h. Além disso, as mesmas figuras indicam que a massa de inóculo (F2) é dentre os 3 fatores o que mais influencia no desempenho do AnSBR, e também que o efeito do F2 com a interação linear entre os valores das massas de inóculo e eficiência de remoção de DQO são mais pronunciados que a interação quadrática entre estes mes-

mos dados. Para analisar descritivamente esta interação fez-se uma regressão linear entre os referidos dados como mostra a Figura 5.3.

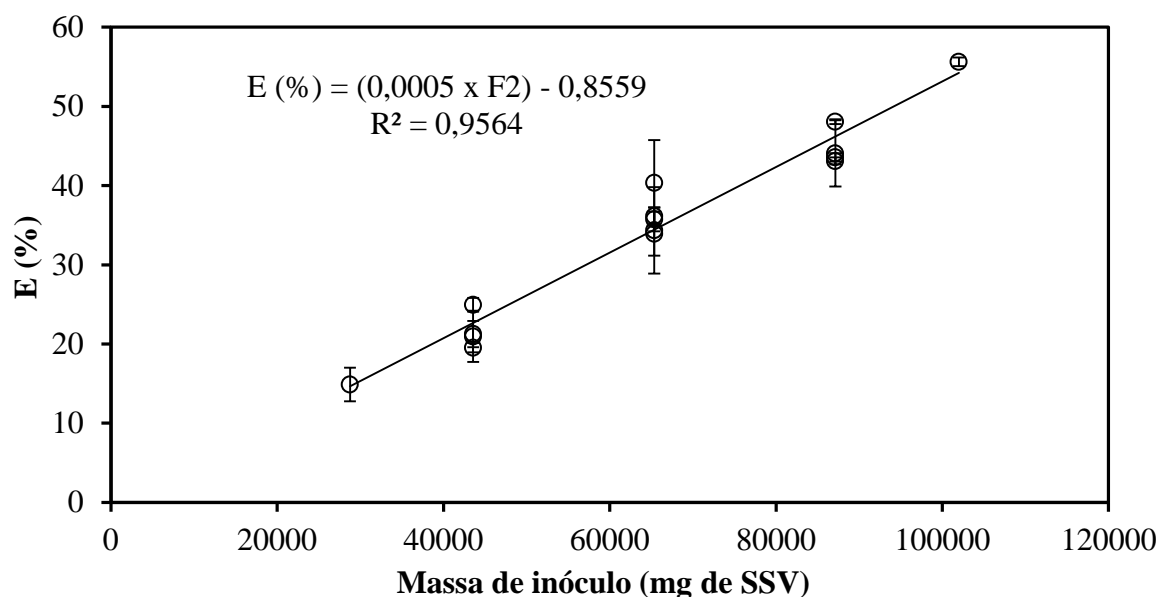


Figura 5.3- Regressão linear entre os valores da massa de inóculo e eficiência de remoção de DQO (E) obtidos na análise para otimização do desempenho do AnSBR operando no tratamento da ARIB.

Como pode ser observado na Figura 5.3, para os experimentos realizados dentro do intervalo descrito na Tabela 5.2, os dados da MI (F2) explicam 95,64% ($R^2 = 0,9564$) dos valores de eficiência de remoção de DQO (E) quando interagidos linearmente. Embora a degradação do glicerol em reatores anaeróbios do tipo AnSBR esteja ligada a diversos fatores como o tamponamento do meio em termos de pH, acidez e alcalinidade; temperatura de operação do reator; velocidade de agitação; massa de microrganismos presentes no meio para cada carga orgânica aplicada; concentração de DQO afluente ao reator e tempo de reação entre a água residuária e a biomassa, o resultado apresentado na Figura 5.3 sugere que o controle e a previsão do desempenho do reator pode ser realizado utilizando a massa de inóculo.

Com isso pode-se inferir que as condições de granulação e adaptação da biomassa inoculada podem influenciar na eficiência de remoção de DQO, aumentando a eficiência do reator. Para definir os valores dos fatores F1, F2 e F3 que promoveriam a maior eficiência de remoção de DQO no AnSBR quando analisados de forma sinérgica os resultados obtidos em cada experimento (Tabela 5.4) foram analisados utilizando gráficos de superfície resposta como mostrado nas Figuras 5.4; 5.5 e 5.6.

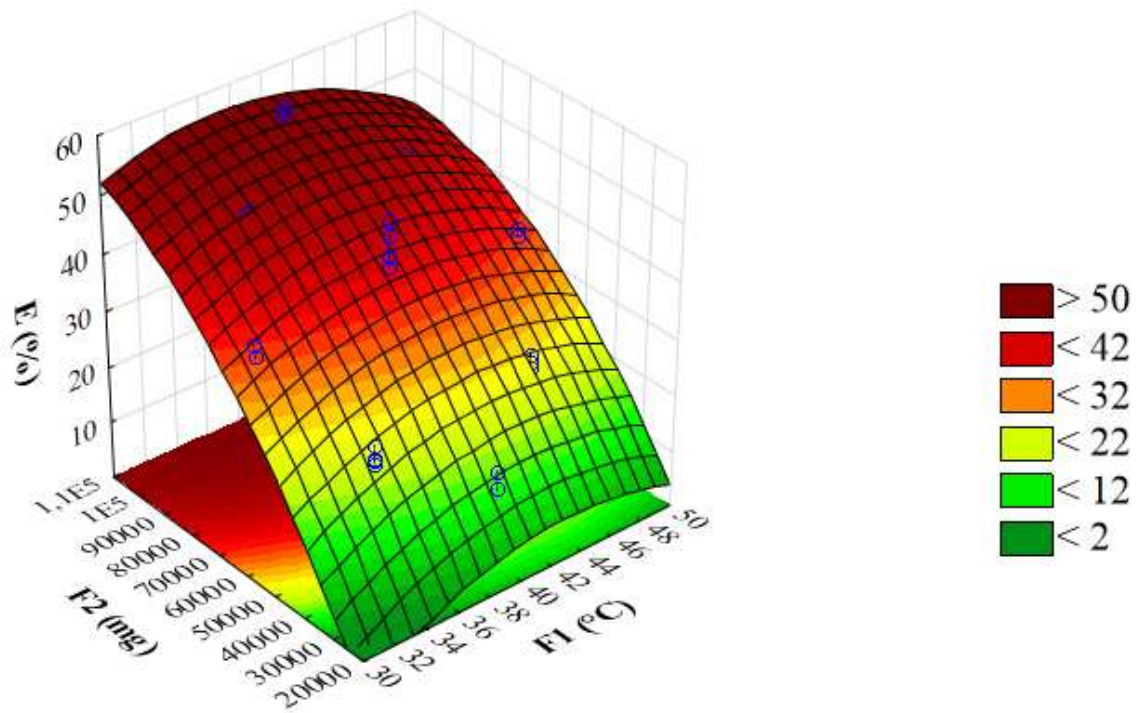


Figura 5.4- Efeito da temperatura (F1) e da massa de inóculo (F2) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando o tempo de reação de 20 h com soma de quadrados do erro puro de 13,44882.

Na Figura 5.4 é apresentada a interação entre o fator temperatura (F1) e massa de inóculo (F2) e suas influências na eficiência de remoção de DQO da ARIB. Com base no perfil de cores do gráfico apresentado na Figura 5.4 é possível perceber que quanto maior o valor da massa de inóculo (F2) maior é o valor da eficiência de remoção de DQO, indicando que o valor ótimo (>50%) estaria próximo ao valor 101990 mg de SSV como pode ser comprovado na Tabela 5.3, pois este foi o maior valor de massa de inóculo avaliado dentre os 15 experimentos. Já para a temperatura o valor ótimo deste fator para obtenção de uma eficiência de remoção de DQO maior que 50% mostra-se visualmente na região central entre 36 e 42 °C. Além destas afirmações é possível observar que não houve formação de uma concavidade nítida no ponto ótimo. Além da interação entre os fatores F1 e F2, também foi analisado o efeito sinérgico dos fatores temperatura (F1) e tempo de reação (F3) na eficiência de remoção de DQO como apresentado na Figura 5.5.

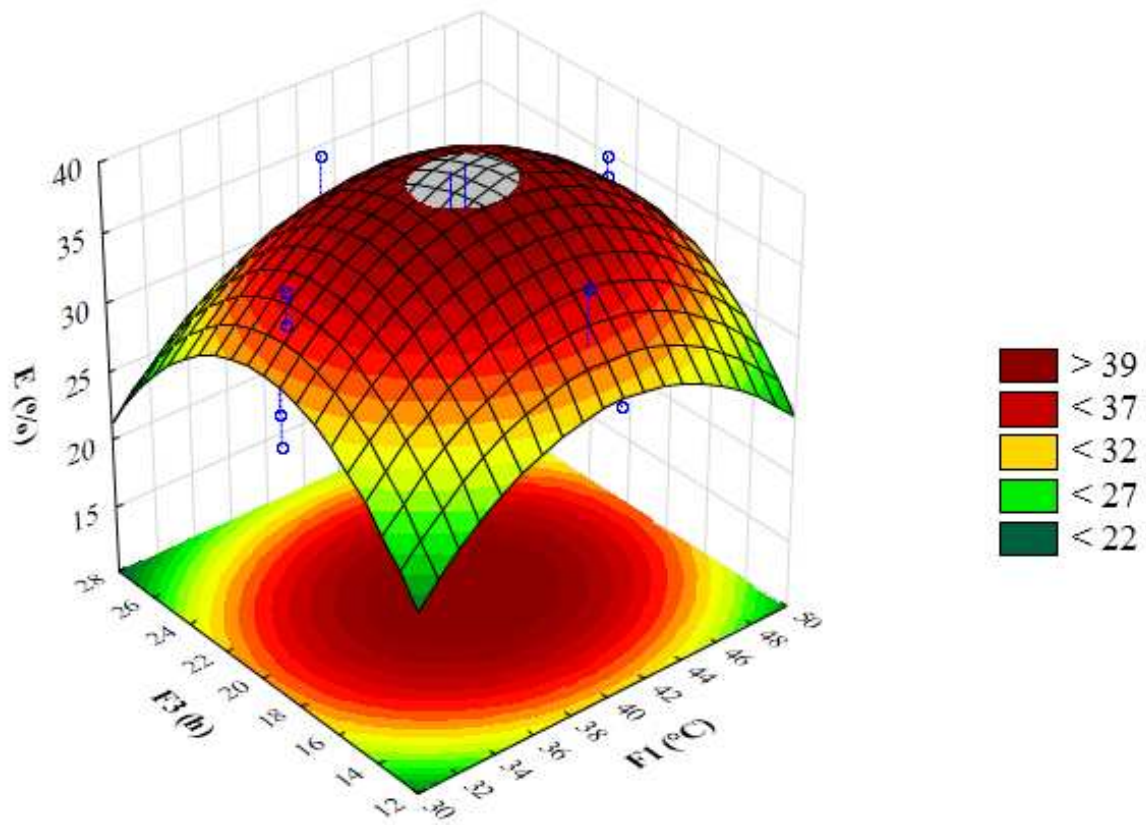


Figura 5.5- Efeito da temperatura (F1) e do tempo de reação (F3) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando a massa de inóculo de 65350 mg de SSV.

Na Figura 5.5 é possível perceber nitidamente que a superfície de resposta apresentou perfil parabólico nítido e contém os pontos ótimos para ambos os fatores. Com base no perfil de cores do gráfico para o fator temperatura (F1) o valor ótimo mostra-se visualmente na região central entre 36 e 42 °C, semelhante ao observado na Figura 5.4. Para o fator tempo de reação (F3) o valor ótimo apresenta-se entre 18 e 22 h. Na Além da Figura 5.4, o tempo de reação também foi combinado com a massa de inóculo. A Figura 5.6 é apresentada a interação entre massa de inóculo (F2) e tempo de reação (F3) na eficiência de remoção de DQO (E).

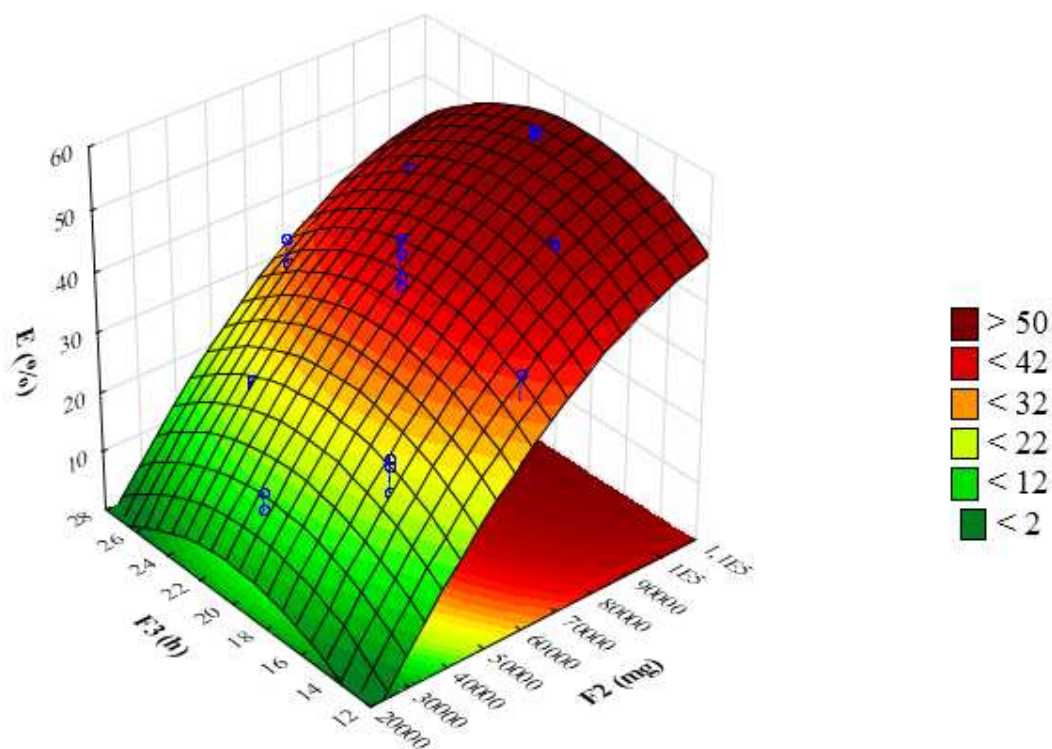


Figura 5.6- Efeito do tempo de reação (F3) e da massa de inóculo (F2) na eficiência de remoção de DQO (E) da ARIB considerando a temperatura 40 °C.

Com base no perfil de cores do gráfico apresentado na Figura 5.6 é possível observar que mesmo realizando a interação da massa de inóculo com outro fator neste caso o tempo de reação, quanto maior o valor da massa de inóculo maior é o valor da eficiência de remoção de DQO, indicando que o valor ótimo está próximo de 101990 mg de SSV. Para o fator tempo de reação (F3) o valor ótimo apresenta-se entre 18 e 22 h.

Devido a existência de intervalos ótimos para os fatores F1 e F3 e a não observação de parábolas legíveis nas Figuras 5.4 e 5.6 que confirmassem o ponto ótimo do processo, a função desejabilidade do Software Statistica 10.0 foi utilizada para definição dos valores desejáveis para obtenção do maior valor de eficiência com base na predição do modelo. Neste caso a análise indicou que os valores otimizados para os fatores massa de inóculo e tempo de reação seriam 101990 mg de SSV e 20 h, respectivamente. Considerando que 101990 mg de SSV (valor ótimo) foram utilizados em um volume reacional de 5L é possível afirmar que a concentração mínima da biomassa dentro do AnSBR no momento da partida deve ser aproximadamente $20,4 \text{ g L}^{-1}$ de SSV. Já o fator temperatura permaneceu no intervalo entre 36 e 42 °C.

5.3.2- MODELO MATEMÁTICO DE DESEMPENHO DO REATOR: GERAÇÃO, CALIBRAÇÃO E ANÁLISES DOS RESÍDUOS

Os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos para cada experimento (Tabela 5.4) foram correlacionados com os fatores simultaneamente para determinação do modelo matemático que descreve o comportamento da eficiência de remoção de DQO em função de cada fator (Tabela 5.7).

Tabela 5.7- Valores dos coeficientes de regressão para o modelo que descreve a eficiência de remoção de DQO em função dos fatores analisados.

Fator	Coefficiente de regressão	Erro puro padrão	t ₁₉	p	Limite inferior do IC _{95%}	Limite superior do IC _{95%}
Média	-198,5	60,1	-3,3	<0,01	-324,3	-72,7
F1 (L)	6,1	2,5	2,5	0,02	1,0	11,3
F1 (Q)	-0,1	0,0	-2,5	0,02	-0,1	0,0
F2 (L)	0,0	0,0	5,3	<0,01	0,0	0,0
F2 (Q)	0,0	0,0	-2,8	0,01	0,0	0,0
F3 (L)	6,2	1,9	3,2	<0,01	2,2	10,3
F3 (Q)	-0,2	0,0	-3,3	<0,01	-0,3	-0,1

F1: Temperatura (°C). F2: massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h).

Respeitando os intervalos de atuação de cada fator avaliado (Tabela 5.2) e utilizando os fatores nos níveis apresentados na Tabela 5.3 para cada experimento como variáveis independentes e os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos para cada experimento (Tabela 5.3) como única variável resposta, portanto dependente, foi gerada a Equação 5.1.

$$E (\%) = -198,5 + 6,1F1 - 0,08 F1^2 + 10^{-3}F2 - 4,5 \times 10^{-8}F2^2 + 6,2F3 - 0,2F3^2 \quad (5.1)$$

A Equação 5.1 correlaciona os fatores analisados com a eficiência de remoção de DQO (E). O modelo apresentado (Equação 5.1) após calibrado e validado pode ser utilizado para previsão de valores de eficiência em função dos parâmetros operacionais (fatores) submetidos ao AnSBR. A calibração do modelo (Equação 5.1) pode ser verificada na Figura 5.7, onde mostra que os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos pelo desempenho do AnSBR na condição de experimental são semelhantes aos dados de eficiência de remoção de DQO estimados pelo modelo descrito na Equação 5.1 com o valor do quadrado médio do erro puro de 13,4 e $R^2 = 0,92402$.

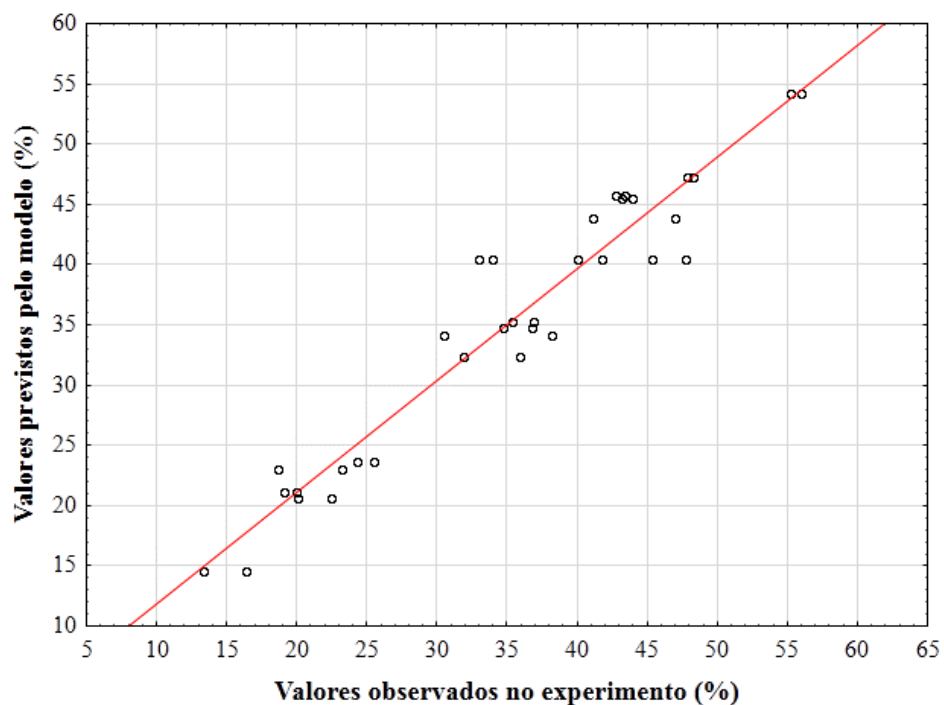
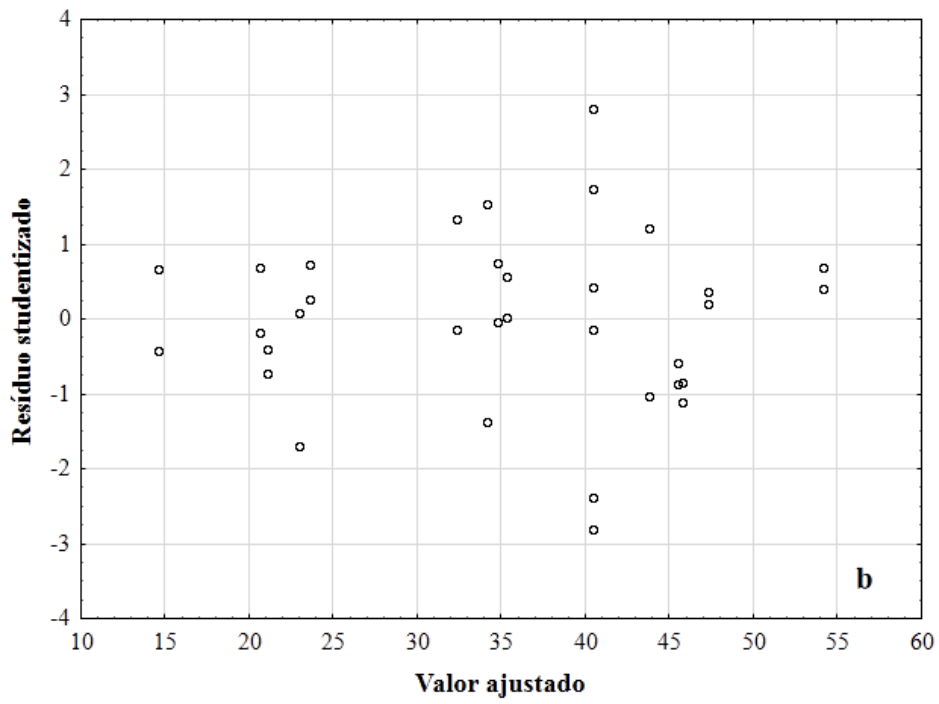
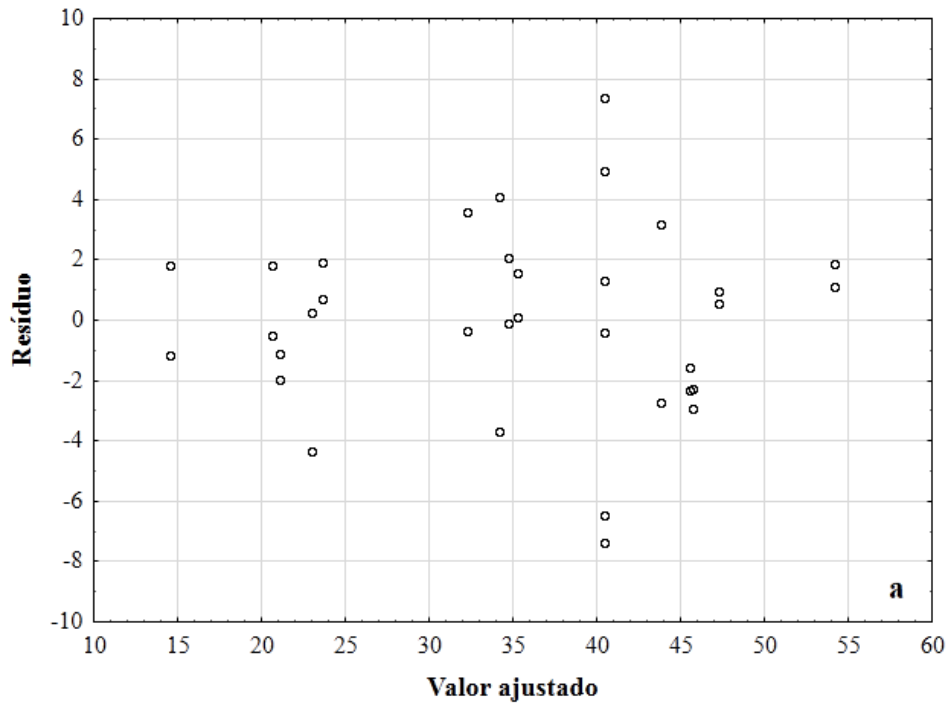


Figura 5.7- Eficiência de remoção de DQO observados experimentalmente versus resultados de eficiência de remoção de DQO estimadas pelo modelo da Equação 5.1.

A Figura 5.7 indica que o modelo apresentado na Equação 5.1 é capaz de prever os resultados de remoção de DQO com base nos fatores F1, F2, F3 considerando as interações lineares (L) e quadráticas (Q). Calado e Montgomery (2003) estabelecem que além da capacidade de previsão dada pela calibração do modelo, deve-se sinergicamente investigar a adequabilidade do modelo de regressão (Equação 5.1) utilizando a análise dos resíduos do modelo gerado (Figura 5.8).



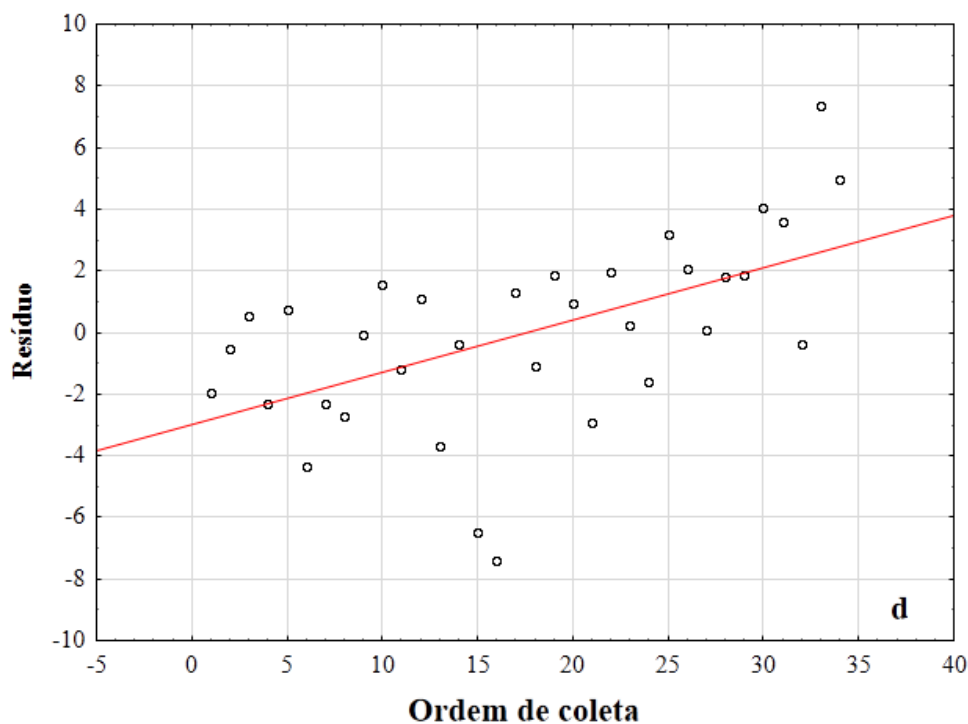
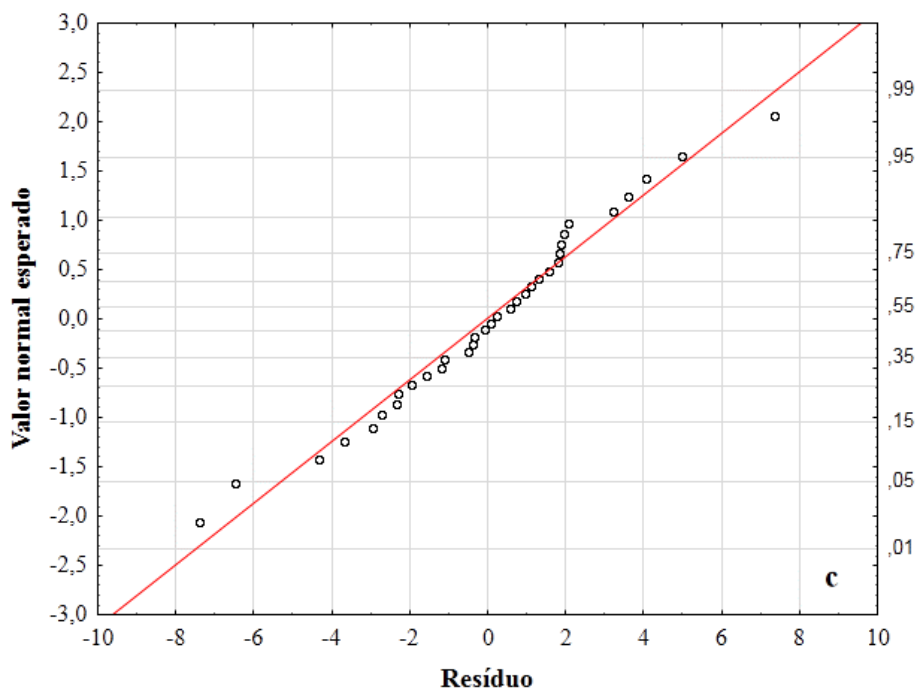


Figura 5.8. Análise dos resíduos do modelo apresentado na Equação 4.4. a- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos. b- Diagnóstico dos *Outliers* dos resíduos. c- Normalidade dos dados referentes ao resíduo do modelo estatístico. d- Diagnóstico da independência dos resíduos.

Calado e Montgomery (2003) mencionam que na análise dos resíduos deve-se inicialmente avaliar a homoscedasticidade dos resíduos além dos *outliers* com valores studentizados.

Homoscedasticidade é a hipótese de que os erros entre valor de eficiência observado experimentalmente (Tabela 5.4) e valor teórico previsto no modelo (Equação 5.1) tenha média

zero e variância constante. Quando se faz um modelo estatístico, caso essa exigência seja atendida considera-se estatisticamente válida a calibração do modelo (Equação 5.1) descrito na Figura 5.7. Caso a suposição de homoscedasticidade não seja válida, o modelo descrito pela Equação 5.1 encaixa-se na condição de heteroscedasticidade. Para o diagnóstico de heteroscedasticidade, tenta-se encontrar alguma tendência no gráfico (Figura 5.8a). Por isso, se os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do 0, sem nenhum comportamento ou tendência, temos indícios de que a variância dos resíduos é homoscedástica. Já a presença de "funil" é um indicativo da presença de heteroscedasticidade (CALADO e MONTGOMERY, 2003; BARROS NETO et al., 2010).

Os resultados do diagnóstico da análise de homoscedasticidade dos resíduos apresentados na Figura 5.8a mostram a relação entre os valores dos resíduos versus valores ajustados ou preditos para cada um dos 24 experimentos. Analisando a referida figura observa-se que os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do 0, sem nenhuma tendência ou relação linear, indicando que a variância dos resíduos é homoscedástica. De acordo com Calado e Montgomery (2003) neste caso, os erros padrões dos estimadores obtidos pelo método dos mínimos quadrados são corretos e, portanto a inferência estatística é válida. Também é possível afirmar que os coeficientes do modelo (Tabela 5.7) são os melhores estimadores de mínima variância por não serem tendenciosos.

Após o teste de homoscedasticidade os valores de resíduos studentizados foram utilizados para avaliar se havia *outliers* (Figura 5.8b). De acordo com Calado e Montgomery (2003) *outliers* dos resíduos são pontos atípicos, ou seja, com comportamento diferente dos demais. Os autores mencionam que essa análise é de grande importância porque se um *outlier* for influente, ele interfere sobre a função de regressão ajustada (a inclusão ou não do ponto modifica substancialmente os valores ajustados). Mas uma observação mesmo considerada um *outlier* não quer dizer que conseqüentemente é um ponto influente. Por isso, um ponto pode ser um *outlier* em relação a Y ou a X e pode ou não ser um ponto influente.

Os resultados para determinação do diagnóstico da existência de *outliers* estão apresentados na Figura 5.8b. Os resíduos studentizados têm variâncias constantes, o que conseqüentemente, torna muito prática à procura por *outliers*. De acordo com Box et al. (1978) qualquer observação fora do intervalo -3 e 3 pode ser considerada um *outlier* e deve-se avaliar o impacto dessa perturbação nas estimativas dos valores da variável resposta pelo modelo. Se não existem pontos influentes, pode-se confiar mais no modelo proposto. Com base na Figura 5.8b é possível perceber que dos 34 dados nenhum apresentaram-se fora do intervalo citado. Neste caso é possível afirmar que não foram encontrados valores *outliers*, todavia, para garantir a precisão do modelo medir o impacto da presença dos dois valores mais afastados do eixo

zero procedeu-se com a validação do modelo. Para modelos de desempenho de reatores AnSBR, essa comparação testa a habilidade do modelo tanto em simular o processo quanto prever resultados de desempenho quando se modifica os parâmetros de operacionalização, produzindo corretas estimativas sobre o desempenho do reator no final do ciclo.

Para a validação matemática do modelo descrito na Equação 5.1 foram realizados três experimentos diferentes dos descritos na Tabela 5.3, mas dentro do intervalo dos fatores apresentados na Tabela 5.2, denominados experimentos de validação. Os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos de validação foram comparados com o valor teórico previsto pelo modelo (Equação 5.1), quando alimentado com as mesmas variáveis de entrada utilizadas no experimento (fatores). Se os resultados de eficiência de remoção de DQO obtidos nos experimentos de validação mostrarem-se dentro do intervalo de confiança (IC_{95%}) previsto pelo modelo, significa que não existe diferença estatística significativa ao nível de 5% ($p > 0,05$), entre os valores previstos pelo modelo e os valores obtidos no experimento. Os dados referentes à validação matemática do modelo descrito na Equação 5.1 estão apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8- Dados para a comparação entre os valores médios obtidos para cada experimento de validação (x_v) e valores previstos pelo modelo.

Validação	Fatores			Valor obtido no experimento	Valor previsto no modelo	
	F1	F2	F3	$x_v \pm dp$	Média	IC _{95%}
A	34	49000	18	$32,3 \pm 0,8$	27,1	19,0 ; 35,3
B	32	33982	16	$13 \pm 0,5$	12,0	6,4 ; 17
C	35	108917	20	$50,3 \pm 1,5$	53,3	47,2 ; 59,4

F1: temperatura (°C). F2: massa de inóculo (mg de SSV). F3: tempo de reação (h). dp: desvio padrão entre as repetições.

Como podem ser observados na Tabela 5.8 os valores médios obtidos nos experimentos de validação A, B e C apresentam-se dentro do intervalo estabelecido pelo modelo, portanto, os valores de eficiência de remoção de DQO previstos pelo modelo descrito na Equação 5.1 são estatisticamente iguais ao nível de 5% em relação aos valores obtidos experimentalmente.

Além do diagnóstico de homoscedasticidade e dos *outliers* dos resíduos, Rodrigues e Iemma (2005) afirmam que o modelo estatístico (Equação 5.1) deve atender as condições estatísticas onde os erros de ajustamento sejam normalmente distribuídos (Figura 5.8c) e independentes (Figura 5.8d).

A terceira análise realizada foi o diagnóstico da normalidade dos resíduos (Figura 5.8c). A normalidade dos resíduos é uma suposição essencial para que os resultados do ajuste do modelo de regressão linear sejam confiáveis. De acordo com Calado e Montgomery (2003) e Barros Neto et al. (2010) o modelo descrito na Equação 5.1 só pode ser usado se os dados referentes aos resíduos atenderem a condição de normalidade, portanto, caso o teste aponte

que esta premissa é inválida, os coeficientes de regressão (Tabela 5.7) e o modelo descrito pela Equação 5.1 não podem ser usados. Neste caso, o experimento para geração do modelo deve ser modificado (introduzindo outras variáveis explanatórias, ou mudando o tipo do modelo ou planejamento) para que os erros se comportem como uma variável normal.

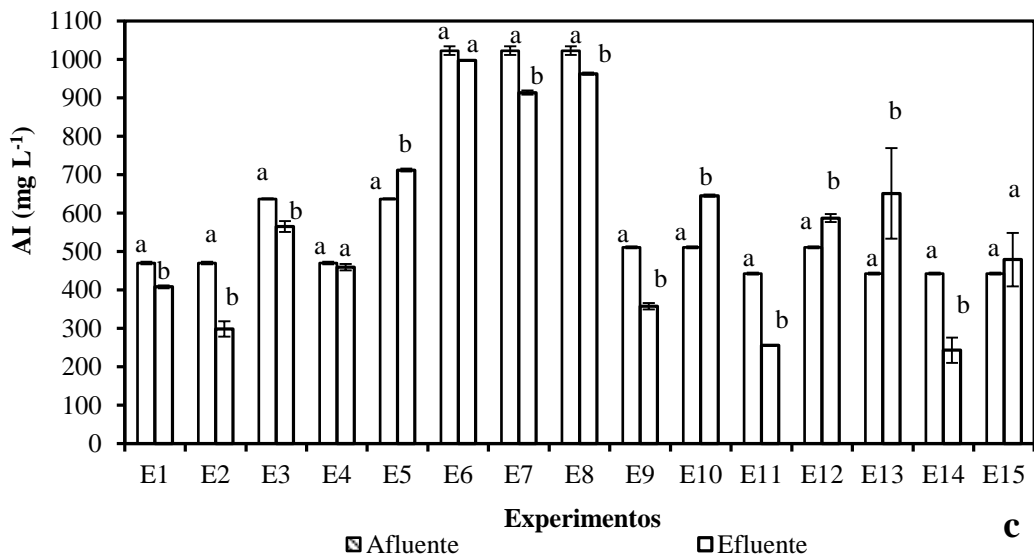
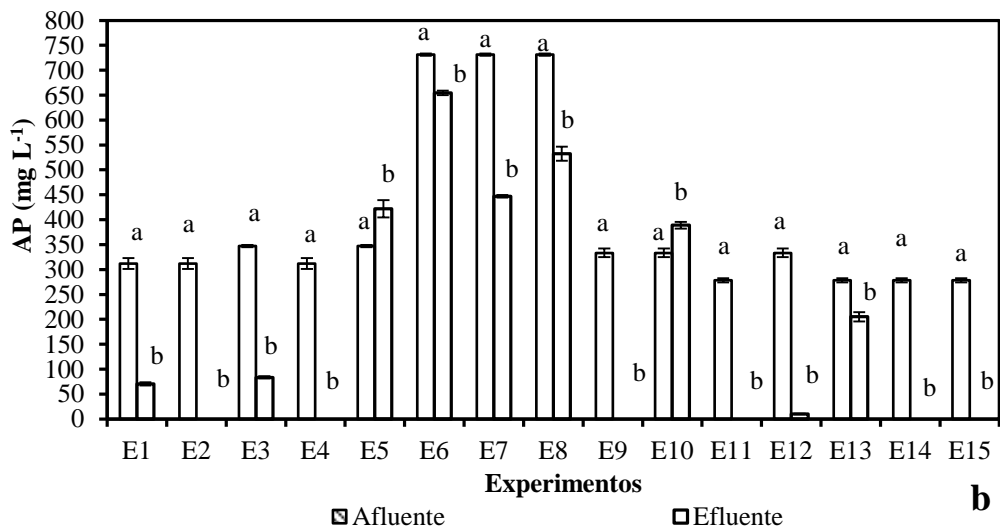
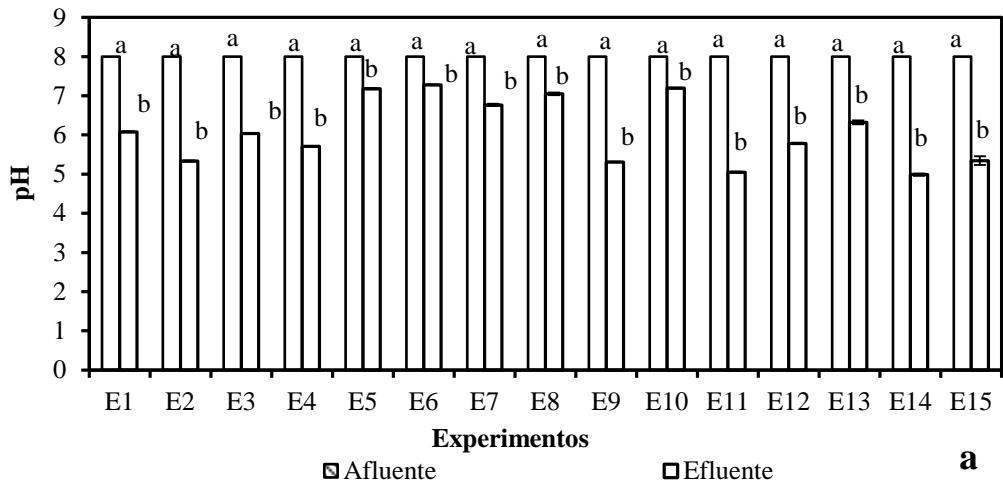
Calado e Montgomery (2003) e Rodrigues e Iemma (2005) mostram que quando os pontos seguem o comportamento da reta (não estão distantes dela), tem-se indícios de que os erros são normalmente distribuídos. Visto o exposto, observando o comportamento apresentado na Figura 5.8c é possível inferir que os dados referentes aos resíduos do modelo estatístico seguem o comportamento de normalidade necessário para a utilização do mesmo para previsão e simulação dos resultados.

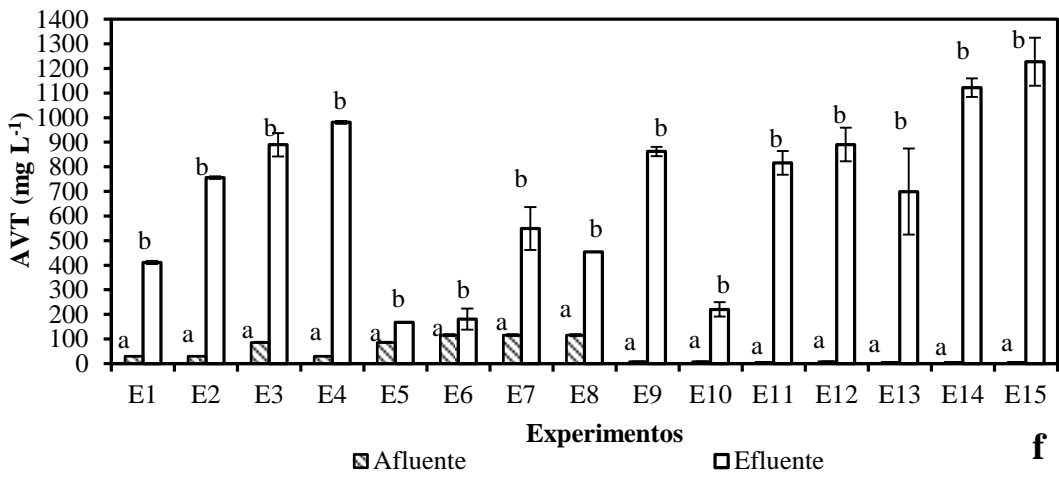
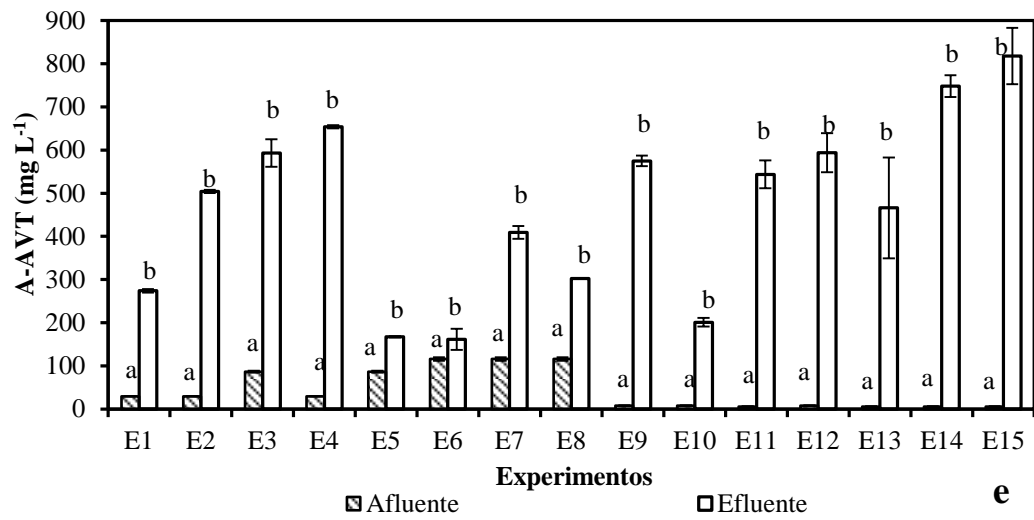
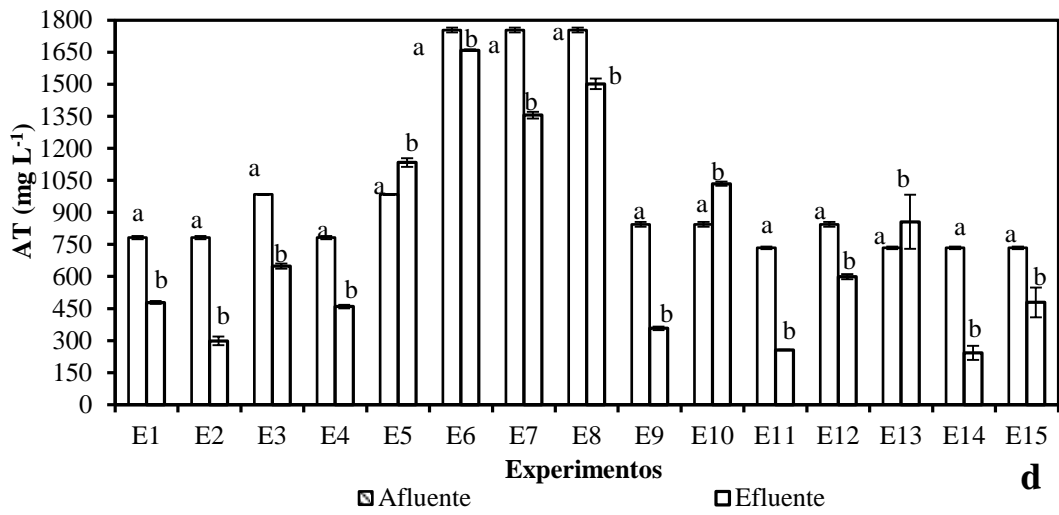
A quarta análise realizada foi o diagnóstico da independência dos resíduos. (Figura 5.8d). De acordo com Rodrigues e Iemma (2005) para verificar a hipótese de independência dos resíduos deve ser utilizada a relação dos resíduos versus a ordem da coleta dos dados dos 24 experimentos ou número de casos. Ao avaliar o referido gráfico apresentado na Figura 5.8d não foi possível perceber uma tendência dos 24 pontos, ou seja, não há indícios de dependência dos resíduos.

Com base nos resultados apresentados na Figura 5.8 é possível inferir que os resíduos do modelo descrito na Equação 5.1 atendem as condições de normalidades, homoscedasticidade e independência podendo-se confiar no modelo proposto. Com base nos experimentos de calibração (Tabela 5.7) e validação (Tabela 5.8) é possível afirmar que o modelo descrito na Equação 5.1 possui robustez, podendo este ser utilizado para previsão e simulação de dados, controle de processos e escalonamento do AnSBR utilizados para o tratamento da ARIB, desde que obedecidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do modelo (Tabela 5.2).

5.3.3- AVALIAÇÃO DO PH, DA ACIDEZ E DA ALCALINIDADE EM CADA EXPERIMENTO

Os valores de pH, acidez e alcalinidades encontrados para o afluente e efluente de cada experimento estão apresentados na Figura 5.9.





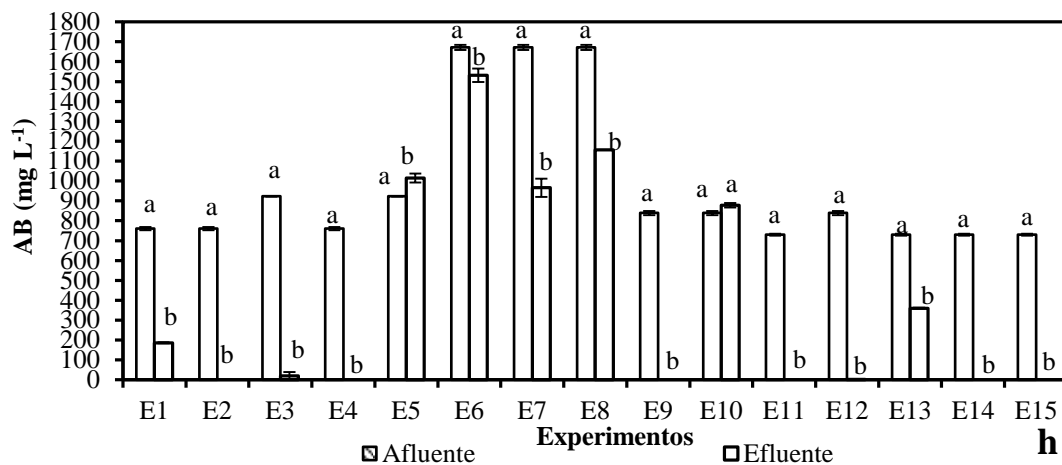
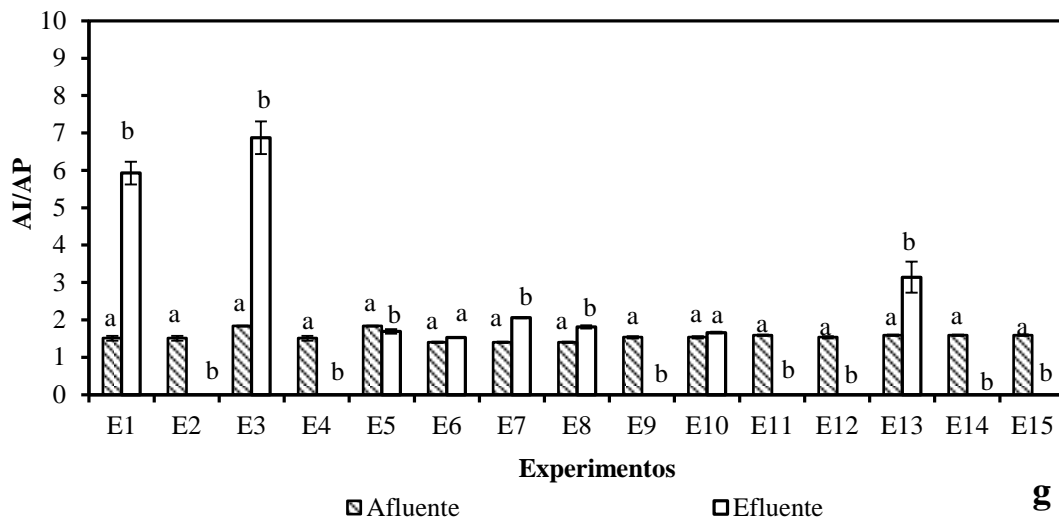


Figura 5.9- Comportamento do pH (a), AP: alcalinidade parcial (b), AI: alcalinidade intermediária (c), AT: alcalinidade total (d), A-AVT: alcalinidade a ácidos voláteis totais (e), AVT: ácidos voláteis totais (f), AI/AP: relação de Ripley (g), AB: alcalinidade bicarbonato (h) do afluente e efluente de cada experimento. Unidades- pH e IA/PA: adimensional. AP, AI, AT, A-AVT, AB: mg L^{-1} em termos de CaCO_3 , AVT: mg L^{-1} em termos de CH_3COOH .

A Figura 5.9 apresenta os resultados do teste t de comparação entre as médias da amostra afluente e efluente para cada experimento, sendo que quando o valor do efluente mostra-se diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$) e maior que o valor do afluente é um indicativo de geração do parâmetro após o tratamento no AnSBR. Se o valor do efluente mostra-se diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$) e menor que o valor do afluente é um indicativo de consumo do parâmetro após o tratamento no AnSBR. Todavia, se o valor do efluente mostra-se estatisticamente igual ($p > 0,05$) ao do afluente é um indicativo de que durante aquele experimento o tratamento no AnSBR não influenciou aquele parâmetro.

Para o parâmetros pH (Figura 5.9a), os valores da amostra efluente foram estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$) e menores que os valores da amostra afluente ao AnSBR, indicando que nos 15 experimentos, após o tratamento da ARIB no AnSBR, ocorreu uma queda no valor

do pH. A redução no valor de pH das amostras efluentes ao reator em relação as amostras afluentes pode estar relacionada a geração de AVT (Figura 5.9f) resultante da biodegradação anaeróbia da ARIB em AnSBR, fazendo com que a amostra efluente apresente concentrações estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$) e maiores que os valores da amostra afluente ao AnSBR caracterizando produção de AVT após o processo de tratamento.

Estudos realizados por Silva et al. (2010), Bezerra et al. (2011) e Lovato et al. (2012) a produção de AVT é uma tendência natural da ARIB ao ser tratada em reatores anaeróbios. De acordo com esses autores a ARIB ao ser tratada com processos anaeróbios gera compostos intermediários da degradação como ácidos acético, butírico, propiônico, valérico, capróico dentre outros ácidos e álcoois como butanol e etanol que acidificam o meio consumindo as alcalinidades e diminuindo o pH da amostra efluente.

Em relação ao comportamento das AP (Figura 5.9b), AI (Figura 5.9c), AT (Figura 5.9d), A-AVT (Figura 5.9e) e AB (Figura 5.9h) é possível observar que nos experimentos onde a amostra efluente apresentou valor de pH abaixo de 5,75 (E2, E4, E9, E11, E12, E14, E15) houve consumo total de AP e AB, refletindo em quedas substanciais de AT, justificando o fato que nos experimentos E2, E4, E9, E11, E12, E14, E15 terem sido evidenciadas as maiores variação entre a AT do efluente em relação ao afluente. Em estudo realizado por Lovato et al. (2015) utilizando um AnSBBR no tratamento anaeróbio da ARIB com pH entre 7,5 e 8,2; DQO, AVT e AT entre 1000 a 5000 mg L⁻¹, 0 a 100 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH, 100 a 175 mg L⁻¹ em termos de CaCO₃, foi observado o consumo total de AT com a concentração efluente desta chegando a zero e geração de AVT com concentração efluente chegando a 1000 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH. Neste trabalho como pode ser observado na Figura 5.9d não foi observado experimento que resultasse em no consumo total de AT, mesmo para aqueles em que foi observado consumo total de AP e AB, evidenciando que a AT nestes experimentos foi mantida pelas AI e A-AVT.

Para as A-AVT (Figura 5.9e) os valores das amostras efluente foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) e maiores que os valores das amostras afluente ao AnSBR caracterizando a geração de A-AVT no meio para tamponar os AVT produzidos pela biomassa anaeróbia ao degradar a ARIB (Figura 5.9f).

Para as AI (Figura 5.9c) nos experimentos E4, E6 e E15 os valores das amostras afluente e efluente foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) mostrando que as condições experimentais (Tabela 5.3) não influenciaram o comportamento (geração ou consumo) da AI nesses experimentos. Nos demais experimentos foi observado que as AI das amostras afluente e efluente foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), indicando geração de AI nos experimentos E5, E10, E12 e E13 e consumo nos experimentos E1, E2, E3, E7, E8, E9, E11 e E14.

Devido à diversidade de comportamentos para as alcalinidades AI e AP não foi observada uma tendência para a relação de Ripley neste experimento (Figura 5.9g). Além disso, devido ao consumo total da alcalinidade AP nos experimentos E2, E4, E9, E11, E12, E14, E15 não foi possível calcular os valores para relação AI/AP nestes mesmos experimentos.

Para avaliar a resposta dos parâmetros de tamponamento sob os efeitos dos fatores apresentados na Tabela 5.3 e das cargas aplicadas (COV_A e COB) apresentadas na Tabela 5.4, em cada experimento calculou-se a variação entre os valores médios de concentração afluente e efluente (Δ) para cada parâmetro apresentado na Figura 5.9, obtendo a Tabela 5.9.

Tabela 5.9- Variação entre os valores afluente e efluente dos parâmetros de tamponamento e indicativa de geração (Δ negativo) e consumo (Δ positivo).

Experimentos	Parâmetros de tamponamento							
	ΔpH	ΔAP	ΔAI	ΔAT	$\Delta A-AVT$	ΔAVT	$\Delta AI/AP$	ΔAB
E1	1,9	241,6	61,8	303,4	-244,2	-381,2	-4,4	574,1
E2	2,7	311,8	171,6	483,4	-474,2	-726,2	Nd	760,6
E3	2,0	263,7	71,6	335,2	-506,9	-803,5	-5,0	902,0
E4	2,3	311,8	10,8	322,6	-624,0	-950,9	Nd	760,6
E5	0,8	-74,6	-75,1	-149,7	-81,1	-81,1	0,1	-92,1
E6	0,7	76,9	25,4	94,5	-45,8	-64,8	-0,1	140,4
E7	1,2	284,4	109,2	398,4	-293,5	-433,4	-0,7	706,2
E8	0,9	199,0	60,0	251,7	-186,5	-337,7	-0,4	516,2
E9	2,7	333,4	153,6	486,9	-567,0	-854,4	Nd	838,8
E10	0,8	-55,6	-134,3	-189,9	-193,3	-212,5	-0,1	-39,0
E11	3,0	278,4	186,9	478,5	-538,2	-810,1	Nd	730,1
E12	2,2	323,5	-76,1	245,4	-586,0	-882,9	Nd	836,6
E13	1,7	73,3	-208,8	-122,2	-460,5	-693,5	-1,6	370,2
E14	3,0	278,4	199,6	491,2	-742,4	-1116,5	Nd	730,1
E15	2,7	278,4	-36,6	255,1	-812,3	-1221,2	Nd	730,1

Δ : variação entre o valor afluente e efluente encontrado na ARIB. ΔpH : variação do valor de pH. ΔAI : variação do valor da alcalinidade intermediária. ΔAP : variação da alcalinidade parcial. ΔAT : variação da alcalinidade total. $\Delta AI/AP$: variação entre os valores da relação de Ripley. $\Delta A-AVT$: variação da alcalinidade a ácidos voláteis. ΔAVT : variação da concentração de ácidos voláteis totais. ΔAB : variação da alcalinidade bicarbonato.

Os resultados da variação dos parâmetros de tamponamento em cada experimento apresentados na Tabela 5.9 foram correlacionados através de uma matriz multivariada utilizando uma análise de componentes principais com os resultados apresentados nas Tabelas 5.3 e 5.4 para os mesmos experimentos E1 a E15, resultando na Figura 12.

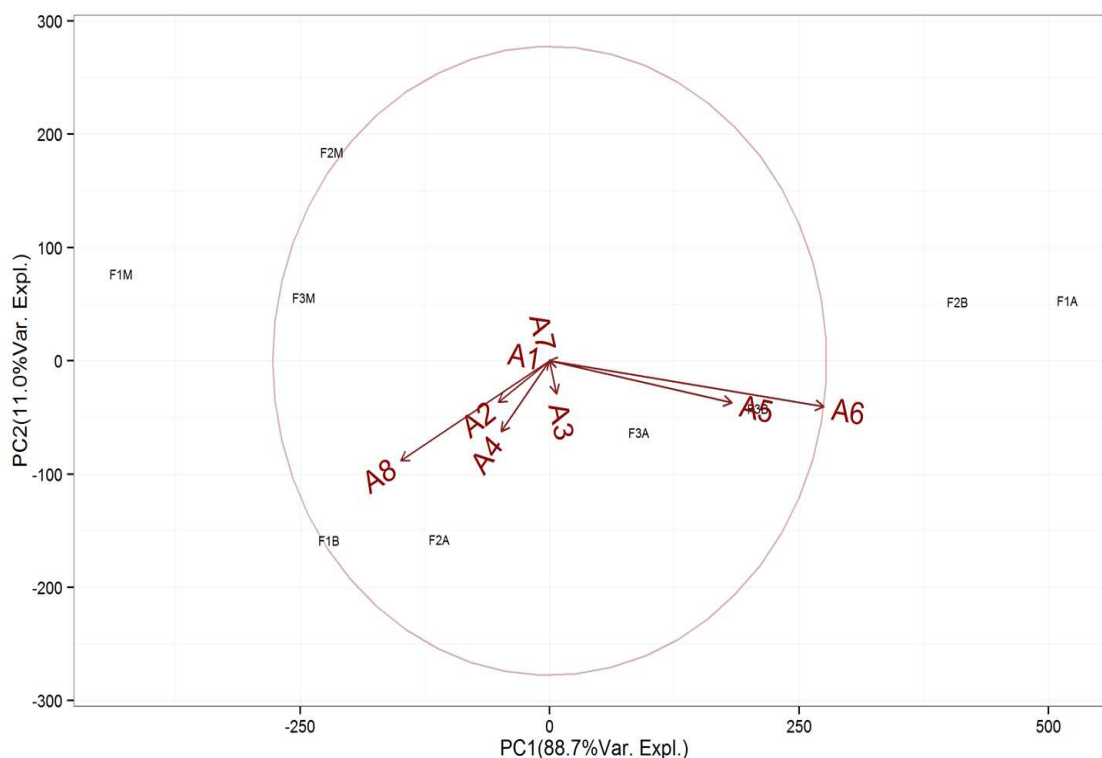


Figura 5.10- Resultado da análise de componentes principais realizada entre os parâmetros de tamponamento e as cargas aplicadas ao AnSBR e fatores controlados nos níveis alto (A), médio (M) e baixo (B). F1: Temperatura de operação ($^{\circ}\text{C}$). F2: Massa de inóculo (mg de SSV). F3: Tempo de reação (h). F4: carga orgânica volumétrica aplicada em termos de DQO ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$). F5: carga orgânica biológica ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$ em termos de DQO/SSV). A1: ΔpH . A2: ΔAP . A3: ΔAP . A4: ΔAT . A5: $\Delta \text{A-AVT}$. A6: ΔAVT . A7: $\Delta\text{AI/AP}$. A8: ΔAB . As letras A, M, B que seguem os fatores indicam os valores alto (A), médio (M) e baixo (B) utilizado para cada fator.

A Figura 5.10 mostra o gráfico com a componente principal 1 (PC1) e a componente principal 2 (PC2). A primeira componente principal (PC1) explica 88,7% e a segunda componente principal (PC2) explica 11% da variação total. As variáveis A1, A3 e A7 não afetam a componente PC1, pois os seus pesos são muito baixos, 0,001; 0,02 e 0,0005 respectivamente. A análise dos *scores* permitiu a separação dos valores dos níveis médios dos fatores F1, F2 e F3 (F1M, F2M e F3M), do valor referente ao nível baixo do fator F2 (F2B) e do valor referente ao nível alto do fator F1 (F1A) dos demais experimentos.

Os *loadings* positivos dos parâmetros A5 ($\Delta \text{A-AVT}$) e A6 (ΔAVT) encontram-se deslocados para os níveis alto e baixo do fator tempo de reação (F3A e F3B), mostrando alta relação entre esse fator com os parâmetros A5 e A6. Considerando que o valor de F3B é 16 h e o valor de F3A é de 24 h é possível afirmar que quanto menor for o valor do tempo de reação abaixo de 16 h ou quanto maior for o valor do tempo de reação acima de 24 h, possivelmente maior será a produção de AVT e A-AVT, promovendo o azedamento do reator. Isso justifica

as produções máximas AVT e A-AVT nos experimentos E14 e E15 que possuíam, para a mesma quantidade de biomassa, valores de tempo de reação de 13 e 27 h, respectivamente.

Os *loadings* negativos dos parâmetros A2, A4 e A8 encontram-se deslocados para o nível baixo do fator 1 (F1B) e para o nível alto do fator 2 (F2A). Essa relação indica que quanto menor for o valor da temperatura e sinergicamente maior for o valor da massa de inóculo, maior será o valor positivo da variação do consumo das AP, AT e AB. Isso explica o resultado observado no experimento E9 em que o AnSBR operou com valores de temperatura de 31,6 °C e massa de inóculo de 65350 mg de SSV promovendo o maior valor de variação referente ao consumo de AP, AT e AB. Portanto, a geração das alcalinidades parcial, bicarbonato e total no AnSBR pode ser favorecida operando o reator acima da temperatura média de 40 °C e com valores de biomassa abaixo do valor médio de 65350 mg de SSV.

Com base na análise realizada é possível afirmar que os fatores temperatura, massa de inóculo e tempo de reação influenciam no tamponamento proveniente das AP, AT e AB que tiveram seus comportamentos em termos de geração e consumo mais pronunciados durante a biodegradação anaeróbia da ARIB. Neste contexto para entendimento do processo de geração e consumo de alcalinidade é necessário fixar os fatores em valores otimizados e avaliar o desempenho do reator em termos de capacidade de tamponamento ao longo do tempo.

5.4- CONCLUSÕES

Os fatores temperatura de operação, massa de inóculo e tempo de reação mostraram-se influentes na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol e na consumo e geração das AT, AB e AP.

O reator AnSBR mostrou que pode apresentar um desempenho máximo se operar com os valores de massa de inóculo, tempo de reação e temperatura de operação próximos de 101990 mg de SSV, 20 h e 36 °C. Todavia, como neste trabalho os valores desses fatores foram otimizados realizando a troca de biomassa após cada batelada, acredita-se que os mesmos possam mudar quando o AnSBR for operado a longo prazo devido a aclimatização e fortalecimento da biomassa perante o substrato.

O modelo matemático gerado através deste trabalho possui robustez e precisão podendo ser utilizado para previsão e simulação de dados de eficiência, controle de processos e escalonamento de AnSBR utilizados para o tratamento da ARIB, desde que obedecidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do modelo.

A massa de inóculo mostrou-se como o fator de maior relevância na remoção de matéria orgânica da ARIB, sendo que o aumento na eficiência de remoção de DQO é proporcionado com o aumento na massa de inóculo de forma linear.

5.5- REFERÊNCIAS

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA- AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd. ed. Washington. D.C.: APHA/AWWA/WEF, 2012.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Porto Alegre: Editora Bookman, 2010, 413 p.

BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.

BOX, E. G. P.; HUNTER, W. G. E.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building**. New York: John Wiley, 1978. 664p.

BODIK, I.; HERDOVA, B.; DRTIL, M. The use of upflow anaerobic filter and AnSBR for wastewater treatment at ambient temperature. **Water Research**, v. 36, p. 1084–1088, 2002.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos**. Rio de Janeiro: Editora e-papers, 2003, 260 p.

CASTRILLÓN, L.; FERNÁNDEZ-NAVA, Y.; ORMAECHEA, P.; MARAÑÓN, E. Methane production from cattle manure supplemented with crude glycerin from the biodiesel industry in CSTR and IBR. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 312–317, 2013.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2007. 359p.

DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R.S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.

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

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**. v.35, p. 1039-1042, 2011.

JENKINS, S. R., MORGAN, J. M., SAWYER, C. L. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 55, p. 448-453, 1983.

JOHNSON, D. T., TACONI, K. A. The glycerin glut: options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. **Environmental Progress**, v. 26, p. 338–348, 2009.

LIM, J. S.; FOX, P. E. A kinetic evaluation of anaerobic treatment of swine wastewater at two temperatures in a temperate climate zone. **Bioresource Technology**, v.102, p. 3724–3729, 2011.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007–2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 128–137, 2015.

METCALF; EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. New York: McGraw-Hill, 2003. 1334 p.

MUNOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240p.

NOVAES, L. F.; SARATT, B. L.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and agitation on the performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1647–1656, 2010.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MOTTERAN, F. Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of Anaerobic Baffled Reactor in series with Up-flow Anaerobic Sludge Blanket reactor in the treatment of pig farming wastewater. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, p. 477–483, 2013.

POTT, R. W. M.; HOWE, C. J.; DENNIS, J. S. The purification of crude glycerol derived from biodiesel manufacture and its use as a substrate by *Rhodospseudomonas palustris* to produce hydrogen. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 464–470, 2014.

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, p. 406–411, 1986.

RINCÓN, L. E.; JARAMILLO, J. J.; CARDONA, C. A. Comparison of feedstocks and technologies for biodiesel production: An environmental and techno-economic evaluation. **Renewable Energy**, v. 69, p. 479–487, 2014.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos – uma estratégia sequencial de planejamentos**. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. 325 p.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville: Archae Press, 1996. 394 p.

ULLAH, F.; DONG, L.; BANO, A.; PENG, Q.; HUANG, J. Current advances in catalysis toward sustainable biodiesel production. **Journal of the Energy Institute**, v.1, p. 1-11, 2015.

CAPÍTULO 6- DESEMPENHO DE UM ANSBR OPERANDO SOB CONDIÇÕES OTIMIZADAS NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE BIODIESEL

RESUMO

Estudos que relatam o desempenho de AnSBR operando com cargas orgânicas constantes deste a partida até o estado estacionário no tratamento da ARIB são de fundamental importância para a previsão de eficiências e escalonamento da unidade. Este trabalho foi realizado com o objetivo de submeter um AnSBR as condições otimizadas e operá-lo com carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A) de valor constante propiciando ao reator as condições de eficiência máxima para remoção da matéria orgânica da ARIB. Com os resultados, observou-se que aplicando uma COV_A de $11,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO, os valores de eficiência de remoção desta variável diminuíram de 51 para 10% após o período de operação estudado. Além da diminuição na eficiência de remoção foi observado azedamento do reator com acúmulo de AVT após o 8º ciclo de operação com concentrações máximas acima de 4500 mg L^{-1} em termos de CH_3COOH no 10º ciclo, consumo total das alcalinidades bicarbonato e parcial, varredura da biomassa, desfragmentação do lodo e modificação da diversidade microbiana. Os resultados evidenciaram que embora as condições estivesse otimizadas, o AnSBR tratando ARIB não pode operado com valor único de carga sugerindo assim o aumento progressivo por meio da concentração afluenta para evitar a saturação e cisalhamento da biomassas além do azedamento do reator.

Palavras-chave: azedamento, endogenia, varredura da biomassa, cisalhamento da biomassa

6.1- INTRODUÇÃO

Visando substituir o uso do óleo diesel, o Brasil vem incorporando o biodiesel na matriz energética nacional através 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 e da Medida Provisória 214, de 13 de setembro de 2004, convertida na Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 (ANP, 2016). Para essa substituição o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) estabeleceu que, a partir de 2010 o percentual mínimo obrigatório de biodiesel adicionado ao óleo diesel seria de 5% (ANP, 2016).

De acordo com Scaramuzzo (2011) para a fabricação de um quilo de biodiesel produzido, aproximadamente 100 g de glicerol são gerados como subproduto da reação de transesterificação, por isso no ano de 2010, 250.000 t de glicerol foram geradas pelas usinas brasileiras de biodiesel e em 2011 foram geradas aproximadamente 300.000 pelas mesmas usinas. Pott et al. (2014) e Daud et al. (2014) relatam que refinar todo o glicerol bruto produzido é inviável economicamente, por isso, muitos produtores de biodiesel vêm descartando o volume não beneficiado misturando-o com outros subprodutos aquosos da indústria de biodiesel gerando a chamada água residuária da indústria de biodiesel (ARIB).

Analisando os publicados por Selma et al. (2010); Bezerra et al. (2011); Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013) é possível perceber que ainda não existem valores de parâmetros operacionais e condições de processo ideais para o tratamento da ARIB, visto que diversos fatores influenciam no processo de remoção de DQO da ARIB. Os autores citados discorrem sobre a necessidade da otimização do processo aneróbio para tratamento da ARIB, visto que isso poderia propiciar maiores produções de biogás.

Como foi descrito no capítulo 1 após a realização do estado da arte em relação ao tratamento da ARIB e o glicerol concluiu-se que os fatores que diversos pesquisadores afirmavam ser influentes no tratamento anaeróbio da ARIB possuíam efeitos sinérgicos, sugerindo a utilização de delineamentos experimentais multivariados e não univariados neste tipo de estudo. Neste contexto, utilizando todos os parâmetros descritos na literatura como influentes para o processo de biodegradação anaeróbia da ARIB, avaliou-se a interação entre diferentes níveis de pH, temperatura, agitação, concentração afluente de DQO, massa de inóculo e tempo de reação na biodegradação anaeróbia do glicerol presente na ARIB durante o seu tratamento em AnSBR, com o objetivo de determinar como esses seis fatores influenciavam na eficiência de remoção de DQO da ARIB.

Com os resultados do capítulo 4 concluiu-se que os fatores temperatura de operação, velocidade de agitação, massa de inóculo e tempo de reação mostraram-se como os mais influentes na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol. O pH inicial da ARIB embora não tenha se mostrado um fator estatisticamente significativo deve ser considerado de influência direta no tamponamento do AnSBR. Além disso, o modelo matemático apresentado no capítulo 4 pode ser utilizado para previsão e simulação de dados de eficiência, controle de processos e escalonamento do AnSBR utilizados para o tratamento da ARIB, desde que obedecidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do mesmo. Embora, os resultados apresentados no capítulo 4 tenham contribuído para o melhor entendimento do problema, os mesmos foram referentes a estudos de aperfeiçoamento do processo de biodegradação anaeróbia do glicerol e não a otimização do mesmo.

Com base na análise exploratória realizada no capítulo 4 o processo de tratamento da ARIB em AnSBR foi otimizado (capítulo 5) obtendo como variável resposta a remoção ótima de DQO devido a degradação máxima de glicerol. Utilizando os resultados do capítulo 5 foi possível concluir que os valores pontuais otimizados para os fatores velocidade de agitação, massa de inóculo e tempo de reação do reator seriam 40 rpm, 101990 mg de SSV e 20 h, respectivamente. Já o fator temperatura de operação permanecia no intervalo entre 36 e 42 °C. De acordo com os resultados do Capítulo 4, os fatores pH e concentração de DQO da ARIB afluente não tinham influência estatística significativa na remoção de DQO, assim, foram adotados os valores de 8 e 30000 mg L⁻¹, respectivamente, os quais são rotineiramente encontrados para ARIB em plantas operando em escala industrial.

A biomassa utilizada em cada ensaio estava na condição *in natura* para que a partida do AnSBR em cada experimento ocorresse em condição igualitária. Além dos pontos otimizados, os autores desenvolveram dois modelos para simulação e controle do processo. Embora o AnSBR tenha sido caracterizado com uma batelada (em duplicata) operando no ponto otimizado, foi observado a necessidade de operação constante e monitoramento do mesmo da partida e aclimatização da biomassa até o estado estacionário, sendo esse conhecimento fundamental para o escalonamento do AnSBR. Além disso, permitiria verificar o desempenho do processo tanto em relação a remoção de matéria orgânica quanto em manutenção do tampouamento.

Visto o exposto, o objetivo desse trabalho foi submeter um AnSBR operando no tratamento da ARIB as condições otimizadas no Capítulo 5 e avaliar desempenho do mesmo da partida ao estado estacionário. Neste contexto, fez-se o uso dos modelos matemáticos apresentados no referido capítulo para previsão dos resultados em cada ensaio além da análise dos resultados em relação aos obtidos experimentalmente.

6.2- MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1- APARATO EXPERIMENTAL GERAL

O AnSBR (Figura 4.1) e o impelidor (Figura 4.2) utilizados neste experimento foram descritos no item 4.2.1.

6.2.2- PREPARO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA INDÚSTRIA DE BIODIESEL (ARIB)

A ARIB utilizada durante todo o experimento foi formulada com glicerol comercial (única fonte de matéria orgânica) diluído em água destilada. A DQO_T da ARIB afluyente utilizada ao longo de todo o experimento foi fixada em 30000 mg L⁻¹ em termos de O₂.

Para essa DQO_T foram determinadas as concentrações de nitrogênio (proveniente da ureia) e fósforo (proveniente de uma mistura de sais fosfatados) para manutenção da relação DQO:N:P de 1000:5:1.

Para o cálculo da massa de ureia necessária adotou-se a relação que 60 g de ureia (CH₄N₂O) continham 28 g de nitrogênio.

Para elaboração de 452g de mistura de fósforo que continha 93 g de fósforo foram utilizados 136 g de Fosfato de Potássio Monobásico (KH₂PO₄), 174 g de Fosfato de Potássio Dibásico (K₂HPO₄) e 142 g de Fosfato de Sódio Dibásico (Na₂HPO₄), sendo que de cada massa de sal fosfatado foram retirados 31 g de fósforo. A mistura foi homogeneizada e pulverizada em Charriot com o auxílio de um Almofariz e após foi guardada em um frasco vedado para diminuir os efeitos da higroscopicidade da mistura. Após, na solução foram inseridos os demais macronutrientes e micronutrientes nas concentrações apresentadas na Tabela 6.1.

Tabela 6.1- Composição da ARIB utilizada ao longo do experimento

Compostos	Concentração na ARIB (mg L ⁻¹)
Glicerina	777
(1000 mg de DQO = 777 mg de glicerina)	(1000 mg L ⁻¹ de DQO)
Sulfato ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	2,50
Cloreto férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	0,25
Cloreto de cálcio (CaCl ₂ .2H ₂ O)	2,06
Cloreto de cobalto (CoCl ₂ .6H ₂ O)	0,04
Dióxido de selênio (SeO ₂)	0,04
Cloreto de Magnésio (MgCl ₂ .6H ₂ O)	7,0
Ureia (CH ₄ N ₂ O)	0,4
Mistura de fósforo	0,15
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃)	Variável

Após a confecção da ARIB foi inserido bicarbonato de sódio até a solução apresentar o valor de pH de aproximadamente 8. A suplementação com os nutrientes utilizados também foi utilizada por Silva et al. (2013) e Lovato et al. (2015).

6.2.3- CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO ANSBR

O AnSBR utilizado neste experimento operou de forma intermitente com ciclos completos de 24 h. O Tempo de ciclo (T_C) foi dividido em quatro etapas: alimentação, reação, sedimentação e descarte.

O tempo de alimentação (T_A) foi estabelecido como tempo necessário para abastecer o AnSBR com 2 L de ARIB afluyente com DQO de 30000 mg L^{-1} . Considerou-se como tempo de reação (T_R) o período que a condição de mistura completa foi imposta ao reator, aumentando o contato entre a biomassa e o substrato, propiciando a biodegradação do glicerol. O tempo de sedimentação (T_S) foi definido como tempo necessário para que ocorra, por ação de forças físicas (gravidade), a separação entre a biomassa e a ARIB tratada, denominada sobrenadante. E por fim o tempo de descarte (T_D) adotado foi o tempo necessário para a retirada de 2 L de sobrenadante deixando o reator apto para novas bateladas. Ao longo de todo o período de monitoramento os valores de T_A , T_R , T_S e T_D submetidos ao AnSBR utilizado foram fixados em 0,5; 20; 3 e 0,5 h respectivamente, totalizando um T_C de 24 h. Os valores adotados foram baseados nos estudos apresentados nos capítulos 4 e 5. Neste estudo, a condição de alimentação foi do tipo batelada com relação T_A/T_R de 0,025.

6.2.4- PARTIDA DO ANSBR: A PRIMEIRA BATELADA

A biomassa utilizada na inoculação do AnSBR foi proveniente do reator anaeróbio de manta de lodo utilizado no tratamento de esgoto sanitário e apresentava as características apresentadas na Tabela 6.2.

Tabela 6.2- Parâmetros de caracterização da biomassa anaeróbia utilizada como inóculo do reator AnSBR.

Parâmetro	Concentração (Média \pm DP)
Sólidos Totais (ST)	$74585 \pm 573 \text{ mg L}^{-1}$
Sólidos Voláteis Totais (SVT)	$43567 \pm 380 \text{ mg L}^{-1}$
Sólidos Fixos Totais (SFT)	$31018 \pm 329 \text{ mg L}^{-1}$
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	$1912 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$
Fósforo Total (P_T)	$862 \pm 11 \text{ mg L}^{-1}$
Sódio Total (Na^+)	$128,0 \pm 7,9 \text{ mg L}^{-1}$
Potássio Total (K^+)	$55,3 \pm 7,8 \text{ mg L}^{-1}$

As análises do lodo foram realizadas segundo os procedimentos descritos na Tabela 4.4. Para a realização da primeira batelada foi inoculado no reator 2,34 L de biomassa totalizando uma massa de lodo *in natura* de 101990 mg de SSV.

Após a inoculação, o reator foi enchido com 2,66 L de ARIB durante o T_A . Em seguida a temperatura do banho termostático do reator foi ajustada para 36 °C, sendo que ao fim do T_A , todo o sistema (biomassa-ARIB) apresentava-se em equilíbrio de temperatura.

Ao fim do T_A o impelidor foi ligado atingindo a velocidade de agitação de 40 rpm, sendo essa condição mantida durante todo T_R . Esperou-se 5 min para que houvesse a homogeneização desejada entre a biomassa e a ARIB, neste momento foi retirado 30 mL de amostra para determinação dos sólidos suspensos voláteis (SSV) no momento da partida, isso foi realizado para determinar a concentração inicial de biomassa levando em consideração a diluição do lodo *in natura* pela água residuária. Após a retirada da biomassa, o AnSBR operou ao longo de todo T_R . e ao termino desta etapa o motor do impelidor foi desligado e iniciou-se a etapa de sedimentação da biomassa (T_S). Em seguida, iniciava-se o T_D com a retirada de 2 L do sobrenadante formado após a sedimentação. O sobrenadante retirado neste e nos outros ciclos foi utilizado na realização das análises físicas e químicas descritas na Tabela 4.4 complementada pela Tabela 6.3. Como o volume reacional inicial foi de 5 L, sempre após a retirada do sobrenadante de 2 L permaneciam 3 L de amostra constituída de biomassa e ARIB tratada. Após a retirada do sobrenadante, o reator iniciava uma nova fase de enchimento onde era abastecido com 2 L de ARIB afluyente e um novo ciclo começava. A mesma biomassa foi mantida no AnSBR para realização de todos os ciclos.

Tabela 6.3- Exames, determinações, procedimentos e fontes metodológicas utilizadas nas análises bioquímicas da ARIB e biomassa realizados durante o experimento (complementação da Tabela 4.4)

Exames e Determinações	Procedimentos	Referência
Demanda Bioquímica de Oxigênio: Total ($DBO_5^{20^\circ C_T}$) e solúvel ($DBO_5^{20^\circ C_S}$)	Incubação: 5210- B. Determinação do oxigênio dissolvido pelo método do eletrodo: 4500 - O G.	APHA, AWWA, WPCF (2012)
Proteínas	Método Colorimétrico com leitura em espectrofotômetro	Bradford (1976)
Polissacarídeos	Método Colorimétrico com leitura em espectrofotômetro	Dubois et al. (1956)

Para realização das análises de DQO_5 ; $DBO_5^{20^\circ C_S}$; SST; SSF e SSV, polissacarídeos e proteínas a amostra foi filtrada em filtro de microfibras de vidro com porosidade de 0,6 μm .

Para realização das análises de demanda bioquímica de oxigênio nas frações total e solúvel foi utilizado na fase de incubação um inóculo (semente) industrial denominado Polyseed® fabricado pela Interlab®. O Polyseed® é comercializado em condições onde a bactéria está liofilizada e encapsulada. A ativação do inóculo foi realizada com água destilada a 20°C sob condições de aeração durante 1 h. Conforme o modo de instrução da Interlab® após esse período a semente desliofilizada apresentava-se como uma solução com microrganismos ativos, sendo desta utilizada 4 mL em cada frasco de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$. Os resultados de demanda bioquímica de oxigênio nas frações total ($\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}_{\text{T}}$) e solúvel ($\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}_{\text{S}}$) foram expressos em mg L^{-1} em termos de O_2 consumido para estabilizar biologicamente a matéria orgânica presente na amostra durante os 5 dias de incubação.

O valor médio indicado no termômetro acoplado ao AnSBR (Figura 4.1) foi adotado como a temperatura de operação do reator que registrava os valores máximos, mínimos e atuais coletados durante todo o ciclo.

6.2.5- PARÂMETROS OPERACIONAIS E MONITORAMENTO DO EXPERIMENTO

O reator foi submetido às condições de operacionais ótimas de velocidade de agitação do impelidor de 40 rpm, massa de lodo para inoculação de 101990 mg de SSV, tempo de reação (T_{R}) de 20 h, água residuária com DQO_{T} afluyente de 30000 mg L^{-1} e valor de pH de 8. A temperatura de operação (temperatura do banho termostático do AnSBR) foi mantida no intervalo entre $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Ao longo do experimento, o reator foi monitorado diariamente até observar o estado estacionário no AnSBR em termos de remoção de DQO, sendo neste caso considerado estado estacionário quando a variação entre as coletas não ultrapassasse 15% (METCALF e EDDY, 2015). O número de ciclos realizados por dia (n) foi um ciclo por dia com duração de 24 h cada ciclo.

Os valores de carga orgânica volumétrica aplicada (COV_{A}) e removida (COV_{R}), carga orgânica biológica (COB) e eficiência de remoção (E) foram determinados utilizando as equações 6.1, 6.2, 6.3 e 6.4, respectivamente.

$$\text{COV}_{\text{A}} = \frac{C_{\text{T}} \times V_{\text{AR}} \times n}{V_{\text{T}}} \quad (6.1)$$

$$\text{COV}_{\text{R}} = \frac{(C_{\text{T}} - C_{\text{F}}) \times V_{\text{AR}} \times n}{V_{\text{T}}} \quad (6.2)$$

$$\text{COB} = \frac{C_{\text{T}} \times V_{\text{AR}} \times n}{M_{\text{I}}} \quad (6.3)$$

$$E = \left(\frac{C_{\text{T}} - C_{\text{F}}}{C_{\text{T}}} \right) \times 100 \quad (6.4)$$

Onde:

COV_A : Carga orgânica volumétrica aplicada ($g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO).

COV_R : Carga orgânica volumétrica removida ($g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO).

COB : Carga orgânica biológica ($g g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/SSV).

C_T : Concentração de DQO ou $DBO_5^{20^\circ C}$ afluente na forma total, ou seja, amostra homogeneizada e não filtrada ($g L^{-1}$).

V_{AR} : Volume de água residuária utilizado no abastecimento do reator por ciclo (L).

n: número de ciclos por dia

V_T : Volume total útil do reator (L).

M_I : Massa de inóculo inserida (g de SSV).

C_F : Concentração de DQO ou $DBO_5^{20^\circ C}$ efluente na fração solúvel ($g L^{-1}$).

E: Eficiência de remoção de DQO ou $DBO_5^{20^\circ C}$ (%).

Além dos valores de eficiência de remoção determinados experimentalmente (E), utilizou-se os modelos elaborados no Capítulo 5 e descritos nas equações 6.5 e 6.6 para previsão de eficiência teórica em função das variáveis que governam o processo de biodegradação do glicerol.

$$E_1 = -198,5 + 6,1F_1 - 0,08 F_1^2 + 10^{-3}F_2 - 4,5 \times 10^{-8}F_2^2 + 6,2F_3 - 0,2F_3^2 \quad R^2 = 0,92402 \quad (6.5)$$

$$E_2 = 0,0005 (MI) - 0,8559 \quad R^2 = 0,9564 \quad (6.6)$$

Em que:

F_1 : Variável de conversão do fator temperatura de operação do AnSBR ($^\circ C$).

F_2 : Variável de conversão do fator massa de inóculo presente no meio reacional do AnSBR medida em (mg de SSV).

F_3 : Variável de conversão do fator tempo de reação entre a biomassa e o substrato (h).

MI: Massa de inóculo presente no meio reacional do AnSBR (mg de SSV).

E_1 e E_2 : Eficiência de remoção de DQO simulada pelas equações 6.5 e 6.6 respectivamente (%).

As variáveis de conversão foram obtidas em software Statistic 10.0. Os dados obtidos referentes ao desempenho do AnSBR ao longo do experimento foram submetidos às análises de estatística descritiva utilizando o programa SISVAR, desenvolvido no Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2011).

6.2.6- AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E MORFOLÓGICAS DA BIOMASSA E DIVERSIDADE MICROBIANA

A avaliação das características químicas da biomassa e da diversidade microbiana foi realizada utilizando uma amostra de lodo inoculado no AnSBR (amostra 1) e retiradas do AnSBR após o mesmo alcançar a estabilidade com o azedamento no 15º ciclo de operação (amostra a). Para a caracterização de ambas as amostras foram utilizados 50 mL coletados em frascos esterilizados. A preparação para as análises de microscopia eletrônica de varredura foi realizada seguindo a metodologia proposta por Pereira et al. (2009). A análise foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) da marca JEOL, modelo JSM-6010LA, com tensão de aceleração: 500V a 20kV, resolução de 4 nm (20kV) e magnificação de 8X a 300.000X. Este equipamento continha um detector que possibilitava a realização da análise de espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS) com a análise de microscopia. O detector acoplado ao equipamento era da marca Silicon Drift, tinha uma resolução de 133 eV e janela fina para a detecção de B a U.

A análise da diversidade bacteriana na biomassa utilizada na inoculação e selecionada pelo processo de azedamento após os 15º ciclo de operação do AnSBR foi realizada utilizando a técnica de eletroforese em gel de gradiente de desnaturação (DGGE). A extração do DNA metagenômico das populações de bactérias anaeróbias e arqueias metanogênicas das amostras de ambas as amostras de lodo foi realizada utilizando-se do PowerSoil® DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories Inc.).

Para a análise da diversidade de bactérias anaeróbias e arqueias metanogênicas nas amostras de lodo, foram utilizados os *primers* R1492 (5'-TACCTTGTTACGACTT-3') e F27 (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') (LANE, 1991) para amplificação das regiões V1 a V9 do 16S rDNA. As reações foram realizadas em um volume total de 25 µL contendo 10 ng do DNA molde, 0,2 µM de cada primer, 0,2 mM de dNTPs, GoTaq Buffer (Promega), 3,0 mM de MgCl₂, 0,2 mg.mL⁻¹ de BSA e 1 U de GoTaq DNA polimerase (Promega). As amplificações foram realizadas em termociclador Mastercycler (Eppendorf) através de um ciclo de desnaturação inicial à 94 °C por 4 minutos, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 55 °C por 1 minuto e 72 °C por 1,5 minutos.

Um ciclo de extensão final a 72 °C foi conduzido por 7 minutos. Os produtos (~1400 pb) foram analisados em gel de agarose 2,0 % (m.v⁻¹). O produto da primeira PCR foi utilizada como molde para amplificação das regiões V6 a V9 do 16S rDNA utilizando-se os *primers* R1492 e F984 (5'-AACGCGAAGAACCTTAC-3') (HEUER et al., 1999) contendo um

grampo GC (5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GTC CCG CCG CCC CCG CCC G-3') (MYERS et al., 1985). As reações foram realizadas em um volume total de 25 µL contendo 10 ng do DNA molde, 0,2 µM de cada primer, 0,2 mM de dNTPs, GoTaq Buffer (Promega), 3,0 mM de MgCl₂, 0,2 mg.mL⁻¹ de BSA, formamida 1 % (v.v⁻¹) e 1 U de GoTaq DNA polimerase (Promega).

As amplificações foram realizadas através de um ciclo de desnaturação inicial à 95 °C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 57 °C por 30 segundos e 72 °C por 30 segundos. Um ciclo de extensão final a 72 °C foi conduzido por 1 minuto. Os produtos (~500 pb) foram analisados em gel de agarose 2,0 % (m.v⁻¹).

A análise por DGGE foi realizada utilizando-se o DCode Universal Mutation System (Bio-Rad, HERCULES, CA, USA). Trinta microlitros dos produtos das reações realizadas com os primers F984-GC e R1492 foram aplicados em gel de poliacrilamida (acrilamida: bisacrilamida) a 8 % (m.v⁻¹) em tampão TAE (Tris base 40 mM; ácido acético glacial 20 mM; EDTA 10 mM, pH 8,0) preparados com gradiente desnaturante de 40 a 55 %, a partir das soluções 100 % desnaturante [7 M de uréia e 40 % (v.v⁻¹) de formamida], e 0 % desnaturante. A eletroforese foi realizada durante 20 horas sob 60 V e 60 °C. Após a corrida o gel foi corado por 20 minutos com solução de SYBR Gold (Invitrogen™).

O DNA foi revelado e a imagem digitalizada pelo fotodocumentador Fire Reader XS (Uvitec). As imagens dos géis foram processadas no programa BioNumerics versão 6.0 (Applied Maths, Inc.) para a comparação dos perfis de bandas. As análises foram realizadas com base no coeficiente de similaridade de Dice e no método de agrupamento médio entre grupos (UPGMA). As análises de diversidade e riqueza foram realizadas utilizando-se o software PAST (HAMMER, 2001). Os diagramas de Venn foram construídos pela utilização da ferramenta disponível (http://bioinformatics.psb.ugent.be/cgi-bin/liste/Venn/calculate_venn.html).

6.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1- PARÂMETROS OPERACIONAIS E REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

Nas figuras 6.1 e 6.2 apresentam-se os valores de concentrações de matéria orgânica em termos de DQO (Figura 6.1) e DBO₅^{20°C} (Figura 6.2) afluente e efluente ao AnSBR e os valores de eficiência de remoção calculada com base na Equação 6.4 destes parâmetros obtidos da partida ao estado estacionário.

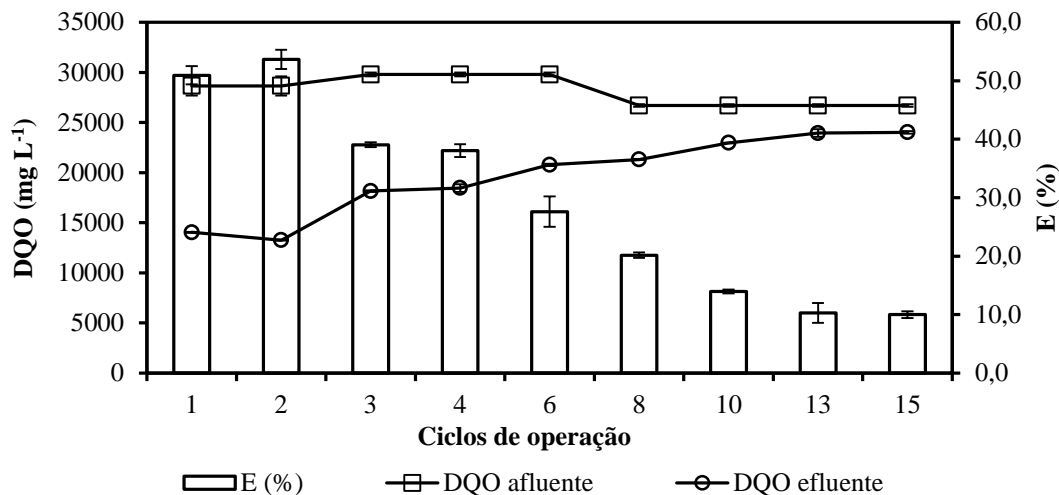


Figura 6.1- Demanda Química de Oxigênio nas amostras afluyente e efluente ao AnSBR e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO da partida ao estado estacionário.

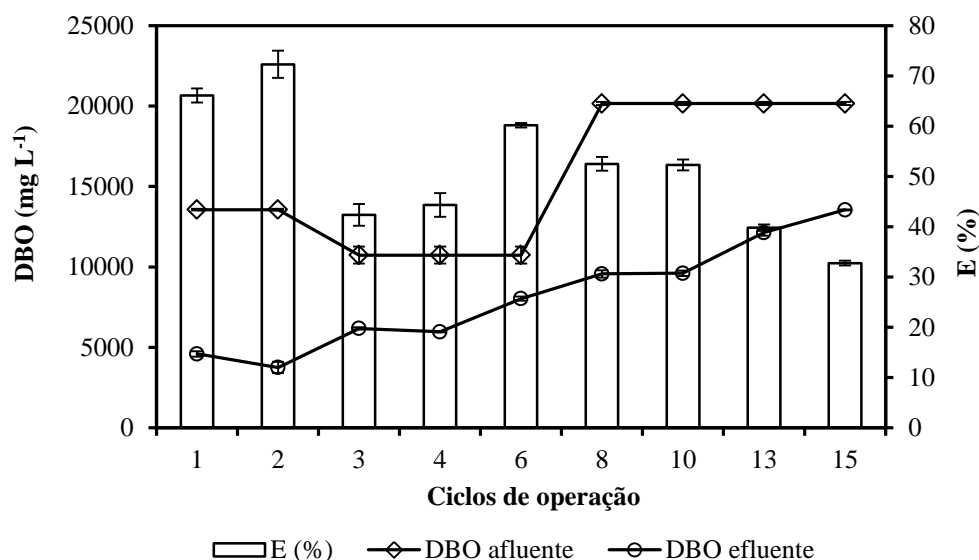


Figura 6.2- Demanda bioquímica de oxigênio nas amostras afluyente e efluente ao AnSBR e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de $DBO_5^{20^\circ C}$ da partida ao estado estacionário.

Como pode ser observado na Figura 6.1, embora a DQO_T afluyente tenha sido fixada em 30000 mg L^{-1} , não foi possível manter a mesma como desejado. A DQO_T afluyente média do afluyente ao longo do experimento foi de $28165 \pm 1379 \text{ mg L}^{-1}$ ou seja com o coeficiente de 5% entre os valores. Já a DQO_S efluente foi variável entre 14044 mg L^{-1} e 24026 mg L^{-1} em função da eficiência do processo, sendo que nos primeiros dias foram observados os maiores valores de eficiência de remoção com uma média de 54% já nos 13° ao 15° ciclos o reator operava com valores médios de 10% de eficiência de remoção de DQO.

A Figura 6.2 mostra que a $DBO_5^{20^\circ C}_T$ da amostra afluyente variaram entre 15545 ± 4248 $mg L^{-1}$ com coeficiente de variação de 27%, portanto oscilaram mais que a DQO_T da mesma amostra. Isso mostra que a biodegradabilidade da ARIB foi variável, provavelmente devido a atividade biológica da semente utilizada na análise de $DBO_5^{20^\circ C}$. Assim como a DQO_5 efluente, a $DBO_5^{20^\circ C}_S$ efluente foram variáveis entre 3755 e 13550 $mg L^{-1}$ em função da eficiência do processo, sendo que nos dois primeiros dias foram observados os maiores valores de eficiência de remoção com uma média de 70%, já do 13º ao 15º ciclos o AnSBR operava com valores médios de 36% de eficiência de remoção de $DBO_5^{20^\circ C}$.

Analisando os resultados dos 13º ao 15º ciclos (Figura 6.1) é possível observar que a variação entre os dados de eficiência foi menor que 15% indicando o estado estacionário. Para confirmar essa suposição, fez-se o teste de média denominado Teste t entre os valores de eficiência de remoção obtidos no 13º ao 15º ciclo, o teste indicou que não havia diferença significativa entre as médias ($p > 0,05$), podendo-se afirmar que o AnSBR apresentou condições de estado estacionário com 15 ciclos de operação indicando eficiência de remoção de DQO média de 10%.

Além dos valores de eficiência de remoção de DQO e $DBO_5^{20^\circ C}$ ao longo do período de operação, a relação $DBO_5^{20^\circ C}/DQO$ foi analisada como indicativo de biodegradabilidade da ARIB antes e após o tratamento como mostrado na Figura 6.3.

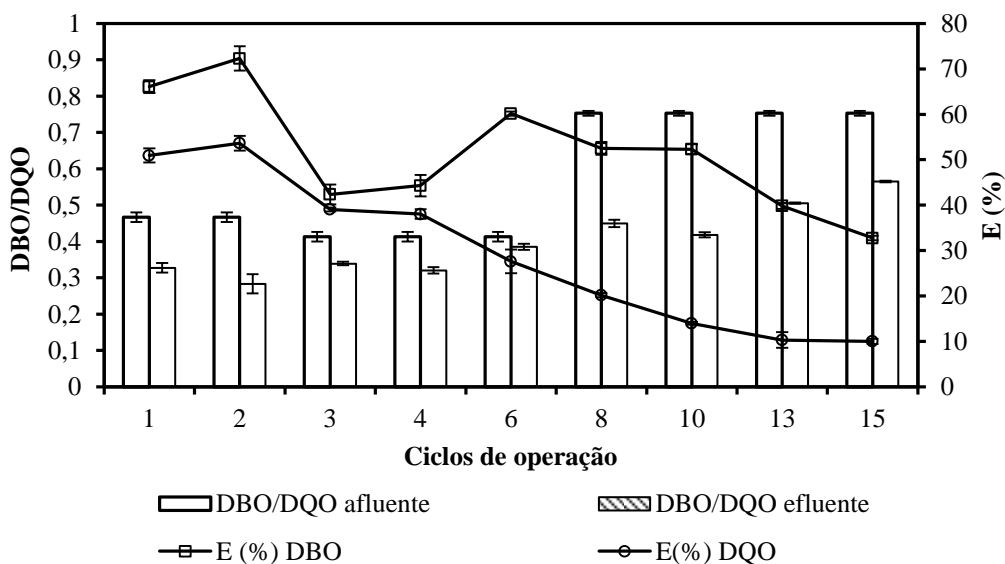


Figura 6.3- Perfil da biodegradabilidade do afluyente e do efluente do AnSBR da partida ao estado estacionário.

Embora tenha ocorrido diminuição nas eficiências de remoção de DQO e $DBO_5^{20^\circ C}$ ao longo do período de operação (figuras 6.1 e 6.2), houve queda de biodegradabilidade da ARIB

(indicada pela relação $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}/\text{DQO}$) do efluente em relação ao afluente como mostra a Figura 6.3. A relação $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}/\text{DQO}$ média encontradas para o afluente e efluente foram 0,6 e 0,4, respectivamente. Esses resultados indicam que o sistema foi capaz de remover em média 33% da biodegradabilidade inicial.

Com os valores de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ afluente e removida em termos de foram calculados os valores de COV aplicada e removida no AnSBR da partida ao estado estacionário (figuras 6.4 e 6.5).

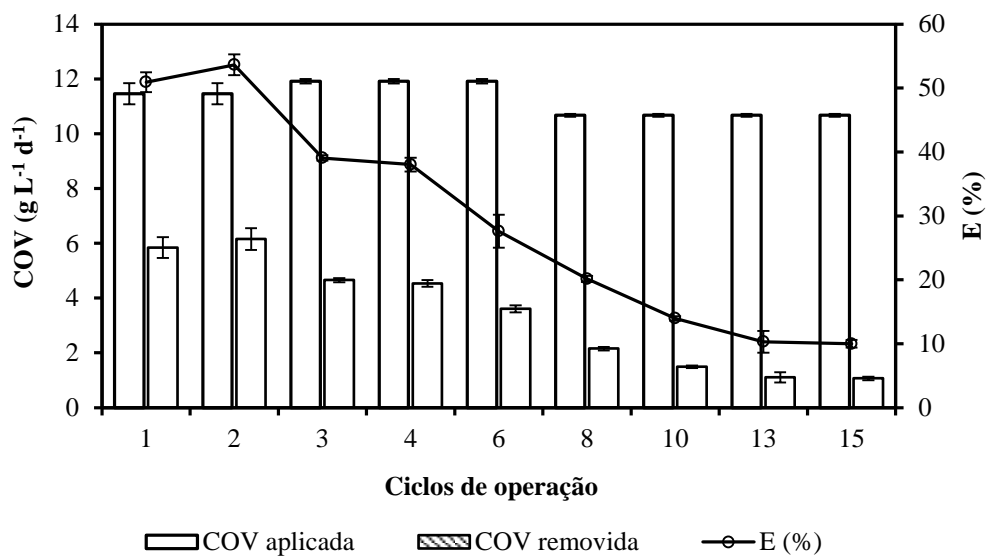


Figura 6.4- Carga orgânica volumétrica aplicada, removida e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO no AnSBR da partida ao estado estacionário.

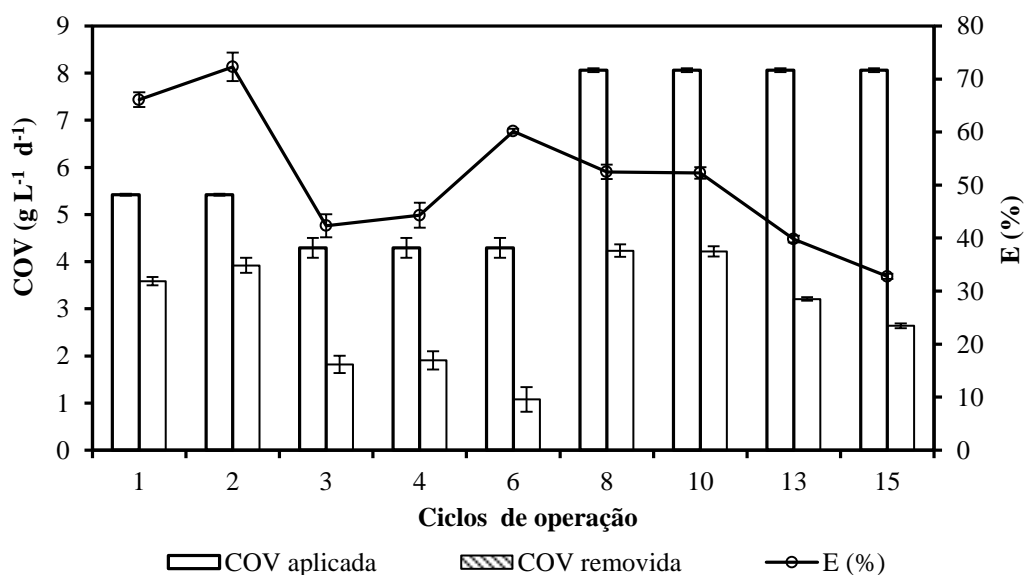


Figura 6.5- Carga orgânica volumétrica aplicada, removida e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ no AnSBR da partida ao estado estacionário.

Como a DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ afluente média de ao longo do experimento foram de $28165 \pm 1379 \text{ mg L}^{-1}$ e $15545 \pm 4248 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, com os outros parâmetros da Equação 6.1 fixados as COV_A em termos de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ foram $11,3 \pm 0,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $6,2 \pm 1,7 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente. Devido os valores de eficiência de remoção de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ diminuírem ao longo do tempo de operação (figuras 6.4 e 6.5) o valor de COV_R diminuiu na mesma intensidade sendo que nos primeiros ciclos foram observados os maiores valores de COV_R com uma média de $6,0 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $3,8 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente. Já nos 13° e 15° ciclos o AnSBR operava com sua menor capacidade de remoção de DQO e $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ com valores entre $1,1 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $2,9 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente. Sendo assim é possível afirmar que embora a COV_A em termos de DQO no AnSBR tenha sido constante e de acordo com os resultados encontrados no Capítulo 5, ideal para a operação do AnSBR, o mesmo operou os maiores valores de eficiência de remoção de matéria orgânica na partida, com instabilidade e uma tendência de decréscimo no valor de eficiência durante o estado transiente até entrar no estado estacionário onde operou com os menores valores de remoção de matéria orgânica.

Como pode ser observado na Figura 6.4 para as condições de COV_A e a concentração de DQO afluente constantes ao longo do tempo, o AnSBR operou com uma faixa de remoção de matéria orgânica na forma de DQO variou entre 54 a 10%, um valor baixo esperado já que o processo visa remoção de matéria orgânica para a produção de metano apenas a partir da hidrólise, acidogênese e acetogênese do glicerol e não a partir da fermentação dos ácidos voláteis gerados que contabilizam DQO ao sistema.

Observação semelhante a esta foi relatada já por Santos et al. (2014) que operaram um AnSBR no tratamento de água residuária sintética usando sacarose como única fonte de carbono. De acordo com os referidos autores, os resultados apresentados nas figuras 6.4 e 6.5 são um indicativo de que a remoção de matéria orgânica na forma de DQO ou $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ não está vinculada ao COV_A ou a outros parâmetros operacionais e sim à possibilidade do tipo de substrato degradado levar à formação de ácidos orgânicos voláteis (AVT) não consumíveis pelas arqueias metanogênicas e até álcoois no efluente do AnSBR.

De acordo com Bravo et al. (2014) o tratamento da ARIB em reatores anaeróbios pode produzir os seguintes metabolitos: etanol, n-butanol, ácido acético, ácido propiônico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido valérico, ácido isovalérico, ácido caproico ambos podendo ser encontrados na amostra efluente do reator junto com glicerol não consumido e até biomassa.

Lovato et al. (2015) utilizaram um AnSBBR no tratamento anaeróbio da ARIB com pH entre 7,5 e 8,2; concentrações de DQO, AVT e AT entre 1000 a 5000 mg L⁻¹, 0 a 100 mg L⁻¹ e 100 a 175 mg L⁻¹ em termos de O₂, CH₃COOH e CaCO₃, respectivamente. O referido reator operou com COV_A entre 2,6 e 17,1 kg m⁻³ d⁻¹ em termos de DQO com tempos de ciclo de 3 a 4 h com eficiências de remoção de DQO de 20 a 40%, consumo de AT com concentração efluente chegando a zero e geração de AVT com concentração efluente chegando a 1000 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH. De acordo com os autores a ARIB ao ser tratada com processos anaeróbios gera compostos intermediários da degradação como ácidos acético, butírico, propiônico, valérico, capróico e álcoois como butanol e etanol que acidificam o meio consumindo a alcalinidade e diminuindo o pH efluente.

Os compostos mencionados por Bravo et al. (2014) e Lovato et al. (2015) estão apresentados na Tabela 6.4 com seus equivalentes de DQO.

Tabela 6.4- Componentes esperados na amostra efluente do AnSBR tratando ARIB e o equivalente de contribuição de DQO para cada componente, adaptado de Bravo et al. (2014).

Componente	Reação bioquímica	Equivalente grama de DQO (g g ⁻¹)
Glicerol	$C_3H_8O_3 + 3,5O_2 \longrightarrow 3CO_2 + 4H_2O$	1,217
Biomassa	$C_5H_9O_3N + 5,5O_2 \longrightarrow 5CO_2 + 4,5H_2O$	1,343
Ácidos Orgânicos Voláteis		
Ácido Acético	$CH_3COOH + 2O_2 \longrightarrow 2CO_2 + 2H_2O$	1,006
Ácido Propiônico	$CH_3CH_2COOH + 3,5O_2 \longrightarrow 3CO_2 + 3H_2O$	1,514
Ácido isobutírico	$CH_3CH_2CH_2COOH + 5O_2 \longrightarrow 4CO_2 + 4H_2O$	1,818
Ácido butírico	$CH_3CH_2CH_2COOH + 5O_2 \longrightarrow 4CO_2 + 4H_2O$	1,818
Ácido isovalérico	$CH_3CH_2CH_2CH_2COOH + 7,5O_2 \longrightarrow 5CO_2 + 5H_2O$	2,036
Ácido valérico	$CH_3CH_2CH_2CH_2COOH + 7,5O_2 \longrightarrow 5CO_2 + 5H_2O$	2,036
Ácido Caproico	$CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2COOH + 8O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$	2,196
Álcoois		
Etanol	$C_2H_6O + 2O_2 \longrightarrow 2CO_2 + 3H_2O$	1,391
n-butanol	$C_4H_{10}O + 6O_2 \longrightarrow 4CO_2 + 5H_2O$	2,59

Sendo assim, o acúmulo desses metabolitos na amostra efluente além de interferir na eficiência de remoção de DQO como mencionado por Santos et al. (2014) promove um aumento no valor da concentração de AVT do efluente em relação ao efluente, podendo em alguns casos causar o azedamento do reator.

De acordo com Langenhoff et al. (2000) a acumulação de AVT acima de 150 mg L⁻¹ em termos de CH₃COOH em reatores anaeróbios é uma primeira indicação de que o sistema não está operando em condições ótimas. Os autores explicam que isso pode acontecer devido às

sobrecargas orgânicas e hidráulicas, sobrecarga tóxica, flutuações na temperatura ou outras condições operacionais podem causar um desequilíbrio no processo, que pode resultar na acumulação de ácidos orgânicos voláteis, especialmente propiônico, butírico e álcoois. O comportamento da concentração de AVT em função das eficiências de remoção de DQO está apresentado na Figura 6.6.

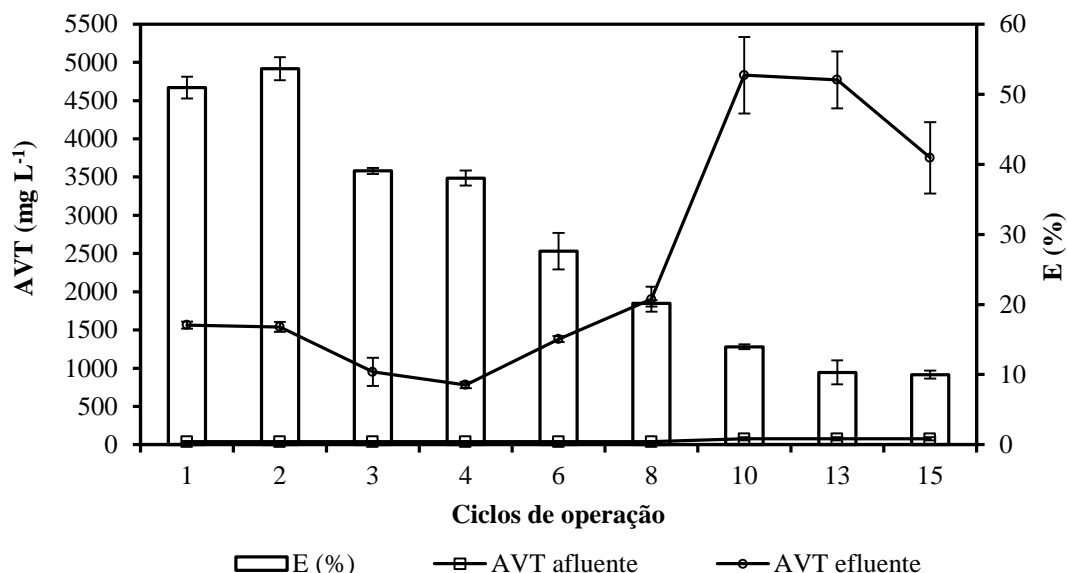


Figura 6.6- Concentrações afluente e efluente de ácidos voláteis totais (AVT) e eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO no AnSBR da partida ao estado estacionário.

Como foi apresentado na Figura 6.6 já na primeira batelada o AnSBR após o tratamento da ARIB produziu uma concentração de AVT de 1500 mg L^{-1} em termos de CH_3COOH com valores oscilando entre 1500 a 2000 mg L^{-1} entre o primeiro e o oitavo ciclos, e a partir deste último foi observado uma progressão constante no aumento da concentração alcançando valores máximos de concentração maiores que 5000 mg L^{-1} .

Comparando os valores de eficiência de remoção de DQO junto com a concentração efluente de AVT é possível perceber que quanto maior a concentração de AVT menor o valor encontrado para a eficiência de remoção de DQO (Figura 6.6). Portanto, o fator que provocou a queda na eficiência de remoção foi à produção de ácidos voláteis totais não consumidos pelas arqueias metanogênicas, e que por isso, se acumularam no meio sendo também acusados na análise de DQO devido ao consumo de oxigênio proveniente do dicromato de potássio (Tabela 6.4).

A produção de ácidos voláteis observada na Figura 6.6 é uma tendência natural da ARIB ao ser tratada em reatores anaeróbios. Neste contexto, eficiências de remoção maiores de DQO implicariam conversão desses ácidos por bactérias acetogênicas que exigem pressões

parciais de hidrogênio baixas e por tanto o consumo de hidrogênio tornando as reações fermentativas termodinamicamente favoráveis, como é especificado por Metcalf e Eddy (2015).

Os dados obtidos evidenciaram que a eficiência de remoção de matéria não estava vinculada à concentração de matéria orgânica aplicada ao reator e nem as outras condições operacionais, pois todos esses fatores foram mantidos constantes, e não foi observado sua influência na eficiência de remoção. Neste contexto, a adaptação da biomassa inoculada ao substrato e seleção para crescimento das arqueias metanogênicas pode ser uma alternativa para obtenção de maiores valores na eficiência de remoção, uma vez que uma ecologia microbiana equilibrada pode auxiliar no consumo dos AVT produzidos evitando seu acúmulo no meio. Isso sugere que antes de submeter o AnSBR a operar com os parâmetros otimizados seja necessário a adaptação da biomassa com aumento progressivo da concentração afluenta (choques orgânicos) iniciando com concentrações menores que a concentração ótima de operação.

6.3.2- INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE TAMPONAMENTO DA EFICIÊNCIA DO REATOR

O pH, alcalinidade, ácidos voláteis totais e a temperatura são fatores ambientais interferentes no desempenho do processo anaeróbio, sendo que estes fatores estão intimamente relacionados. Portanto, o acúmulo de AVT, além da interferência no processo de remoção de DQO (Figura 6.6) pode influenciar outros parâmetros relativos ao tamponamento do meio interferindo no desempenho do processo anaeróbio.

O pH interfere no processo anaeróbio diretamente ao afetar as arqueias metanogênicas têm crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4, embora se possa conseguir estabilidade na formação de metano numa faixa mais ampla de pH, entre 6,0 e 8,0. Valores de pH abaixo de 6,0 e acima de 8,3 devem ser evitados, uma vez que podem inibir por completo metanogênese. O pH ótimo depende tanto do tipo de microrganismo envolvido no processo de digestão, como também do tipo de substrato. A operação de um reator anaeróbio com o pH constantemente abaixo de 6,5 ou acima de 8,0 pode ocasionar uma diminuição expressiva da taxa de produção de metano. A ocorrência de mudanças bruscas de pH também pode afetar negativamente o processo (CHERNICHARO, 2007). Na Figura 6.7 apresentam-se os valores de temperatura média de operação e o comportamento do pH do efluente do AnSBR.

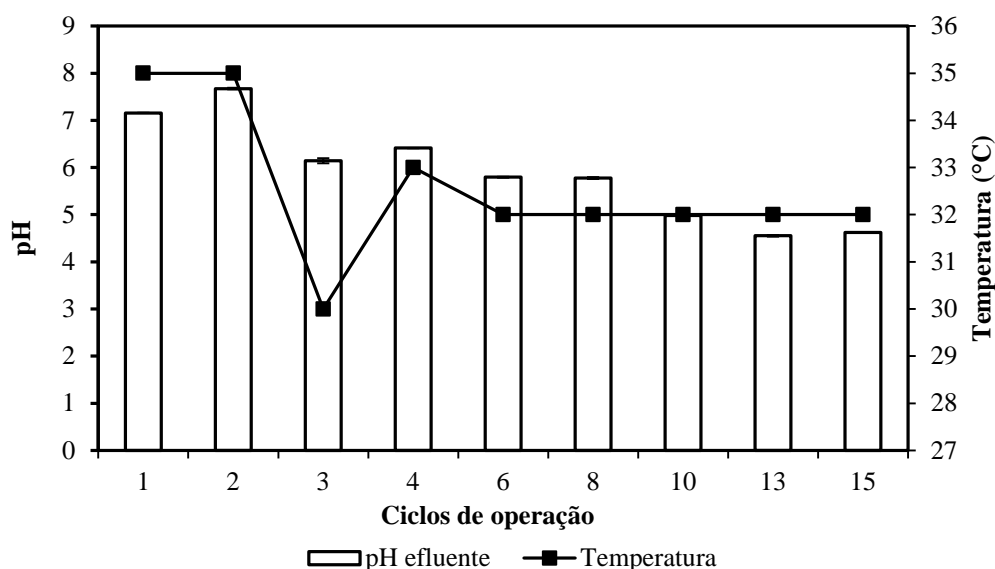


Figura 6.7- Valores do pH efluente e temperatura de operação no AnSBR da partida ao estado estacionário.

Embora o valor do pH da ARIB afluente tenha sido mantido constante em $8 \pm 0,2$; o valor do pH do efluente oscilou entre 7,2 e 4,6 ao longo do período de operação. Neste contexto a partir do 5º ciclo de monitoramento é possível afirmar que o valor do pH do meio (5,8) foi inadequado para o crescimento das arqueias metanogênicas, mas apto para o crescimento de bactérias fermentativas acidogênicas. Neste contexto, com o estímulo para o crescimento das bactérias fermentativas acidogênicas ocorreu a inibição das arqueias metanogênicas no AnSBR. Tal fato propiciou a formação de AVT e sua acumulação no meio devido ao não consumo pelas arqueias, como apresentado na Figura 6.6, provocando azedamento do meio indicado pelo valor do pH abaixo de 6 e redução no valor da eficiência de remoção.

Como foi descrito até o momento, no processo de digestão anaeróbia de compostos orgânicos o consórcio entre microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos pode ser verificado pela análise de ácidos graxos voláteis, pois tais ácidos são os principais substratos e produtos dos microrganismos que participam desse consórcio. Assim, quando as populações de bactérias acetogênicas e de arqueias metanogênicas se encontram presentes em quantidades suficientes, e as condições ambientais no interior do sistema de tratamento são favoráveis, estes utilizam os ácidos intermediários, tão rapidamente quanto estes são formados. Como resultado, os ácidos não se acumulam além da capacidade neutralizadora da alcalinidade naturalmente presente no meio, o pH permanece numa faixa favorável às metanogênicas (pH entre 6,5 e 8) e o sistema anaeróbio é considerado em equilíbrio. Todavia, quando o reator opera nas condições apresentadas pelas figuras 6.6 e 6.7, além do acúmulo de AVT no meio e abaixamento do valor do pH para faixas prejudiciais as arqueias metanogênicas, o meio perde

sua capacidade de tamponamento devido ao consumo de grande parte ou total das alcalinidades.

No monitoramento de reatores anaeróbios a verificação sistemática da alcalinidade torna-se mais importante do que a avaliação do pH. Isso se deve ao fato dos valores de pH variarem em escala logarítmica, significando que pequenos abaixamentos de pH implicam no consumo de elevada quantidade de alcalinidade, diminuindo a capacidade de tamponamento do meio (PEREIRA et al., 2013). As figuras 6.8 a 6.13 apresentam as formas e faixas concentração afluente e efluente para cada alcalinidade e a relação de Ripley no sistema em função da eficiência de remoção de DQO.

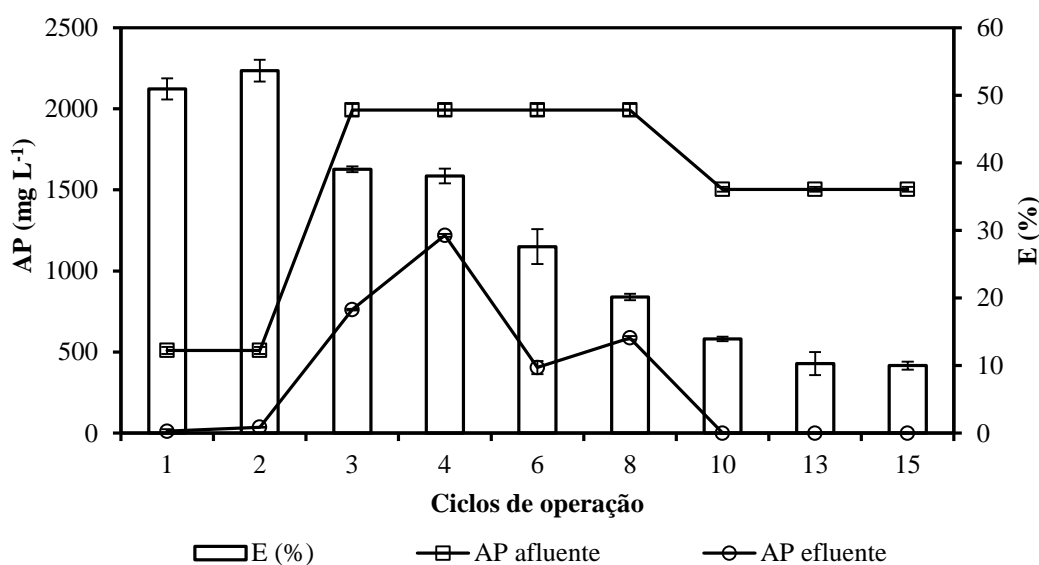


Figura 6.8- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade parcial (AP) ao longo dos 15 ciclos de operação.

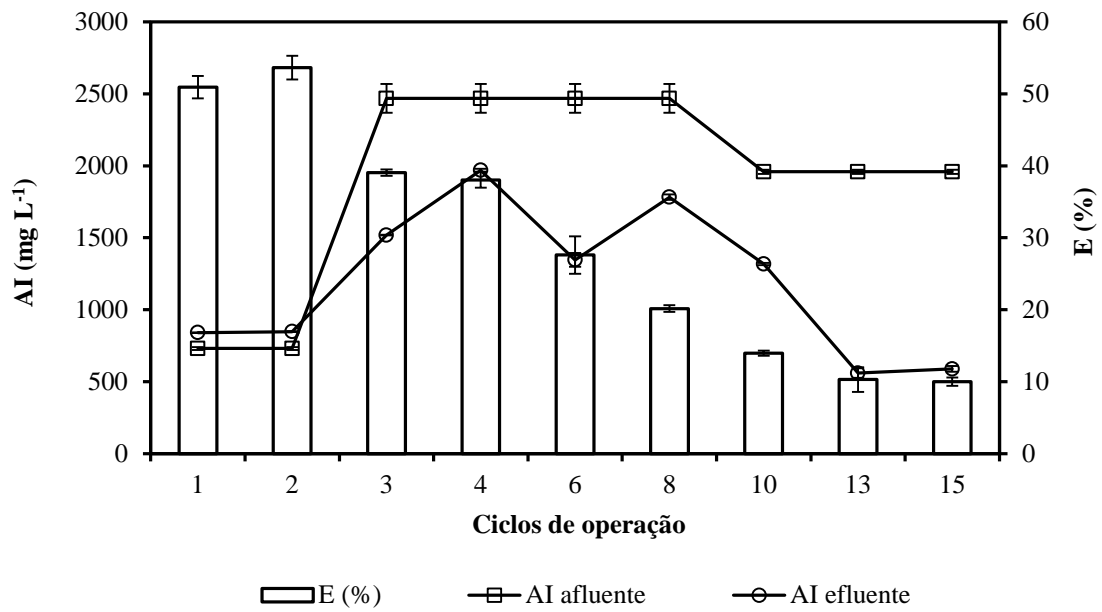


Figura 6.9- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluyente e efluente ao AnSBR da alcalinidade intermediária (AI) ao longo dos 15 ciclos de operação.

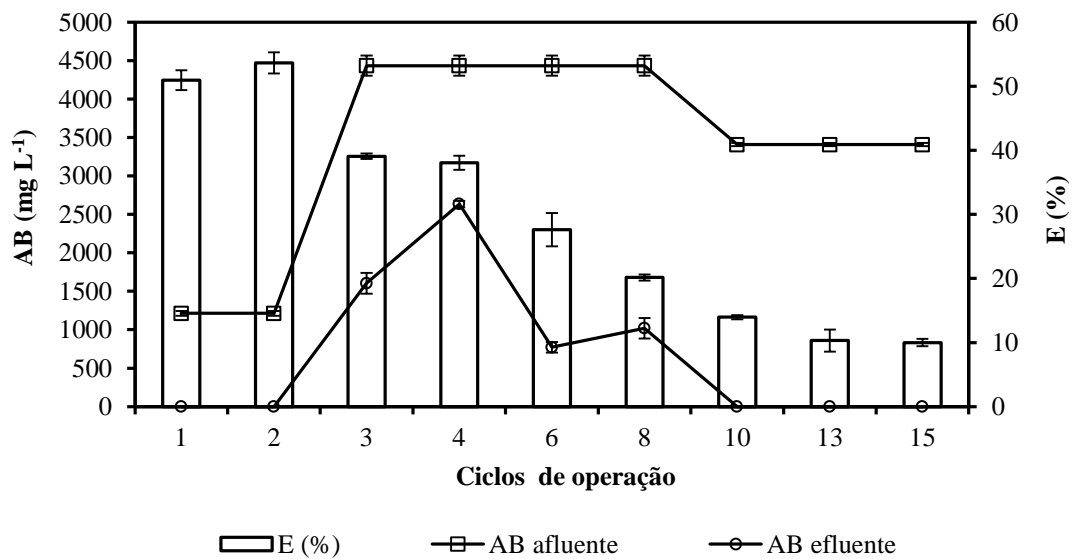


Figura 6.10- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluyente e efluente ao AnSBR da alcalinidade bicarbonato (AB) ao longo dos 15 ciclos de operação.

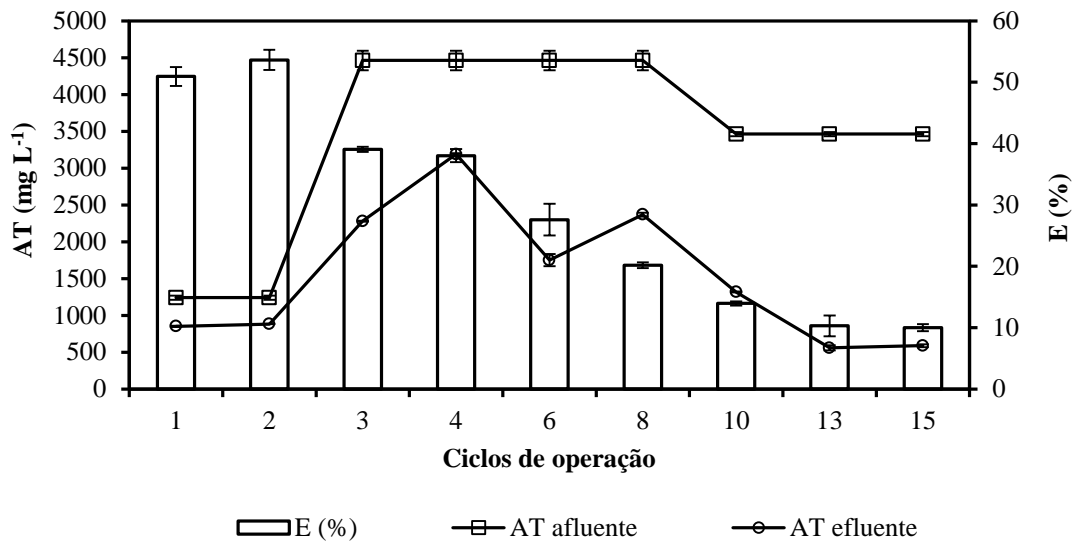


Figura 6.11- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao AnSBR da alcalinidade total (AT) ao longo dos 15 ciclos de operação.

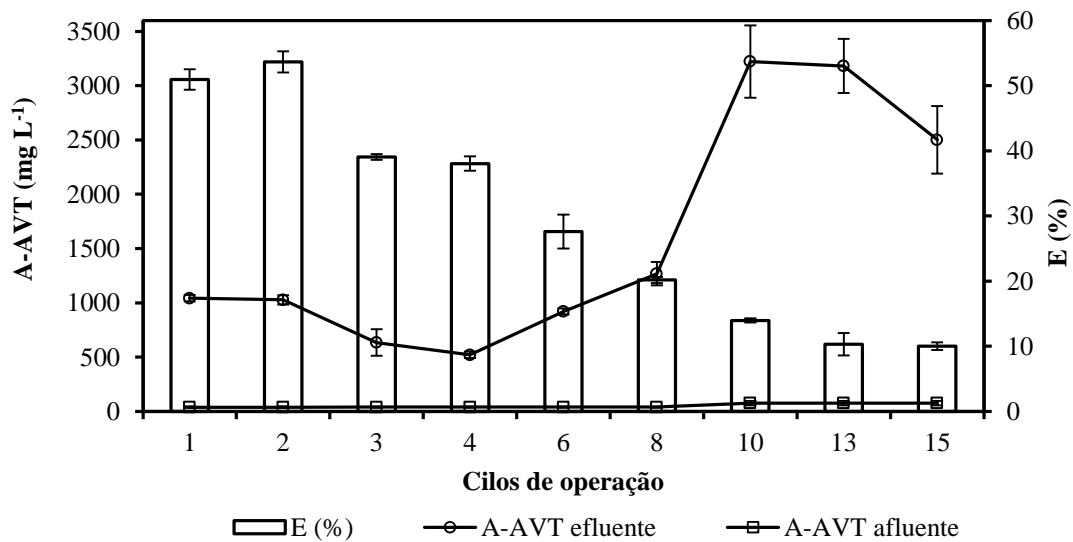


Figura 6.12- Eficiências de remoção de DQO (E) e concentrações afluente e efluente ao reator AnSBR da alcalinidade á ácidos voláteis totais (A-AVT) ao longo dos 15 ciclos de operação.

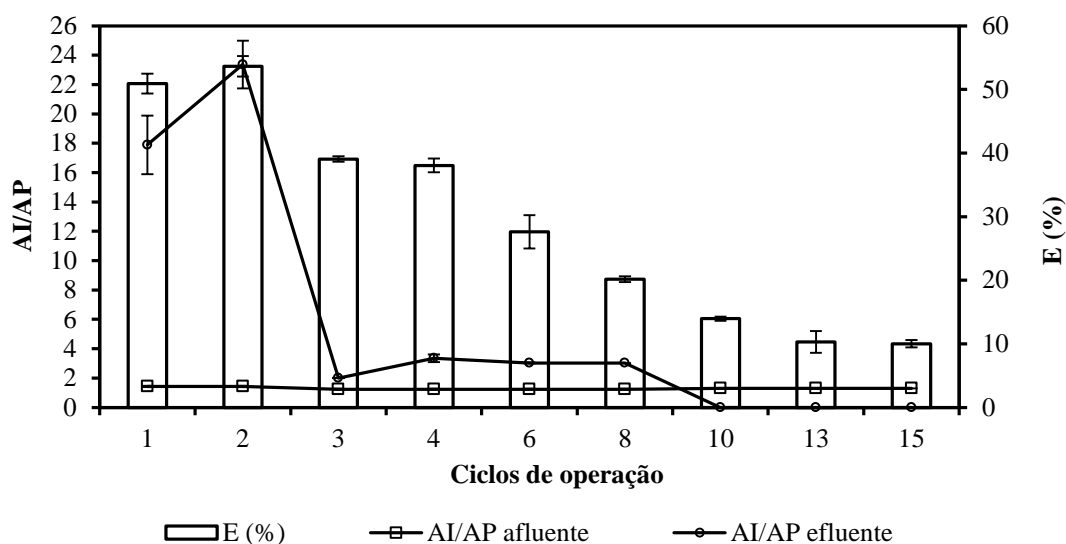


Figura 6.13- Eficiências de remoção de DQO (E) e valores de relação de Ripley no afluente e efluente ao AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.

As arqueias metanogênicas, quando não estiverem presentes em número suficiente, ou se estiverem expostas às condições ambientais desfavoráveis, não são capazes de utilizar os AVT na mesma faixa em que são produzidos pelas bactérias acidogênicas, resultando em um acúmulo de ácidos no sistema (Figura 6.6). Nestas condições, a alcalinidade é consumida rapidamente como mostrado nas figuras 6.8 a 6.11 e os ácidos livres, não neutralizados, provocam a queda do pH como apresentado na Figura 6.7.

Analisando os dados apresentados nas figuras 6.6 e 6.7 nota-se que até o 6º ciclo a concentração máxima de AVT foi de 1500 mg L^{-1} em termos de CH_3COOH e o pH ainda se mantinha acima de 6 e o que permitiria a atividade biológica das arqueias metanogênicas. Embora a alcalinidades efluentes estivesse em constante diminuição em relação as suas respectivas alcalinidades afluentes, no 6º ciclo o sistema ainda apresentava AP, AI, AT e AB de 405; 1346; 1751 e 771 mg L^{-1} em termos de CaCO_3 , respectivamente, mostrando que há uma reação do próprio meio em tentar manter o tamponamento, mesmo sob condição de azedamento. A partir do 10º ciclo as AP e AB foram totalmente consumidas, chegando a zero evidenciando a condição de azedamento. Neste contexto, as AI e AT se igualaram, com valores de 1318 ± 8 ; 560 ± 33 e $589 \pm 20 \text{ mg L}^{-1}$ em termos de CaCO_3 nos 10º ao 15º ciclo, respectivamente.

Visto isso é possível afirmar que em condições de azedamento, as concentrações das alcalinidades AP e AB são totalmente consumidas e a alcalinidade permanente no meio é proveniente das AI e AT que se mantem mesmo sob condições de azedamento. Portanto os carbonatos e bicarbonatos são os responsáveis pela manutenção do tamponamento durante o tratamento da ARIB em reatores anaeróbios. Antes de iniciar o azedamento (8º ciclo) a concen-

tração de AVT (Figura 6.6) e AB (Figura 6.10) foram de 1902 mg L^{-1} em termos de CH_3COOH para os AVT e 1019 mg L^{-1} em termos de CaCO_3 para AB, ou seja, a concentração de AVT pode ser até 1,9 vezes maior que a de AB, sendo que razões maiores que está causaram o azedamento.

Enquanto as AP, AI, AB e AT (figuras 6.8 a 6.11) diminuíram ao longo do tempo de operação, sendo que as AP e AB chegaram a zero quando o AnSBR operou em condições de azedamento, a alcalinidade à ácidos voláteis totais (A-AVT) mostrou comportamento oposto. Foi observado que as A-AVT (Figura 6.12) tendem a aumentar à medida que o reator entrava em condições de azedamento, chegando a valores máximos de $3222 \pm 334 \text{ mg L}^{-1}$ em termos de CaCO_3 no 10º ciclo.

Analisando a Figura 6.12 foi possível perceber que A-AVT acima de 1300 mg L^{-1} em termos de CaCO_3 (a partir do 8º ciclo) podem ser utilizados como indicativo de azedamentos futuros, cabendo ao operador do reator, a tomada de decisões que remediem essa ocorrência. Além do aumento na A-AVT o decaimento da relação de Ripley (Figura 6.13) devido ao consumo de grande quantidade ou até total da AP também pode ser utilizado como indicativo de azedamento. Nos 10º, 13º e 15º ciclos não foi possível determinar um valor para a relação AI/AP devido a inexistência de AP (Figura 6.13).

6.3.3- COMPORTAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS E VARREDURA DA BIOMASSA

Após formulada de acordo com o procedimento descrito no item 6.2.2, a ARIB produzida foi utilizada como afluente na alimentação do AnSBR ao longo dos 15 dias de avaliação e apresentava as concentrações de sólidos totais (ST), sólidos fixos totais (SFT), sólidos voláteis totais (SVT), sólidos dissolvidos totais (SDT), sólidos dissolvidos fixos (SDF), sólidos dissolvidos voláteis (SDV), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF), sólidos suspensos voláteis (SSV) e valores de turbidez e condutividade elétrica (CE) descritas na Tabela 6.5.

Tabela 6.5– Concentração de sólidos, condutividade elétrica e turbidez da ARIB utilizada como afluente do AnSBR

Parâmetro	Média ± DP	Unidade	Parâmetro	Média ± DP	Unidade
ST	6710 ± 492	mg L ⁻¹	SST	450 ± 71	mg L ⁻¹
SFT	1305 ± 10		SSF	367 ± 125	
SVT	5318 ± 377		SSV	150 ± 41	
SDT	6260 ± 468		C.E.	4,1 ± 0,8	mS cm ⁻¹
SDF	938 ± 134		Turbidez	1,9 ± 0,1	UNT
SDV	5168 ± 339				

ST: sólidos totais. SFT: sólidos fixos totais. SVT: sólidos voláteis totais. SDT: sólidos dissolvidos totais. SDF: sólidos dissolvidos fixos. SDV: sólidos dissolvidos voláteis. SST: sólidos suspensos totais. SSF: sólidos suspensos fixos. SSV: sólidos suspensos voláteis. CE: condutividade elétrica da ARIB.

Como pode ser observado na Tabela 6.5 de toda a constituição dos sólidos totais da ARIB afluente 93% foi representada pela fração dissolvida e 7% pela fração suspensa. Em relação à fração dissolvida 85% possui constituição orgânica e 15% possui constituição inorgânica. Em relação à fração suspensa 81% possui constituição inorgânica e 15% possui constituição orgânica. As características da ARIB afluente (Tabela 6.5) mostram que o glicerol estava, em sua maior parte, dissolvido na ARIB, portanto a concentração de sólidos suspensos era referente aos sais inorgânicos utilizados para suplementação nutricional que não tinham sido dissolvidos da ARIB. A fração inorgânica solubilizada na ARIB propiciou uma C.E. de 4,1 mS cm⁻¹, e a porcentagem de sólidos suspensos de 7% propiciou o baixo valor de turbidez de 1,9 NTU. As concentrações médias de sólidos totais, sólidos voláteis totais e sólidos fixos totais estão apresentadas na Figura 6.14.

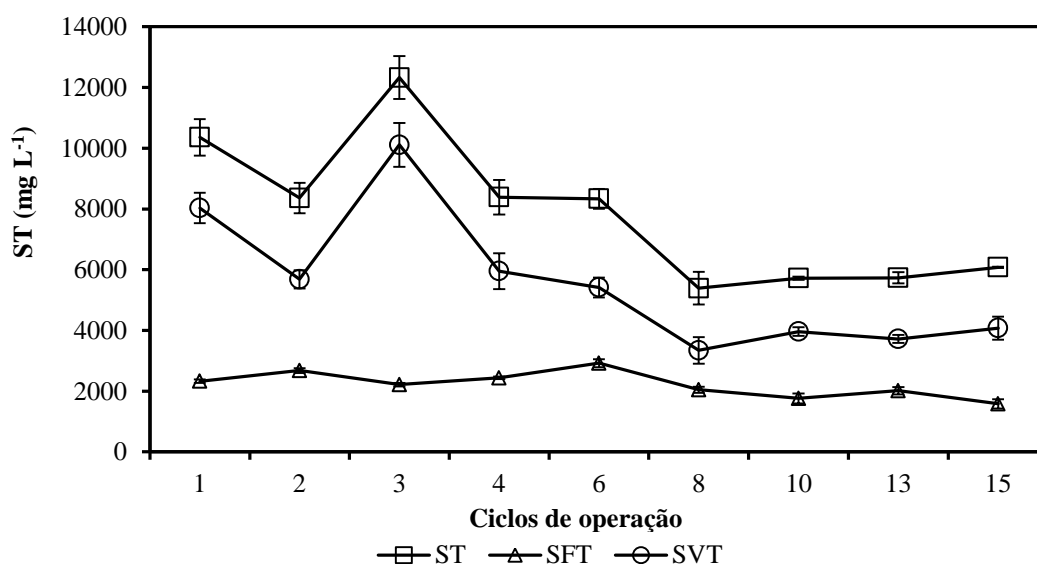


Figura 6.14- Concentrações de sólidos totais (ST) e nas frações fixa (SFT) e volátil (SVT) encontradas no efluente do AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.

Como pode ser observado na Figura 6.14, as concentrações de ST, SVT e SFT no efluente iniciaram com $10358 \pm 600 \text{ mg L}^{-1}$; $8031 \pm 500 \text{ mg L}^{-1}$ e $2327 \pm 60 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Após a partida foram observadas oscilações nos valores de concentração do efluente sendo que a partir do terceiro dia as oscilações tendiam ao decaimento no valor da concentração efluente até o 8º dia, onde as concentrações de ST, SVT e SFT no efluente foram de $5390 \pm 535 \text{ mg L}^{-1}$; $3343 \pm 439 \text{ mg L}^{-1}$ e $2047 \pm 98 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A partir do 8º ciclo foi observado uma tendência nos valores de concentrações de ST, SVT e SFT no efluente permanecerem dentro do intervalo obtido nesse dia e abaixo dos valores de concentração afluente, indicando que a partir do 8º ciclo ocorria retenção de sólidos no AnSBR. Entretanto, até o 8º ciclo o comportamento da concentração de ST e SVT indicavam varredura de sólidos no sistema pois as concentrações efluentes apresentavam-se sempre maiores que as afluentes.

O aumento na concentração de sólidos (Figura 6.14) no efluente poderia ser proveniente do material inorgânico precipitado da ARIB (SSF e SDF) ou devido a não remoção do glicerol (SDV). Assim para melhor entendimento do processo, fracionou-se a amostra e realizou-se a análise da série completa de sólidos. A concentração dos sólidos dissolvidos nas frações orgânica (volátil) e inorgânica (fixa) estão apresentadas na Figura 6.15, e concentração dos sólidos suspensos nas frações orgânica (volátil) e inorgânica (fixa) estão apresentadas na Figura 6.16.

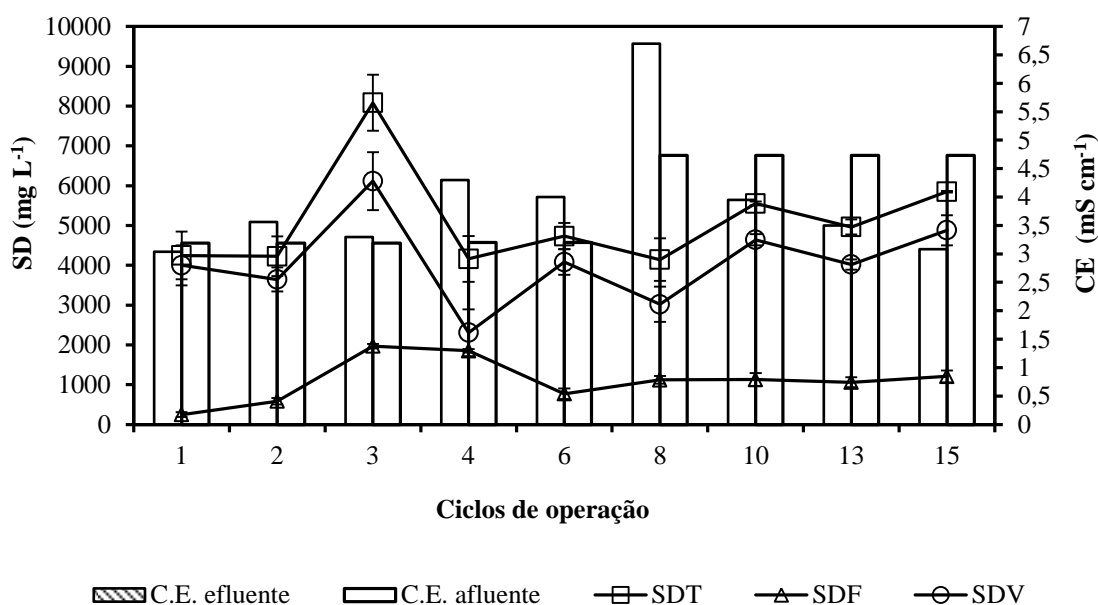


Figura 6.15 - Condutividade elétrica (CE) e concentrações de sólidos dissolvidos nas frações total (SDT), fixa (SDF) e volátil (SDV) encontradas no efluente ao AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.

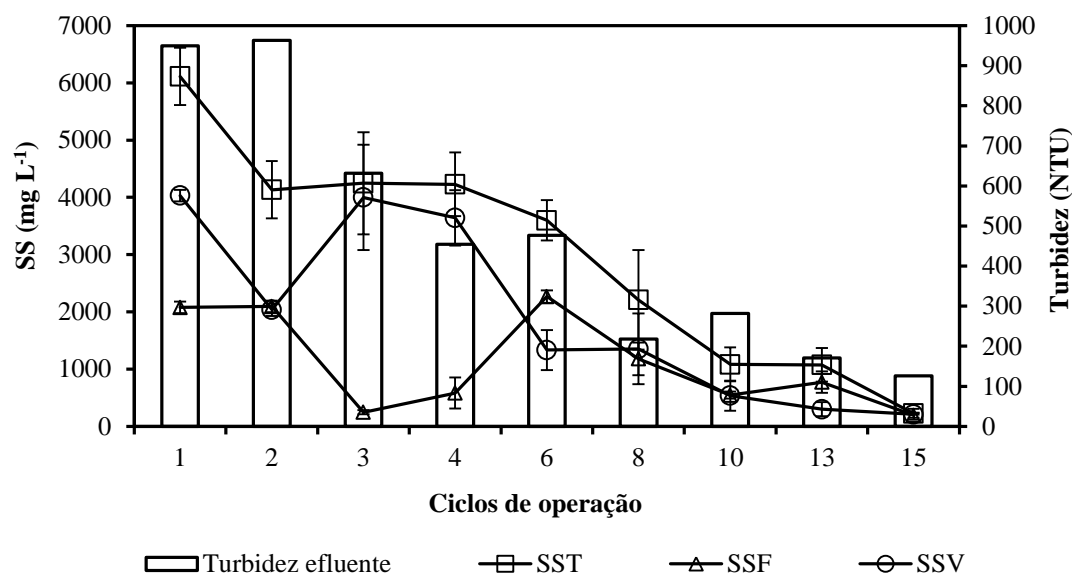


Figura 6.16 - Turbidez e concentrações de sólidos suspensos nas frações total (SST), fixa (SSF) e volátil (SSV) encontradas no efluente ao AnSBR ao longo dos 15 ciclos de operação.

Ao analisar o comportamento dos sólidos dissolvidos (Figura 6.15) nota-se que, exceto no 3º ciclo, as concentrações de SDT, SDF e SDV do efluente mostram-se iguais ou abaixo da concentração afluyente indicando que o aumento de ST e SVT no efluente (Figura 6.14) foi devido a varredura dos SST e SSV provenientes da biomassa. Analisando a Figura 6.16 é possível perceber que a oscilação dos sólidos suspensos foi pronunciada com concentração de SSV no efluente de 4033 mg L⁻¹ no 1º ciclo a 210 mg L⁻¹ no 15º ciclo, indicando que a perda de sólidos devido a varredura da biomassa. O perfil da turbidez da ARIB efluente (Figura 6.16) acompanhou o perfil das concentrações de SST e SSV efluentes ao AnSBR (Figura 6.16) sendo acentuada na partida do AnSBR e diminuindo com o tempo.

Comparando o comportamento da eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (Figura 6.1) e DBO₅^{20°C} (Figura 6.2) com o perfil de concentração dos SST e SSV (Figura 6.16) é notável que a eficiência de remoção de matéria orgânica ao longo do tempo decaía à medida que a biomassa estava sendo removida do AnSBR, sendo que no 15º ciclo, após a perda contínua de biomassa via concentração de SSV no efluente, foi obtido o menor valor de eficiência de remoção de matéria orgânica. Isso porque, como explicado no capítulo 5, a massa de inóculo (biomassa) foi o fator mais influente na eficiência de remoção de matéria orgânica, sendo que quanto maior o valor da concentração de biomassa presente no AnSBR, maior era a população de microrganismos e maior o valor da eficiência do processo.

Specee (1988) e Specee (1996) mencionam que o uso de elevadas populações de microrganismos provavelmente consome o alimento disponível em curto espaço de tempo, reduzindo a um valor mínimo o crescimento de novas bactérias durante o teste. Portanto, a relação alimento/microrganismo é um parâmetro de grande importância que revela a quantidade em massa de substrato aplicada a uma quantidade de massa de microrganismos (biomassa). Este parâmetro exerce grande controle sobre o processo anaeróbio e a produção de metano, pois a geração de metano depende diretamente da disponibilidade de alimento e da população de microrganismos, portanto é possível antecipar que estes dois parâmetros estão inter-relacionados e exercem forte influência sobre a atividade metanogênica específica (AME) da biomassa.

Analisando de forma conjunta os dados da Figura 6.4 com os dados da Figura 6.16 observa-se que ao longo dos 15 ciclos de operação foi aplicada uma quantidade de alimento constante referente à COV_A em termos de DQO no AnSBR (Figura 6.4) que operou com concentrações decrescentes de microrganismos para mesma quantidade de alimento. A varredura de biomassa no AnSBR (Figura 6.16), provavelmente diminuiu a presença de arqueias metanogênicas responsáveis pelo consumo desses ácidos, o que prejudicou a conversão desses intermediários em metano e outros metabólitos, facilitando a acumulação de ácidos voláteis no meio (Figura 6.6).

Conforme explicado na Tabela 6.4, o acúmulo de ácidos no efluente leva ao consumo de oxigênio proveniente de dicromato de potássio e/ou metabólico, acusando demanda química e/ou bioquímica de oxigênio o que diminui a eficiência da biomassa anaeróbia em remover matéria orgânica considerando a conversão completa do glicerol em metano e dióxido de carbono. Para entender o efeito da redução da massa de microrganismos na eficiência de remoção de matéria orgânica, fez-se o uso dos modelos matemáticos previamente obtidos, que simulam a remoção de matéria orgânica em função dos parâmetros que influencia o processo de biodegradação anaeróbia do glicerol (equações 6.1 e 6.2).

6.3.4- USO DO MODELO PARA PREVISÃO E SIMULAÇÃO DE RESULTADOS

Para avaliar o desempenho do reator AnSBR foram adotados para as condições otimizadas de pH da ARIB afluente, concentração de DQO_T da ARIB afluente, velocidade de agitação do impelidor, tempo de reação, massa de inóculo e temperatura de operação do reator os seguintes valores 8; 30.000 mg L⁻¹; 40 rpm; 20 h; 101990 mg de SSV; 36°C, respectivamente. Todavia, não foi possível manter constante os valores dos parâmetros massa de inóculo e temperatura de operação.

A variação da massa de inóculo ocorreu em função da varredura da biomassa, já a oscilação da temperatura de operação ocorreu devido a problemas no banho termostático e/ou trocas naturais de temperatura entre a parede do reator e o meio, pois o reator não era uma unidade de reação adiabática, não era encamisado e o banho estar localizado na base do reator (Figura 4.1). Como foi descrito nas equações 6.1 e 6.2 as variações de massa de inóculo (F2) e/ou temperatura (F1) modificam o valor de eficiência previsto pelo modelo matemático utilizado. Neste contexto, as variações na massa de inóculo e temperatura foram monitoradas e consideradas nos cálculos das eficiências teóricas. Os valores de biomassa disponível para reação (massa de inóculo) e temperatura de operação do reator estão apresentados na Figura 6.17.

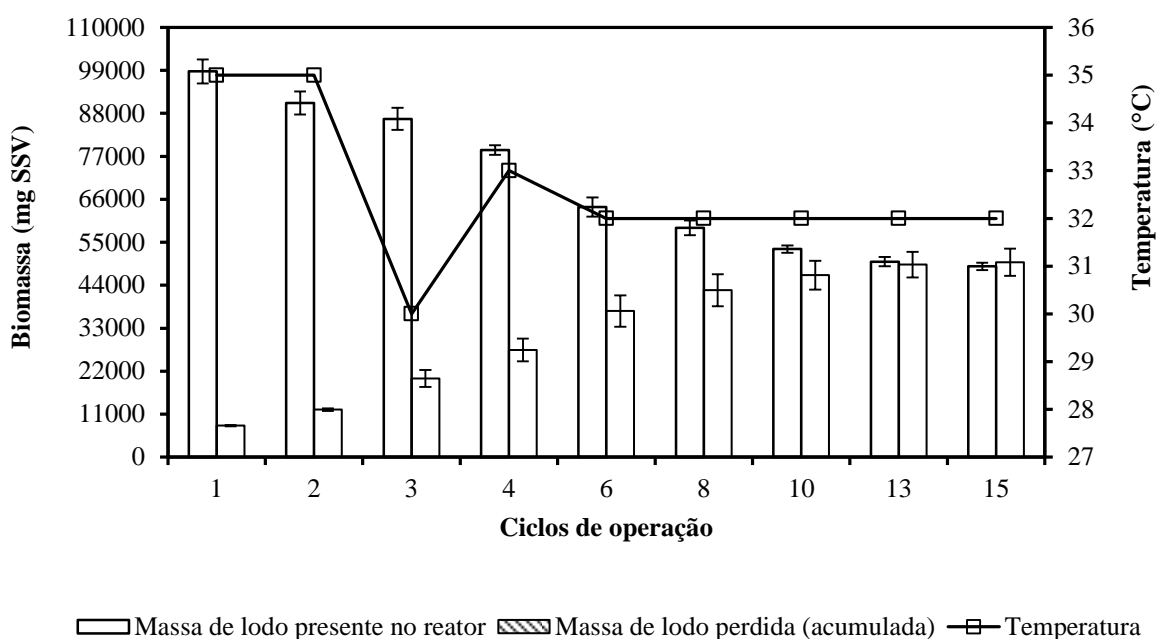


Figura 6.17- Massa de microrganismos (biomassa) disponível para biodegradação do glicerol temperatura média de operação do reator em cada ciclo e massa de microrganismos (biomassa) perdida após cada ciclo encerrado. OBS: Os desvios padrões são referentes as três repetições realizadas na análise de sólidos.

Embora o termostato do reator sempre estivesse ajustado para 36 °C, como pode ser observado na Figura 6.17, a temperatura de operação do mesmo oscilou entre 30 e 35 °C. Em relação à massa de microrganismos no sistema, como pode ser observado na Figura 6.17 no primeiro 1° ciclo o AnSBR operou com valor médio de biomassa de 98733 mg de SSV. Isso porque para a partida, o reator foi inoculado com um volume médio de 2,5 L de lodo resultando em uma massa de lodo de 101990 mg de SVT, partindo do pressuposto que todos os SVT presentes no lodo estavam na forma de SSV, devido a dificuldade de filtração da amostra em

filtro de papel de 0,6 μm . Em seguida o reator AnSBR inoculado foi abastecido com ARIB até atingir o volume reacional de 5 L, o impelidor foi ligado e quando o sistema atingiu a temperatura de operação média de 36 °C iniciou-se ao tempo de reação. Após todo o sistema homogeneizado foi coletada uma alíquota de 30 mL do sistema biomassa/ARIB e realizada as análises de SST, SSF e SSV, resultando em uma concentração de 19747 mg L⁻¹ de SSV homogeneizados em 5 L de meio reacional do reator AnSBR, totalizando em aproximadamente 98733 mg de SSV disponível para biodegradação no dia da partida.

Após 20 h, com o termino do tempo de reação, o impelidor foi desligado e a biomassa submetida a sedimentação (T_S), em seguida 2 L do sobrenadante foi descartado (T_D) encerrando o primeiro ciclo. Portanto, a biomassa presente no reator AnSBR para reação (MI) no primeiro ciclo foi de 98733 mg de SSV, e após o descarte do sobrenadante o valor de MI diminuiria devido a varredura e retirada da biomassa via sobrenadante. Para determinar a massa de lodo perdida pela retirada do sobrenadante, a concentração de SSV presente nos 2 L de sobrenadante retirado no fim do primeiro ciclo foi determinada e transformou-a em massa multiplicando-a pelo volume de 2 L.

A partir deste dia até o 15° ciclo de operação, a massa de SSV mantida dentro do reator para biodegradação do glicerol (Figura 6.17), foi determinada antes de cada batelada e a prova realizada através da diferença entre 98733 mg de SSV e a massa de SSV perdida no sobrenadante de forma acumulada. Os valores de massa de lodo retida dentro do reator e disponível para reação, tempo de reação, temperatura de operação do reator, eficiências teóricas obtidas pelos modelos E₁ e E₂ descritos nas equações 6.5 e 6.6, respectivamente e valores de eficiência de remoção de matéria orgânica obtida experimentalmente estão apresentados na Tabela 6.6.

Tabela 6.6- Valores de massa de lodo retida dentro do reator (MI), tempo de reação de cada batelada (T_R), temperatura de operação do reator (T), eficiências teóricas de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (E₁ e E₂) e eficiência de remoção de matéria orgânica obtida experimentalmente (E_{Exp})

Ciclos de operação	MI (mg de SSV)	T _R (h)	T (°C)	E ₁ (%) Média (IC _{95%})	E ₂ (%) Média (IC _{95%})	E _{Exp} (%) Média (IC _{95%})
1	98733	20	35	53 (44,2 - 61,8)	48,5 (46,5 - 50,6)	51,0 (48,9 - 53,0)
2	90668	20	35	50 (42,2 - 58,6)	44,5 (42,5 - 46,4)	53,6 (51,5 - 55,8)
3	86591,3	20	30	44 (33,9 - 54,2)	42,4 (40,6 - 44,3)	39,1 (38,5 - 39,6)
4	78594,7	20	33	43,7 (35,5 - 51,9)	38,4 (37,6 - 39,3)	38,0 (36,6 - 39,5)
6	64021,3	20	32	34,5 (26,1 - 42,8)	31,2 (29,5 - 32,8)	27,6 (24,1 - 31,1)
8	58688	20	32	30,9 (22,6 - 39,3)	28,5 (27,3 - 29,7)	20,2 (19,5 - 20,8)
10	54568	20	32	28,1 (19,6 - 36,5)	25,8 (25,2 - 26,4)	14,0 (13,5 - 14,4)
13	51348	20	32	25,7 (17,2 - 34,3)	24,2 (23,4 - 25,0)	10,3 (8,0 - 12,6)
15	50148	20	32	24,8 (16,2 - 33,4)	23,6 (23,0 - 24,2)	10,0 (9,2 - 10,8)

IC_{95%}: Intervalo de confiança do modelo onde há 95% de probabilidade da média verdadeira da população inteira ocorrer.

Como foi apresentado na Tabela 6.6, os modelos E₁ e E₂ foram capazes de mostrar o perfil de queda no valor de eficiência obtido experimentalmente ao longo dos 15 ciclos de monitoramento. Analisando os resultados obtidos experimentalmente ao longo dos dias de operação e comparando os intervalos de confiança dos valores de eficiência E₁ e E₂ previstos pelos modelos das equações 6.1 e 6.2, com os resultados obtidos experimentalmente (E_{Exp}) é possível afirmar que até o 8º ciclo de operação os modelos teóricos foram capazes de prever os resultados obtidos experimentalmente. Provavelmente, devido ao azedamento a partir do 8º ciclo, houve uma modificação nas condições de contorno adotadas para elaboração dos modelos descritos pelas equações 6.1 e 6.2 foi significativa para modificação da robustez de ambos os modelos, interferindo na capacidade de previsão dos mesmos.

Analisando comparativamente os resultados apresentados nas figuras 6.6, 6.7, 6.10 e 6.11 é possível inferir que a robustez dos modelos foi influenciada pelas modificações nas condições de tamponamento.

Na Figura 6.6 pode ser observado que a partir do 8º ciclo ocorreu um acúmulo na concentração de AVT no reator, o que levou ao consumo integral das alcalinidades parcial (Figura 6.8) e bicarbonato (Figura 6.10), reduzindo o pH (Figura 6.7) para valores abaixo de 5,78 a partir do 8º ciclo. Como uma das condições de contorno para geração dos modelos descritos pelas equações 6.1 e 6.2 foi o valor do pH da ARIB ser mantido entre 6 e 8, acredita-se que embora o pH da ARIB afluente tenha sido ajustado para 8, ao recalcar a mesma para o reator, alimentando-o, devido as condições de consumo de alcalinidades e geração de AVT, possa ter ocorrido uma geração de AVT e com isso consumo de alcalinidade e redução do pH no início da fase de reação, condicionando a biomassa a condições inapropriadas até o final da fase de reação.

Silva et al. (2013) demonstraram que a produção de AVT durante o tratamento da ARIB ocorre no início da fase reação e que quanto maior a concentração inicial da ARIB afluente, provavelmente mais antecipado será a ocorrência do pico de concentração. Os autores ao realizarem um ensaio cinético que retratava a geração dos AVT em reatores AnSBR operando no tratamento de ARIB concluíram que para um reator AnSBR operando com concentração afluente de DQO de 1000 mg L⁻¹ e com tempo de ciclo de 8 h, o pico de concentração dos AVT de 60 mg L⁻¹ ocorreu uma hora após o início do ciclo. Já para o mesmo reator operando com concentração afluente de DQO de 2000 mg L⁻¹ e com tempo de ciclo de 8 h, o pico de concentração de 80 mg L⁻¹ de AVT ocorreu em aproximadamente meia hora após o início do ciclo.

Outro fato que pode ser observado na Tabela 6.17 ao comparar os resultados de E_1 e E_2 obtidos pelos modelos descritos nas equações 6.1 e 6.2 é que ambos possuem capacidades de previsão semelhantes, portanto, robustez parecida.

Como foi discutido e demonstrado até o momento, considerando os trabalhos publicados referentes ao tratamento da ARIB em reatores AnSBR, o maior valor de COV aplicada em termos de DQO publicado na literatura foi de $3,82 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ apresentado por Selma et al. (2010) que estudou o processo de biodegradação do glicerol em fase mesofílica. Isso permite inferir que o reator AnSBR utilizado nesse trabalho operou com sobrecargamento orgânico devido a aplicação de COV_A de $11,3 \pm 0,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Acredita-se que esse sobrecargamento possa ter causado oscilações no pH do meio reacional devido ao consumo das alcalinidades e acúmulo de ácidos voláteis no mesmo, o que pode ter intensificado a varredura da biomassa. A retirada de microrganismos do meio prejudicou a utilização de substrato influenciando a partida do reator e aclimatização da biomassa entre outros efeitos observados no desempenho do mesmo ao longo dos 15 ciclos de operação.

Como foi mostrado na Tabela 6.17 os modelos teóricos perderam a robustez para previsão da eficiência do processo indicando provavelmente devido a mudança das condições de contorno para geração do modelo. Como a massa de inóculo mostrou-se como um fator preponderante no desempenho do processo anaeróbio estudado, acredita-se que sua influência não seja apenas quantitativa, mas também qualitativa, podendo assim ter influenciado nas condições de contorno dos modelos visto que tanto fatores físicos como químicos do ambiente influenciam o crescimento ou decaimento microbiano promovendo relações diretas com a ecologia microbiana presente na biomassa. Isso porque os fatores físicos podem atuar como agentes seletivos, enquanto que os fatores químicos podem ou não ser seletivos (CHERNICCHARO, 2007).

Por se tratar de um processo biológico, é essencial que os grupos de microrganismos encontrem condições ambientais adequadas ao seu desenvolvimento para que possam realizar a conversão da matéria orgânica de forma eficiente. Por isso, além de avaliar a influência que a massa de inóculo promove na eficiência de remoção de matéria orgânica, buscou-se entender os efeitos que a sobrecarga orgânica, as condições de tamponamento desequilibradas, e a varredura da biomassa causaram na qualidade microbiológica e microscópica da biomassa, comparando a biomassa utilizada para a partida com a biomassa retida no reator AnSBR após 15 ciclos de operação.

6.3.6- CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA ANAERÓBIA UTILIZADA COMO MASSA DE INÓCULO NO REATOR ANSBR PARA A DEGRADAÇÃO DE ARIB

De acordo com Morgan et al. (1990) a biomassa de reatores anaeróbios é composta por uma mistura de comunidades microbianas e seus produtos metabólicos. O componente predominante entre os produtos metabólicos é o exopolissacarídeo (EPS), que são constituídos principalmente de polissacarídeos (carboidratos) e proteínas. Todavia, Sutherland (2001) menciona que a composição e, conseqüentemente, as propriedades químicas e físicas dos EPS sintetizados pelos microrganismos podem variar de acordo com a espécie com as condições do meio. Além disso, segundo Liu e Fang (2002) a proporção entre as concentrações de polissacarídeos e proteínas presentes no EPS podem caracterizar o tipo de biomassa presente no reator anaeróbio.

Como foi verificado na Figura 6.16, as concentrações de SSV presentes no efluente foram devido a varredura de biomassa do reator AnSBR, isso permite inferir que o mesmo EPS presente na biomassa mantida no reator AnSBR estará também no efluente do mesmo reator, assim para avaliar a constituição do EPS que compõe a biomassa presente no reator AnSBR utilizada ao longo do tratamento da ARIB foram determinadas as concentrações de polissacarídeo e proteína na biomassa presente no efluente (Figura 6.18).

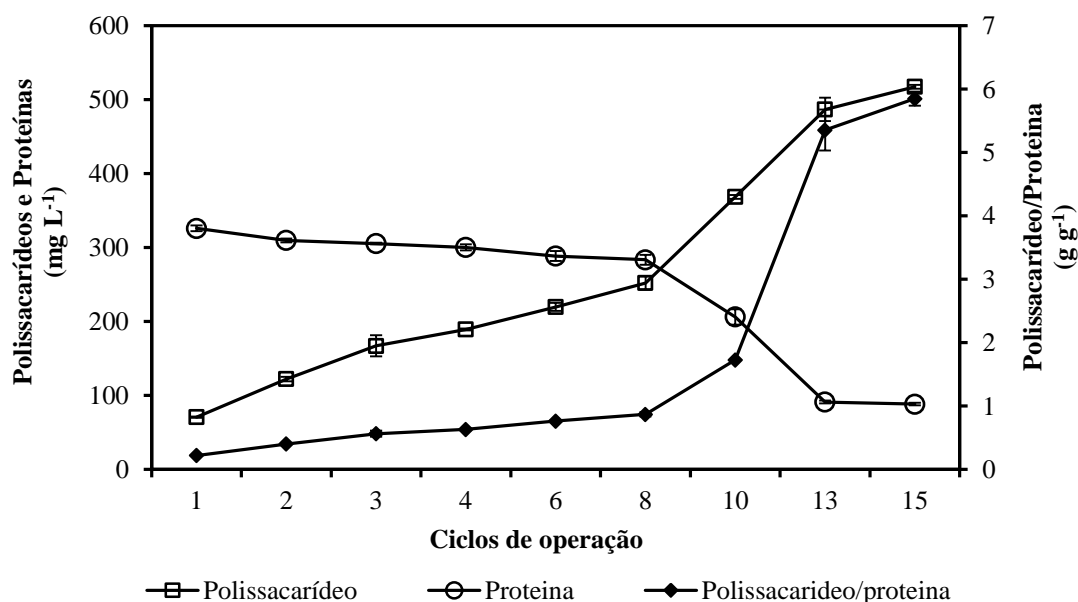


Figura 6.18- Composição do EPS no efluente do reator AnSBR em termos de concentrações de polissacarídeos e proteínas e relação entre as massas observadas ao longo dos 15 ciclos de operação.

Como pode ser observado na Figura 6.18, no primeiro dia de operação a concentração média de proteínas (326 mg L⁻¹) superava a concentração média de carboidratos (71 mg L⁻¹),

mas ao longo da operação do reator AnSBR houve uma tendência na diminuição da concentração de proteínas e aumento na concentração de carboidratos, sendo que no 15º ciclo de operação a massa de carboidratos foi de aproximadamente 6 vezes maior que a massa de proteínas. De acordo com Veiga et al. (1997) e Liu e Fang (2002), dados como os apresentados na Figura 6.18, indicam que a biomassa utilizada no tratamento da ARIB apresentava no 1º ciclo de operação características de biomassa metanogênica e adquiriu ao longo dos 15 ciclos de operação características de biomassa acidogênica.

Os mesmos autores (Veiga et al.,1997) estudaram a composição do EPS de duas espécies arqueias metanogênicas isoladas (*Methanobacterium formicicum* e *Methanosarcina mazei*) provenientes de grânulos de um reator anaeróbio de escoamento ascendente alimentado com uma mistura de ácidos acético, butírico e propiônico. Entre 14 e 20% do EPS extraído era constituído de polissacarídeos. A fração remanescente continha proteínas extracelulares e outros compostos. Já, Liu e Fang (2002), extraíram substâncias poliméricas extracelulares de biomassa anaeróbia composta por bactérias fermentativas acidogênicas e biomassa anaeróbia composta em sua maioria por arqueias metanogênicas. Ao caracterizar o EPS presente em cada biomassa, os autores observaram que ambas eram compostas por polissacarídeos, proteínas, substâncias húmicas, e pequenas quantidades de ácido urônico. Além disso, os autores concluíram que os polissacarídeos foram predominantes na biomassa acidogênica (62%) e as proteínas foram predominantes no lodo metanogênico (41%).

Neste contexto, é possível afirmar que EPS de biomassa anaeróbia com concentração de proteínas superiores a de polissacarídeos indicam que a amostra é constituída por microrganismos metanogênicos como foi observado antes do 8º ciclo de operação (Figura 6.18), já EPS de biomassa anaeróbia com concentração de polissacarídeos superiores a de proteínas indicam que a amostra é constituída por microrganismos acidogênicos como foi observado após o 8º ciclo de operação (Figura 6.18), justificando o aumento da produção e acúmulo de AVT (Figura 6.6) após o 8º ciclo.

Além das concentrações de polissacarídeos e proteínas no EPS, de acordo com Zhou et al. (2007) a relação entre as massas dos constituintes do EPS e a massa de SSV do lodo (Figura 6.19) são de fundamental importância para o conhecimento das características microbiológicas da biomassa anaeróbia e até das condições de granulação da mesma.

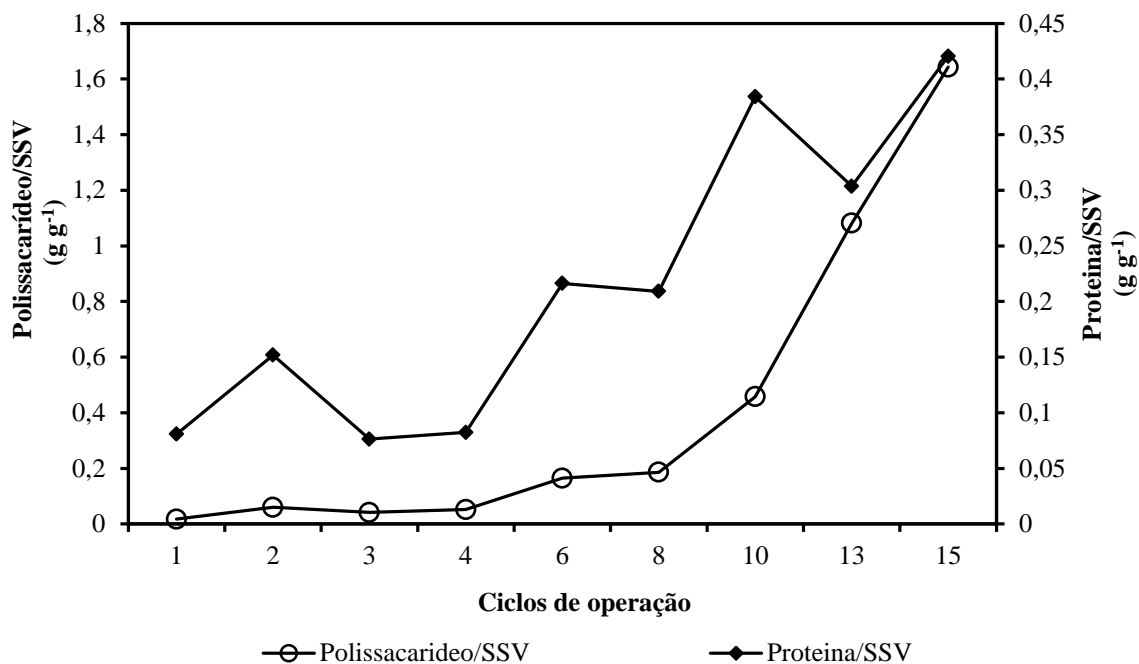


Figura 6.19- Composição do EPS no efluente do reator AnSBR em termos de relação massa/massa de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV observadas ao longo dos 15 ciclos de operação.

Embora a concentração de SSV no efluente do reator AnSBR diminuía ao longo dos 15 ciclos de operação (Figura 6.16), foi observado nas mesmas amostras um aumento progressivo nos valores que quantificam a relação entre massa tanto de polissacarídeos quanto de proteína por massa de SSV (Figura 6.19). De acordo com Dignac et al. (1998) e Delia (2003), o aumento contínuo dos valores de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV nas amostras efluentes ao reator AnSBR indicam que o EPS produzido pela biomassa estava sendo retirado do reator AnSBR junto com a biomassa que sofria varredura. Como os EPS são fundamentais para coesão dos grânulos, sua remoção da biomassa que é mantida dentro do reator pode acarretar problemas no processo de granulação da biomassa anaeróbia, promovendo sua desfragmentação (HU et al., 2003).

Para avaliar os efeitos da remoção dos EPS produzidos e do azedamento do reator AnSBR fez-se a análise das amostras de biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR e biomassa mantida dentro do reator após 15 ciclos de operação utilizando técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para conhecer a estrutura da biomassa em termos de morfologia de material e microrganismos e a espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) para determinar a composição química da biomassa. Nas figuras 6.20 e 6.21 estão apresentados os resultados das análises de MEV e EDS, respectivamente, realizados com a amostra de lodo utilizada na inoculação do reator AnSBR.

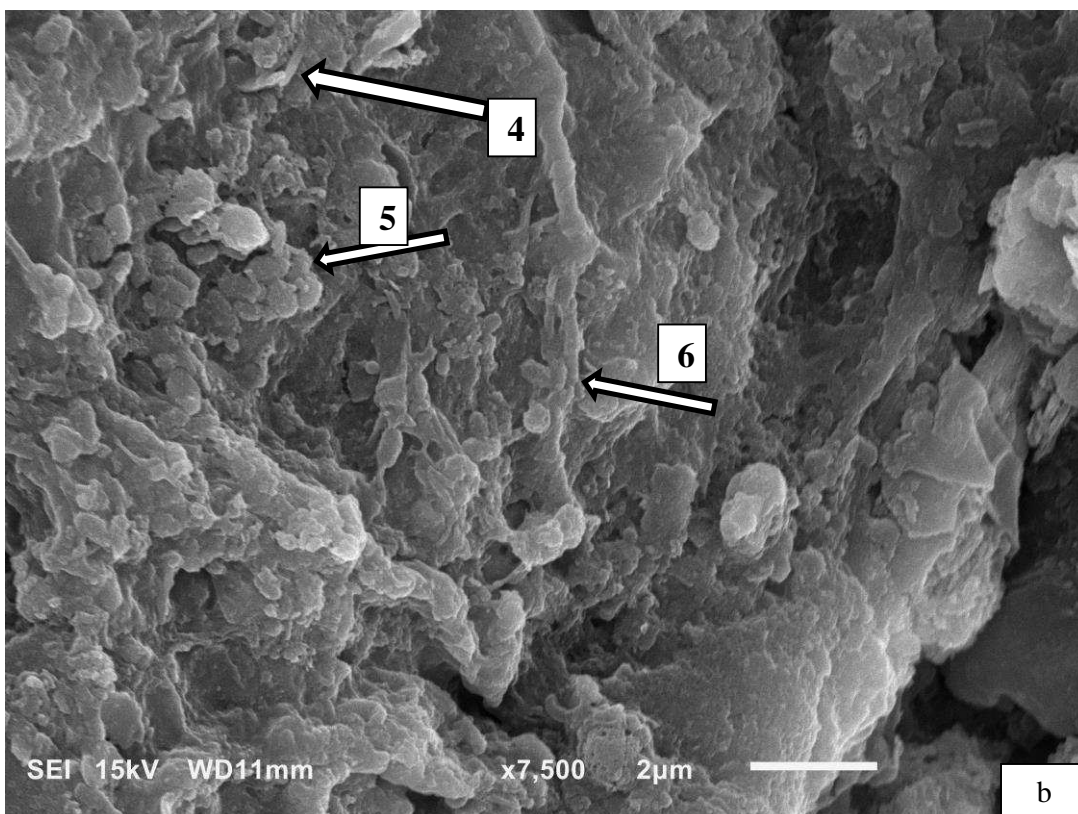
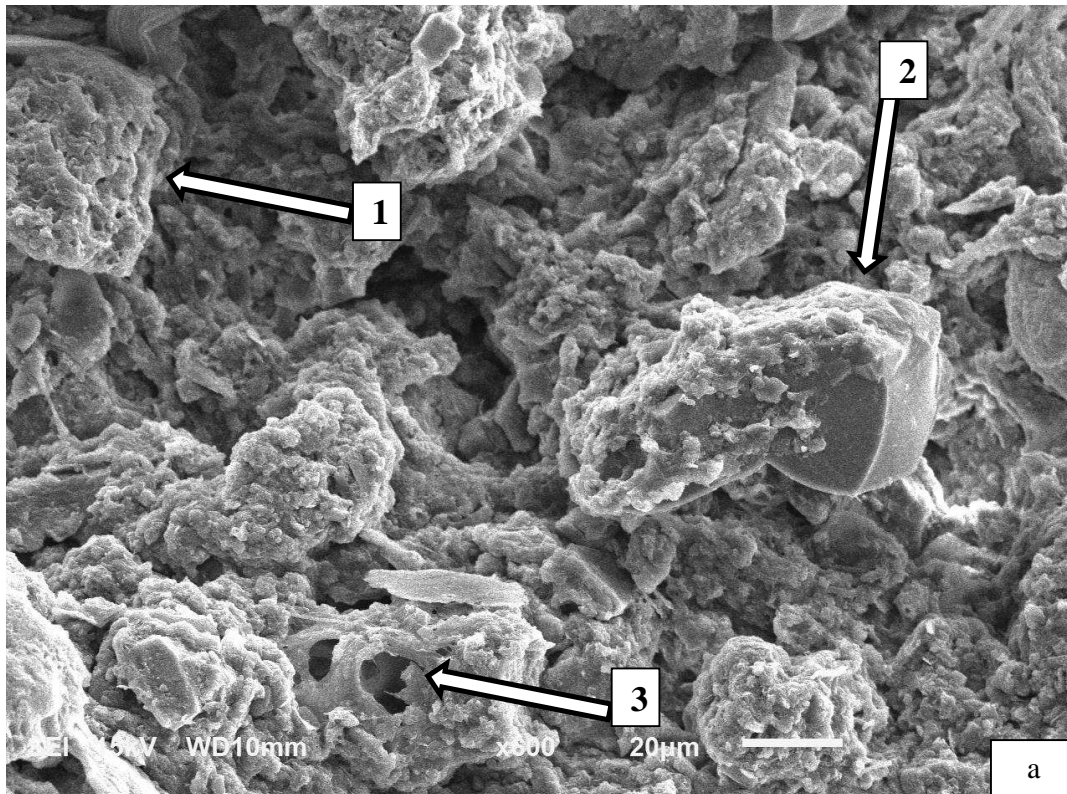


Figura 6.20- Micrografia em microscópio eletrônico de varredura da biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR. Figura 6.20a- Indicação da coesão dos grânulos (ponto 1), dos cristais inorgânicos (ponto 2) e material amorfo (ponto 3). Figura 6.20b- Indicação das morfologias microbianas: bacilos (ponto 4), cocos (ponto 5) e filamentosas (ponto 6).

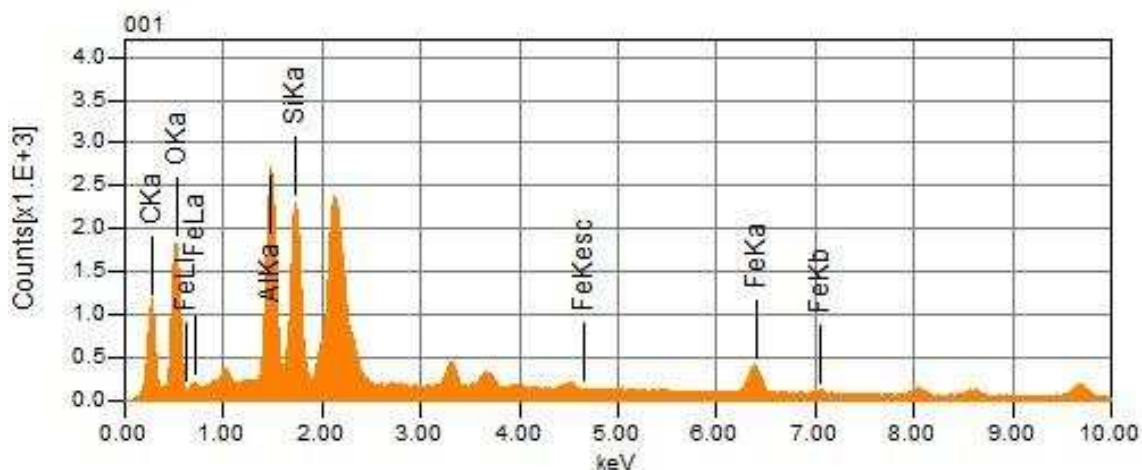


Figura 6.21- Perfil geral da análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da biomassa utilizada na inoculação do reator AnSBR.

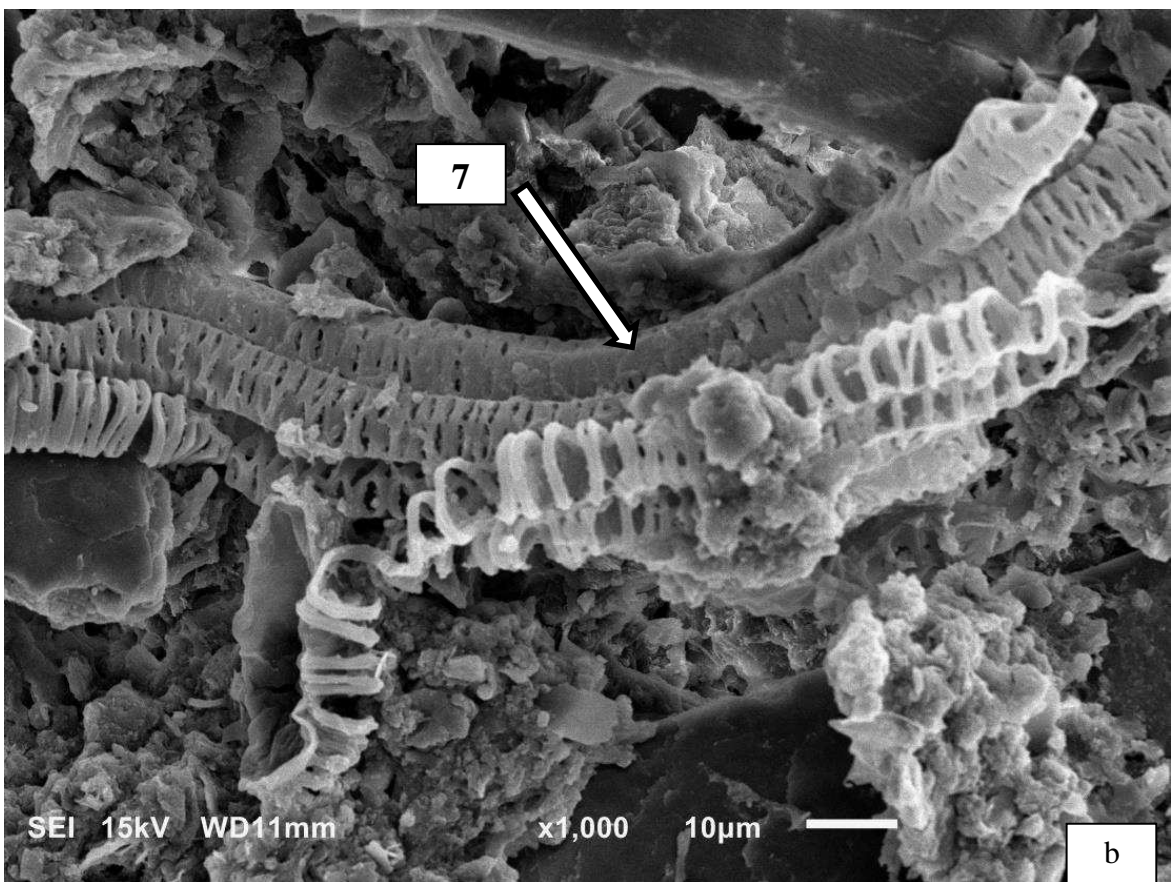
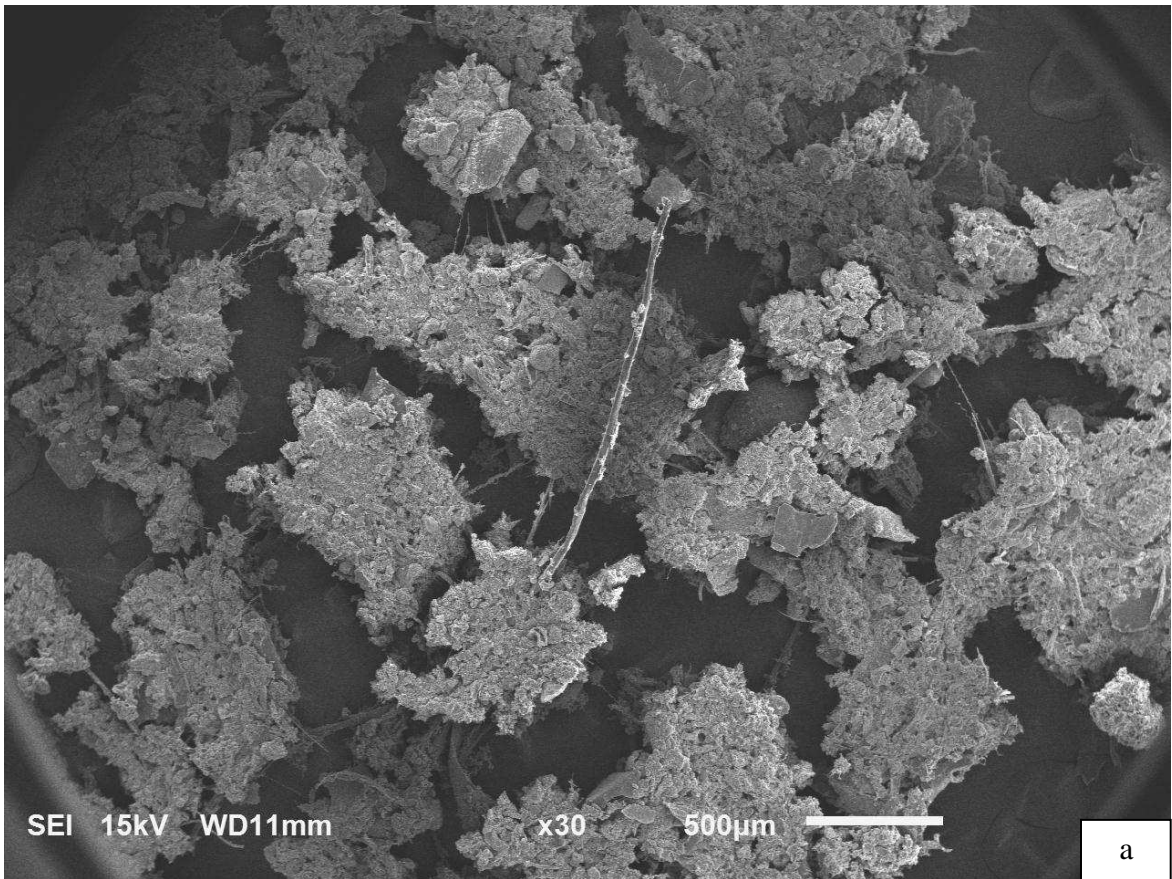
A Figura 6.20a não apresenta formações microbianas aparentes, mas permite perceber a coesão a biomassa com poucos espaços vazios e grânulos bem delineados (ponto 1). Além disso, a amostra apresenta cristais inorgânicos (ponto 2) e material orgânico (ponto 3) cobertos por material amorfo presente na biomassa. A diferenciação entre a composição inorgânica e orgânica dos pontos 2 e 3 respectivamente, foi realizada por meio da análise de EDS acoplado ao MEV. As composições dadas na análise de EDS sugerem que parte do material amorfo mencionado é rico em carbono, oxigênio e silício. Acredita-se que as estruturas helicoidais orgânicas (ponto 3) possam ser formações de estrutura vegetais (celulose), mas não são bactérias ou fungos. Isso porque pelo fato de estarem em escala de 20 μm são estruturas relativamente grandes para serem bactérias as quais variam entre 1 a 5 μm .

Na Figura 6.20b com resolução de 2 μm , além da coesão a biomassa, já é possível perceber formações microbianas aparentes, com diversos aglomerados microbianos na forma de bacilos (ponto 4), colônias de cocos (ponto 5) e cocobacilos ligados a estruturas cilíndricas ao centro podendo ser bactérias filamentosas (ponto 6). Assim baseado nos resultados apresentados na Figura 6.20 é possível verificar que a biomassa utilizada na inoculação era coesa, com aspectos de granulação consistentes e possuía uma diversidade morfológica de bactérias considerável para a biomassa anaeróbia.

A Figura 6.21 apresenta os resultados referentes à composição química da biomassa anaeróbia utilizada na inoculação do reator AnSBR. Todas as análises desta amostra apresentaram o mesmo perfil de composição. Na Figura 6.21 é possível perceber que antes da biomassa ser utilizada como agente biológico na biodegradação da ARIB a mesma era composta quimicamente por carbono (C), oxigênio (O), alumínio (Al), silício (Si) e ferro (Fe) com as

seguintes porcentagens $52,7 \pm 1,1\%$; $30,6 \pm 4,0\%$; $6,6 \pm 1,3\%$; $5,9 \pm 0,7\%$; $4,2 \pm 0,9\%$, respectivamente. As porcentagens mostram que a biomassa tinha composição rica em carbono e oxigênio, podendo ser microrganismo e material amorfo, íons de Fe, Al e Si provavelmente proveniente do esgoto sanitário que estava sendo tratado no reator UASB onde a biomassa foi coletada.

Nas figuras 6.22 e 6.23 estão apresentados os resultados das análises de MEV e EDS, respectivamente, realizados com a amostra de lodo retirada do tratamento da ARIB após 15 ciclos de operação do reator AnSBR.



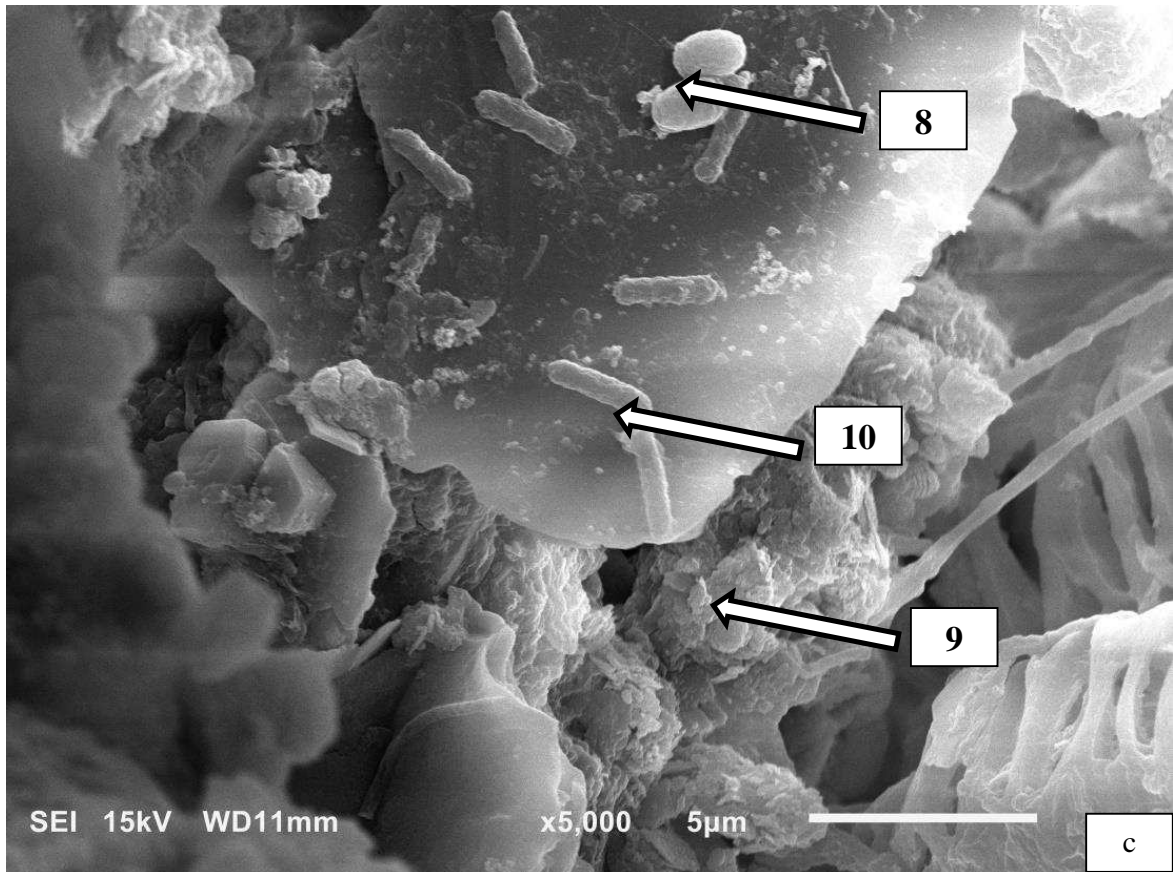


Figura 6.22- Micrografia em microscópio eletrônico de varredura da biomassa mantida dentro do reator AnSBR para tratamento da ARIB após 15 ciclos de operação. Figura 6.22a- Indicação da desfragmentação da biomassa. Figura 6.22b- Indicação do aspecto corrosivo da biomassa provocado pelos AVT acumulados (ponto 7). Figura 6.22c- Indicação da diminuição da densidade de bactérias presentes na biomassa.

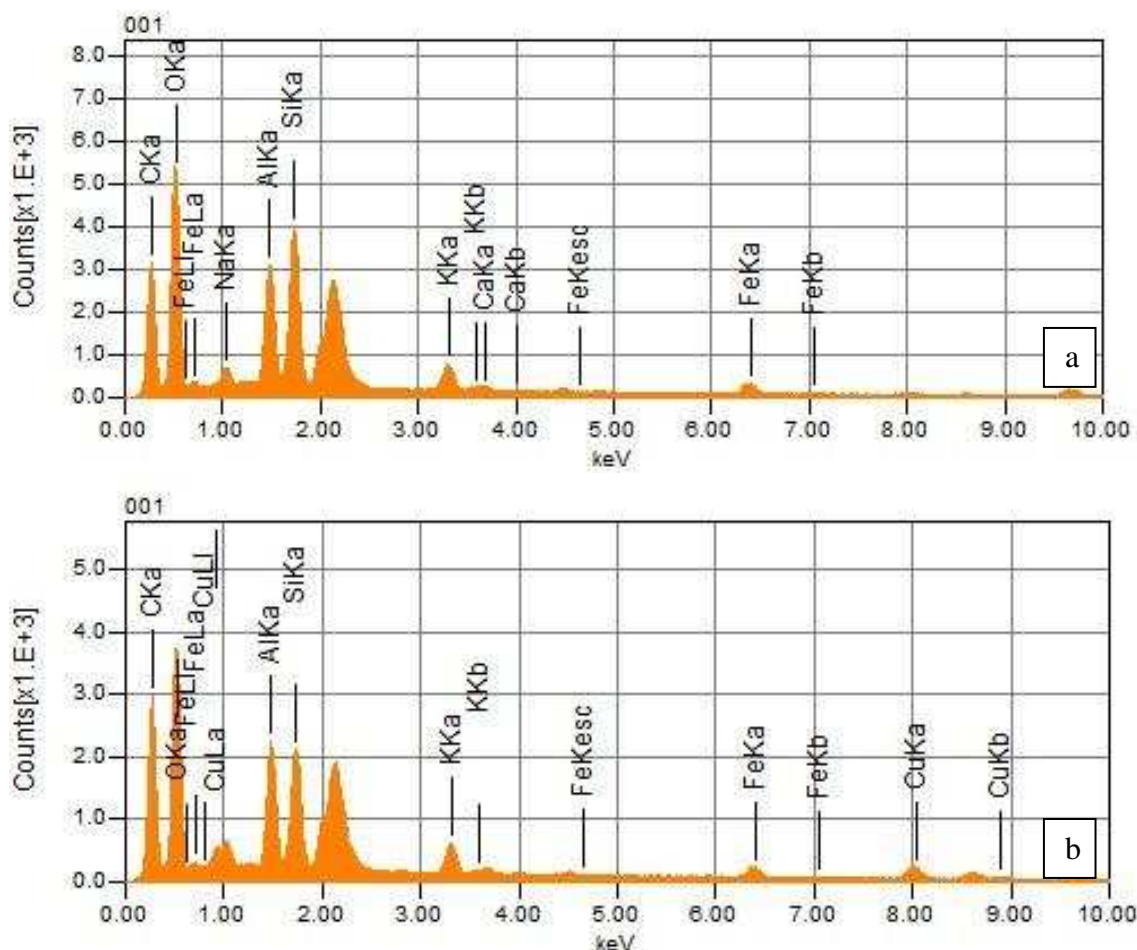


Figura 6.23- Perfil geral da análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da biomassa utilizada no reator AnSBR para o tratamento da ARIB após 15 ciclos de operação. Figuras 6.23a e 6.23b são referentes a mesma amostra analisada em repetições diferentes.

Comparando a Figura 6.20a com a Figura 6.22a é possível perceber que após os 15 ciclos de operação a biomassa perdeu a coesão mostrando-se desfragmentada sem grânulos delineados. De acordo com Delia (2003) a perda de coesão do grânulo pode ter sido influenciada pela perda de EPS ao longo do tempo. Além do EPS foi comprovado pelas análises de EDS perdas de material amorfo, sendo que a Figura 6.22b destaca que o material orgânico em espiral que na Figura 6.20 (ponto 3) estava coberto por material amorfo orgânico, agora na Figura 6.22b apresenta-se desprotegido com aspectos de corrosão (ponto 7).

Na Figura 6.22c com resolução de 5 μm , próximo ao material corroído, foram encontrados sobre superfícies inorgânicas formações microbianas aparentes na forma de bacilos (ponto 8), cocobacilos ligados (ponto 10) e sob o material amorfo corroído (ponto 9) bactérias com a morfologia de cocos. Baseado nas diversas análises de MEV realizadas com a mesma amostra descrita na Figura 6.22 foi possível verificar que a biomassa após os 15 ciclos de operação

além de não apresentar coesão, também não possuía uma diversidade morfológica de microrganismos considerável para a biomassa anaeróbia. Provavelmente a redução da quantidade de biomassa pode ter ocorrido devido à varredura da biomassa como apresentado na Figura 6.16.

Na Figura 6.23 apresentam-se os resultados referentes à composição química da biomassa anaeróbia utilizada na inoculação do reator AnSBR. Todas as análises desta amostra apresentaram o mesmo perfil de composição. Na Figura 6.21 é possível perceber que antes da biomassa ser utilizada como agente biológico na biodegradação da ARIB, a mesma era composta quimicamente por carbono (C), oxigênio (O), sódio (Na), alumínio (Al), silício (Si), potássio (K), cálcio (Ca), ferro (Fe) e cobre (Cu) com as seguintes porcentagens $27 \pm 9\%$; $45 \pm 9\%$; $1 \pm 0\%$; $8 \pm 2\%$; $9 \pm 0\%$; $2 \pm 1\%$; $0,3 \pm 0,3\%$; $5 \pm 0\%$ e $3 \pm 0\%$ respectivamente. As porcentagens mostram que a biomassa tinha composição rica em carbono e oxigênio, podendo ser microrganismos ou material amorfo, entretanto quando comparado com os resultados de caracterização da biomassa utilizada na inoculação é possível perceber que ocorreu uma perda de 51% na massa de carbono, o provávelmente auxiliou a perda de coesão da biomassa após os 15 ciclos de operação. Além disso, na Figura 6.23 foi possível perceber a riqueza de elementos inorgânicos provávelmente devido a precipitação destes nutrientes da ARIB.

Analisando ainda os resultados apresentados na Figura 6.19 pode ser observado que os valores médios das relações polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV no primeiro ciclo eram de 0,02 e 0,01 g g⁻¹ respectivamente, chegando no 15º ciclo de operação com valores médios de 1,6 e 0,4 g g⁻¹ respectivamente. Com base nesses resultados é possível afirmar que houve um aumento na relação entre as massas dos constituintes do EPS e as massas dos SSV (biomassa).

Jia et al. (1996), examinaram as características dos EPS de culturas puras compostas por arqueias metanogênicas hidrogenotróficas. O polímero foi extraído das culturas para análise das concentrações de proteína e polissacarídeo. As relações polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV para a cultura de arqueias metanogênicas hidrogenotróficas foi de 0,014 e 0,024 g g⁻¹ respectivamente. Zhou et al. (2007) analisando o EPS da biomassa de reatores UASB que operavam com produção de biogás de até 80 L d⁻¹ com constituição de 60% de metano e biomassa granulada com características metanogênicas (altos valores de atividade metanogênica específica) encontraram valores de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV de até 0,1 e 0,3 g g⁻¹, respectivamente.

Ao comparar os valores obtidos por Jia et al. (1996) e Zhou et al. (2007) com os valores apresentados na Figura 6.19 verifica-se, em termos de EPS, a biomassa utilizada na inoculação apresentava características de biomassa com presença de arqueias metanogênicas, entretanto ao longo do tempo o acúmulo de AVT no reator AnSBR (Figura 6.6), a queda na efici-

ência de remoção de DQO no reator AnSBR operando sob COV_A com valor constante (Figura 6.4), o aumento na concentração de polissacarídeos e diminuição na concentração de proteínas (Figura 6.18), a diminuição na incidência de bactérias na biomassa após os 15 ciclos de operação (Figura 6.22c), sugere que houve uma modificação na ecologia microbiana e na diversidade de microrganismos, o que justificaria a modificação da biomassa com características metanogênicas para uma biomassa com características acidogênicas.

Para confirmar as suposições a respeito da modificação na diversidade microbiana causada pelo azedamento do reator AnSBR durante o tratamento da ARIB foi realizada a análise de DGGE comparando a amostra de biomassa utilizada na inoculação com a amostra de biomassa mantida no reator AnSBR após 15 ciclos de operação, sendo assim já adaptada a ARIB. Os perfis eletroforéticos e resultados da análise de agrupamento da PCR-DGGE estão apresentados na Figura 6.24.



Figura 6.24- Perfis eletroforéticos e resultados da análise de agrupamento da PCR-DGGE gerados a partir das amostras de biomassa utilizando-se *primers* que têm como alvo as seqüências codificadoras das regiões V6 a V9 do 16S rDNA. Amostra 1 – amostra da biomassa utilizada na inoculação. Amostra a – amostra da biomassa aclimatada a ARIB e coletada após o azedamento do reator AnSBR.

Análise visual do gel de DGGE (Figura 6.24) permitiu a identificação de algumas bandas dominantes presentes tanto na amostra 1 quanto na amostra a, e de bandas presentes individualmente em cada amostra. A igualdade de posição entre as bandas das amostras 1 e a indica que algumas bactérias ou arqueias que estavam presentes na biomassa utilizada na inoculação (amostra 1) foram resistentes as condições de azedamento do reator AnSBR e permaneceram na microbiota. Todavia, a diferença de posição entre as bandas das amostras 1 e a, representa as diferenças entre a composição de bactérias e/ou arqueias de cada amostra. As bandas da amostra 1 que não foram observadas na amostra a indicam que algumas bactérias presentes na biomassa utilizada na inoculação não foram encontradas na amostra a, sugerindo que houve inibição e endogenia devido as condições de azedamento.

Através da análise visual do gel de DGGE (Figura 6.24) devido a diminuição da quantidade de bandas a da amostra a em relação à amostra 1 foi possível perceber que houve diminuição na quantidade de bactérias e/ou arqueias após o azedamento. Essa diminuição pode ser visualizada também ao comparar os resultados das análises de MEV realizadas com a amostra

1 (Figura 6.20) com e amostra a (Figura 6.22) sugerindo que além da inibição e endogenia possa ter ocorrido varredura da biomassa diminuindo a quantidade de bandas e portanto a após 15 ciclos de operação.

Já as bandas encontradas na amostra a que não existiam na amostra 1 indicam o aparecimento bandas de DNA, portanto, novas bactérias e/ou arqueias. Utilizando as análises de EPS os resultados apresentados na Figura 6.18 indicaram que a amostra 1 era constituída por microrganismos metanogênicos, mas que a partir do 8º ciclo de operação a biomassa passava a ser constituída por microrganismos acidogênicos, sendo essa a amostra a coletada no 15º ciclo de operação. Tal verificação sugere que as novas bandas encontradas na biomassa da amostra a sejam de bactérias acidogênicas que prevaleceram na biomassa devido às condições de azedamento.

Como pode ser observado na análise de agrupamento apresentada na Figura 6.24, o nível de similaridade com base no coeficiente de Dice, indica que a amostra 1 possui aproximadamente 55% de similaridade com a amostra a, mostrando que após 15 ciclos de operação ocorreu a modificação na composição da biomassa em termos de microrganismos presentes. Para analisar a modificação na composição foram determinados os índices de diversidade e riqueza de unidades taxonômicas operacionais (UTOs) nas amostras 1 e a (Tabela 6.7).

Tabela 6.7- Índices de diversidade e riqueza de unidades taxonômicas operacionais (UTOs)

Índices de diversidade	Amostras de biomassa	
	1	a
Riqueza (R)	10	13
Shannon (H)	2,303	2,565
Simpson (1-D)	0,9	0,923

Legenda: Amostra 1 – amostra da biomassa utilizada na inoculação. Amostra a – amostra da biomassa aclimatizada a ARIB e coletada após o azedamento do reator AnSBR.

O índice de riqueza (R) refere-se apenas à quantidade de UTO presentes na biomassa anaeróbia. Já o índice de diversidade biológica tanto de Shannon (H) quanto de Simpson (1-D) se referem tanto ao número (riqueza) de diferentes UTOs quanto à abundância relativa (equitatividade) dessas categorias. Os valores de R obtidos para as amostras 1 e a (Tabela 6.7) indicam que a amostra a tinha mais UTOs que a amostra 1. Os valores dos índices de diversidade de Shannon (H) e Simpson (1-D) apresentados na Tabela 6.7 revelam que a biomassa utilizada durante 15 dias no tratamento da ARIB (amostra a) apresenta maior índice de diversidade de UTOs que a biomassa utilizada na inoculação. Portanto os resultados sugerem que o azedamento do reator propiciou modificação na diversidade de microrganismos presentes na biomassa, tornando a biomassa presente no reator AnSBR diferente da biomassa utilizada na inoculação. Tal situação indica a modificação das condições de contorno, em que o modelo

descrito nas equações 6.5 e 6.6 foi criado, o que justifica a diminuição da capacidade de previsão e perda de robustez em estimar os valores de eficiência de remoção, a partir do 8º ciclo de monitoramento, como está descrito na Tabela 6.6. Embora a modificação na diversidade microbiana tenha sido comprovada, foi avaliado o número de UTOs únicas e compartilhadas pelas comunidades microbianas das amostras 1 e a utilizando o diagrama de Venn (Figura 6.25).

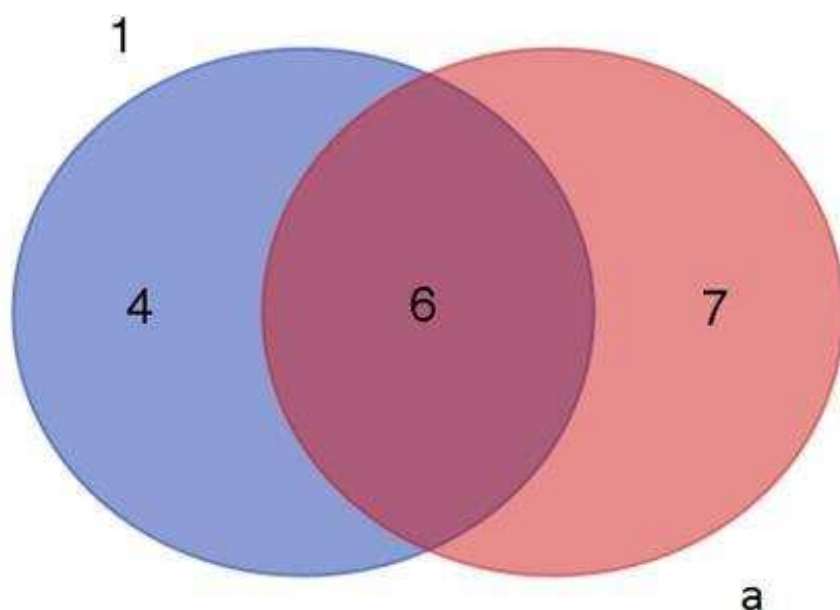


Figura 6.25- Diagramas de Venn construídos com base nas matrizes binárias (presença e ausência de UTOs) geradas pelo o *software* BioNumerics (versão 6.0). Amostra 1 – amostra da biomassa utilizada na inoculação. Amostra a – amostra da biomassa aclimatizada a ARIB e coletada após o azedamento do reator AnSBR.

Como pode ser observado na Figura 6.25 a biomassa utilizada na inoculação (amostra 1) e a biomassa aclimatizada ao tratamento da ARIB e coletada em condições de azedamento (amostra a) possuem 6 UTOs compartilhadas, sugerindo que esses microrganismos tenham sido inoculados e se mantiveram no reator AnSBR até o 15º ciclo, aclimatizando-se a modificação do substrato/fonte de carbono de esgoto sanitário para glicerol e resistindo as condições de azedamento. A amostra 1 possui 4 UTOs únicas, provavelmente referem-se as UTOs que não permaneceram ao longo dos 15 ciclos de operação do reator. A amostra a possui 6 UTOs únicas, indicando que as condições de azedamento e modificação do substrato induziram o crescimento de bactérias diferentes das encontradas na amostra 1 confirmando a modificação da ecologia microbiana.

6.4- CONCLUSÕES

Embora o reator AnSBR tenha operado em condições otimizadas, os valores de COV_A de $11,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ promoveram sobrecarga orgânica ao sistema, ocasionando a queda na eficiência de remoção de DQO e estimulando a produção de AVT o que promoveu o azedamento do reator.

A biomassa anaeróbia durante o tratamento da ARIB em condição de sobrecarga orgânica apresentou desfragmentação do material, endogenia de microrganismos anaeróbios, o que facilitou a sua varredura do reator AnSBR.

O comportamento da eficiência de remoção de matéria orgânica, consumo da alcalinidade e produção de AVT sugere que a partida de reatores AnSBR utilizados no tratamento da ARIB seja dada com o aumento progressivo da COV_A para promover a aclimatização dos microrganismos gradualmente.

Embora os valores de sólidos orgânicos (SSV e SVT) sejam tradicionalmente utilizados como parâmetros para estimar a massa ou concentração de microrganismos em trabalhos referentes a tratamento de águas residuárias, o perfil de modificação dos modelos estudados e diminuição da capacidade de previsão mesmo mantendo as condições de contorno sugerem que a diversidade microbiana presente na biomassa pode influenciar a eficiência de remoção da matéria orgânica, sendo assim o fator qualidade da biomassa deve ser considerado em trabalhos que envolvam modelagem matemática e não apenas os parâmetros referentes a balanços de massa e energia.

Os modelos obtidos no estudo realizado no capítulo 5 foram capazes de prever com precisão a eficiência de remoção do reator AnSBR até o oitavo ciclo de operação, no qual se deu o azedamento.

6.5- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Produção Nacional de Biodiesel Puro: B100 (metros cúbicos) 2016.** <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1424207836187>. Acessado em Dezembro de 2016.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA- AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard**

- methods for the examination of water and wastewater.** 22nd. ed. Washington. D.C.: APHA/AWWA/WEF, 2012.
- BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, 248-254, 1976.
- BRAVO, I. S. M.; LOVATO, G.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater: effects of organic loading, influent concentration, and cycle time. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, p. 1892-1914, 2015.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias.** 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. DESA/UFMG, 2007. 359p.
- DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R. S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.
- DELIA, T. S. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-states conditions. **Enzyme Microbial Technology**, v. 32, p 375- 385, 2003.
- DIGNAC, M. F.; URBAIN, V.; RYBACKI, D.; BRUCHET, A.; SNIDARO, D.; SCRIBE, P. Chemical description of extracellular polymers implication on activated sludge floc structure. **Water Science and Technology**, v. 38, p. 45- 53, 1998.
- DUBOIS, M.; GILLES, A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. v. 28, p. 350-355, 1956.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**. v.35, n.6, p. 1039-1042. 2011.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontol Electron**. v. 4, p. 9-18, 2001.
- HEUER, H.; HARTUNG, K.; WIELAND, G.; KRAMER, I.; SMALLA, K. Polynucleotide probes that target a hypervariable region of 16S rRNA genes to identify bacterial isolates corresponding to bands of community fingerprints. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 1045-1049, 1999.
- HU, C.; LIU, Y.; PAULSEN, B. S., PETERSEN, D.; KLAVENESS, D. Extracellular carbohydrate polymers from five desert soil algae with different cohesion in stabilization of fine sand grain. **Carbohydrate Polymers**, v.54, p 33-42, 2003.

JIA, X. S.; FURUMAI, H.; FANG, H. H. P. Extracellular polymers of hydrogen-utilizing methanogenic and sulfate-reducing sludges. **Water Research**, v. 30, p.1439-1444, 1996.
LANE, D. J. **16S/23S rRNA sequencing**. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics, (Stackebrandt E & Goodfellow M, eds), p. 115-175. Academic Press, Chichester, UK. 1991.

LANGENHOFF, A. A. M.; INTRACHANDRA, N.; STUCKEY, D. C. Treatment of dilute soluble and colloidal wastewater using an Anaerobic Baffled Reactor: Influence of hydraulic retention time. **Water Research**, v. 34, n. 4, p. 1307-1317, 2000.

LIU, H.; FANG, H. H. P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. **Journal of Biotechnology**, v. 95, p. 249-256, 2002.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007-2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J.A.D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154; p. 128-137, 2015.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. New York: McGraw-Hill, 2015. 1334 p.

MORGAN, J. W.; FOSTER, C. F.; EVISON, L. A COMPARATIVE STUDY OF THE NATURE OF BIOPOLYMERS EXTRACTED FROM ANAEROBIC AND ACTIVATED SLUDGES. **Water Research**, p. 24, P. 743-750, 1990.

MYERS, R. M.; FISCHER, S. G.; LERMAN, L. S.; MANIATIS, T. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. **Nucleic Acids Research**, v.13, p. 3131-3145, 1985.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MOTERANI, F. Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. **Revista Ambiente e Água**, v. 4, p. 157-168, 2009.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MOTTERAN, F. Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of Anaerobic Baffled Reactor in series with Up-flow Anaerobic Sludge Blanket reactor in the treatment of pig farming wastewater. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, p. 477-483, 2013.

POTT, R. W. M.; HOWE, C. J.; DENNIS, J. S. Photofermentation of crude glycerol from biodiesel using *Rhodospseudomonas palustris*: comparison with organic acids and the identification of inhibitory compounds. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 725-730, 2013.

SANTOS, D. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. AnSBBR with circulation applied to biohydrogen production treating sucrose based wastewater: effects of organic loading, influent concentration and cycle length. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, p. 659 - 674, 2014.

SCARAMUZZO, M. **Consumo de biodiesel cresce no país**. 2011. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/consumo-biodiesel-cresce-pais->. Acesso em: 02/12/2016.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SPEECE, R. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville: Archae Press, 1996. 394 p.

SPEECE, R. A survey of municipal anaerobic sludge digesters and diagnostic activity assays. **Water Research**, v. 22, n. 3, p. 365-372, 1988.

SUTHERLAND, I. W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 663-674, 2001.

VEIGA, M. C., JAIN, M. K., WU, W. M., HOLLINGSWORTH, R. I., ZEIKUS, J. G. Composition and role of extracellular polymers in methanogenic granules. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 403-407, 1997.

ZHOU, W.; IMAI, T.; UKITA, M.; LI, F.; YUASA, A. Effect of loading rate on the granulation process and granular activity in a bench scale UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1386 -1392, 2007.

CAPÍTULO 7- DESEMPENHO DE UM ANSBR OPERANDO COM AUMENTO PROGRESSIVO TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO NO TRATAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE BIODIESEL

RESUMO

O conhecimento do comportamento do AnSBR operando sob aumento progressivo de carga orgânica mostra-se fundamental para o escalonamento da unidade e estratégico para a tomada de decisão quando necessário a submissão do processo a condições de estado transiente. Neste contexto, objetivou-se neste trabalho monitorar um AnSBR operando sob aumento progressivo de taxa de carregamento orgânico (TCO) com COV_A variando entre 1,3 a 9,3 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO e uma COB de 0,1 a 0,6 g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO por SSV, modificando-se apenas a DQO do afluente de 3128 até 23336 mg L⁻¹. Observaram-se eficiências médias para remoção de $DBO_5^{20^\circ C}$ de 48; 47; 34; 54% e para DQO de 52; 41; 47 e 11% encontrados nas fases 1, 2, 3, e 4 respectivamente. O reator operou sob condições de tamponamento com valores de pH efluente acima de 7 e consumo das alcalinidades bicarbonato e total, além da produção de ácidos voláteis totais em todas as fases. O coeficiente cinético aparente, referente à velocidade de degradação da matéria orgânica, esteve entre 0,102 e 1,040 h⁻¹, sendo que o modelo cinético que considera a concentração residual de substrato foi o que melhor se ajustou aos dados obtidos. O aumento progressivo da COV_A por meio do aumento da concentração de substrato modificou a diversidade microbiana da biomassa o que influenciou na cinética de degradação da matéria orgânica. Além disso, os valores de COV_A e COB de 9,3 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO e 0,6 g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO por SSV mostraram-se como valores limitantes que promoveram a sobrecarga do AnSBR.

7.1- INTRODUÇÃO

Em termos de operacionalização para a agroindústria produtora de biodiesel não seria atrativo permitir o acúmulo da água residuária proveniente da produção do biodiesel (ARIB) em tanques pulmão presentes nas estações de tratamento de efluente da indústria (ETE). Sendo assim, toda ARIB produzida deve ser tratada no mesmo dia de sua produção, permitindo que o reator esteja disponível para novas bateladas, sem sobrecarga. No prisma do processo de tratamento de efluentes entende-se como sobrecarga um valor de carga orgânica excessiva acima daquela considerada valor de projeto.

Em AnSBR define-se carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A) quantidade mássica de substrato aplicada diretamente ao reator por unidade de volume total durante o tempo de

aplicação. E define-se carga orgânica biológica (COB) como quantidade de substrato aplicada diretamente ao reator por unidade de biomassa durante o tempo de aplicação. Ambas as cargas são influenciadas pela concentração de matéria orgânica e volume da ARIB afluente, que são parâmetros intrínsecos do processo industrial e de fundamental importância para o dimensionamento dos reatores que compõem a ETE. Como as cargas orgânicas, tanto volumétrica quanto biológica, são fundamentais para projeto e partida de AnSBR, as mesmas devem ser estudadas de forma a beneficiar o processo anaeróbio através da obtenção de um valor otimizado para ambas.

Cheong et al. (2007) e Arooj et al. (2008) utilizaram um AnSBR em condição mesofílica para tratamento de águas residuárias sintéticas formuladas a base de glicose e amido de milho respectivamente. Os autores concluíram que mantendo a COV_A constante o AnSBR operou com bom desempenho e maiores produções de biohidrogênio com valores de T_R de 6 e 4 h, respectivamente. Isso indica que a manutenção da taxa de carregamento orgânico constante em AnSBR pode ser um método ideal de operacionalização. Entretanto, no capítulo 6 deste trabalho foi verificado que a partida e operacionalização de AnSBR tratando ARIB com COV_A constante não mostrou-se adequada, indicando que não só o valor da COV_A mostra-se importante no desempenho do bioprocessos, mas também sua forma de aplicação.

Moham et al. (2007) utilizaram um AnSBR no tratamento de efluente de laticínio para produção de biohidrogênio. A água residuária utilizada tinha pH e concentrações de DQO e $DBO_5^{20^\circ C}$ de 7,2; 10400 mg L⁻¹ e 4700 mg L⁻¹, respectivamente. O AnSBR operou com aumento progressivo de COV_A de 2,4 para 4,7 kg m³ d⁻¹ através do aumento progressivo da DQO afluente, o valor do T_R foi de 23 h. De acordo com esses autores a fixação do T_R e aumento progressivo de COV_A é ideal para a seleção do tipo de microrganismo, mas fatores devem ser considerados como complexidade e concentração do substrato que será degradado.

Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011), Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013), estudaram AnSBR no tratamento da ARIB com concentrações afluentes de DQO variando entre 500 e 3000 mg L⁻¹. Os estudos resultados obtidos por estes pesquisadores sugerem que os reatores AnSBR utilizados no tratamento da ARIB apresentam bom desempenho quando operados com aumento progressivo da COV_A com base no aumento da concentração afluente de substrato. Assim, esse procedimento mostra-se como ideal para partida e estabelecimento dos estados transientes até o estado estacionário do reator operando com valor de COV_A máxima, ao contrário da manutenção da COV_A constante. Isso indica que choques orgânicos podem ser a forma ideal para aclimatização da biomassa a ARIB e talvez até sua granulação. Como foi verificado nos capítulos 4 e 5, o fator massa de inóculo mostrou-se como o mais influente no

processo de biodegradação sendo assim é necessário a investigação de qualquer procedimento que possa influenciar na melhoria da qualidade deste fator.

No contexto do efeito de choques orgânicos com aumento progressivo de COV_A via aumento da DQO afluente ao AnSBR, a concentração da ARIB mostra-se importante na prerrogativa de se conseguir uma amplitude de valores de COV_A encontrados nas indústrias já em operação. Daud et al. (2014) em uma revisão de diversos trabalhos científicos publicados entre 2005 e 2013 relataram que a DQO_T da ARIB *in natura* em indústrias pode variar entre 3681 a 588800 $mg L^{-1}$, em função do controle do processo da produção de biodiesel. Todavia, os mesmo autores relatam que os trabalhos realizados em 2013 mostram uma média geral da DQO_T de 30000 $mg L^{-1}$. Neste contexto, novos estudos que avaliem o desempenho do AnSBR operando com aumento progressivo de COV_A no tratamento da ARIB com DQO_T próximas as encontradas na indústria (3000 até 30000 $mg L^{-1}$) são necessários para conhecimento do comportamento do processo e aquisição de dados essenciais para ampliação de escala do AnSBR.

Conforme verificado nos capítulos 4 e 5, a quantidade de biomassa inoculada e disponível é o principal fator que interfere no desempenho do AnSBR em termos de remoção de matéria orgânica proveniente da ARIB e provavelmente também na produção de bioenergia. Assim em relação ao processo, além de apenas avaliar o efeito dos choques orgânicos como realizados pelos autores acima citados, é preciso avançar em termos de conhecimento científico e biotecnológico buscando explicações sobre o efeito destes choques orgânicos na cinética de crescimento de microrganismos e qualidade da biomassa em termos de ecologia e diversidade microbiana.

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o desempenho de um AnSBR utilizado no tratamento da ARIB operando em condições ótimas, investigando os efeitos do aumento progressivo de COV_A promovida por meio de choques orgânicos e na eficiência de remoção de matéria orgânica e nas características microbiológicas da biomassa.

7.2- MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1- APARATO EXPERIMENTAL GERAL

O AnSBR (Figura 4.1) e o impelidor (Figura 4.2) utilizados neste experimento foram descritos no item 4.2.1.

7.2.2- PREPARAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA (ARIB)

A ARIB utilizada durante todo o experimento foi formulada com glicerol comercial (única fonte de matéria orgânica) diluído em água destilada. A DQO_T da ARIB afluyente utilizada ao longo de todo o experimento foi variada entre 3000 e 24000 mg L⁻¹.

Para cada DQO_T da ARIB afluyente foram determinadas as concentrações de nitrogênio (proveniente da ureia) e fósforo (proveniente de uma mistura de sais fosfatados) para manutenção da relação DQO:N:P de 350:5:1.

Para o cálculo da massa de ureia necessária adotou-se a relação que 60 g de ureia (CH₄N₂O) continham 28 g de nitrogênio.

Para elaboração de 452 g de mistura de fósforo que continha 93 g de fósforo foram utilizados 136 g de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄), 174 g de fosfato de potássio dibásico (K₂HPO₄) e 142 g de fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄), sendo que de cada massa de sal fosfatado foram retirados 31 g de fósforo. A mistura foi homogeneizada e pulverizada em Charriot com o auxílio de um almofariz e após foi guardada em um frasco vedado para diminuir os efeitos da higroscopicidade da mistura. Após na solução foram inseridos os demais nutrientes nas concentrações apresentadas na Tabela 7.1.

Tabela 7.1- Composição da ARIB utilizada ao longo do experimento

Compostos	Concentração na ARIB (mg L ⁻¹)
Glicerina	777
(1000 mgDQO = 777 mg de glicerina)	(1000 mgDQO L ⁻¹)
Sulfato ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	2,50
Cloreto férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	0,25
Cloreto de cálcio (CaCl ₂ .2H ₂ O)	2,06
Cloreto de cobalto (CoCl ₂ .6H ₂ O)	0,04
Dióxido de selênio (SeO ₂)	0,04
Cloreto de Magnésio (MgCl ₂ .6H ₂ O)	7,0
Ureia (CH ₄ N ₂ O)	Variável
Mistura de fósforo	Variável
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃)	Variável

Após a elaboração da ARIB, determinou-se a massa de DQO_T multiplicando a DQO_T da ARIB afluyente pelo volume de ARIB produzido. Em seguida, na ARIB foi inserida uma massa de bicarbonato de sódio referente a 1,5 vezes a massa de DQO_T como sugerido por Selma et al. (2010). A suplementação com os nutrientes utilizados também foi utilizada por Silva et al. (2013) e Lovato et al. (2015).

7.2.3- CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO ANSBR

O AnSBR utilizado neste experimento operou de forma intermitente com ciclos completos de 24 h. As condições de operação do AnSBR foram idênticas as descritas no capítulo 6 no item 6.2.3, com a diferença que a concentração de matéria orgânica da ARIB utilizada no abastecimento foi modificada ao longo do experimento para promover o aumento progressivo da COV_A .

7.2.4- PARTIDA DO ANSBR: A PRIMEIRA BATELADA

A biomassa utilizada na inoculação do AnSBR foi proveniente do reator anaeróbio de manta de lodo utilizado no tratamento de esgoto sanitário e apresentava as características apresentadas na Tabela 6.2.

As análises do lodo foram realizadas segundo os procedimentos descritos na Tabela 4.4. Para a realização da primeira batelada foi inoculado no AnSBR 2,34 L de biomassa totalizando uma massa de lodo *in natura* de 101990 mg de SSV.

Após a inoculação o AnSBR foi enchido com 2,66 L de ARIB durante o T_A e a temperatura do banho termostático do reator foi ajustada para 36 °C, sendo que ao fim do T_A , todo o sistema (biomassa-ARIB) apresentava-se em equilíbrio de temperatura.

Ao fim do T_A o impelidor foi ligado atingindo a velocidade de agitação de 40 rpm, sendo essa condição mantida durante todo T_R . Esperou-se 5 min para que houvesse a homogeneização desejada entre a biomassa e a ARIB, neste momento foi retirado 30 mL de amostra para determinação dos sólidos suspensos voláteis no momento da partida, isso foi realizado para determinar a concentração inicial de biomassa levando em consideração a diluição do lodo *in natura* pela água residuária. Após a retirada da biomassa, o reator operou vedado, nas condições de mistura completa ao longo de todo T_R . Ao término da etapa de reação, o motor do impelidor do AnSBR foi desligado e iniciou a etapa de sedimentação da biomassa (T_S). Em seguida iniciava-se o T_D com a retirada de 2 L do sobrenadante formado após a sedimentação. O sobrenadante retirado neste e nos outros ciclos foi utilizado na realização das análises físi-

co-químicas descritas na Tabela 4.4 complementada pela Tabela 6.3. Como o volume reacional inicial foi de 5 L sempre após a retirada do sobrenadante de 2 L permaneciam 3 L de amostra constituída de biomassa e ARIB tratada. Após a retirada do sobrenadante o AnSBR iniciava uma nova fase de enchimento onde era abastecido com 2 L de ARIB afluyente e um novo ciclo começava. A mesma biomassa foi mantida no reator para realização de todos os ciclos. Assim como realizado no capítulo 6, neste experimento o valor médio da temperatura indicado no termômetro acoplado ao reator (Figura 4.1), que registrava os valores máximos, mínimos e atuais coletados durante todo o ciclo também foi adotado como temperatura de operação do AnSBR.

7.2.5- CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS, PARÂMETROS OPERACIONAIS E MONITORAMENTO DO EXPERIMENTO

Durante o experimento o AnSBR foi submetido as condições de operacionais ótimas de velocidade de agitação do impelidor de 40 rpm, tempo de reação (T_R) de 20 h, o valor de pH da ARIB afluyente foi mantido entre $8,2 \pm 0,1$ e temperatura de operação foi mantida em 37 ± 1 °C.

O experimento foi conduzido em quatro fases com duração total de 174 dias. Cada fase foi caracterizada com uma ARIB com uma DQO_T afluyente e conseqüentemente uma carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A), ambas mantidas constantes ao longo da duração de cada fase como mostrado na Tabela 7.2.

Tabela 7.2- DQO_T afluyente, COV_A e número de coletas realizadas em cada fase.

Fases	DQO_T afluyente ($mg L^{-1}$)	COV_A em termos de DQO_T ($g L^{-1} d^{-1}$)	Número de coletas utilizadas para análise realizadas em cada fase	Duração de cada fase (dias)
F1	3128 ± 50	$1,3 \pm 0,1$	15	60
F2	6238 ± 258	$2,50 \pm 0,01$	11	35
F3	12597 ± 229	$5,0 \pm 0,2$	16	37
F4	23336 ± 1944	$9,3 \pm 0,1$	26	42

Ao longo do experimento o reator foi monitorado diariamente até observar o estado estacionário no AnSBR em termos de remoção de DQO, sendo neste caso considerado estado estacionário quando a variação entre as coletas não ultrapassasse 15%. O número de ciclos realizados por dia (n) foi um ciclo por dia com duração de 24 h cada ciclo. Os valores de carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A) e removida (COV_R), carga orgânica biológica (COB) e eficiência de remoção (E) foram determinados utilizando as equações 6.1 a 6.4, res-

pectivamente. A produção volumétrica teórica de metano (V_{CH_4}) foi calculada utilizando a Equação 7.1.

$$Y = \frac{V_{CH_4}}{COV_R \times V_{AR} \times t_C} \quad (7.1)$$

Onde:

COV_R : Carga orgânica volumétrica removida ($g L^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO),

V_{AR} : Volume da ARIB utilizado no abastecimento do reator ou coletada após o ciclo (L),

t_C : Tempo de um ciclo completo (d),

V_{CH_4} : Volume teórico de metano produzido por ciclo (mL),

Y: coeficiente estequiométrico que mostra a quantidade de metano produzida por massa de DQO removida ($mL g^{-1}$).

7.2.6 - DELINEAMENTO ESTATÍSTICO DO EXPERIMENTO

Para analisar o efeito do aumento progressivo de COV_A no valor de E e COV_R , o experimento foi conduzido utilizando o delineamento inteiramente casualizado composto por 4 tratamentos e 6 repetições totalizando 24 parcelas. Cada fase experimental foi considerada como tratamentos estatísticos. Quando o AnSBR apresentava-se em estado estacionário, foram coletadas 6 amostras dentro da fase sendo essas consideradas repetições. As repetições coletadas em cada tratamento durante o estado estacionário foram utilizadas nas análises de variância (ANOVA) e no teste de Tukey para a comparação entre médias obtidas para cada tratamento.

Os dados obtidos referentes ao desempenho do AnSBR durante a aclimatização da biomassa em cada fase, ou seja, antes do reator atingir o estado estacionário, foram submetidos às análises de estatística descritiva. Tanto as análises de estatística descrita quanto as análises de estatística univariada (ANOVA e teste de média) foram realizadas utilizando o programa SISVAR, desenvolvido no Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2011).

7.2.7 – AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

No final de cada fase, após obter o estado estacionário no AnSBR foi realizado outra batelada idêntica às anteriores, todavia nestas, as amostras de ARIB efluente foram coletadas ao

longo do tempo de ciclo nos intervalos de 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 7; 11; 17; 20; 24 h. Aos dados coletados ao longo de cada intervalo que quantificavam a concentração de DQO filtrada efluente foram utilizados para determinação do perfil de degradação da matéria orgânica ao longo do tempo. Para isso o modelo de cinética de degradação de primeira ordem (Equação 7.2) e o modelo de cinética de degradação de primeira ordem considerando uma concentração residual apresentado por Rodrigues et al. (2004) que estima a concentração residual (Equação 7.3) foram ajustados a esses dados.

$$C_S = C_0 \times e^{-k_{ap} \times t} \quad (7.2)$$

$$C_S = C_R + (C_0 - C_R) \times e^{-k_{ap} \times t} \quad (7.3)$$

Onde:

C_S : DQO_S no efluente após a degradação (mg L⁻¹),

C_0 : DQO_T no início da degradação (mg L⁻¹),

C_R : DQO_S residual após a degradação (mg L⁻¹),

t: Tempo de reação da ARIB com a biomassa (h),

k_{ap} : coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica (h⁻¹).

Após, foi determinado o coeficiente de ajuste e foi realizado o estudo dos resíduos dos modelos. Tanto o ajuste dos modelos quanto os gráficos e coeficientes de ajuste foram realizados com o auxílio do programa Statistica versão 10.0.

7.2.8- AVALIAÇÃO DIVERSIDADE MICROBIANA ATRAVÉS DA ANÁLISE DE DGGE.

A avaliação da diversidade microbiana de archeas e bactérias anaeróbias foi realizada utilizando uma amostra de lodo inoculado no AnSBR (amostra 1) e retiradas do AnSBR após o mesmo alcançar o estado estacionário para cada COV_A sendo: Amostra 2- lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 1. Amostra 3 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 2. Amostra 4 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 3. Amostra 5— lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 4.

Para a coleta das amostras foram utilizados frascos esterilizados de 80 mL sendo coletados 50 mL de amostra através do registro de descarte de lodo presente no AnSBR. O procedimento detalhado adotado para a realização da análise de DGGE foi descrito no item 6.2.6 do Capítulo 6.

Os resultados da análise de agrupamento da PCR-DGGE gerados a partir das amostras de lodo utilizando-se *primers* que têm como alvo as sequências codificadoras das regiões V6 a V9 do 16S rDNA. A comparação dos perfis foi gerada com o *software* BioNumerics (versão 6.0). A escala indica o nível de similaridade com base no coeficiente de Dice.

Os Diagramas de Venn construídos com base nas matrizes binárias (presença e ausência de UTOs) geradas pelo o *software* BioNumerics (versão 6.0) demonstrando o número de UTOs únicas e compartilhadas pelas comunidades microbianas das amostras.

7.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.3.1-CONCENTRAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DO SISTEMA

As concentrações e eficiências de remoção de matéria orgânica foram mensuradas em termos de matéria orgânica biodegradável ($DBO_5^{20^\circ C}$) e em termos de matéria orgânica total (DQO). A Figura 7.1 apresenta as séries de dados referentes ao comportamento das concentrações afluente e efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de $DBO_5^{20^\circ C}$ em cada fase durante os 174 dias de monitoramento.

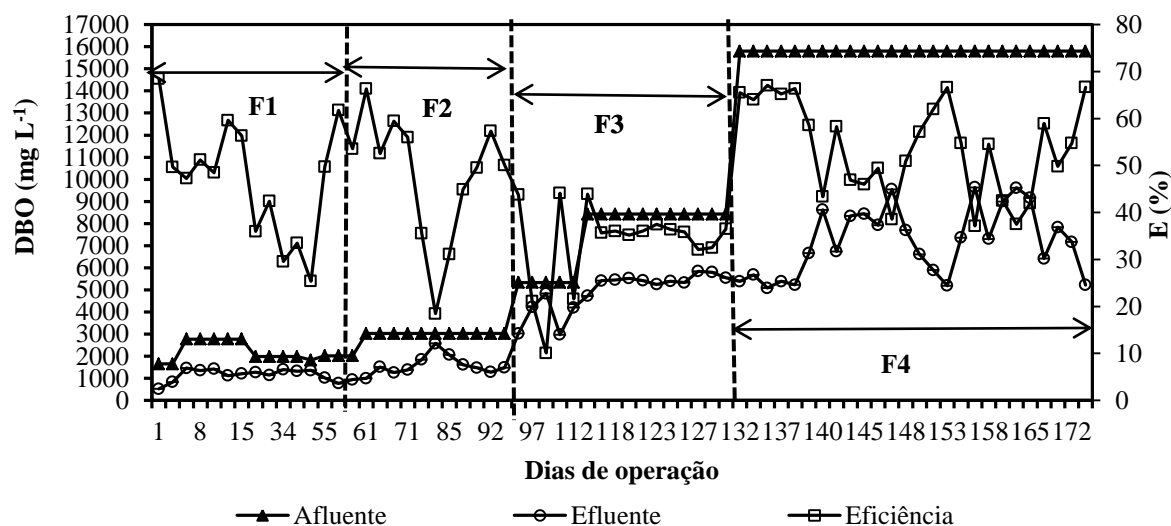


Figura 7.1- Demanda bioquímica de oxigênio ($DBO_5^{20^\circ C}$) afluente e efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de $DBO_5^{20^\circ C}$ (E) durante as fases F1, F2, F3 e F4.

Embora a DQO_T da ARIB afluente ao AnSBR para cada fase tenha sido mantida dentro de uma faixa constante (Tabela 7.1), analisando a Figura 7.1 é possível observar variações na $DBO_5^{20^\circ C}$ do afluente para a mesma DQO afluente, indicando que a biodegradabilidade da ARIB afluente foi variável.

Para o afluente foram obtidos valores de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ nos seguintes intervalos 2200 ± 422 ; 3028 ± 120 ; 7461 ± 1432 ; $15800 \pm 533 \text{ mg L}^{-1}$ coletados nas fases 1, 2, 3, e 4 respectivamente. Para o efluente foram obtidos valores de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ nos seguintes intervalos 1143 ± 268 ; 1590 ± 414 ; 4934 ± 869 ; $7199 \pm 1505 \text{ mg L}^{-1}$ em termos de O_2 coletados nas fases 1, 2, 3, e 4 respectivamente. Tais valores de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ afluente e efluente e suas variações promoveram valores de eficiência nos seguintes intervalos 48 ± 12 ; 47 ± 13 ; 34 ± 9 ; $54 \pm 10\%$ encontrados nas fases 1, 2, 3, e 4 respectivamente.

De acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente n° 430 publicada no Diário Oficial da União na data de 16/05/2011 (CONAMA n°430/2011) que dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, em relação aos valores de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$, o sistema ou unidade de tratamento de águas residuárias agroindustriais ou industriais deve atingir uma remoção mínima de 85% de DBO, para que a água residuária possa ser lançada. Mas este limite só poderá ser reduzido no caso de existência de estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor. Portanto, se a agroindústria produtora de biodiesel estiver localizada próximo a um curso hídrico com capacidade para autodepuração da ARIB, a mesma pode ser lançada após o tratamento apenas com o reator AnSBR, mesmo se o reator operasse com COV_A de valor acima do estabelecido na literatura (fases 3 e 4). Outra solução seria uma adaptação da biomassa para aumento na eficiência de remoção de $\text{DBO}_5^{20^\circ\text{C}}$ no AnSBR para valores acima de 85%. A Figura 7.2 apresenta as séries de dados referentes ao comportamento da DQO_T afluente e DQO_S efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de DQO em cada fase durante os 174 dias de monitoramento.

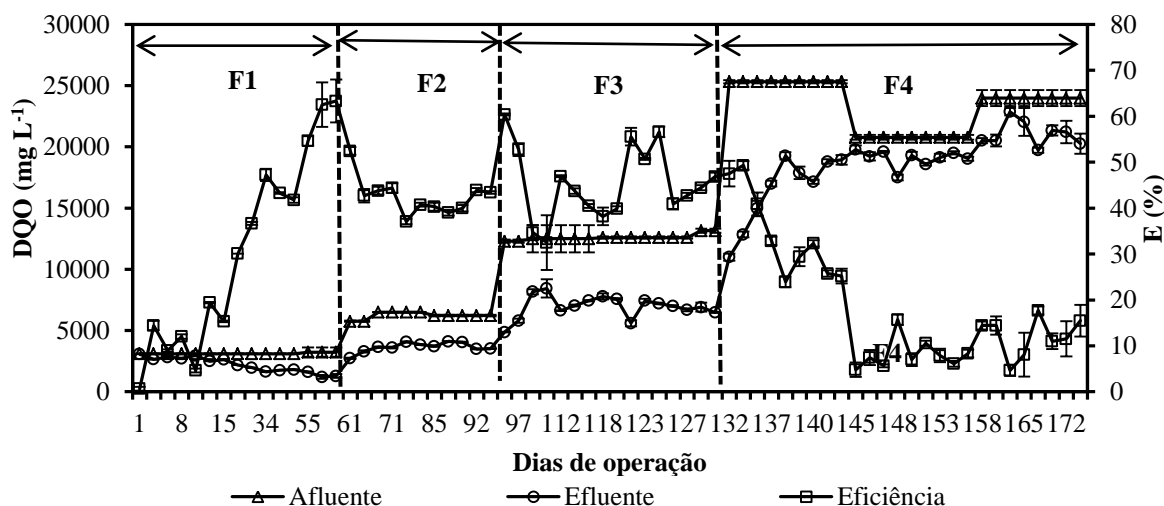


Figura 7.2- DQO_T afluente ao AnSBR, DQO_S efluente ao AnSBR e perfil de eficiência de remoção de DQO durante as fases F1, F2, F3 e F4.

Em relação à série da DQO_S da ARIB efluente ao AnSBR (Figuras 7.2) é possível perceber que na Fase 1, os valores iniciaram-se máximos na partida (próximo ao valor afluente) promovendo baixa eficiência de remoção de DQO na primeira semana de operação. Todavia, ao longo do tempo de operação do AnSBR foi observado uma tendência de redução de seu valor demonstrando uma melhoria na capacidade da biomassa em degradar a matéria orgânica indicada pelo aumento na eficiência de remoção de DQO. A Figura 7.3 apresenta uma análise em boxplot dos dados referentes à COV_A em termos de DQO em cada fase.

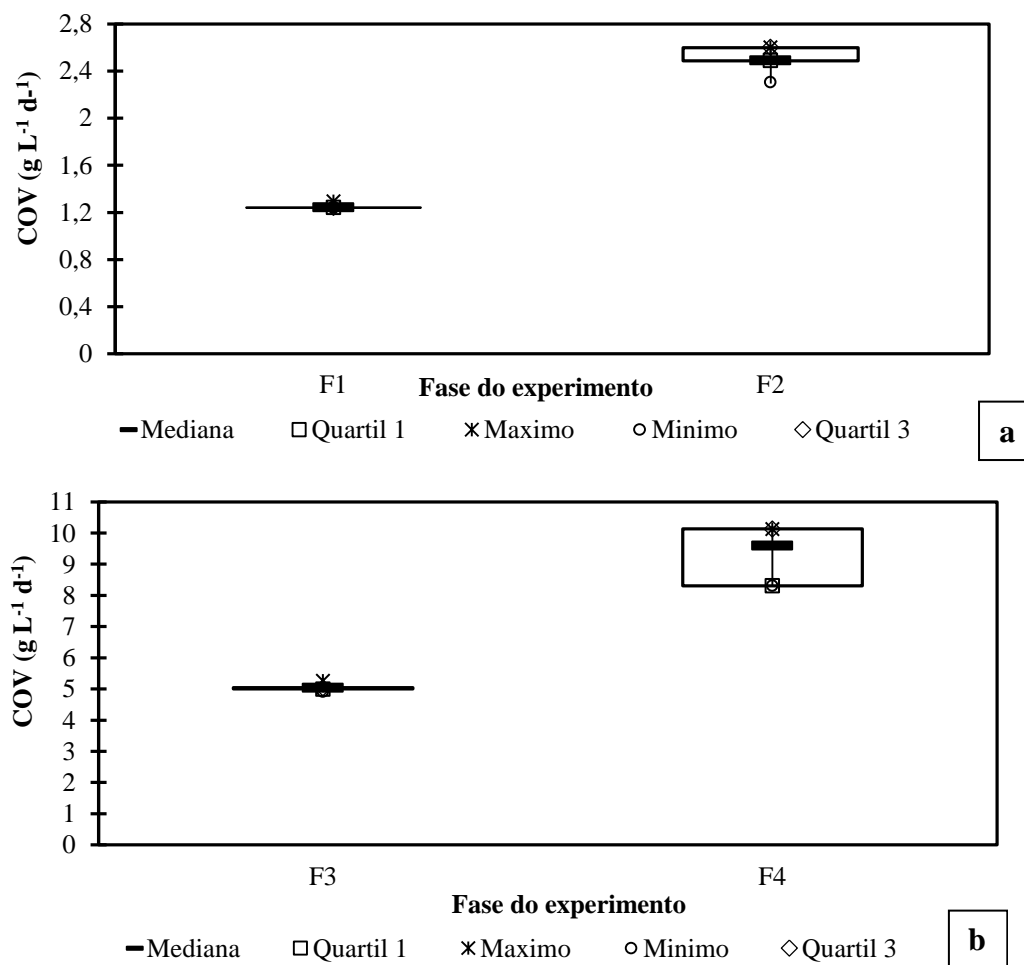
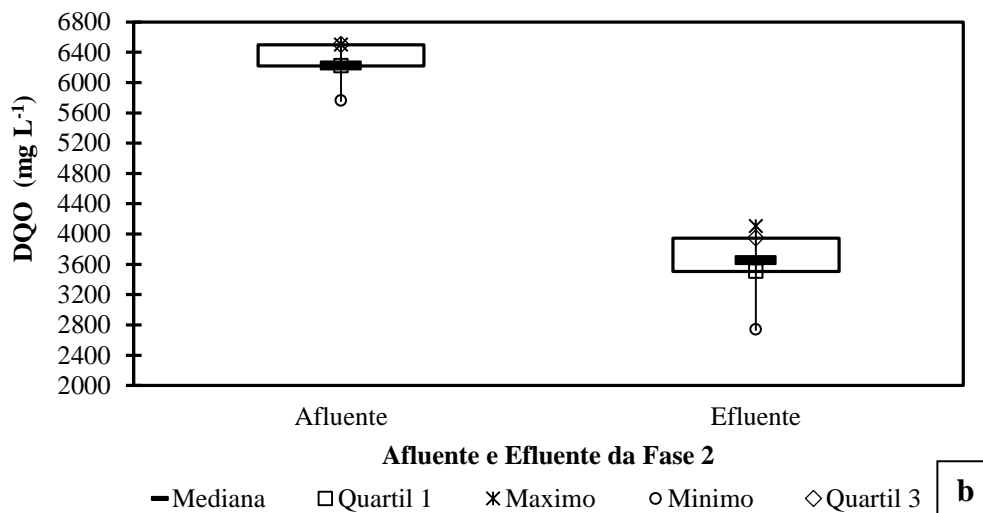
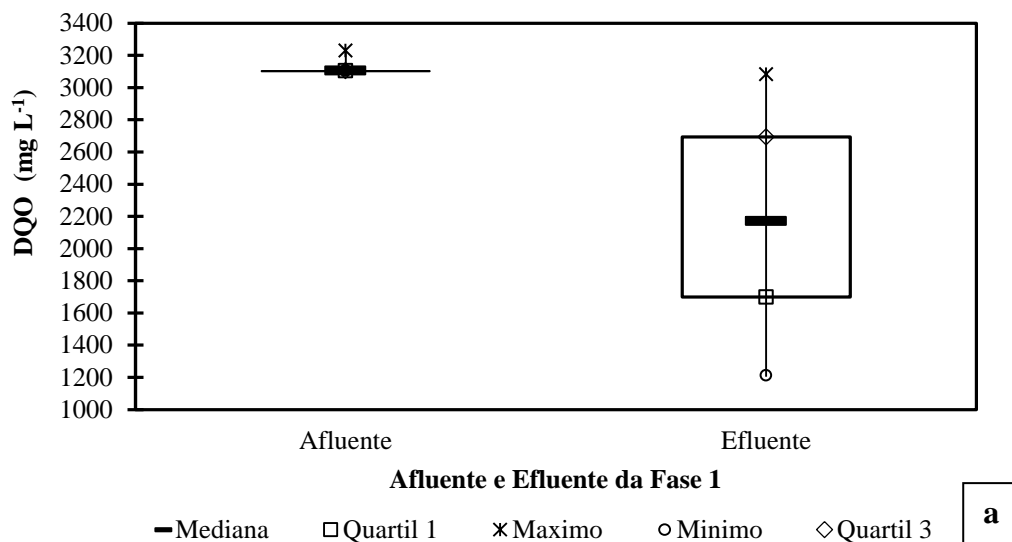


Figura 7.3- Valores de carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A) ao AnSBR em termos de DQO durante as fases F1 e F2 (Figura 7.3a) e F3 e F4 (Figura 7.3b).

A DQO_T da ARIB afluente (Figura 7.2) e valores de COV_A (Figura 7.3) foram mantidos dentro do intervalo descrito na Tabela 7.1 para cada fase estudada. Em relação ao comportamento da série de dados referentes à DQO_T afluente (Figura 7.2), comparando as quatro fases estudadas, é possível perceber que na Fase 4 foram observadas as maiores oscilações deste parâmetro. Tal comportamento promoveu maiores amplitudes entre os intervalos interquartis justificando a maior variabilidade para o parâmetro COV_A quando comparado com a variabi-

lidade encontrada para nas fases 1, 2 e 3 (Figura 7.3). Entretanto, as oscilações da DQO_T afluente (Figura 7.2) não afetaram em termos estatísticos a condição experimental de manutenção de COV_A ao longo da Fase 4, visto que a distribuição empírica dos dados na Fase 4 se mantém simétrica e semelhantes as distribuições das fases 1, 2 e 3 com valores máximos e mínimos próximos aos valores dos quartis 3 e 1, respectivamente (Figura 7.3). A Figura 7.4 apresenta uma análise em box plot dos dados referentes a DQO_T do afluente e da DQO_S efluente ao AnSBR para cada fase estudada.



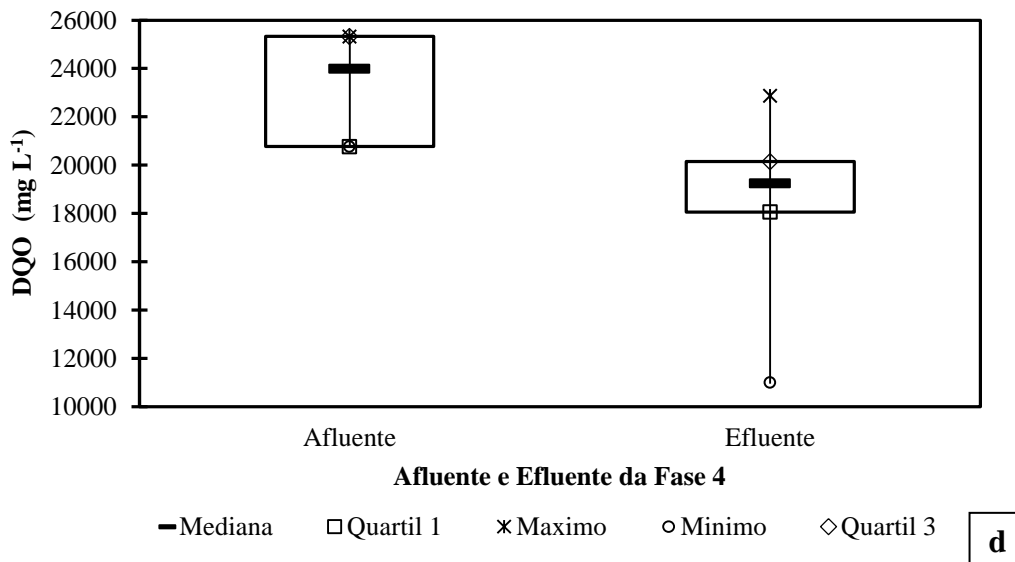
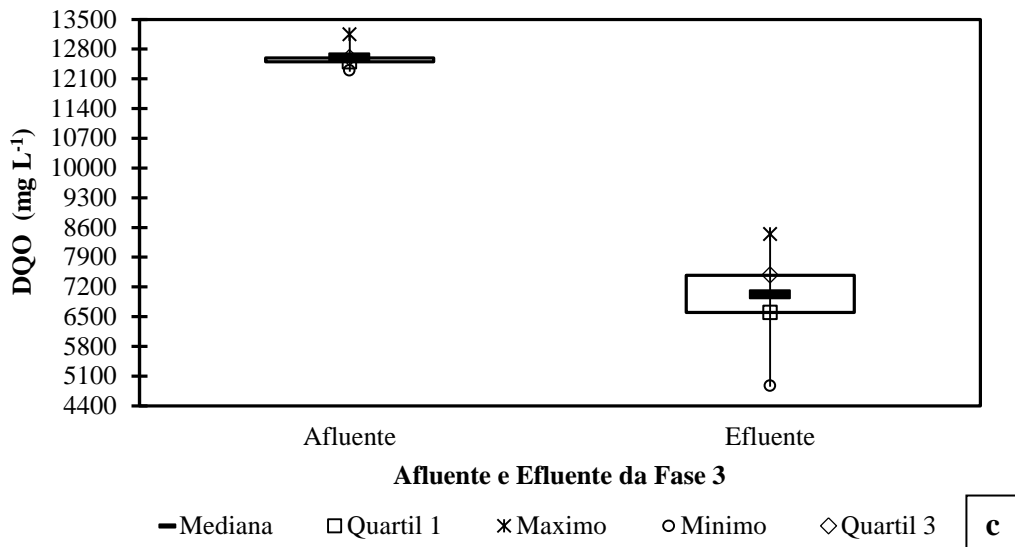


Figura 7.4- Valores da DQO_T afluentes ao AnSBR, DQO_S efluentes ao AnSBR durante as fases F1 (Figura 7.4a), F2 (Figura 7.4b), F3 (Figura 7.4c) e F4 (Figura 7.4d).

Na Figura 7.4, estão apresentados os valores mínimos e máximos de DQO_T afluentes e DQO_S efluentes ao AnSBR encontrados para a Fase 1, 2, 3 e 4, observados durante o período de partida e no estado estacionário. Na Fase 1 (Figura 7.4a) os valores de DQO_S efluentes máximos foram observados na partida do reator e os valores de DQO_S efluentes mínimos no estado estacionário. Entretanto, o contrário foi observado nas fases 2 (Figura 7.4b), 3 (Figura 7.4c) e 4 (Figura 7.4d), onde os valores mínimos ocorrerão na semana após a mudança de COV_A e os valores máximos durante o período que o reator entrou em estado estacionário. Os valores mínimos de DQO_S efluentes ocorreram devido ao efeito da diluição no ato da mudança de carga causado pela mistura de uma amostra menos concentrada referente ao volume de efluentes

permanece no reator após a fase de descarte, promovendo os intervalos interquartis (IQ) observados na Figura 7.4.

Analisando os IQ referentes aos valores de DQO_S da ARIB efluente (figuras 7.4a, 7.4b, 7.4c, 7.4d) nota-se que no decorrer das fases, o aumento da COV aplicada (Figura 7.3a e 7.3b) promoveu o aumento da variabilidade dos dados além da diminuição na eficiência de remoção da DQO como mostrado na Figura 7.2. Acredita-se que isso possa ter acontecido devido ao efeito da diluição e/ou devido ao tempo necessário para adaptação da biomassa frente aos choques orgânicos como descrito em Pereira (2014).

O efeito da diluição pode ser observado em AnSBR que operam sob variação de carga sendo que no momento da mudança de COV_A, a modificação da concentração sendo a concentração posterior equivalente ao dobro da anterior, pode ter contribuído para instabilidade dos dados de concentração efluente e conseqüentemente eficiência de remoção da DQO observados na figuras 7.3a e 7.3b. Já em relação a instabilidade devido a variação de COV_A, Pereira (2014) explica que ao se aplicar um choque orgânico em um reator anaeróbico, este pode operar de forma instável por um período indeterminado até que a biomassa esteja adaptada a nova concentração de substrato.

Para anular o efeito da instabilidade existente durante o processo de aclimatização da biomassa, utilizou-se os dados coletados durante o período de estados estacionário para analisar o efeito do aumento da DQO_T da ARIB afluente e conseqüentemente do aumento da COV_A na capacidade do AnSBR em remover matéria orgânica em termos de DQO, os resultados estão apresentados nas tabelas 7.3 e 7.4.

Tabela 7.3- Análise de variância (ANOVA) entre as quatro fases considerando como repetição apenas as seis amostras coletadas durante o estado estacionário de cada fase.

Fontes de variação	GL	QM			
		DQO da ARIB afluente	COV _A	E _{DQO}	COV _R
Fases	3	508548695,8 **	81,3 **	1997,4**	3,2**
Repetição	5	24996,2	0,004	32,9	0,1
Erro	15	24883,4	0,004	39	0,1
CV (%)		1,4%	1,4%	16,5%	18,7%

Legenda- GL: graus de liberdade DQO da ARIB afluente: DQO_T da ARIB afluente ao AnSBR (mg L⁻¹). COV_A: Carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR em cada fase (g L⁻¹ d⁻¹). E_{DQO}: Eficiência de remoção de DQO (%). COV_R: Carga orgânica volumétrica em termos de DQO removida no AnSBR em cada fase (g L⁻¹ d⁻¹). QM: quadrado médio. CV: Coeficiente de variação (%). ** Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01). *Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05). p-probabilidade.

Tabela 7.4- Valores médios da DQO_T da ARIB afluyente ao AnSBR, carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR e eficiência de remoção de DQO para cada fase.

Fases	DQO_T da ARIB afluyente ao AnSBR	COV_A	E_{DQO}	COV_R
Fase 1	3165,7 a	1,3 a	52,1 a	0,7 a
Fase 2	6267,5 b	2,5 b	41,2 b	1 ad
Fase 3	12778,9 c	5,1 c	47,0 ab	2,3 c
Fase 4	23982,3 d	9,6 d	11,4 c	1,1 d

Legenda - Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey a 5%. DQO_T da ARIB afluyente ao AnSBR: ($mg L^{-1}$). COV_A : Carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR em cada fase ($g L^{-1} d^{-1}$). E_{DQO} : Eficiência de remoção de DQO (%). COV_R : Carga orgânica volumétrica em termos de DQO removida no AnSBR em cada fase ($g L^{-1} d^{-1}$).

Como pode ser observado na Tabela 7.3, para os valores da DQO_T da ARIB afluyente ao AnSBR, carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR e eficiência de remoção de DQO encontrados em cada fase, a ANOVA indica que existe diferença estatisticamente significativa a 1% de probabilidade entre os resultados. Complementando essas informações, a Tabela 7.4 comprova pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, que para as variáveis resposta DQO_T da ARIB afluyente ao AnSBR e carga orgânica volumétrica em termos de DQO aplicada ao AnSBR, as médias entre as fases apresentam diferença significativa entre si. Todavia, os valores médios de eficiência de remoção de DQO, encontrados nas fases 1 e 3, assim como os das fases 2 e 3 não apresentam diferenças significantes. Já os valores médios de eficiência de remoção de DQO encontrados nas fases 1, 2 e 4 apresentam diferença significativa quando comparados entre si. Isso indica que o AnSBR operou sob aumento progressivo de COV_A promovido pelo aumento de DQO_T da ARIB afluyente, devido as diferenças estatísticas entre as fases.

Mockaitis et al. (2006) estudaram o efeito do aumento da COV_A no desempenho de um AnSBR no tratamento de soro de queijo. O AnSBR tinha um impelidor central do tipo turbina com seis lâminas planas, operou com valores de volume de água residuária para enchimento e T_R fixos em 2L e 7,2 h, respectivamente. O aumento da COV_A foi realizado apenas com o aumento da DQO_T afluyente (Tabela 7.5). A biomassa utilizada na partida do reator foi mantida no mesmo durante todo o experimento, sendo as oscilações nos valores de sua concentração (M), causados pelo crescimento natural da mesma e acúmulo de sólidos voláteis provenientes do afluyente no reator.

Tabela 7.5- Influência da DQO_T no desempenho de um AnSBR tratando soro de queijo avaliada por Mockaitiset al. (2006).

C _A	COV _A	COB	M	AB	E.R.	V _{CH4}	k (h ⁻¹)
500	0,59	42,4	69,8	143 ± 3	79 ± 2	nd	0,381
1000	1,15	44,3	130,3	298 ± 2	85 ± 6	191,4	0,765
2000	2,5	76,4	163,3	310 ± 14	93 ± 3	397,9	0,473
4000	4,79	137,8	173,9	572 ± 42	84 ± 4	908,3	0,287

Legenda (unidade) - C_A: DQO_T afluyente ao AnSBR (mg L⁻¹). COV_A: Carga orgânica volumétrica aplicada em termos de DQO (g L⁻¹ d⁻¹). COB: Carga orgânica biológica aplicada em termos de DQO por SVT (mg g⁻¹ d⁻¹). M: Massa de lodo em termos de SVT (g). AB: Alcalinidade bicarbonato afluyente (mgL⁻¹) em termos de CaCO₃. E. R.: Eficiência de remoção de DQO (%). V_{CH4}: Volume de metano (mL). k : Coeficiente cinético aparente referente a velocidade de degradação da matéria orgânica via equação de primeira ordem (h⁻¹). nd: não determinado. **Fonte:** Mockaitiset al. (2006).

Baseado nos dados da Tabela 7.5 nota-se que a DQO_T afluyente de 2000 mg L⁻¹, foi observado uma tendência no aumento da eficiência do reator em resposta ao aumento da concentração afluyente. Todavia, quando a DQO_T afluyente foi aumentada de 2000 mg L⁻¹ para 4000 mg L⁻¹ foi observado uma redução na eficiência de remoção de 93% para 84%. Isso indica que existe um valor máximo de concentração afluyente que indicará o valor máximo de COV_A que o AnSBR conseguirá suportar, quando se fixam os valores de afluyente para abastecimento, tempo de reação e ciclo. Ao analisar a Tabela 7.4 é possível afirmar que valores de COV_A em termos de DQO acima de 5,1 g L⁻¹ d⁻¹, afetaram o desempenho do AnSBR no tratamento da ARIB promovendo quedas estatisticamente significativas na eficiência de remoção de DQO, indicando este valor de COV_A como o limitante.

De acordo com Mockaitis et al. (2006) fixando os valores de volume de afluyente para abastecimento, e tempos de reação e ciclo, a variação na concentração afluyente do substrato influenciou na produção volumétrica de metano (V_{CH4}), na taxa de degradação do substrato (k) e consequentemente no desempenho do AnSBR. Os autores concluíram que o aumento da concentração afluyente teve interferência direta no aumento da COV_A, promove o aumento da necessidade de suplementação de alcalinidade bicarbonato (AB) e modificações nas condições de tamponamento do meio. Neste contexto a avaliação dos valores de pH e concentrações das alcalinidades e ácidos voláteis totais no afluyente e efluente do AnSBR durante o tratamento da ARIB são essenciais para a compreensão do processo.

7.3.2- CONDIÇÕES DE TAMPONAMENTO DO MEIO E TEMPERATURA OPERACIONAL

De acordo com Speece (1996) e Chernicharo (2007), o pH e a temperatura são fatores ambientais de vital importância nos processos anaeróbios metanogênicos, pois afeta a taxa de

crescimento dos microrganismos, e que suas variações podem causar importantes alterações na constituição microbiana dos consórcios entre as fases de hidrolização até a metanogênica. Os microrganismos não possuem meios de controlar sua temperatura interna e, dessa forma, a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura do ambiente, justificando a importância de se mesurar e controlar a temperatura operacional do reator. Já o valor do pH do meio pode influenciar na produção de metano normalmente, promover apenas a produção de hidrogênio inibindo a metanogênese, ou causar declínio do processo anaeróbico com o azedamento do reator, fazendo com que a produção dos ácidos voláteis continue aumentando, e a produção de metano diminua devido a alta sensibilidade das arqueias metanogênicas. Os valores de pH da ARIB afluente e efluente ao AnSBR e o valor da temperatura média operacional do AnSBR quantificados ao longo de cada fase estão apresentadas na Figura 7.5.

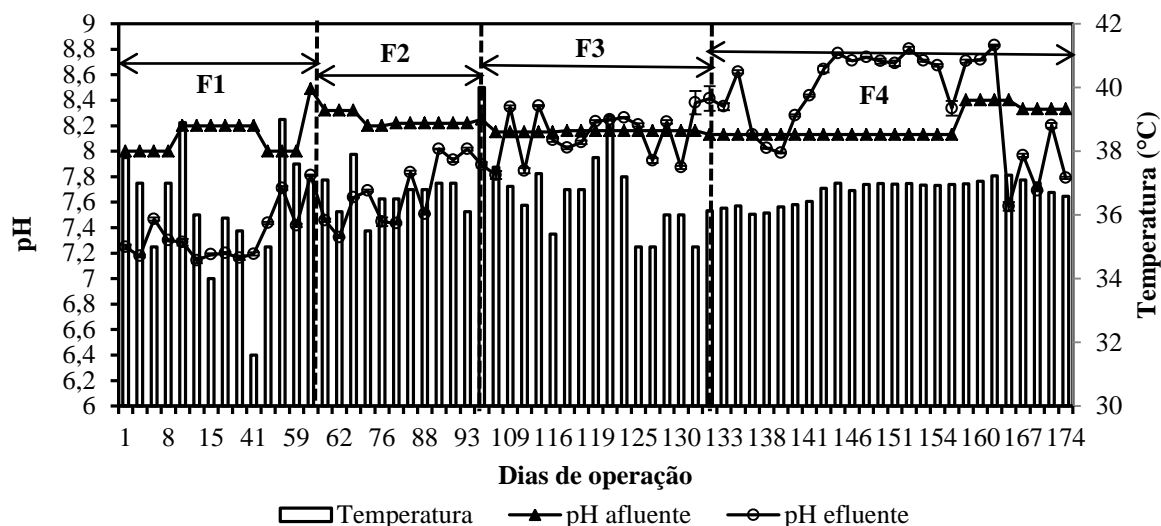


Figura 7.5- Valores de pH afluente e efluente ao AnSBR e valores médios de temperatura operacional coletados durante as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Como pode ser observado na Figura 7.5 a temperatura operacional do AnSBR foi de 31,6 a 40 °C, portanto a biomassa foi submetida a faixa mesofílica de temperatura que se situa entre 20 °C e aproximadamente 40 °C (Lim e Fox , 2011). Selma et al. (2010), Bezerra et al. (2011), Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013) que vem estudando os AnSBR e AnSBBR no tratamento da ARIB com reatores operando em fase mesofílica com valores de temperatura de 30 °C. De acordo com Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013) esse valor propicia o melhor desempenho para AnSBR tratando ARIB operando com COV_A entre 0,6 e 3,89 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO. Neste contexto é possível afirmar que o intervalo entre 31,6 e 40 °C submetido ao AnSBR que operou com COV_A entre 1,3 e 9,6 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO (Tabela

7.4) foi adequado, visto que esse intervalo de temperatura pode aumentar a solubilidade da matéria orgânica (glicerol) no meio, facilitar difusão do substrato para dentro da célula e influenciar positivamente as reações enzimáticas (NDEGAWA et al. 2008; LIM e FOX, 2011).

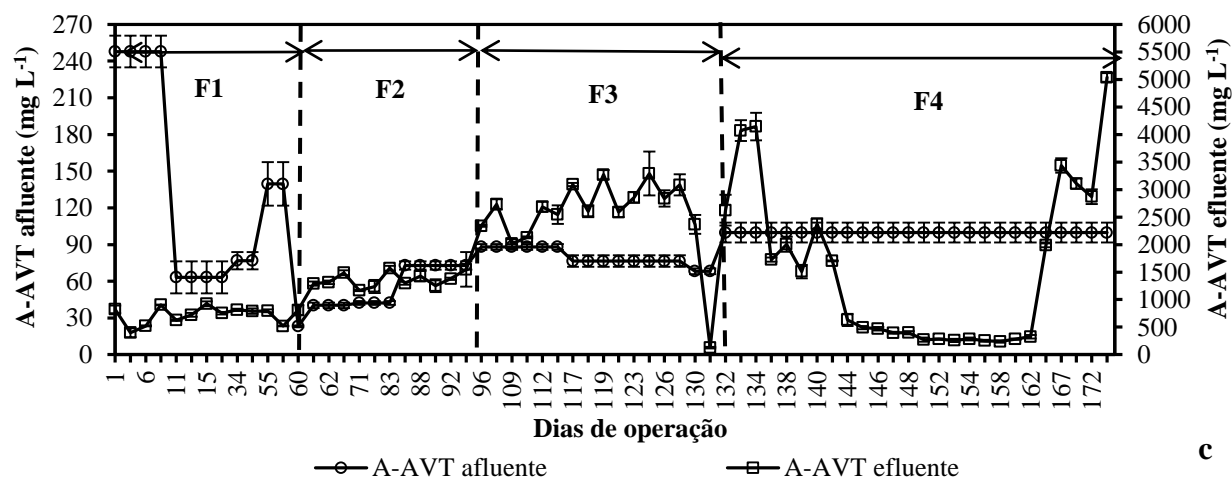
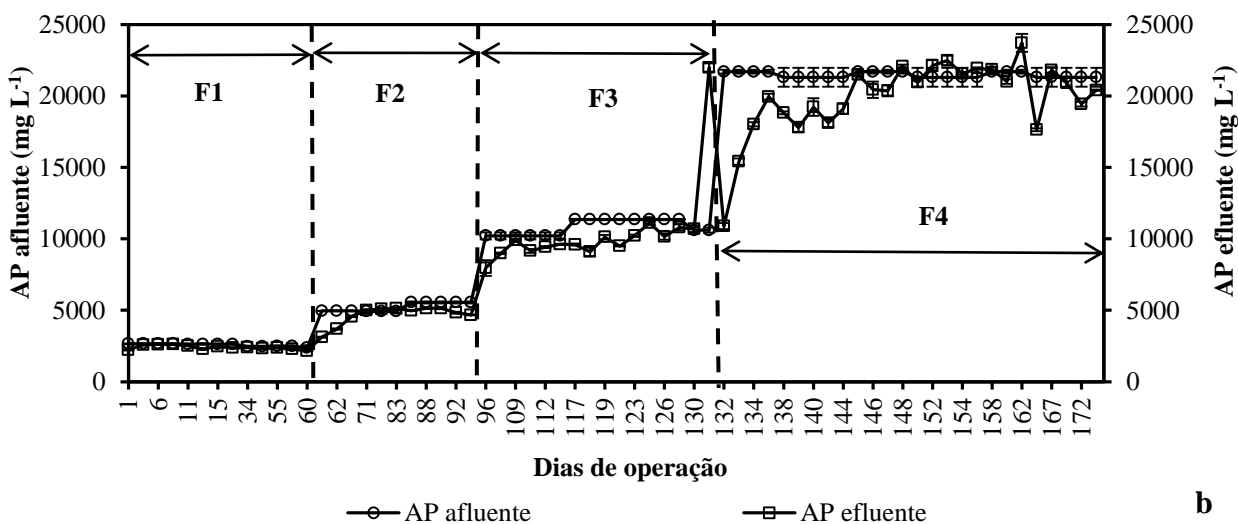
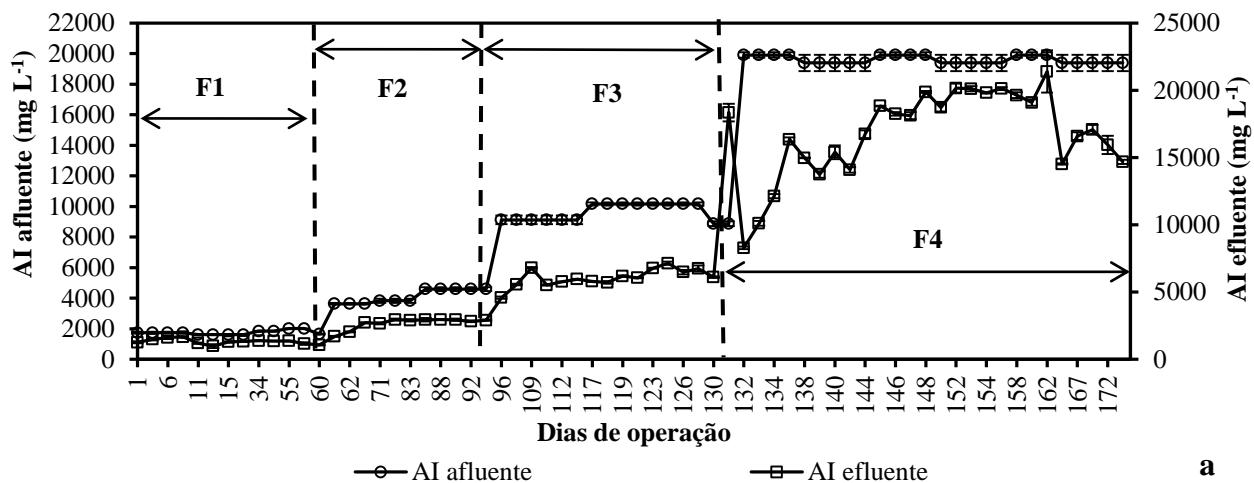
Já o pH da ARIB pode influenciar o metabolismo, especificamente a utilização das fontes de carbono como energia, as reações de síntese e a produção de metabólitos extracelulares, a morfologia e a estrutura da biomassa o que pode comprometer os fenômenos de adesão, floculação e granulação, aspectos de crucial importância no AnSBR operando com biomassa granulada. Em relação aos valores de pH afluente e efluente ao AnSBR, como pode ser observado na Figura 7.7 o pH da ARIB afluente utilizada em todas as fases foi mantido entre $8,2 \pm 0,1$ e os valores de pH efluente encontrados foram $7,3 \pm 0,2$; $7,7 \pm 0,2$; $8,1 \pm 0,2$ e $8,4 \pm 0,4$ para as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4), respectivamente. De acordo com Speece (1996) e Chernicharo (2007), a digestão anaeróbia visando a produção de metano deve ocorrer dentro da faixa de pH entre 6 e 8. Portanto, é possível afirmar que a biomassa anaeróbia presente no AnSBR foi submetida aos valores ideais de pH, todavia, foram observadas variações nos valores de pH efluente ao longo das fases, principalmente na Fase 4 onde foi evidenciado um aumento no valor do pH efluente em relação ao afluente.

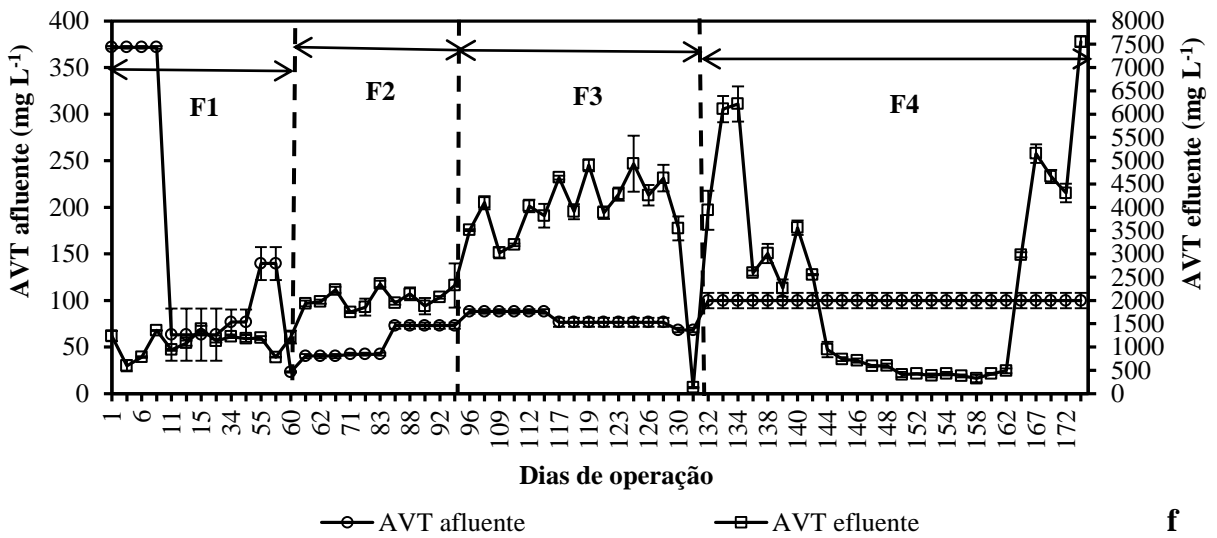
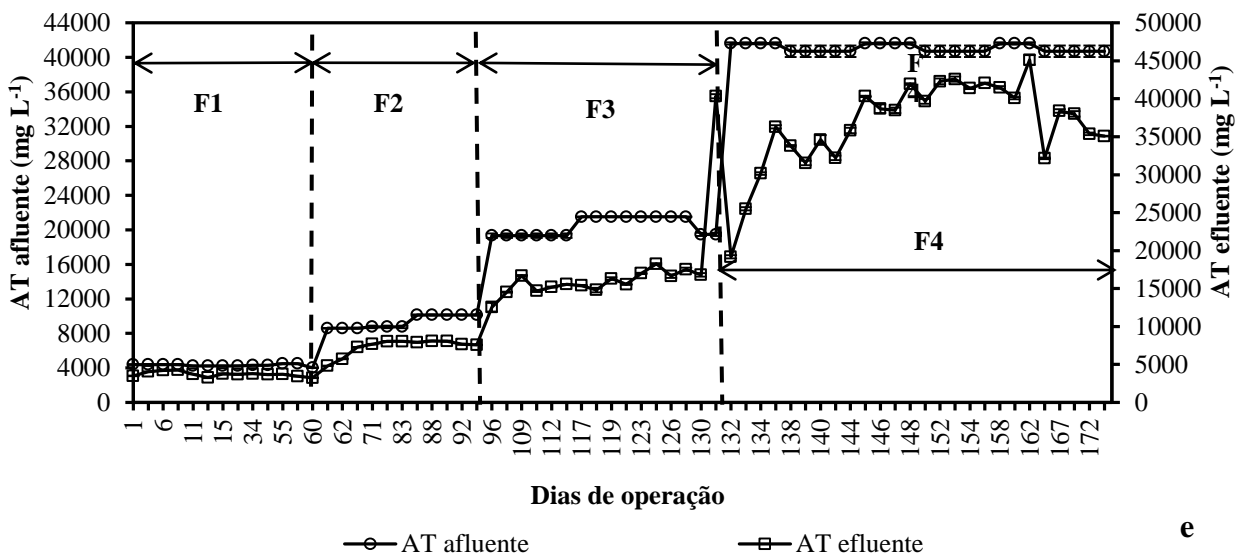
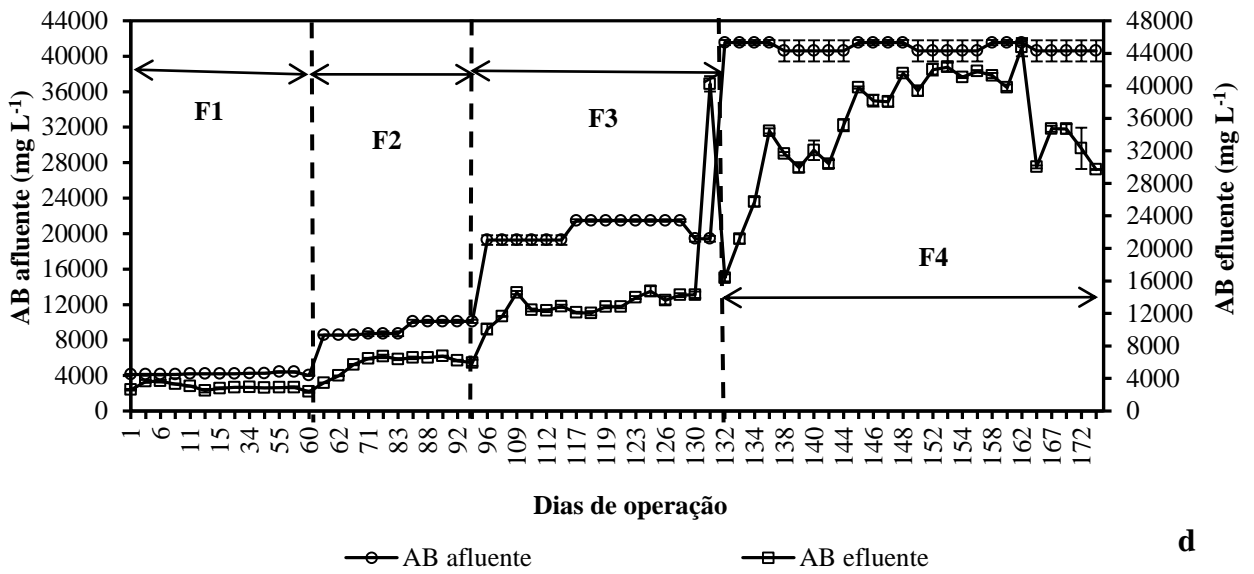
De acordo com Pereira et al. (2013) os componentes que ditam a variação de pH são CO_2 e os ácidos graxos voláteis que tendem a baixar o pH e os cátions como íon amônio e sódio que aumentam alcalinidade e o pH. No que concerne ao parâmetro alcalinidade, é largamente aceito para avaliação, a capacidade de tamponamento do pH na faixa neutra em processos anaeróbios de tratamento.

Na ARIB foram encontradas as alcalinidades parcial (AP), intermediária (AI), bicarbonato (AB) a alcalinidade à ácidos voláteis (A-AVT) e alcalinidade total (AT). A AP e a AB são as alcalinidades que tamponam ácidos presentes na solução com faixa de valor de pH, entre o seu pH *in natura* até 5,75. A diferença entre elas é que a AB é constituída por compostos que possuem bicarbonato como ânion tamponante, a AP pode possuir hidroxilas entre outros, sendo ambas as formas de alcalinidade equivalentes (RIPLEY et al., 1986).

A AI e A-AVT tamponam ácidos em solução na faixa de pH entre 5,75 e 4,3. Ambas são praticamente equivalentes em módulo, a diferença entre as mesmas é que a A-AVT tampona os ácidos voláteis acético, propionico, valérico, dentre outros considerados ácidos voláteis totais (AVT) que estão em excesso evitando a queda de pH do meio. Já a AI, tampona nesta mesma faixa de pH os demais radicais ácidos (RIPLEY et al., 1986). Esta capacidade tampão provocada pelas alcalinidades mencionadas é fundamental em situações de desbalançamento, ou seja, quando a produção dos AVT excede a capacidade de remoção pelas bactérias metanogênicas (CHERNICHARO, 2007). A Figura 7.6 apresenta as AI, AP, A-AVT,

AB, AT e concentrações dos ácidos voláteis totais (AVT) e valores da relação de Ripley presentes na ARIB afluente e efluente ao longo de cada fase.





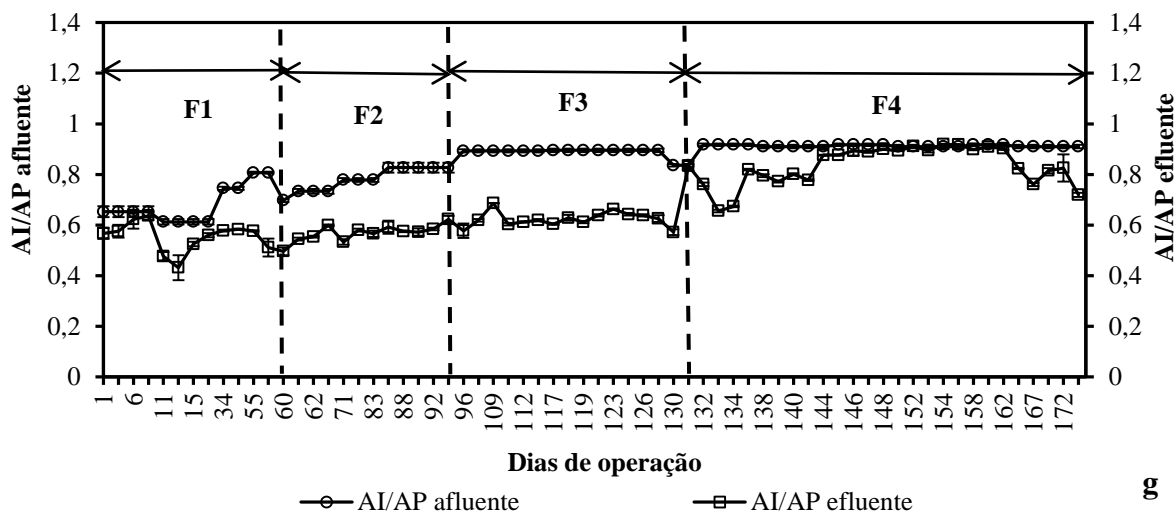


Figura 7.6- Concentrações das alcalinidades intermediária (Figura 7.6a), parcial (Figura 7.6b), a ácidos voláteis totais (Figura 7.6c), bicarbonato (Figura 7.6d), total (Figura 7.6e) e concentração dos ácidos voláteis totais (Figura 7.6f) presentes no afluente e no efluente do reator AnSBR ao longo das fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4). Unidades- IA/PA: adimensional. Concentração das alcalinidades AP, AI, AT, A-AVT, AB: mg L^{-1} em termos de CaCO_3 . Concentração dos AVT: mg L^{-1} em termos de CH_3COOH .

Ao analisar a série das alcalinidades ao longo das fases 1, 2, 3 e 4 é possível perceber que para AI (Figura 7.6a), AP (Figura 7.6b), AB (Figura 7.6d) e AT (Figura 7.6e) os valores efluentes foram menores que os valores afluentes indicando consumo dessas alcalinidades durante o tratamento anaeróbico da ARIB, sendo o consumo menos pronunciado para a AP. Para a A-AVT (Figura 7.6c) é possível perceber que nas fases 1 e 3 houve geração desta, na Fase 2 houve o consumo e já Fase 4 um comportamento misto com geração de A-AVT no início (5 primeiros dias de monitoramento) e no fim (7 últimos dias de monitoramento) e consumo no intervalo entre eles. Além disso, nota-se que o comportamento da A-AVT acompanhou o comportamento da concentração dos AVT (Figura 7.6f) que se mostrava sempre acrescente nas fases 1, 2 e 3 e no início e fim da Fase 4.

Estudos realizados por Langenhoff et al. (2000) utilizando esgoto sanitário mostraram que o acúmulo de AVT acima de 150 mg L^{-1} em reatores anaeróbios é uma primeira indicação que o sistema não está operando em condições ótimas. De acordo com Aquino e Chernicharo (2005), isso pode ocorrer devido às sobrecargas orgânicas e hidráulicas, sobrecarga tóxica, flutuações na temperatura, ou outras condições operacionais podem causar um desequilíbrio no processo, que pode resultar na acumulação de ácidos orgânicos voláteis, especialmente propiônico, butírico, e álcoois. Na Figura 7.6f é possível observar que as concentrações de AVT no efluente do AnSBR em todas as fases ultrapassaram 150 mg L^{-1} , indicando o acúmulo desses no AnSBR em todas as fases. Comparando as concentrações de AVT efluente en-

contradas para cada fase (Figura 7.6f), acredita-se que o acúmulo tenha sido causado devido aos choques orgânicos promovidos pelo aumento progressivo da COV_A , visto que tanto os valores de temperatura em todas quanto à composição da ARIB utilizada em todas as fases foi semelhante e controlada, além da ARIB não possuir compostos ou concentração considerada tóxica a microrganismos anaeróbios (SPEECE, 1996).

Analisando as fases 1, 2, 3 e 4 separadamente (Figura 7.6f) é possível observar a tendência da ARIB produzir AVT durante o tratamento anaeróbio da mesma, devido a biodegradação anaeróbia do glicerol como explicado por Lovato et al. (2015). Individualmente, ao longo de cada fase foram observadas concentrações de AVT no efluente do AnSBR acima de 150 mg L^{-1} , indicando o acúmulos desses no AnSBR. Mas como os valores de pH afluente e efluente (Figura 7.5) foram mantidos em faixas neutras e alcalinas em todas as fases pode-se confirmar que a relação adotada de massa de bicarbonato equivalente a 1,5 vezes a massa de DQO foi o suficiente para manter capacidade tampão da ARIB como descrito por Selma et al. (2010).

De acordo com Aquino e Chernicharo (2005) a capacidade tampão é máxima quando o $\text{pH} = \text{pKa}$, ou seja, quando a concentração de AVT é igual a concentração da AT presente. Analisando os valores de AT (Figura 7.6c) e AVT (Figura 7.6f), percebe-se que os mesmos não foram iguais. Para o afluente a AT média foi aproximadamente 51; 178; 257 e 412 vezes maiores que a concentração média de AVT nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. No efluente a AT foi aproximadamente 4; 4; 4 e 47 vezes maiores que a concentração média de AVT nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente, mostrando que embora o consumo da AT e produção de AVT tenham aumentado após o tratamento da ARIB no AnSBR, ainda foi possível manter a AT em excesso na ARIB efluente o que possibilitou valores de pH acima de 8, principalmente na Fase 4 onde os valores da relação AT/AVT efluente foram maiores. De acordo com Selma et al. (2010) a manutenção da massa de bicarbonato de sólido em uma quantidade de 1,5 maior que a massa de DQO total do afluente pode ter contribuído para a manutenção do excesso de AT e promovido o tamponamento do reator mesmo em condições de alta produção de AVT.

Outro fator que pode ser observado é a distância entre a série de dados que caracterizam os valores afluentes e efluentes ao longo das fases, sendo que quanto maior a distância entre elas maior a ocorrência do consumo ou da geração do referido parâmetro. Analisando da Fase 1 para a Fase 4 (Figura 7.6) a medida que se aumenta o valor da DQO_T afluente (Figura 7.2) e a COV_A (Figura 7.3) pode ser observado um aumento no distanciamento entre os valores de afluente e efluente. Como para as alcalinidades AI, AP, AB e AT foram observados consumo de alcalinidade é possível afirmar que quanto maior o valor da COV_A , maior é o consumo da

referida alcalinidade. Já para a A-AVT e AVT, quanto maior o valor da COV_A , maior é a geração destes parâmetros no meio. Isso indica que se o AnSBR for utilizado no tratamento de ARIB com baixa alcalinidade e submetido a condições de sobrecarga orgânica, poderá sofrer com o azedamento do meio devido as altas concentrações de AVT produzidos, diminuindo a eficiência de operação e produzindo odor característico indesejável.

Além das alcalinidades em relação às concentrações de AVT no afluente e efluente, a relação de Ripley ou relação AI/AP é outro fator que pode auxiliar na indicação da necessidade ou não de suplementação de alcalinidade. Como pode ser observado na Figura 8g os valores médios da relação AI/AP encontrado para o afluente e efluente do AnSBR foram 0,7 e 0,5; 0,8 e 0,6; 0,9 e 0,6; 0,9 e 0,8 para as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4), respectivamente. De acordo com Ripley et al. (1986), se o valor for maior 0,3 indica que estão ocorrendo distúrbios no processo de digestão anaeróbia. Todavia, autores como Campos et al. (2010), Pereira et al. (2013) e Pereira et al. (2016) mencionam valores de relação AI/AP de 0,4 a 1,2; 1,5 a 2,0 e 1,4 a 3,0 para águas residuárias proveniente do processamento de café, suinocultura e matadouro comprovando que o valor da relação AI/AP pode variar em função das características da água residuária. Pereira et al. (2013) indicam que o tipo de processo biológico utilizado no tratamento da água residuária também fator pode influenciar nos valores da relação AI/AP durante as condições de estabilidade, portanto é sempre recomendável observar cuidadosamente o processo na referida unidade de tratamento, pois é possível que ocorra problemas de eficiência com valores de relação AI/AP consideradas adequadas para outros pesquisadores.

Comparando os valores de eficiência de remoção de DQO (Tabela 7.3) com o perfil das relações AI/AP encontradas para a ARIB efluente ao AnSBR (Figura 7.6g) é possível afirmar que até o valor de AI/AP de 0,6, não foi observado diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) na eficiência de remoção de DQO com valores de eficiência sendo mantidos entre 41,2 e 52,1%. Todavia, para valores médios de relação AI/AP acima de 0,6 como ocorreu na Fase 4 (relação AI/AP = 0,8) os valores de eficiência de remoção de DQO decaíram para 11,4% sugerindo que os valores ideais de relação AI/AP para o tratamento anaeróbio da ARIB estariam abaixo de 0,6.

Além do tamponamento, como mostrado no capítulo anterior, os sólidos mantidos dentro do AnSBR (biomassa) podem interferir no processo de degradação da matéria orgânica e portanto na eficiência de remoção de DQO. Para entendimento das influencias dos sólidos no desempenho do AnSBR foi feito o controle da série de sólidos na ARIB afluente e efluente ao reator.

7.3.3 – PERFIL DE SÓLIDOS NO AFLUENTE E NO EFLUENTE DO ANSBR

A Tabela 7.6 mostra as concentrações de sólidos totais (ST), totais fixos (SFT), totais voláteis (SVT), suspensos totais (SST), suspensos fixos (SSF), suspensos voláteis (SSV) na ARIB utilizada como afluente nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Tabela 7.6- Valores de COV_A e concentrações de DQO e sólidos na ARIB afluente das fases 1, 2, 3 e 4

Parâmetros	Fases do experimento			
	F1	F2	F3	F4
	Média ± DP			
DQO_A	3128 ± 50	6238 ± 258	12597 ± 229	23336 ± 1944
COV_A	1,3 ± 0,1	2,5 ± 0,01	5,0 ± 0,2	9,3 ± 0,1
ST	6612 ± 117	11807 ± 1946	34779 ± 1454	73338 ± 3138
SFT	2808 ± 55	5610 ± 175	10537 ± 544	22662 ± 676
SVT	3804 ± 225	6198 ± 1795	24253 ± 961	50676 ± 3759
SST	677 ± 77	1225 ± 154	1637 ± 165	4110 ± 160
SSF	188 ± 7	193 ± 5	451 ± 113	934 ± 7
SSV	489 ± 84	752 ± 534	1337 ± 152	3175 ± 160

Legenda (unidade)- DQO_A: DQO_T da ARIB afluente (mg L⁻¹ em termos de O₂). COV_A: carga orgânica volumétrica aplicada (g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO). ST: sólidos totais (mg L⁻¹). SFT: sólidos fixos totais (mg L⁻¹). SVT: sólidos voláteis totais (mg L⁻¹). SST: sólidos suspensos totais (mg L⁻¹). SSF: sólidos suspensos fixos (mg L⁻¹). SSV: sólidos suspensos voláteis (mg L⁻¹).

Como pode ser observado na Tabela 7.6, com o aumento da DQO_T da ARIB afluente ocorreu o aumento na concentração dos sólidos presentes na ARIB. De acordo com Metcalf e Eddy (2015) todos os contaminantes na água, com exceção dos gases dissolvidos, contribuem para a carga de sólidos, assim era esperado que o aumento na concentração de DQO afluente promovesse um aumento na concentração de sólidos. Isso porque o aumento na DQO_T afluente foi devido ao aumento na quantidade de glicerol e conseqüentemente de ureia, sais de fósforo e bicarbonato (Tabela 7.1) inseridos na ARIB.

O aumento na concentração de sólidos deve ser monitorada, pois a concentração de sólidos suspensos no afluente pode afetar o desempenho do processo anaeróbio, podendo limitar a utilização de várias configurações de reatores anaeróbios. Em relação às frações de sólidos para que não ocorra prejuízos no desempenho do reator anaeróbio Lettinga et al. (1991) recomendam concentrações de SST afluentes de até 6000 mg L⁻¹ para que reatores anaeróbios consigam operar com desempenho satisfatório. Silva et al. (2013) pesquisando o emprego de AnSBR, no tratamento ARIB com DQO_T afluente de 3000 mg L⁻¹ e com concentrações afluentes de ST e SST de 5037 mg L⁻¹ e 236 mg L⁻¹, respectivamente, obtiveram eficiências de remoção de DQO de 58%, com o AnSBR operando com COV_A de 3,8 g L⁻¹ d⁻¹.

Como pode ser observado na Tabela 7.5 o AnSBR operou com concentrações de SST entre 677 mg L^{-1} (Fase 1) a 4110 mg L^{-1} (Fase 4), portanto, abaixo do limite estabelecido por Lettinga et al. (1991), indicando que queda na eficiência do reator ao longo das fases, provavelmente não foi devido a concentração de sólidos afluente (Tabela 7.6). Neste trabalho operando com concentrações de ST e SST maiores que as avaliadas por Silva et al. (2013) foram obtidos melhores desempenhos, na degradação do mesmo tipo de substrato.

Além das concentrações médias afluentes, também foram monitoradas as concentrações de sólidos totais (ST), fixos totais (SFT), voláteis totais (SVT), suspensos totais (SST), suspensos fixos (SSF), suspensos voláteis (SSV) na ARIB efluente ao AnSBR ao longo das fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4) como mostrado nas figuras 7.7 e 7.8.

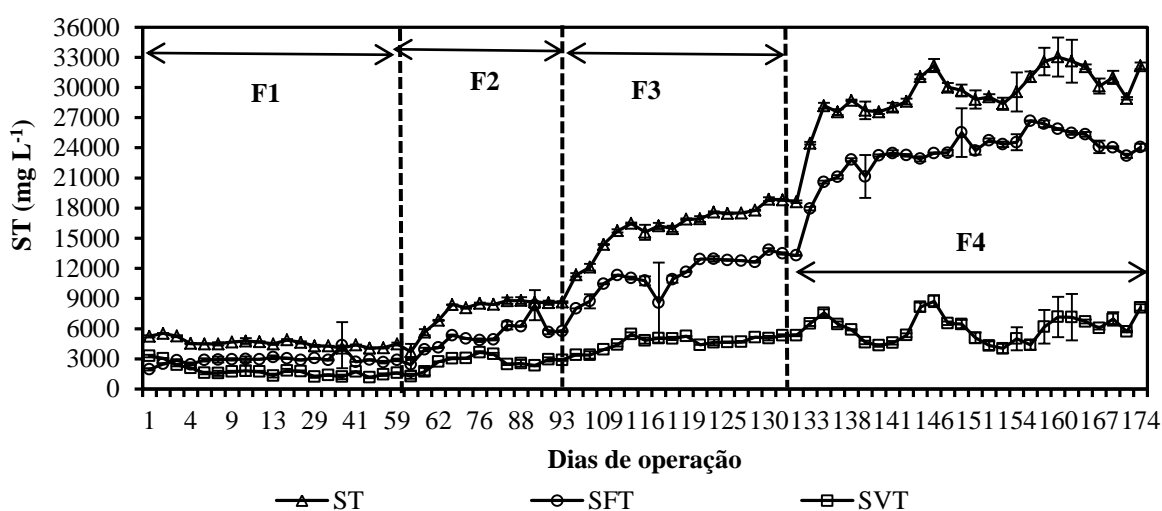


Figura 7.7- Concentrações de sólidos totais (ST), sólidos fixos totais (SFT) e sólidos voláteis totais (SVT) no efluente do AnSBR nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Como pode ser observado na Figura 7.7 as concentrações médias de ST, SFT e SVT foram de 4547 ± 433 ; 3053 ± 1072 ; $1813 \pm 550 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 1, de 8120 ± 940 ; 5586 ± 1406 ; $2802 \pm 505 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 2, de 16230 ± 2048 ; 10953 ± 2655 ; $4750 \pm 609 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 3, de 29304 ± 2917 ; 23385 ± 2917 ; $6249 \pm 1570 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 4. Ao comparar as concentrações médias afluente com as concentrações médias efluente de ST, SFT e SVT apresentadas na Tabela 7.6 e Figura 7.7, respectivamente, nota-se que os valores de concentrações de ST e SVT na a ARIB efluente do AnSBR foram menores que os valores de concentração na ARIB afluente, já para as concentrações de SFT foram observados o inverso. Isso indica que houve remoção de ST e SVT ao longo das fases, além disso, é possível afir-

mar que a remoção de ST foi devido a redução na sua fração orgânica, visto que a concentração da fração inorgânica efluente manteve-se próxima ou maiores que a concentrações afluente.

Analisando apenas as concentrações de ST e SVT na ARIB efluente ao AnSBR, as relações SVT/ST de 0,6; 0,5; 0,4 e 0,3 nas fases nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente mostram que a fração orgânica dos sólidos na ARIB efluente diminuía a medida que a COV_A aumentava indicando que ou ocorreu degradação de sólidos orgânicos o que aumentaria a remoção da matéria orgânica com o aumento da COV_A ou que os SVT que estavam efluindo do reator começaram a ser retidos no mesmo com o aumento da COV_A .

Comparando as concentrações médias de ST, SFT e SVT obtidas para cada fase (Figura 7.7) com as eficiências de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (Tabela 7.3), nota-se que na Fase 4 onde foi observada a menor relação SVT/ST também foi obtido o menor valor de eficiência de remoção de DQO, portanto a redução nos valores de SVT/ST foi devido ao aumento d retenção de sólidos orgânicos dentro do AnSBR e não devido ao aumento da degradação dos mesmos. Os sólidos orgânicos que efluíam do AnSBR poderiam ser provenientes da biomassa inoculada, em termos de SSV, no momento da partida do reator, sendo assim o perfil de contração de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no efluente do AnSBR foi monitorado ao longo das fases 1, 2, 3 e 4 (Figura 7.8).

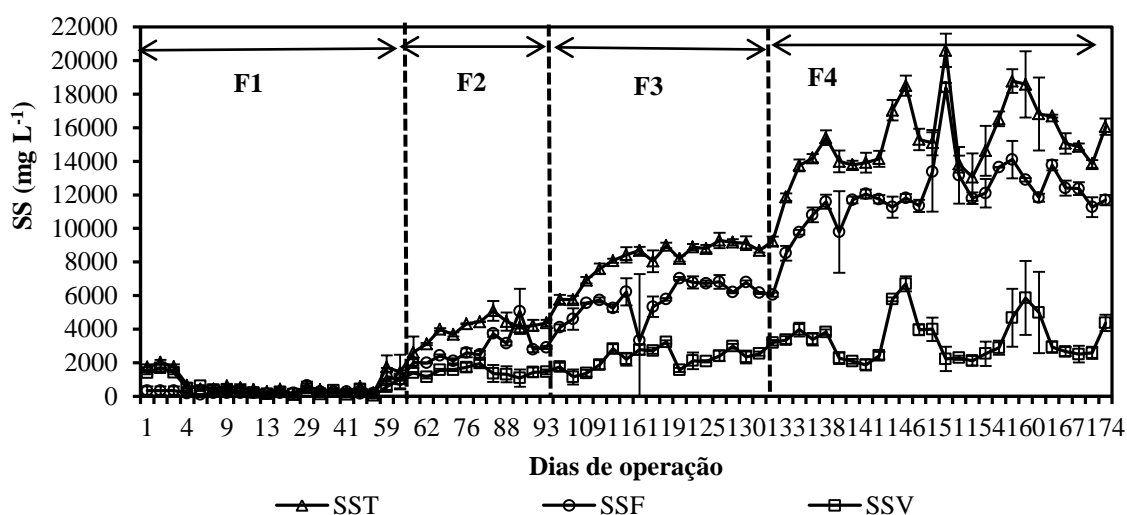


Figura 7.8- Concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) no efluente do AnSBR nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Como pode ser observado na Figura 7.8 as concentrações médias de SST, SSF e SSV foram de 737 ± 598 ; 324 ± 274 ; 514 ± 470 mg L⁻¹, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 1, de 4036 ± 650 ; 2839 ± 863 ; 1452 ± 239 mg L⁻¹, respectivamente, para a

ARIB efluente do AnSBR na Fase 2, de 8151 ± 1087 ; 5946 ± 810 ; $2244 \pm 578 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 3, de 15218 ± 2320 ; 11894 ± 2112 ; $3438 \pm 1282 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para a ARIB efluente do AnSBR na Fase 4. Ao comparar as médias apresentadas com as concentrações de SST, SSF e SSV no afluente (Tabela 7.6), nota-se que os valores de concentrações de SST, SSF e SSV na a ARIB efluente do AnSBR foram maiores que os valores de concentração na ARIB afluente, sendo que os SSF foram os mais carregados com a ARIB efluente. Isso indica que houve varredura da biomassa (SSV) e carregamento de compostos inorgânicos (SSF) ao longo das fases 1, 2, 3 e 4.

Analisando apenas as concentrações de SST e SSV na ARIB efluente ao AnSBR, as relações SSV/SST de 0,7; 0,4; 0,3 e 0,2 nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente, mostram que a varredura da biomassa se tornava menos pronunciada ao longo das fases, pois a porcentagem de SSV na ARIB efluente diminuía mesmo com o aumento da concentração de SSV no afluente e aumento progressivo da COV_A . De acordo com Ghangrekara et al. (2005) os aspectos discutidos até o presente sugerem que com o aumento progressivo da COV_A possa ter ocorrido granulação da biomassa presente no AnSBR, tornando a biomassa mais densa, melhorando as características de sedimentação e permitindo uma recuperação maior na etapa de sedimentação, o que diminuiu os valores da relação SSV/SST ao longo das fases.

7.3.4- CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS NO ANSBR, CARGA ORGÂNICA BIOLÓGICA E PRODUÇÃO TEÓRICA DE BIOGÁS

No dia da partida foi inoculado no reator 2,34 L de biomassa totalizando uma massa de lodo *in natura* de 101990 mg de SSV e 2,66 L de ARIB, o impelidor foi ligado e a concentração de biomassa (C_{SSV}) no início da Fase 1 foi de $19025 \pm 795 \text{ mg L}^{-1}$ de SSV homogeneizados no meio reacional do reator (5 L) com a COB de partida de $0,1 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO/SSV, a partir daí as COB aplicadas foram determinadas considerando a massa de SSV encontrada no início de cada fase como mostra a Tabela 7.7.

Tabela 7.7- Concentração de biomassa presente no AnSBR, DQO afluente e COB aplicada em cada fase do experimento considerando o volume reacional de 5L.

Fase	C_{SST}	C_{SSV}	M_{SSV}	DQO	COB
F1	31305 ± 1729	19025 ± 795	95125 ± 3976	3128 ± 50	$0,1 \pm 0,0$
F2	25700 ± 184	12264 ± 95	61322 ± 476	6238 ± 258	$0,2 \pm 0,0$
F3	21123 ± 619	13583 ± 5124	67917 ± 150	12597 ± 229	$0,4 \pm 0,1$
F4	35113 ± 960	15824 ± 484	77850 ± 1983	23336 ± 1944	$0,6 \pm 0,0$

C_{SST} : Concentrações de sólidos suspensos totais no volume reacional (mg L^{-1}). C_{SSV} : Concentrações de sólidos suspensos voláteis no volume reacional (mg L^{-1}). M_{SSV} : Massa de sólidos suspensos voláteis no volume reacional (mg). DQO: DQO_T da ARIB afluente (mg L^{-1}). COB: Carga Orgânica Biológica aplicada ao AnSBR ($\text{g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

Como pode ser observado na Tabela 7.7, analisando os valores encontrados no início da Fase 1 e no início da Fase 2 é possível perceber que houve uma redução na C_{SSV} e na relação SSV/SST de 19025 para 12264 mg L⁻¹ e de 0,6 para 0,5; respectivamente, indicando que a varredura de biomassa acusada pelas concentrações de SSV no efluente (Figura 7.8) diminuíram a concentração de biomassa presente no volume reacional. Todavia, analisando a C_{SSV} e a relação SSV/SST encontradas no início das fases 2, 3 e 4 (Tabela 7.7) é possível notar que houve aumento nas concentrações de biomassa com valores de C_{SSV} de 12264, 13583 e 15824 mg L⁻¹, respectivamente e nos valores de relação SSV/SST de 0,5; 0,6 e 0,5; respectivamente, indicando crescimento e manutenção da biomassa até o início da Fase 4. Entretanto, no final da Fase 4 (174º dia) as concentrações de SST e SSV foram determinadas indicando valores médios de 41633, 12806 e 64033 para os parâmetros C_{SST} , C_{SSV} e M_{SSV} , respectivamente, mostrando que ao longo da Fase 4 houve uma redução de 19% na concentração de biomassa (C_{SSV}). Analisando os valores de COB aplicada apresentados na Tabela 7.7 é possível perceber que o reator AnSBR operou com valores de COB entre 0,1 a 0,6 g g⁻¹ d⁻¹, indicando que o mesmo operou com sobrecargas orgânicas causadas tanto pelo altos valores de COV aplicada quanto pelos altos valores de COB aplicada visto que o maior valor de COB aplicado ao AnSBR utilizados no tratamento de ARIB, encontrados na literatura até o momento foi e 0,3 g g⁻¹ d⁻¹ e avaliado por Silva et al. (2013).

Como foi demonstrado nos capítulos 4 e 5 a massa de microrganismos (M_{SSV}) denominada de massa de inóculo demonstrou ser um fator de grande influencia na remoção da matéria orgânica em AnSBR tratando ARIB, sendo que quanto maior o valor desta maior será a eficiência prevista para o processo como apresentado na Equação 4.4 do capítulo 4 e na Figura 5.3 do capítulo 5.

Com o aumento da eficiência de remoção da matéria orgânica é possível obter maiores valores de carga orgânica volumétrica removida (COV_R) e maiores volumes de biogás e metano produzidos, visto que esses bioproductos estão em função da massa de DQO removida. Neste contexto, baixos valores de M_{SSV} provocados pela varredura da biomassa podem interferir negativamente no desempenho do processo, diminuindo a concentração de biomassa no volume reacional e a eficiência de remoção de DQO devido ao aumento nos valores de COB aplicada. Para analisar o desempenho do AnSBR operando no tratamento da ARIB testado neste trabalho foram utilizados os valores de COB aplicada, COV_A , COV_R e valores de eficiências de remoção de DQO obtidas por Selma et al. (2010) e Silva et al. (2013) durante o tratamento anaeróbico da ARIB (Tabela 7.8).

Tabela 7.8- Cargas orgânicas volumétrica (COV_A) e biológica (COB) aplicadas, carga orgânica volumétrica removida (COV_R), eficiência de remoção de DQO (E) e produção teórica de metano (Y) estudadas no tratamento anaeróbio da ARIB.

Tipo de reator	COV_A	COB	E	COV_R	Y	Autor
AnSBR	0,6	0,02	93	0,6	96	Selma et al. (2010)
	1,3	0,03	81	1,1	84	
	2,4	0,06	66	1,8	78	
	1,2	0,1	79	1,1	41	Silva et al. (2013)
	1,3	0,1	84	1,1	57	
	2,5	0,2	71	2	50	
3,8	0,3	56	2,6	43		
AnSBBR	4,5	0,13	83 a 85	3,9 a 4,1		Lovato et al. (2012)
	6	0,15	70 a 83	4,2 a 5,1	55,5	
	7,5	0,19	77	5,6		

AnSBR: reator anaeróbio com biomassa granulada (dispersa). AnSBBR: reator anaeróbio com biomassa imobilizada. COV_A : Carga orgânica volumétrica aplicada ($g L^{-1} d^{-1}$). COB : Carga orgânica biológica ($g g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/SSV). E : Eficiência de remoção de DQO (%). COV_R : Carga orgânica volumétrica removida ($g L^{-1} d^{-1}$). Y : Coeficiente de rendimento da produção de metano (mL de CH_4 por $gDQO$ removida).

Na Tabela 7.8 verifica-se que AnSBR operando no tratamento de ARIB com valores de COV_A entre 0,6 e 3,8 $g L^{-1} d^{-1}$ e COB entre 0,02 e 0,3 $g g^{-1} d^{-1}$ em termos de DQO/SSV respondem com valores de eficiência entre 56 e 93% e COV_R de 0,6 a 2,6 $g L^{-1} d^{-1}$. O AnSBR utilizado nesse trabalho operando com COV_A entre 1,3 e 9,3 $g L^{-1} d^{-1}$ (Tabela 7.7) e COB entre 0,1 e 0,6 $g g^{-1} d^{-1}$ (Tabela 7.7) respondem com valores de eficiência entre 11,4 e 52,1 % (Tabela 7.4) e COV_R de 0,1 a 6 $g L^{-1} d^{-1}$, sendo o maior valor de COV_R encontrado no início da Fase 4. Isso indica que o AnSBR utilizado nesse trabalho operou com valores de COV_A e COB acima da faixa estabelecida pela literatura e obteve eficiências próximas ou abaixo do mínimo encontrado na mesma, entretanto com valores de COV_R acima do esperado indicando desempenho relevante mesmo operando com sobrecarga orgânica. Para operar com valores de COV_A abaixo, porém próximos ao utilizados nesse trabalho Lovato et al. (2012) imobilizou a biomassa anaeróbia em espuma de poliuretano para diminuir o impacto da varredura da mesma permanecendo com altas concentrações de biomassa dentro do AnSBBR. Os valores de COV_R ao longo dos dias de operação estão apresentados na Figura 7.9.

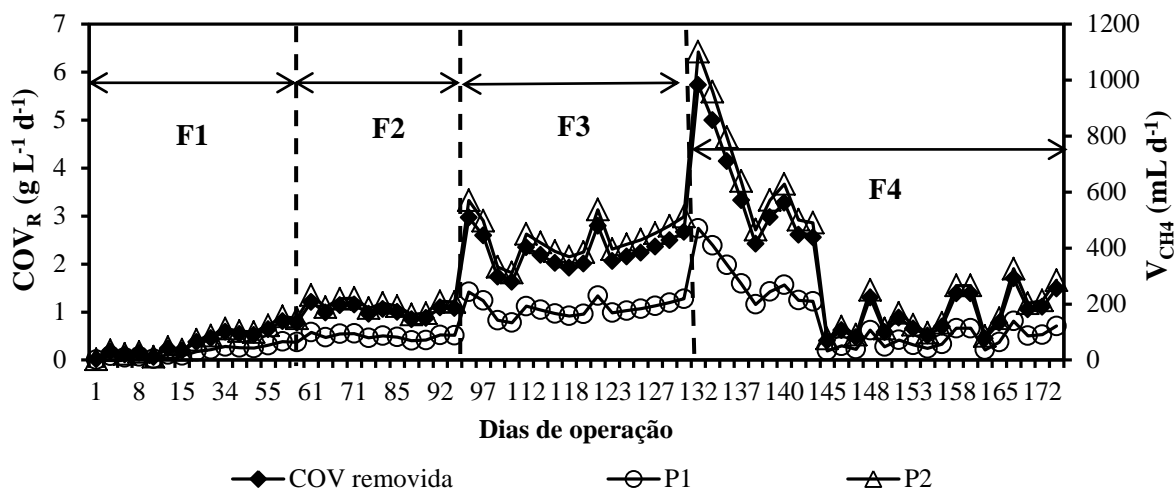


Figura 7.9- Carga orgânica volumétrica removida ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) e produções teóricas de metano mínimas esperadas (P_1) e máximas esperadas (P_2) para as fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Analisando a Figura 7.9 os valores de COV_R nas fases 1, 2, 3 e 4 foram $0,4 \pm 0,2$; $1,0 \pm 0,1$; $2,3 \pm 0,4$ e $1,8 \pm 1,5 \text{ g L}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectivamente. Considerando os coeficientes estequiométricos de produção de metano (Y) mínimo encontrado por Silva et al. (2013) de 41 mL de CH_4 por g de DQO removida e máximo encontrado por Selma et al. (2010) de 96 mL de CH_4 por g de DQO removida é possível estimar as produções diárias de metano mínimas (P_1) e máximas (P_2) esperadas para o AnSBR no tratamento da ARIB em cada fase. Sendo assim foram encontrados que a produção volumétrica mínima de metano que poderia ser esperada era de 33 ± 20 ; 85 ± 9 ; 185 ± 30 e $150 \pm 119 \text{ mL d}^{-1}$ de metano nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Já para a produção volumétrica máxima de metano poderia ser esperado valores de 77 ± 46 ; 199 ± 21 ; 434 ± 70 e $351 \pm 279 \text{ mL d}^{-1}$ de metano nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

Como pode ser observado na Tabela 7.4 e Figura 7.9 houve um aumento crescente na capacidade de remoção de matéria orgânica (COV_R) e produção volumétrica de metano da Fase 1 a Fase 3, todavia na Fase 4 foi observada redução em ambos os parâmetros. Tal fato demonstra que o AnSBR operando com sobrecargas orgânicas no tratamento da ARIB, mesmo em condições de tamponamento do meio (Figura 7.6) respondem negativamente com a redução na eficiência de remoção da matéria orgânica com o aumento da COV_A (Tabela 7.4) e COB (Tabela 7.7), também com a diminuição da capacidade de remoção de matéria orgânica em termos de carga orgânica removida (Tabela 7.4) afetando a produção volumétrica de metano, isso provavelmente devido a diminuição da concentração de biomassa dentro do AnSBR provocada pela varredura da mesma perante a sobrecarga orgânica. Além disso, os parâmetros operacionais aplicados a Fase 3 (Tabela 7.4) demonstraram ser o limite para a manutenção da eficiência de remoção de DQO (Tabela 7.4) e COV_R (Figura 7.9). Para enten-

der o processo de degradação ao longo do tempo, da matéria orgânica que afluía na concentração inicial (Tabela 7.1) e efluía com os valores apresentados na Figura 7.2 promovendo as eficiências apresentadas na Tabela 7.4, quando o AnSBR atingia o estado estacionário foram realizados os ensaios cinéticos apresentados no tópico 7.3.5.

7.3.5- CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DA ARIB EM TERMOS DE DQO

Os estudos de cinética bioquímica visam compreender as relações existentes entre as velocidades das reações e os fatores que as influenciam, tais como concentrações de substrato, temperatura, pH e quantidade de biocatalizadores (inóculo), dentre outros. A relação entre a velocidade de reação e a concentração de substrato é frequentemente de interesse particular. Essa relação é representada por uma equação matemática, denominada o modelo cinético que geralmente não é linear e que depende de algumas constantes, os parâmetros cinéticos. Para sua investigação, executam-se ensaios laboratoriais sob as mesmas condições, exceto as concentrações de substrato que são variadas. Na Tabela 7.9 estão apresentados os resultados dos ensaios cinéticos realizados no AnSBR operando em condições otimizadas para a degradação da ARIB.

Tabela 7.9- Resumo dos valores de DQO inicial e residual da ARIB, coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica obtidos após o ajuste do modelo de cinética de primeira ordem (Equação 7.2) e pelo modelo de cinética de primeira ordem considerando a concentração residual (Equação 7.3) aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4 durante o estado estacionário para cada carga orgânica volumétrica e carga orgânica biológica aplicada.

Dados obtidos com o ajuste do modelo de cinética de primeira ordem						
Fases	COB	COV_A	C₀	k_{ap}	R²	
F1	0,1	1,3	2677,0	0,04	0,972	
F2	0,2	2,5	5080,0	0,03	0,875	
F3	0,4	5,0	8835,0	0,02	0,610	
F4	0,6	9,3	21907,0	0,01	0,700	
Dados obtidos com o ajuste do modelo de cinética de primeira ordem considerando a concentração residual						
Fases	COB	COV_A	C₀	C_R	k_{ap}	R²
F1	0,1	1,3	2774,0	1052,0	0,102	0,982
F2	0,2	2,5	5834,0	3312,0	0,350	0,995
F3	0,4	5,0	12533,0	6930,0	1,801	0,987
F4	0,6	9,3	24062,0	20306,0	1,040	0,980

Legenda (unidade)- COV_A: carga orgânica volumétrica aplicada (g L⁻¹ d⁻¹) em termos de DQO. COB: carga orgânica biológica aplicada (g g⁻¹ d⁻¹) em termos de DQO por SSV. C₀: DQO inicial da ARIB (mg L⁻¹). C_R: DQO residual após a degradação (mg L⁻¹). k_{ap}: coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica (h⁻¹). R²: coeficiente estatístico de determinação que indica o ajustamento dos modelos (equações 7.2 e 7.3) aos dados.

Como pode ser observado na Tabela 7.9 os valores de DQO inicial (C_0) obtidos através do ajuste das equações 7.2 e 7.3 aos dados, mostram-se diferentes dos valores médios fixados para cada fase (Tabela 7.2). Isso ocorreu devido ao efeito da diluição, ao misturar o volume de 2 L utilizados no abastecimento com a concentração estabelecida pela Tabela 7.2 com o sobrenadante previamente presente junto com a biomassa no reator em concentração menor que a dos 2 L utilizados no abastecimento.

Para os resultados obtidos no ajuste da Equação 7.2, foi possível perceber que o aumento progressivo da COV_A através do aumento da concentração afluenta e também o aumento da COB proporcionam a diminuição do valor do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica e diminuiu a qualidade do ajuste da Equação 7.2 aos dados coletados. Já para os resultados obtidos no ajuste da Equação 7.3, foi possível perceber que o aumento progressivo da COV_A através do aumento da concentração afluenta e também o aumento da COB proporcionam o aumento do valor do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica mantendo a qualidade do ajuste da Equação 7.3 aos dados coletados.

Após o ajuste da Equação 7.2 e da Equação 7.3 aos dados coletados durante os estados estacionários de cada carga, por meio dos coeficientes estatísticos de determinação (R^2) que indica o ajustamento dos modelos, é possível afirmar que os dois modelos testados ajustaram-se aos dados coletados gerando assim valores para os parâmetros cinéticos desejados. Entretanto a qualidade do ajuste da Equação 7.2 mostrou-se inferior a qualidade do ajuste da Equação 7.3 para os ensaios realizados nas fases 2, 3 e 4.

De acordo com Ferreira et al. (2014), na terminologia estatística, as equações 7.2 e 7.3 estão inseridas na classe de modelos de regressão não lineares uma vez que pelo menos um dos coeficientes aparece não linearmente na expressão. Ainda não se existe consensos que definem quais são os modelos ideais para cada tipo de ensaio cinético e também a explicação das diferenças entre as qualidades de ajuste ainda são estudadas. Acredita-se que devido a erros de medida, aproximações utilizadas na formulação do modelo e variações incontroláveis nas condições experimentais, um componente aleatório, o erro aleatório, é adicionado nas equações. Por isso, deve-se estudar os modelos utilizados em termos de metodologia de obtenção das estimativas de erros ou resíduos averiguando a calibração do modelo e sua capacidade de previsão, análise dos resíduos provenientes dos modelos de regressão em termos de análise de variância, normalidade e homocedasticidade. Os resultados do teste estatístico de análise da variância (ANOVA) dos modelos descritos pelas equações 7.2 e 7.3 estão apresentados na Tabela 7.10.

Tabela 7.10- Análise da variância dos modelos descritos pelas equações 7.2 e 7.3 ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4 durante o estado estacionário

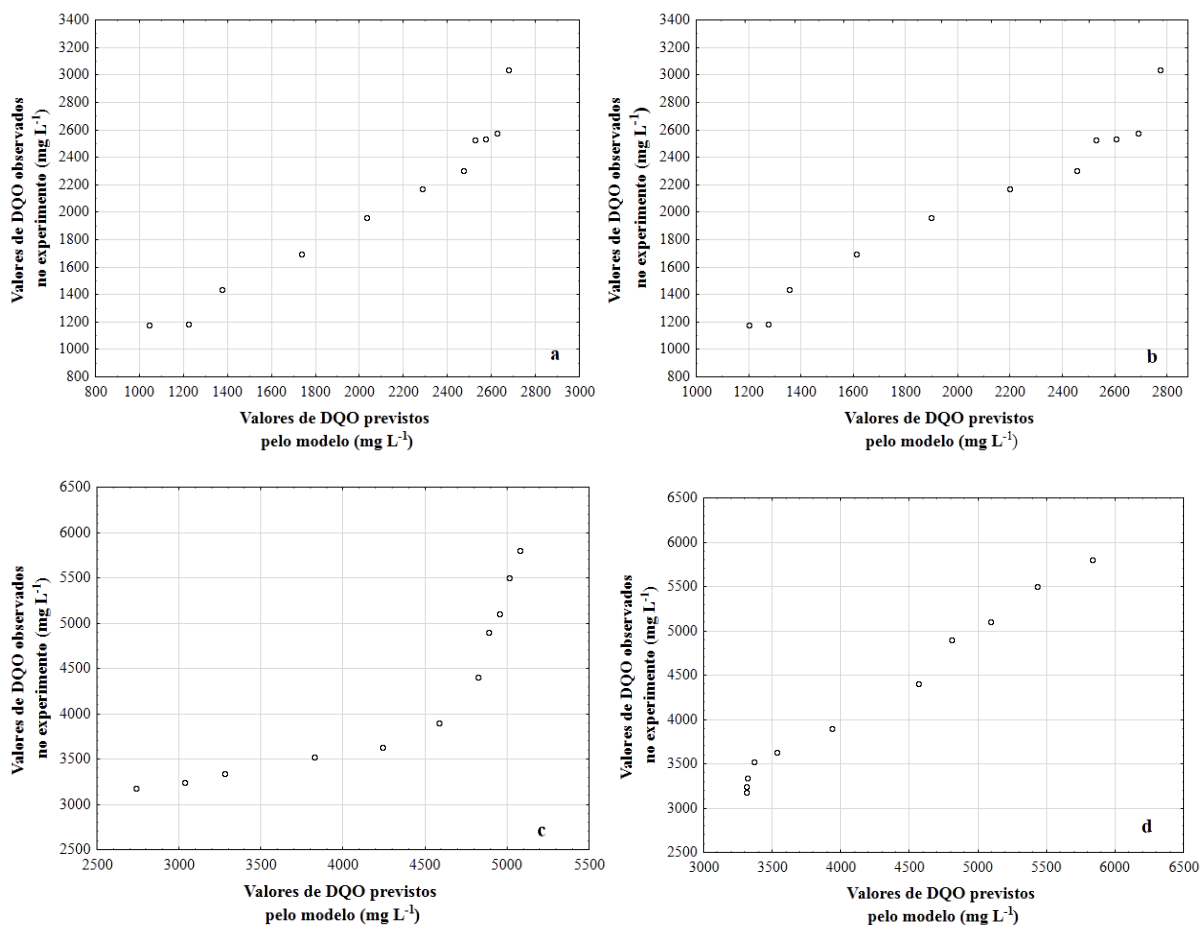
Modelo descrito pela Equação 7.2					Modelo descrito pela Equação 7.3			
Fase 1					Fase 1			
Efeito	GL	SQ	QM	F	GL	SQ	QM	F
Regressão	2	50024595	25012298	1073	3	50096804	16698935	970,3
Residual	9	209883	23320		8	137675	17209	
Total	11	50234479			11	50234479		
Fase 2					Fase 2			
Efeito	GL	SQ	QM	F	GL	SQ	QM	F
Regressão	2	203742565	101871283	428	3	205784927	68594976	5488,4
Residual	9	2142347	238039		8	99985	12498	
Total	11	205884912			11	205884912		
Fase 3					Fase 3			
Efeito	GL	SQ	QM	F	GL	SQ	QM	F
Regressão	2	676983865	338491932	158	3	695311959	231770653	1965,6
Residual	9	19271411	2141268		8	943317	117915	
Total	11	696255276			11	696255276		
Fase 4					Fase 4			
Efeito	GL	SQ	QM	F	GL	SQ	QM	F
Regressão	2	$4,9012 \times 10^9$	$2,4506 \times 10^9$	2710	3	$4,9087 \times 10^9$	$1,6362 \times 10^9$	19728
Residual	9	$8,1378 \times 10^6$	$9,0420 \times 10^5$		8	$6,6353 \times 10^5$	$8,2941 \times 10^4$	
Total	11	$4,9093 \times 10^9$			11	$4,9093 \times 10^9$		

Os resultados da ANOVA apresentados a Tabela 7.10 elucidam a ideia do teste para significância da regressão que possibilita determinar se há uma relação entre a variável resposta (DQO solúvel) e a variável independente (tempo de degradação). Assim para analisar os resultados apresentados na Tabela 7.10 utiliza-se os conceitos do teorema da distribuição de forma quadrática, considerando o nível de significância (α) de 5%, sendo que se o valor de $F_{\text{Calculado}}$ (Tabela 7.10) for maior que o valor de F_{Tabelado} , aceita-se a hipótese da DQO efluente variar ao longo do tempo de degradação e portanto o modelo mostra-se ajustável aos dados. Para a ANOVA do modelo descrito pela Equação 7.2 considerando o valor de α de 5%, o grau de liberdade do numerador (regressão) com valor de 2 e o grau de liberdade do denominador (resíduo) com valor de 9 para os ensaios realizados nas fases 1, 2, 3 e 4, tem-se que o valor de F_{Tabelado} é 4,2565. Portanto, como todos os valores de $F_{\text{Calculado}}$ para a Equação 7.2 nas fases 1, 2, 3 e 4 (Tabela 7.10) foram maiores que o valor de F_{Tabelado} , aceita-se com o nível de confiança de 95% que o modelo representado pela Equação 7.2 pode ser ajustada aos dados que descrevem o comportamento cinético de remoção da matéria orgânica.

Para a ANOVA do modelo descrito pela Equação 7.3 considerando o valor de α de 5%, o grau de liberdade do numerador (regressão) com valor de 3 e o grau de liberdade do denominador (resíduo) com valor de 8 para os ensaios realizados nas fases 1, 2, 3 e 4, tem-se que o

valor de F_{Tabelado} é 4,0662. Portanto, como todos os valores de $F_{\text{Calculado}}$ para a Equação 7.3 nas fases 1, 2, 3 e 4 (Tabela 7.9) foram maiores que o valor de F_{Tabelado} , aceita-se com o nível de confiança de 95% que o modelo representado pela Equação 7.3, assim como a Equação 7.2, também pode ser ajustada aos dados que descrevem o comportamento cinético de remoção da matéria orgânica.

Como foi elucidado a ANOVA dos modelos indica se a equação pode ser utilizada para ajustar os dados, mas não infere sobre robustez, qualidade ou capacidade de previsão. Neste contexto, a análises de calibração do modelo (Figura 7.10) pode auxiliar no entendimento sobre a capacidade do modelo em prever os dados, utilizando os parâmetros cinéticos obtidos no ajuste.



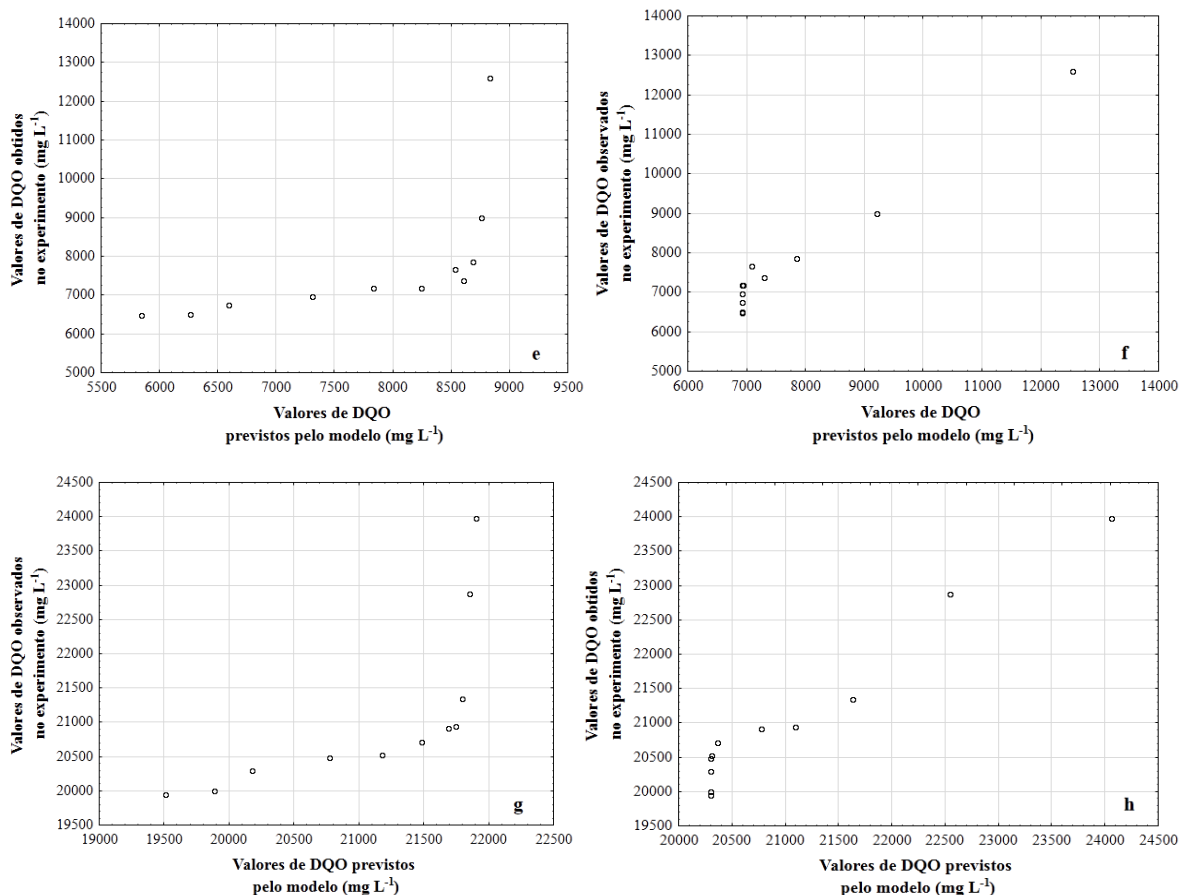


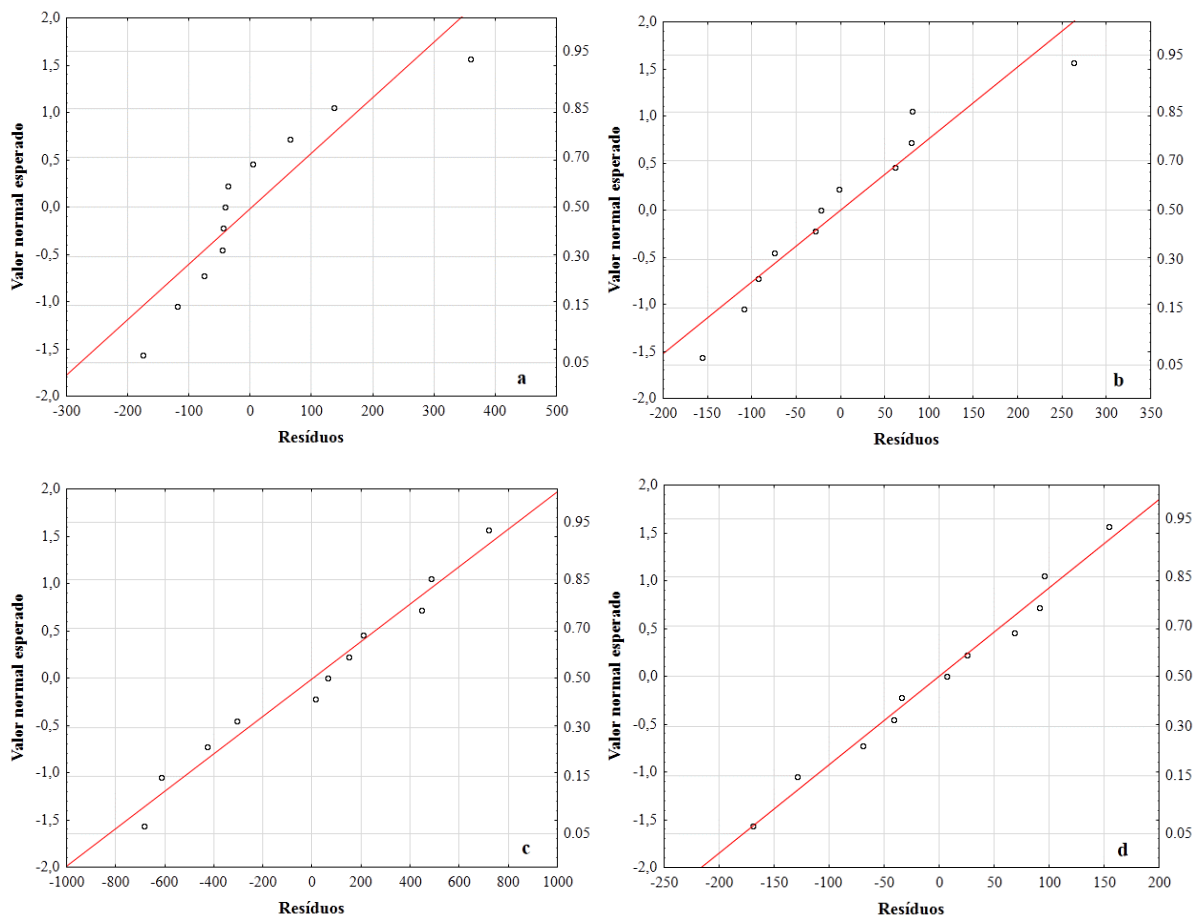
Figura 7.10- Gráficos de calibração dos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.10a, c, e, g – Equação 7.2 ajustada aos dados das fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Figura 7.10b, d, f, h – Equação 7.3 ajustada aos dados das fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

Na Figura 7.10 estão apresentados os resultados do teste de calibração dos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo (equações 7.2 e 7.3) ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Os ensaios de calibração indicam a capacidade do modelo em prever os valores da variável resposta, ou seja, quanto mais os valores de DQO previstos pelo modelo se aproximam dos valores de DQO observados experimentalmente, melhor é a capacidade de calibração do modelo sendo esse um indicativo de qualidade e robustez.

As figuras 7.10a e 7.10b mostram que tanto a Equação 7.2 quanto a Equação 7.3, respectivamente, apresentaram robustez em relação ao teste de calibração para as condições da Fase 1. Todavia, para as fases 2, 3 e 4 a Equação 7.2 demonstrou queda na capacidade de previsão dos dados. Embora a Equação 7.3 apresentasse alguns pontos falhos onde as concentrações previstas pelo modelo se distanciaram das concentrações observadas experimentalmente, os gráficos de calibração da Equação 7.3 que descrevem o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo considerando uma concentração residual nas

fases 2, 3 e 4, mostrou-se mais robusto que o modelo que descreve o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo não considerando uma concentração residual.

Além dos ensaios de calibração dos modelos, o teste de normalidade dos resíduos é uma suposição essencial para que os resultados do ajuste do modelo de regressão sejam confiáveis, sendo que essa confiabilidade é dada pela função de distribuição acumulada empírica dos dados ao redor da bissetriz que corta a diagonal do gráfico de normalidade, sendo que quanto mais próximos os valores se apresentam da bissetriz maior é a confiabilidade da distribuição normal dos dados. Os resultados dos testes de normalidade dos resíduos estão apresentados na Figura 7.11.



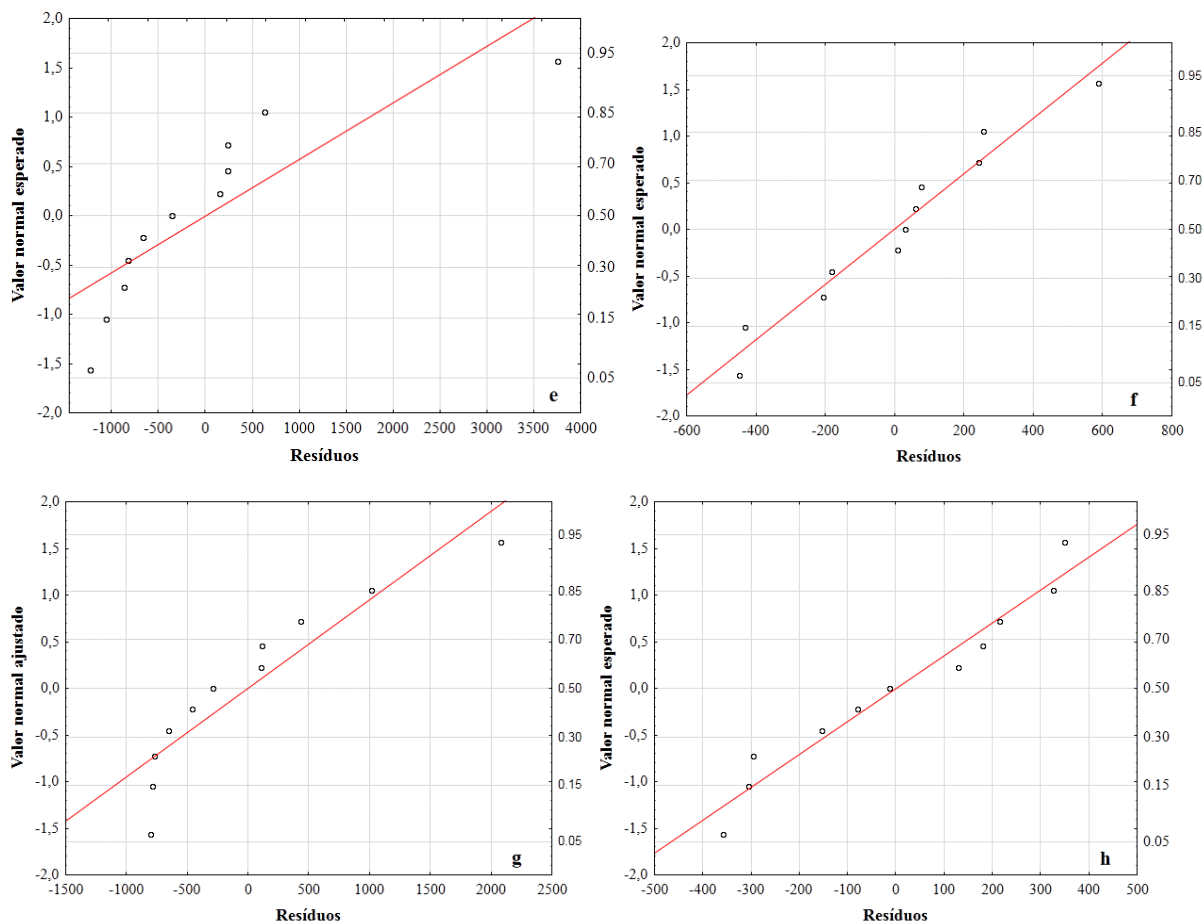
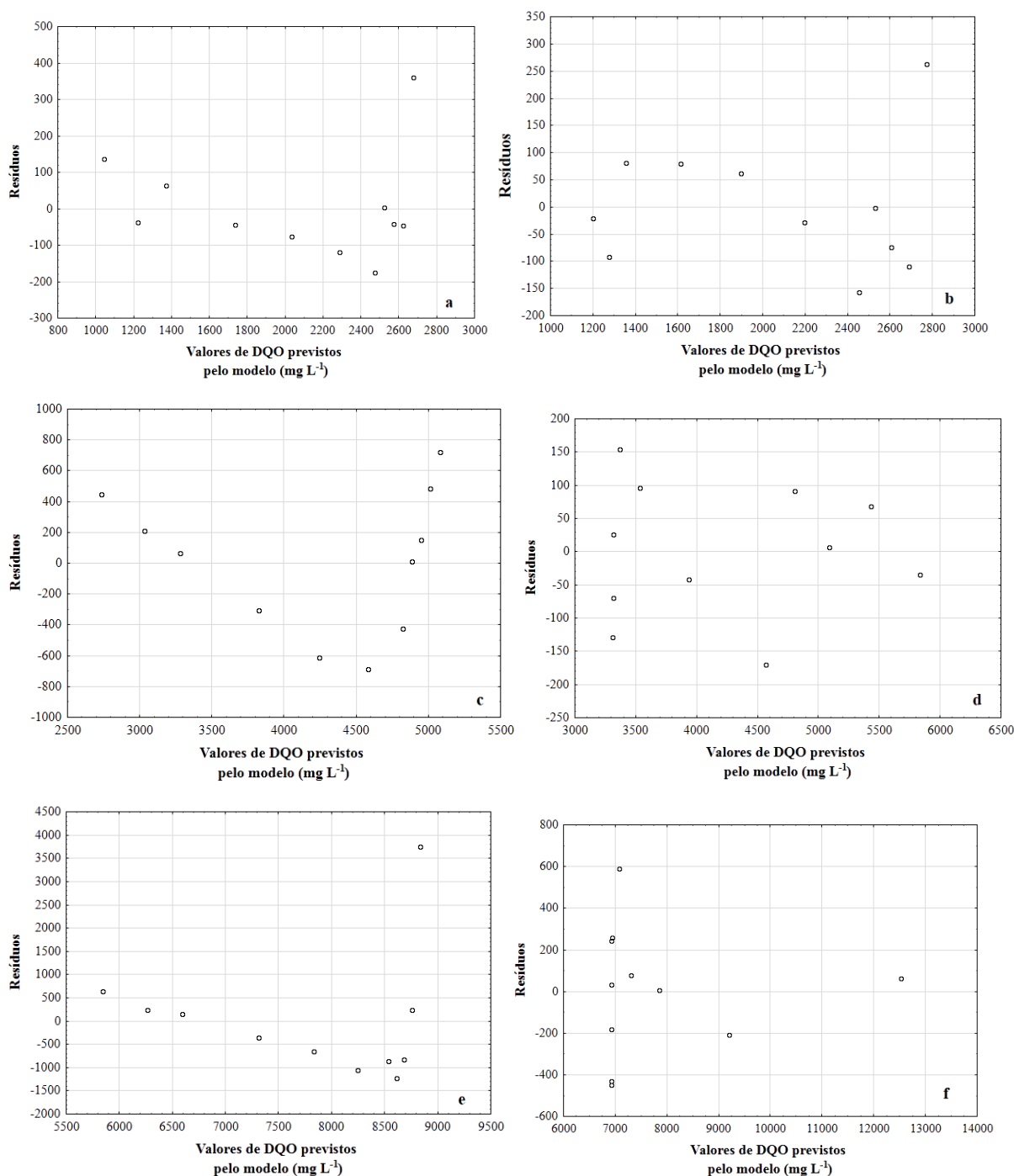


Figura 7.11- Gráficos de normalidade dos resíduos gerados pelos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.11a, c, e, g – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.2 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Figura 7.11b, d, f, h – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.3 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Como pode ser observado na Figura 7.11 tanto os pontos gerados pelos resíduos do modelo descrito pela Equação 7.2, quanto os pontos gerados pelos resíduos do modelo descrito pela Equação 7.3 seguem o comportamento da reta bissetriz (não estão distantes dela), portanto, ambos apresentaram indícios de que os erros são normalmente distribuídos. Entretanto, os pontos gerados pelos resíduos do modelo descrito pela Equação 7.3 mostram-se mais próximos da bissetriz do que os pontos gerados pelos resíduos do modelo descrito pela Equação 7.2, indicando que o modelo que descreve o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo considerando uma concentração residual apresentou uma distribuição normal dos erros próximo ao esperado como comportamento ideal. Tal comportamento pode conduzir ao raciocínio que o modelo descrito pela Equação 7.3 pode ser estatisticamente mais confiável que o modelo descrito pela Equação 7.2.

A análise da homocedasticidade dos resíduos contribui com a análise de normalidade dos resíduos para avaliação da qualidade do modelo testado. A homoscedasticidade usada para designar variância constante dos resíduos para observações diferentes. Caso a suposição de homoscedasticidade não seja válida, podemos listar alguns como efeitos no ajuste do modelo que os erros padrões dos estimadores obtidos pelo método dos mínimos quadrados são incorretos e portanto, a inferência estatística não é válida. E também não se pode afirmar que os estimadores de mínimos quadrados são os melhores estimadores de mínima variância, embora ainda possam ser não viciados. Os resultados da análise de homocedasticidade dos resíduos estão apresentados na Figura 7.12.



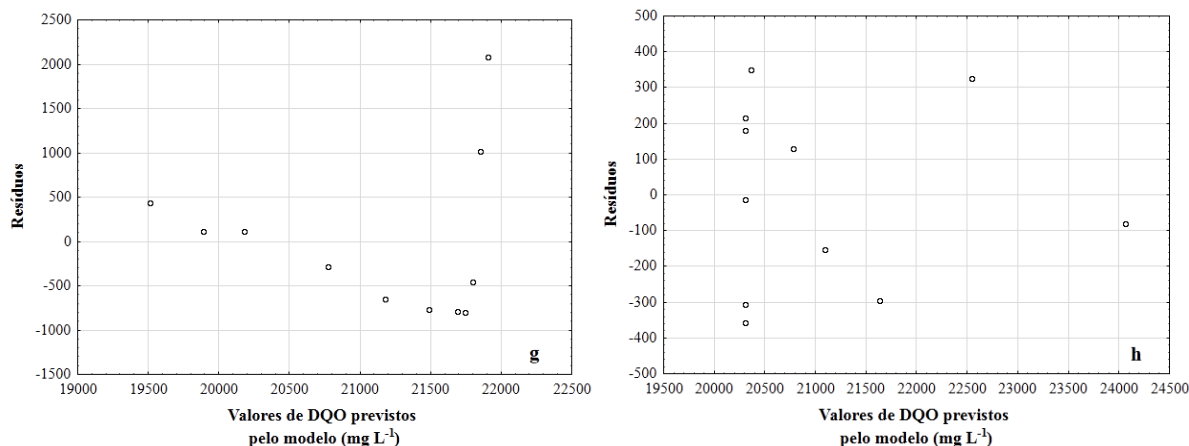


Figura 7.12- Diagnóstico da homoscedasticidade dos resíduos gerados pelos modelos utilizados para expressar o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo ajustados aos dados coletados no final das fases 1, 2, 3 e 4. Figura 7.12a, c, e, g – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.2 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Figura 7.12b, d, f, h – Resíduos gerados pelo ajuste da Equação 7.3 aos dados das fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Os gráficos dos resíduos *versus* valores de DQO previstos pelo modelo foram utilizados para verificar as suposições dos resíduos (Figura 7.12). Além da detecção de heteroscedasticidade, esses gráficos poderiam indicar que não existe uma relação linear entre as variáveis explicativas com a variável resposta por meio de alguma tendência nos pontos. Para o diagnóstico de heteroscedasticidade, tenta-se encontrar alguma tendência no gráfico. Por isso, se os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do 0, sem nenhum comportamento ou tendência, temos indícios de que a variância dos resíduos é homoscedástica. Já a presença de "funil" é um indicativo da presença de heteroscedasticidade. Os comportamentos observados na Figura 7.12 mostram que tanto os gráficos dos resíduos *versus* valores de DQO previstos pela Equação 7.2 quanto os gráficos dos resíduos *versus* valores de DQO previstos pela Equação 7.3 não indicam tendências de heteroscedasticidade, sendo os valores dos resíduos distribuídos aleatoriamente ao longo do zero.

Entretanto, analisando as figuras 7.12b; 7.12d; 7.12f; 7.12h é possível perceber que o comportamento dos resíduos *versus* valores de DQO previstos pela Equação 7.3 mostram-se mais dispersivos em termos visuais quando comparados com os gráficos dos resíduos *versus* valores de DQO previstos pela Equação 7.2, sugerindo novamente que o modelo que descreve o comportamento cinético da degradação da matéria orgânica ao longo do tempo considerando uma concentração residual apresentou um perfil visual de distribuição aleatória dos resíduos próximo ao esperado como comportamento ideal.

Como foi comprovado na Tabela 7.10 e identificado nas figuras 7.10; 7.11 e 7.12, tanto o modelo descrito pela Equação 7.2 quanto o modelo descrito pela Equação 7.3 podem ser utilizados para estimar os coeficientes cinéticos que descrevem o processo de degradação da matéria orgânica ao longo do tempo. Entretanto, a Equação 7.3 que considera o parâmetro concentração residual destacou-se como modelo de melhor qualidade para obtenção dos parâmetros cinéticos que governam o processo de biodegradação e também como equação para utilização em simulações matemáticas e controle do tratamento da ARIB em AnSBR operando nas condições estabelecidas na Tabela 7.2.

Após a análise dos resíduos realizada nas figuras 7.10; 7.11 e 7.12 e estudo da qualidade dos modelos utilizados, como o modelo cinético de degradação da matéria orgânica considerando a concentração residual foi melhor avaliado, é possível inferir que com o aumento da COV_A em termos de DQO entre 1,3 e 5,0 g L⁻¹ d⁻¹ promoveu melhoria na velocidade de degradação do substrato aumentando o coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica entre 0,102 e 1,801 h⁻¹, com valores de concentração residual de substrato menores ou próximas da metade do valor da concentração inicial de substrato.

Entretanto, quando o AnSBR operou no tratamento da ARIB com valores de COV_A em termos de DQO de 9,3 g L⁻¹ d⁻¹ foi observado uma redução no coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica para 1,040 h⁻¹ e obtenção de valores de concentração residual de substrato próximas a concentração inicial do substrato. Tal comportamento indica que valores de COV_A em termos de DQO e COB em termos de DQO por SSV de 9,3 g L⁻¹ d⁻¹ e 0,6 g g⁻¹ d⁻¹ são valores de carga limitantes para projetos de AnSBR.

Além da avaliação e do levantamento dos parâmetros cinéticos para tratamento da ARIB em AnSBR, foram realizadas comparações entre os valores do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica obtido neste trabalho com os valores deste mesmo coeficiente obtido por outros pesquisadores quando ajustado os mesmos modelos utilizados neste trabalho (equações 7.2 e 7.3). Considerando as diferenças de concentração inicial de DQO, COV_A , COB e aclimatização da biomassa utilizada pode-se afirmar que os valores do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica, obtidos por Selma et al. (2010) (Tabela 7.11), Lovato et al. (2012) (Tabela 7.12) e Silva et al. (2013) (Tabela 7.13) durante sua degradação da ARIB em AnSBR, estão de uma forma geral próximos aos valores obtidos neste trabalho (Tabela 7.9).

Tabela 7.11- Resultados obtidos no experimento realizado por Selma et al. (2010).

C_0 (mg L ⁻¹)	k_{ap} (h ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)	R^2
500	0,62	16,3	0,961
1000	0,2	24,3	0,963
2000	0,24	449,5	0,978

Legenda- C_0 : DQO total inicial (mg L⁻¹). C_R : DQO solúvel residual após a degradação (mg L⁻¹); k_{ap} : coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica (h⁻¹). R^2 : coeficiente de determinação.

Tabela 7.12- Resultados obtidos no experimento realizado por Lovato et al. (2012) ajustando a Equação 7.3 aos dados coletados.

Tempos de alimentação vs COV_A	COV_A					
	4,5 g L ⁻¹ d ⁻¹			6 g L ⁻¹ d ⁻¹		
	Tempos de alimentação					
Parâmetros estimados	2h	4 h	6 h	2h	4 h	6 h
k_{ap} (h ⁻¹)	0,57	2,17	3,12	0,38	1,91	3,15
C_R (mg L ⁻¹)	649	498	546	772	689	674
R^2	0,968	0,809	0,859	0,977	0,971	0,994

Legenda- COV_A : carga orgânica volumétrica aplicada (g L⁻¹ d⁻¹) em termos de DQO. C_R : DQO solúvel residual após a degradação (mg L⁻¹); k_{ap} : coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica (h⁻¹). R^2 : coeficiente de determinação.

Tabela 7.13- Dados obtidos no experimento realizado por Silva et al. (2013) ajustando a Equação 7.3 aos dados coletados.

C_0 (mg L ⁻¹)	Tempos de ciclo					
	8 h			4h		
	COV_A (g L ⁻¹ d ⁻¹)	k_{ap} (h ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)	COV_A (g L ⁻¹ d ⁻¹)	k_{ap} (h ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)
1000	1,23	0,42	123,1	1,29	1,03	116,4
2000	2,52	0,28	226,1	2,49	0,65	325,3
3000	NR	NR	NR	3,77	1,16	854,2

COV_A : carga orgânica volumétrica aplicada (g L⁻¹ d⁻¹) em termos de DQO. C_0 : DQO total inicial (mg L⁻¹). C_R : DQO solúvel residual após a degradação (mg L⁻¹). k_{ap} : coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica (h⁻¹). NR: não realizado.

Analisando os trabalhos realizados por Selma et al. (2010) (Tabela 7.11), Lovato et al. (2012) (Tabela 7.12) e Silva et al. (2013) (Tabela 7.13) notou-se que priorizou-se o uso do modelo que descreve a cinética de degradação da matéria orgânica considerando a concentração residual (Equação 7.3). Na Tabela 7.11 apresentam-se os dados obtidos por Selma et al. (2010) ao investigar a influência da DQO inicial da ARIB no coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica, durante sua degradação em AnSBR operando com tempo de ciclo fixado em 8 h; relação tempo de alimentação/tempo de ciclo de 0,02; COV_A entre 0,6 a 3,82 g L⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO e COB de 0,0152 a 0,0972 g g⁻¹ d⁻¹ em termos de DQO por SVT. De acordo com os resultados encontrados por Selma et al. (2010), (Tabela 7.11) operando com valores de COV_A e COB menores foi possível obter valores de k próximos aos encontrados nesse trabalho para concentrações semelhantes.

De acordo com Lovato et al. (2012) (Tabela 7.12), além da concentração inicial de substrato, a combinação entre o tempo de alimentação e a COV_A influenciam no valor do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica e da concentração residual de substrato. Neste trabalho fixando o tempo de alimentação em 30 min e operando com valores de COV_A de 1,3 a 9,3 $g L^{-1} d^{-1}$, portanto maiores que os utilizados por Lovato et al. (2012), foi possível observar valores de k entre 0,102 e 1,040 h^{-1} , maiores que os reportados por Lovato et al. (2012).

De acordo com Silva et al. (2013) (Tabela 7.13), a combinação entre o tempo de ciclo e a COV_A influenciam no valor do coeficiente cinético aparente referente velocidade de degradação da matéria orgânica e da concentração residual de substrato. Neste trabalho fixando o tempo de alimentação em 24 h e operando com valores de COV_A de 1,3 a 9,3 $g L^{-1} d^{-1}$, até 3 vezes maiores que os valores de COV_A utilizados por Silva et al. (2013), foi possível obter taxas de degradação mais rápidas com valores de k entre 0,102 e 1,040 h^{-1} , demonstrando que as condições operacionais utilizadas nesse experimento também foram mais eficientes que as utilizadas por Silva et al. (2013).

Como foi descrito no capítulo 6 no item 6.2.3, neste trabalho as condições de tempo de alimentação e tempo de ciclo consideradas por Lovato et al. (2012) e Silva et al. (2013) influentes na cinética de degradação da matéria orgânica foram mantidos constantes em 30 minutos e 24 horas, respectivamente.

Considerando os resultados obtidos até o momento, comprovando que a massa de inóculo presente no AnSBR influencia na eficiência de remoção de DQO (Equação 5.3), na capacidade de previsão e simulação do processo (Tabela 6.6) e que as características da biomassa influenciam no desempenho do AnSBR durante o tratamento da ARIB (item 6.3.6 do capítulo 6), conclui-se que a qualidade da biomassa influencia nas condições de degradação da matéria orgânica presente na ARIB e portanto nos parâmetros cinéticos intrínsecos do processo.

Este contexto sugere que a modificação dos valores de k frente apenas ao aumento progressivo de COV_A e COB pode ter ocorrido devido a modificação da qualidade da biomassa em termos diversidade microbiana presente no AnSBR permitindo a adaptação de novas gerações de microrganismos as condições da ARIB, o que propiciou a operação do AnSBR com COV_A e concentrações de DQO afluente acima da faixa estabelecida pela literatura, pelo menos até a Fase 3. O item 7.3.6 vem refletir sobre o efeito do aumento da COV_A na qualidade de biomassa mantida no AnSBR ao longo das fases 1, 2, 3 e 4.

7.3.6- QUALIDADE DA BIOMASSA: PRODUÇÃO DE EPS E DIVERSIDADE MICROBIANA

Como foi explicado no item 6.3.6 do capítulo 6 a produção de EPS está intimamente ligada a qualidade da biomassa. A Figura 7.13 apresenta a concentração de polissacarídeos e proteínas no efluente do AnSBR utilizado no tratamento da ARIB ao longo das fases 1, 2, 3 e 4.

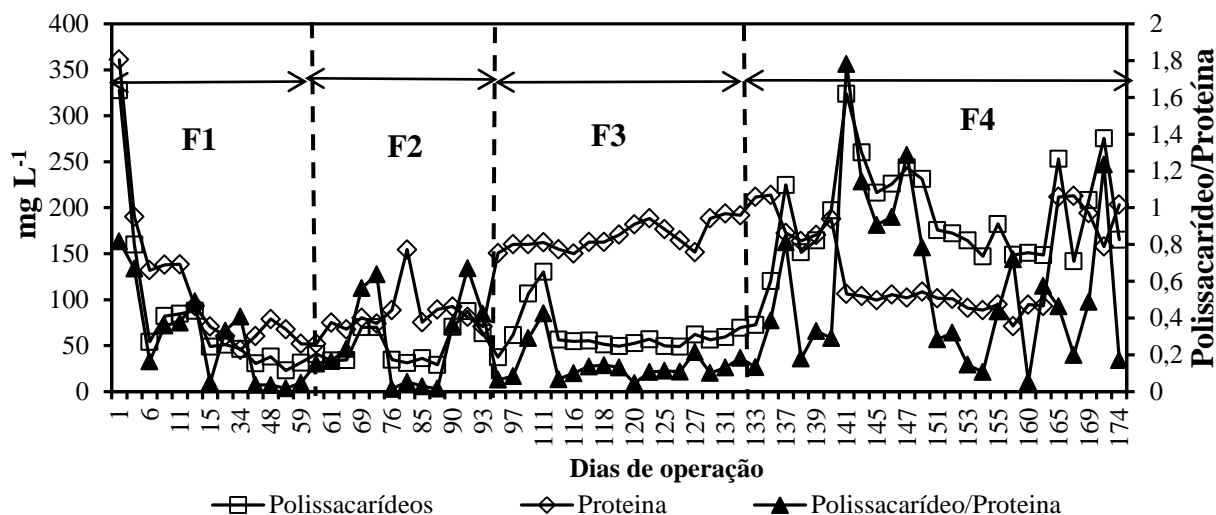


Figura 7.13- Concentração de polissacarídeos e proteínas e relação m/m entre polissacarídeos e proteínas no efluente do AnSBR tratando ARIB ao longo das fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Como pode ser observado na Figura 7.13, no primeiro dia de operação a concentração média de proteínas (350 mg L⁻¹) superava a concentração média de carboidratos (330 mg L⁻¹), mas ao longo da operação do AnSBR houve uma tendência na diminuição de ambas, mas com a concentração de proteínas sempre superando a concentração de carboidratos até Fase 3. Já a partir da Fase 4 foi observado um aumento considerável na concentração de carboidratos permanecendo está acima da concentração de proteínas.

Utilizando o conceito estabelecido por Liu e Fang (2002), que a biomassa na anaeróbia composta por bactérias fermentativas acidogênicas são encontrados predominantemente os polissacarídeos e biomassa anaeróbia composta em sua maioria por arqueias metanogênicas são encontrados predominantemente proteínas é possível afirmar com os dados da Figura 7.13 que até a Fase 3 o AnSBR operava com biomassa constituída por arqueias metanogênicas e já na Fase 4 possa ter ocorrido uma modificação na ecologia e diversidade microbiana sendo a predominância desta vez por bactérias acidogênicas, modificando as condições de tamponamento (Figura 7.6) e fazendo com que a eficiência de remoção de DQO do AnSBR diminuísse (Tabela 7.4).

Além das concentrações de polissacarídeos e proteínas no EPS, de acordo com Zhou et al. (2007), a relação entre as massas dos constituintes do EPS e a massa de SSV do lodo (Figura 7.14) são de fundamental importância para o conhecimento das características microbiológicas da biomassa anaeróbia e até das condições de granulação da mesma.

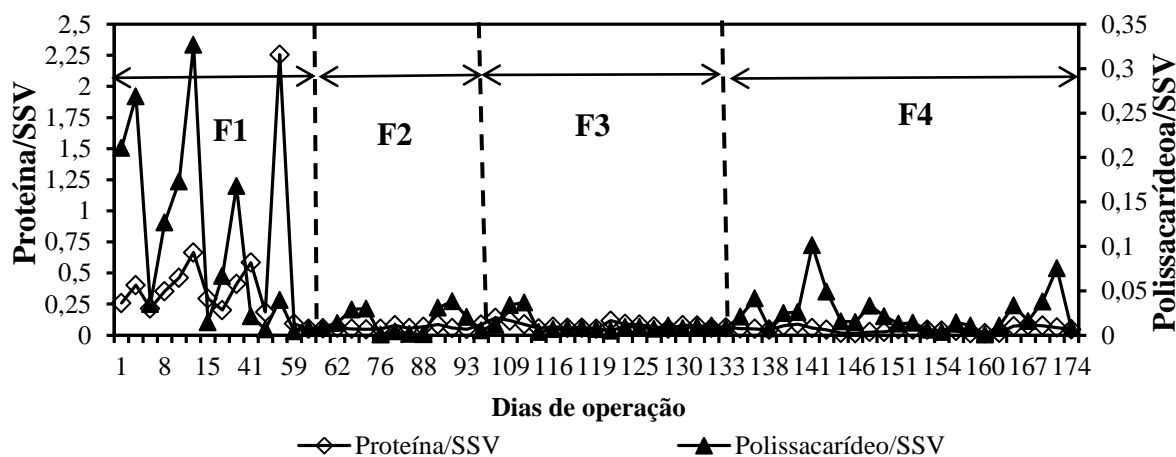


Figura 7.14- Composição do EPS no efluente do AnSBR em termos de relação massa/massa de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV observadas nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4).

Como pode ser observado na Figura 7.14 durante a Fase 1, tanto a relação de polissacarídeos/SSV quanto a de proteínas/SSV nas amostras efluentes ao AnSBR foram máximas com tendência a diminuição ao longo das fases 2, 3 e 4. De acordo com Dignac et al. (1998) e Delia (2003) o aumento contínuo dos valores de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV nas amostras efluentes ao AnSBR indicam que o EPS produzido pela biomassa estava sendo retirado do AnSBR junto com a biomassa que sofria varredura. Como os EPS são fundamentais para coesão dos grânulos, sua remoção da biomassa que é mantida dentro do reator pode acarretar problemas no processo de granulação da biomassa anaeróbia (HU et al., 2003). Assim com base no comportamento da série de valores das relações massa/massa de polissacarídeos/SSV e proteínas/SSV observadas nas fases 1 (F1), 2 (F2), 3 (F3) e 4 (F4) é possível afirmar que o EPS produzido pela biomassa foi mantido dentro do AnSBR permitindo a granulação da mesma.

Para confirmar as suposições a respeito da modificação na diversidade microbiana causada pelo aumento progressivo de COV_A no AnSBR durante o tratamento da ARIB foi realizada a análise de DGGE comparando a amostra de biomassa utilizada na inoculação com as amostras de biomassa coletadas em cada fase durante o estado estacionário. Os perfis eletroforéticos e resultados da análise de agrupamento da PCR-DGGE estão apresentados na Figura 7.15.

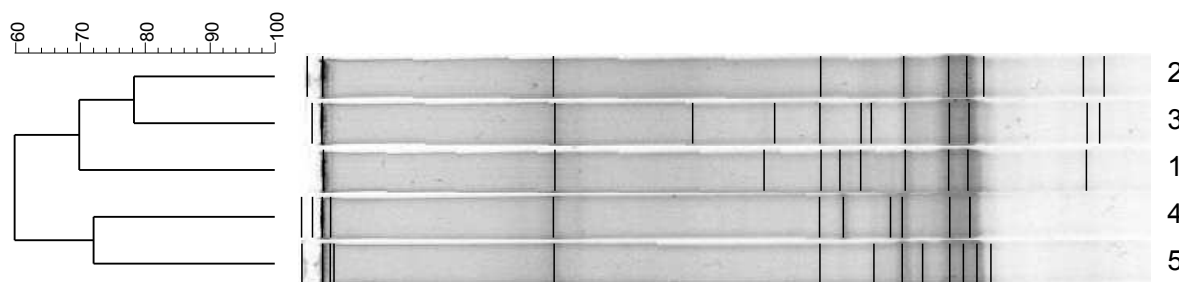


Figura 7.15- Perfis de bandas da eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Legenda: Amostra 1 – lodo utilizado na partida (inoculação). Amostra 2 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 1. Amostra 3 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 2. Amostra 4 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 3. Amostra 5 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 4.

Como a biomassa utilizada na inoculação foi proveniente de um reator UASB tratando esgoto sanitário (ES), para analisar o efeito da modificação do substrato (água residuária) de ES para ARIB, comparou-se a amostra 1 com a amostra 2. Como pode ser observado na Figura 7.15, a amostra 1 (biomassa inoculada) possui uma similaridade de 70% quando comparado com os microrganismos presentes na amostra 2 (biomassa da Fase 1) e amostra 3 (biomassa da Fase 2), e foi observada a similaridade de 78% entre os microrganismos encontrados na biomassa das fases 1 e 2.

Os resultados apresentados na Figura 7.15 indicam que os 60 dias de condução da Fase 1 (amostra 2) com o AnSBR operando com COV_A de $1,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e em seguida os 35 dias de condução da Fase 1 (amostra 2) com o AnSBR operando com COV_A de $2,5 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO, foram suficientes para promover uma pequena modificação na diversidade microbiana em relação a biomassa inoculada (amostra 1).

As fases 3 e 4 possuem uma similaridade de 72% entre elas e de apenas 60% quando comparado com as Fases 1 e 2. Estes resultados denotam que o aumento progressivo de COV_A influenciou na diversidade microbiana entre as fases operacionais (Figura 7.15). Vale ressaltar que baixa alteração foi percebida entre as Fases 1 e 2, entretanto quando a COV_A foi elevada para $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, provocou um maior efeito na modificação da biomassa do reator, podendo ter ocorrido assim uma seleção microbiana devido a este aumento da COV_A .

Neste contexto, ao analisar comintantemente os resultados de E_{DQO} e COV_R em função da COV_A apresentados na Tabela 7.4 com os resultados da diversidade microbiana em função da COV_A apresentados na Figura 7.15 é possível afirmar que embora a COV_A de $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ provocou um maior efeito na modificação da biomassa do reator, os microrganismos presentes na biomassa da Fase 3 (Amostra 4) foram eficientes na remoção de DQO, sendo assim

essa modificação não promoveu prejuízo ao processo. Tal prejuízo foi evidenciado durante a Fase 4, (Amostra 5) onde o reator operou com COV_A de $9,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ indicando que esse valor de COV_A promoveu uma modificação da diversidade microbina sugerido pelo desaparecimento de 2 bandas e o aparecimento de outras 3 bandas na Amostra 5 quando comparada com a Amostra 4. Embora a modificação na diversidade microbiana tenha sido comprovada, foi avaliado o número de UTOs únicas e compartilhadas pelas comunidades microbianas das amostras 1 e a utilizando o diagrama de Venn (Figura 7.16).

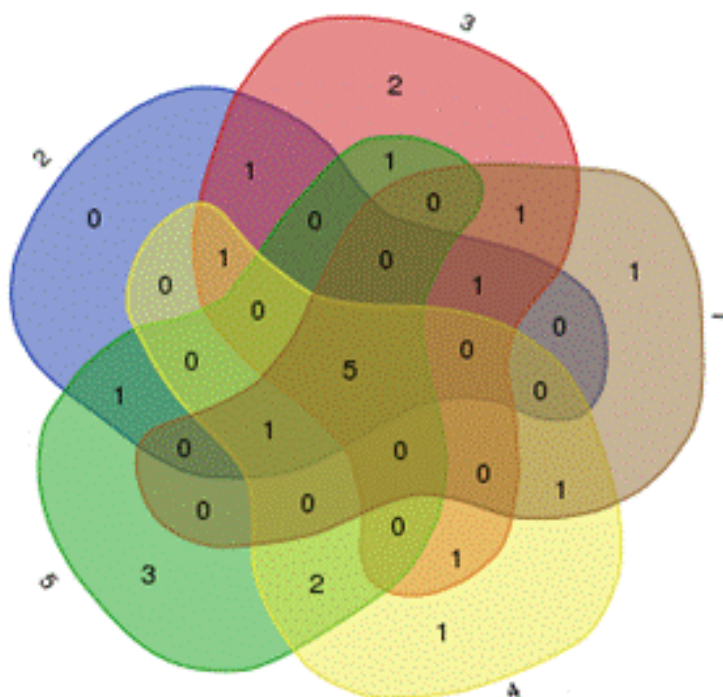


Figura 7.16- Diagramas de Venn construídos com base nas matrizes binárias (presença e ausência de UTOs) geradas pelo o *software* BioNumerics (versão 6.0) demonstrando o número de UTOs únicas e compartilhadas pelas comunidades microbianas das amostras. Legenda: Amostra 1 – lodo utilizado na partida (inoculação). Amostra 2 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 1. Amostra 3 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 2. Amostra 4 – lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 3. Amostra 5— lodo coletado durante o estado estacionário da Fase 4.

Como pode ser observado na Figura 7.16 a biomassa utilizada na inoculação (Amostra 1) e a biomassa aclimatizada ao longo das fases 1, 2, 3 e 4 com a aplicação da ARIB sob aumento progressivo de COV_A possuem 5 UTOs compartilhadas, sugerindo que esses microrganismos tenham sido inoculados e se mantiveram ativos independentes da COV_A no AnSBR, aclimatizando-se a modificação do substrato/fonte de carbono de esgoto sanitário para glicérol.

Além disso, a Figura 7.16 permiti afirmar que a Amostra 1 (lodo de partida) possui 1 UTO única, provavelmente referem-se as UTO que não resistiu a mudança de substrato. A Amostra 2 (biomassa aclimatizada da Fase 1) não possuía UTO única, indicando os microrganismos presentes na Fase 1 estavam presentes na Fase 2 ou na Fase 3 ou na Fase 4 também. Isso sugere que o valor de COV_A de $1,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ possibilitou a biomassa o crescimento de bactérias que puderam permanecer em outras fases. Já a Amostra 3 (biomassa aclimatizada da Fase 2), Amostra 4 (biomassa aclimatizada da Fase 3) e Amostra 5 (biomassa aclimatizada da Fase 4) possuíam 2, 1 e 3 UTOs únicas, respectivamente. Isso sugere que a operação do AnSBR com COV_A entre $2,5$ e $9,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ promoveu o aparecimento de novas bactérias anaeróbias que não foram encontradas na Fase 1. Acredita-se que as 3 novas UTOs encontradas na Amostra 5 possam ser bactérias acidogênicas que contribuíram para a modificação do perfil de EPS como foi explicado na Figura 7.13.

7.4- CONCLUSÕES

Para o reator AnSBR operando no tratamento da ARIB sob aumentos progressivos de COV_A de $1,3$ a $9,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e COB de $0,1$ a $0,6 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e SSV, não foi observada diferença estatística significativa na eficiência de remoção de DQO até o reator operar com valores de COV_A acima de $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO.

O aumento da concentração afluyente de substrato de 3166 para 12779 mg L^{-1} aumentou o coeficiente cinético aparente referente a taxa de degradação da matéria orgânica de $0,102$ para $1,801 \text{ h}^{-1}$. Todavia, valores de DQO_T afluyente ao AnSBR acima de 12779 mg L^{-1} indicaram promover a saturação da biomassa diminuindo o valor do coeficiente de degradação da matéria orgânica para $1,040 \text{ h}^{-1}$, modificando a produção de EPS o que indicou mudança na ecologia e na diversidade microbiana anaeróbia.

Valores de COV_A acima de $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e COB de $0,4 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e SSV, podem em condições inadequadas de alcalinidade inibir o crescimento de arqueias metanogênicas principalmente as acetoclásticas, permitindo o acúmulo dos AVT produzidos pelas bactérias fermentativas acidogênicas promovendo o azedamento de AnSBR durante o tratamento da ARIB.

O modelo cinético que descreve a degradação do substrato ao longo do tempo estimando a concentração residual foi o que melhor se ajustou aos dados coletados ao longo do tempo de ciclo, indicando que este modelo é apropriado para ser utilizado no projeto, simulação e controle de processos referentes ao tratamento de ARIB em AnSBR.

7.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C.A.L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse causas e estratégias de controle. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n. 2, p. 152-161, 2005.

AROOJ, M. F.; HAN, S.; KIM, S.; KIM, D.; SHIN, H. Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 6509–6514, 2008.

BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; CANTO, C. S. A.; ZAIAT, M. Effect of organic load on the performance and methane production of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, p. 347-368, 2011.

BRAVO, I. S. M.; LOVATO, G.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater: effects of organic loading, influent concentration, and cycle time. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, p. 1892-1914, 2015.

CAMPOS, C. M. M.; PRADO, M. A. C.; PEREIRA, E. L. Physical-chemical, biochemical and energetic characterization. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 4, p. 514-524, 2010.

CHEONG, D. Y.; HANSEN, C. L.; STEVENS, D. K. Production of bio-hydrogen by mesophilic anaerobic fermentation in an acid-phase sequencing batch reactor. **Biotechnology**, v. 96, n. 3, p. 421-432, 2007.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. DESA/UFMG, 2007. 359p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução n° 430/2011**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2011. 8p.

DAUD, N. M.; ABDULLAH, S. R. S.; HASAN, H. A.; YAAKO, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 92, p. 1-22, 2014.

DELIA, T. S. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-states conditions. **Enzyme Microbial Technology**, v. 32, p 375- 385, 2003.

DIGNAC, M. F.; URBAIN, V.; RYBACKI, D.; BRUCHET, A.; SNIDARO, D.; SCRIBE, P. Chemical description of extracellular polymers implication on activated sludge floc structure. **Water Science and Technology**, v. 38, p. 45- 53, 1998.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**. v.35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, I. E. P.; TRINCA, L. A.; FERREIRA, C. P. Delineamentos experimentais eficientes para estudos de cinética química. **Química Nova**, v. 37, p. 589-596, 2014.

GHANGREKARA, M. M.; ASOLEKARB, S. R.; JOSHIC, S. G. Characteristics of sludge developed under different loading conditions during UASB reactor start-up and granulation. **Water Research**, v. 39, p. 1123-1133, 2005.

HU, C.; LIU, Y.; PAULSEN, B. S., PETERSEN, D.; KLAVENESS, D. Extracellular carbohydrate polymers from five desert soil algae with different cohesion in stabilization of fine sand grain. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p 33-42, 2003.

LANGENHOFF, A. A. M.; INTRACHANDRA, N.; STUCKEY, D. C. Treatment of dilute soluble and colloidal wastewater using an Anaerobic Baffled Reactor: Influence of hydraulic retention time. **Water Research**, v. 34, p. 1307-1317, 2000.

LETTINGA G.; HULSHOF POL, L. W. UASB: process design for various types of wastewater. **Water Science Technology**, v. 24, p.87-107, 1991.

LIM, J. S.; FOX, P. E. A kinetic evaluation of anaerobic treatment of swine wastewater at two temperatures in a temperate climate zone. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3724–3729, 2011.

LIU, H.; FANG, H. H. P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. **Journal of Biotechnology**, v. 95, p. 249-256, 2002.

LOVATO, G.; BEZERRA, R. A.; RODRIGUES, J. A. D. ; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, p. 2007-2029, 2012.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J.A.D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 154, p. 128-137, 2015.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. New York: McGraw-Hill, 2015. 1334 p.

MOCKAITIS, G.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. **Journal of Environmental Management**, v. 79, p. 198–206, 2006.

MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p. 506–515, 2007.

NDEGWA, P. M.; HAMILTON, D. W.; LALMAN, J. A.; CUMBA, H. J. Effects of cycle frequency and temperature on the performance of anaerobic sequencing batch reactors (ASBR) treating swine waste. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1972–1980, 2008.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MOTTERAN, F. Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of anaerobic baffled reactor in series with up-

flow anaerobic sludge blanket reactor in the treatment of pig farming wastewater. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, p. 477-483, 2013.

PEREIRA, E. L. **Treatment of slaughterhouse wastewater using a system consisting of reactors with biofilm**. 2013. 214 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2014.

PEREIRA, E. L.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B. Physico-chemical and ecotoxicological characterization of slaughterhouse wastewater resulting from green line slaughter. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 227, p. 199-212, 2016.

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, p. 406-411, 1986.

RODRIGUES, J. A. D.; PINTO, A. G.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; GEDRAITE, R. Enhancement of the performance of an anaerobic sequencing batch reactor treating low strength wastewater through implementation of a variable stirring rate program. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 21, p. 423-434, 2004.

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

SILVA, R. C.; RODRIGUES, J. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of industrial biodiesel wastewater by an ASBR for methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, p. 105–118, 2013.

SPEECE, R.. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville: Archae Press, 1996. 394 p.

VEIGA, M.C., JAIN, M.K., WU, W.M., HOLLINGSWORTH, R.I., ZEIKUS, J.G. Composition and role of extracellular polymers in methanogenic granules. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 403-407, 1997.

ZHOU, W.; IMAI, T.; UKITA, M.; LI, F.; YUASA, A. Effect of loading rate on the granulation process and granular activity in a bench scale UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1386 -1392, 2007.

CAPÍTULO 8- CONCLUSÕES GERAIS DA TESE

Em relação ao objetivo geral da Tese: “Avaliar o AnSBR no tratamento da ARIB operando com um impelidor diferenciado dos encontrados na literatura que dispense o uso de chicanas laterais e propicie uma condição de mistura entre a biomassa e o substrato”, pode-se concluir que:

O AnSBR utilizado neste trabalho operou tanto com valores de COV_A idênticas quanto acima do estabelecido pela literatura e apresentou desempenho equivalente aos AnSBR que operavam com impelidor do tipo turbinas com lâminas planas verticais, ou lâminas planas inclinadas, ou lâminas curvas e palheta. Assim, o impelidor testado neste trabalho além de dispensar o uso de chicanas, demonstrou potencial para a utilização em AnSBR empregados no tratamento de águas residuárias. Os fatos que sugerem a possibilidade de uso deste impelidor diferenciado dos mencionados foram respondidos nos objetivos específicos.

Em relação ao objetivo específico: “Determinar dentre os fatores pH, temperatura de operação do reator, velocidade de agitação, massa de inóculo, DQO_T afluente da ARIB no afluente e tempo de reação, aqueles que possuem a maior influência no processo de remoção de DQO da ARIB”, pode-se concluir que:

Os fatores velocidade de agitação, temperatura de operação, massa de inóculo e tempo de reação mostraram-se influentes na remoção de DQO da ARIB via biodegradação anaeróbia do glicerol e no consumo e geração das alcalinidades total, bicarbonato e parcial.

Em relação ao objetivo específico: “Otimizar o processo de biodegradação anaeróbia da matéria orgânica presente na ARIB com base nas interações conjuntas dos fatores mais significativos”, pode-se concluir que:

O AnSBR mostrou que pode apresentar um desempenho máximo se operar com os valores de massa de inóculo, tempo de reação, temperatura de operação e velocidade de agitação próximos de 101990 mg de SSV, 20 h, 36 °C e 40 rpm.

Em relação ao objetivo específico: “Aperfeiçoar o uso de AnSBR no tratamento da ARIB com o foco na incrementação de modelos para simulação considerando como variáveis de entrada do mesmo os fatores que sinergicamente influenciam no processo anaeróbio”, pode-se concluir que:

Os modelos matemáticos gerados nos capítulos 4 e 5 possuem robustez e precisão podendo ser utilizados para previsão e simulação de dados de eficiência, controle de processos e

escalonamento de AnSBR empregados no tratamento da ARIB, desde que obedecidas as condições de contorno utilizadas para elaboração do modelo.

Em relação ao objetivo específico: “Avaliar o desempenho do AnSBR operando em condições otimizadas sob taxa de carregamento orgânico constante da partida ao estado estacionário”, pode-se concluir que:

Embora o AnSBR tenha operado em condições otimizadas, os valores de COV_A de $11,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ promoveram sobrecarga orgânica ao sistema, ocasionando a queda na eficiência de remoção de DQO e estimulando a produção de ácidos voláteis totais o que promoveu o azedamento do reator.

Após 15 ciclos de operação de 24 horas cada foi possível observar a influencia da mudança do substrato (esgoto sanitário) para a ARIB, na modificação da diversidade de bactérias presentes na biomassa.

Embora os valores de sólidos orgânicos (SSV e SVT) sejam tradicionalmente utilizados como parâmetros para estimar a massa ou concentração de microrganismos em trabalhos referentes a tratamento de águas residuárias, o perfil de modificação dos modelos estudados e diminuição da capacidade de previsão mesmo mantendo as condições de contorno sugerem que a diversidade microbiana presente na biomassa pode influenciar a eficiência de remoção da matéria orgânica, sendo assim o fator qualidade da biomassa deve ser considerado em trabalhos que envolvam modelagem matemática e não apenas os parâmetros referentes a balanços de massa e energia.

Com os resultados obtidos pode-se afirmar que a relação massa de agente alcalinizante / massa de DQO, ou massa de AT/massa de DQO mostraram-se mais influentes no controle do azedamento que o valor do pH inicial da ARIB afluente ao AnSBR.

Em relação ao objetivo específico: “Avaliar o AnSBR operando em condições otimizadas sob choques orgânicos a longo prazo”, pode-se concluir que:

Para o AnSBR operando no tratamento da ARIB sob aumentos progressivos de COV_A de $1,3$ a $9,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e COB de $0,1$ a $0,6 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e SSV, não foi observada diferença estatística significativa na eficiência de remoção de DQO até o reator operar com valores de COV_A acima de $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO.

O valor de COV_A influenciou na modificação da diversidade microbiana. Os resultados obtidos indicaram que valores de COV_A acima de $5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e COB de $0,4 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em termos de DQO e SSV, podem em condições inadequadas de alcalinidade estimular o crescimento de bactérias fermentativas acidogênicas promovendo o azedamento

do AnSBR durante o tratamento da ARIB. Sendo assim esse conhecimento pode ser aplicado a reatores anaeróbios com foco na produção de hidrogênio.

O modelo cinético que descreve a degradação do substrato ao longo do tempo estimando a concentração residual foi o que melhor se ajustou aos dados coletados ao longo do tempo de ciclo, indicando que este modelo é apropriado para ser utilizado no projeto, simulação e controle de processos referentes ao tratamento de ARIB em AnSBR.

CAPÍTULO 9- SUGESTÕES PARA NOVOS TRABALHOS

1-Refazer o estudo realizado no Capítulo 4, reformulando a matriz fatorial fracionado (Tabela 4.2) modificando a coluna do fator F1 de pH para relação AT/DQO com níveis -1; 0 e +1 de 1; 1,5 e 2 m/m , respectivamente.

2- Refazer o estudo apresentado ao longo desta tese utilizando como substrato água residuária produzida por uma agroindústria de biodiesel (água residuária real), todavia utilizando o mesmo reator, impelidor e parâmetros operacionais, para avaliar o efeito da complexidade da matriz do substrato no desempenho do processo.

3-Realizar um estudo comparando o efeito do tipo de impelidor no desempenho de reatores AnSBR no tratamento de água residuária da agroindústria de biodiesel formulada sinteticamente ou real, utilizando impelidores do tipo turbina com lâminas planas verticais, turbina com lâminas planas inclinadas, turbina com lâminas curvas, turbina com disco de lâminas planas, turbina com disco de lâminas curvas, turbina em forma de ventoinha, hélice, palheta e o impelidor utilizado neste trabalho.

4-Investigar o processo de granulação da biomassa empregada em AnSBR com foco não apenas no crescimento do grânulo mas também diversidade e ecologia microbiana.

5-Estudar o uso de reatores contínuos no tratamento da ARIB, aproveitando o potencial de produção de ácidos orgânicos durante a degradação anaeróbia do glicerol utilizando processo anaeróbio em dois estágios sendo o primeiro acidogênico e o segundo metanogênico.