UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA

PRISCILLA BRAGA ANTUNES BEDOR

TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

RIO DE JANEIRO
2015

Priscilla Braga Antunes Bedor

TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Projeto de Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentado ao Programa de Pós –Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências (Msc).

Orientadores: Magali Christe Cammarota
Lidia Yokoyama

Rio de Janeiro
2015

Bedor, Priscilla Braga Antunes
B399t Tratamento de efluente da produção de biodiesel
/ Priscilla Braga Antunes Bedor. -- Rio de Janeiro, 2015.
113 f.

Orientadora: Magali Christe Cammarota.
Coorientadora: Lídia Yokoyama.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2015.

1. Biodiesel. 2. Efluente. 3. Tratamento físico-químico. 4. Tratamento biológico anaeróbio. 5. Biogás. I. Cammarota, Magali Christe, orient. II. Yokoyama, Lídia, coorient. III. Título.

TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

PRISCILLA BRAGA ANTUNES BEDOR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências (M. Sc.).

Aprovada em 08 de Abril de 2015.

_____

Profa. Magali Christe Cammarota, D.Sc. – EQ/UFRJ (Orientadora)

_____

Profa. Lidia Yokoyama, D.Sc. EQ/UFRJ (Orientadora)

_____

Profa. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc. EQ/UFRJ

_____

Prof. João Paulo Bassin, D. Sc. - COPPE/UFRJ

_____

Dra. Priscilla Lopes Florido, D.Sc. - CENPES/PETROBRAS

Rio de Janeiro
Abril, 2015

Dedico minha dissertação à minha família, por todo o apoio, a base sólida, os ensinamentos, por lutar para que eu tivesse uma boa educação desde pequena e conseguisse chegar até aqui e almejasse ir além, e por sempre acreditarem no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Achei que esta parte seria a mais fácil da dissertação, mas me dei conta que não. É difícil não se emocionar ao me lembrar dos momentos e pessoas que participaram da minha trajetória e não me esquecer de dar o devido crédito a quem, mesmo que indiretamente, ajudou a tornar isto possível. Tentarei contemplar todos!

Primeiramente, como não poderia deixar de ser, quero agradecer a Deus! Pela vida, pela minha família, pelas oportunidades, pelas experiências vividas, por me ajudar a superar obstáculos e aprender a ser mais tolerante, enfim, por tudo!

Ao meu pai, por me ensinar o valor de uma boa educação e da disciplina nos estudos, elementos importantes para minha chegada nesta etapa.

A minha mãe, por me apoiar, ouvir, incentivar, acreditar, torcer, por estar comigo nos bons e maus momentos. Obrigada por ser minha mãe, meu exemplo!

Ao meu irmão Arthur, a quem dedico esta dissertação! Sem você, eu não teria tentado o processo de seleção para o mestrado. Obrigada por me incentivar, aconselhar, ajudar com as disciplinas do ramo da Engenharia e confiar no meu potencial!

A minha irmã Nathalia, meu muito obrigada pelas inúmeras vezes que me ajudou, escutou, apoiou, deu umas sacudidas e incentivou.

Ao Toby, meu filho de quatro patas, que sempre me recepcionava com lambidas no rosto, mesmo quando eu chegava tão tarde do laboratório. Por me acompanhar nos estudos, nos momentos de alegria e tristeza. Te amo muito! Obrigada por ter entrado na minha vida e tornado-a mais alegre.

As minhas orientadora e co-orientadora, professoras Magali Cammarota e Lidia Yokoyama, obrigada pela orientação e pela oportunidade de participar do projeto de pesquisa.

Ao Cenpes – Petrobras, pela bolsa de mestrado e fornecimento do efluente – objeto de estudo.

A equipe do LabTare pela parceria com o tratamento físico-químico.

A Camille Chaves pela ajuda com a análise de sódio.

Ao Jorge Caldas e toda sua equipe por nos receber e fornecer o lodo para nossos experimentos.

Ao professor Claudinei Guimarães, agradeço a ajuda com a cromatografia e por sempre ser solícito quando procurado.

Aos professores da Escola de Química, com os quais cursei disciplinas, obrigada por contribuírem com a minha formação.

A Sumara Leal, obrigada por dividir comigo não só trabalhos ao longo do mestrado, mas experiências de vida e por ser amiga dentro e fora da Escola de Química.

A Lizeth Juramillo, eu agradeço pelas horas de estudo, apoio e amizade!

A todos que passaram pela minha vida dentro do Laboratório de Tecnologia Ambiental e que fizeram meus dias mais felizes, mais leves. Obrigada aos que tanto me ajudaram com experimentos na bancada, acompanhando todas as vezes que fiquei até tarde no laboratório, com sorrisos, com conselhos, com ensinamentos, com carinho. Agradeço a Julio, Raquel, Natália Sô, Mariana, Brian, Lucas, Viviane, Bernardo, Joana (portuguesa), Luana e dona Edinéia.

Agradeço a Fernanda pela amizade, pelos risos com e sem motivo, pelos conselhos, pelo carinho e por ser esse torrão de açúcar!

Aos meus queridos jovens talentos para ciência, por me apoiarem, ajudarem nos experimentos que permitiram a conclusão deste trabalho e por me fazerem exercitar algo que tanto gosto, que é ensinar e aprender. Essa troca de saberes é essencial para construção do conhecimento e fico feliz de ter compartilhado esses momentos com vocês! João, Samir, Luis, Renan e Patrícia, muito obrigada!

A Suzana por todos os ensinamentos, por me familiarizar com a rotina do laboratório, pela paciência e auxílio desde minha chegada. Obrigada por tudo e pela amizade!

Ao Andrés, em especial, por me ajudar com a quantificação do metanol, pela ajuda com esta dissertação, pelas aulas de alegria, paciência e salsa. Obrigada por ser meu amigo, por me ajudar não só no laboratório, mas por compartilhar tanto conhecimento e experiência comigo, por não me deixar abater, principalmente nos momentos mais difíceis, enfim, por tudo e principalmente, por ter aparecido na minha vida e escolhido ficar!

“Não sabendo que era impossível, ele foi lá e fez.”

Jean Cocteau

RESUMO

BEDOR, Priscilla Braga Antunes. Tratamento de efluente da produção de biodiesel. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O biodiesel produzido por transesterificação alcalina passa por uma etapa de lavagem, repetida de duas a cinco vezes dependendo da quantidade de impurezas presentes, para ser enquadrado aos parâmetros desejáveis. A água de lavagem resultante deste processo de purificação é somada a outras correntes, constituindo o efluente do processo, que contém resíduos de sabões de sódio e potássio, ácidos graxos, glicerina, álcool (metanol ou etanol), dentre outros contaminantes. Elevadas concentrações de óleos e graxas, material em suspensão na forma coloidal e matéria orgânica dissolvida requerem um tratamento físico-químico seguido de biológico. A elevada carga orgânica desses efluentes torna o processo biológico anaeróbio muito mais adequado para seu tratamento, embora esta alternativa ainda seja pouco utilizada nas usinas. Assim, o tratamento biológico anaeróbio foi aplicado ao efluente após tratamento físico-químico. Ensaios em frascos penicilina e respirômetro indicaram a necessidade de suplementação do efluente com NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes. Os efeitos inibitórios de constituintes do efluente (metanol, glicerol e sódio) foram avaliados em respirômetro, obtendo-se inibições mais acentuadas com sódio (5000 mg/L), glicerol (2957 mg/L) e metanol (4000 mg/L), nesta ordem. A exposição contínua do lodo a 4000 mg/L de metanol mostrou que o efeito inibitório aumenta, como observado na operação do reator UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*). O tratamento em reator UASB de bancada foi avaliado por 298 dias a 30ºC e tempo de retenção hidráulica de 3 d, sob diferentes cargas orgânicas volumétricas (COV). Os resultados obtidos mostraram que somente com o menor valor de COV avaliado (0,6 kg DQO/m^3.d) foi possível manter a estabilidade e a remoção de DQO. Nesta condição obteve-se efluente com DQO de 129±78 mg/L e 1,4 L CH_4 (CNTP)/d.

Palavras-chave: biodiesel, efluente, tratamento físico-químico, tratamento biológico anaeróbio.

ABSTRACT

BEDOR, Priscilla Braga Antunes. Treatment of effluent from biodiesel production. Thesis (Master's degree) - School of Chemistry. Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The biodiesel produced by alkaline transesterification passes through a washing step, that is repeated two to five times depending on the amount of impurities to satisfy the established standard. The resulting washing water of this purification process is added to other currents, constituting the process effluent, containing waste of sodium and potassium soaps, fatty acids, glycerin, alcohol (methanol or ethanol), besides other contaminants. High concentrations of oils and greases, colloidal suspended matter and dissolved organic matter require a physico-chemical treatment followed by biological treatment. The high organic amount of these effluents makes the anaerobic biological process much more suitable for its treatment, although this alternative is still little used in the biodiesel plants. Thus, the anaerobic biological wastewater treatment was applied after physico-chemical treatment. Tests on respirometer and bottles penicillin indicated the need for supplementation with NH_4Cl, KH_2PO_4 and micronutrients. The inhibitory effects of effluent constituents (methanol, glycerol and sodium) were evaluated in respirometer, where the inhibition were more pronounced with sodium (5000 mg/L), followed by glycerol (2957 mg/L) and methanol (4000 mg/L). The sludge continued exposure to 4000 mg/L methanol showed that the inhibitory effect increases as seen in the UASB reactor operation (upflow anaerobic sludge blanket). The treatment by bench scale UASB reactor was evaluated by 298 days at 30°C and hydraulic retention time of 3 days under different organic loading rates (OLR). The results showed that only the lowest OLR value evaluated (0.6 kg COD/m^3.d) was able to maintain the stability and COD removal. In this condition was obtained effluent with COD 129 ± 78 mg/L and 1.4 L CH_4 (STP)/d.

Keywords: biodiesel, effluent, physico-chemical treatment, anaerobic biological treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Evolução anual da produção, demanda compulsória e capacidade nominal de biodiesel autorizada pela ANP no Brasil entre 2006 e 2014. Fonte: http://www.anp.gov.br. 9

Figura 2.2. Perfil nacional das matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel em fevereiro de 2015. Fonte: http://www.anp.gov.br. 9

Figura 2.3. Reação de transesterificação por catálise (PALOMINO-ROMERO *et al*., 2012). 12

Figura 2.4. Representação esquemática do processo de produção de biodiesel a partir de transesterificação alcalina por rota metílica (adaptado de VELJKOVIC *et al.*, 2014). 13

Figura 2.5. Etapas da digestão anaeróbia (adaptado de CHERNICHARO, 2007)..... 21

Figura 2.6. Ilustração de um reator UASB (CHERNICHARO, 2007). 30

Figura 2.7. Possíveis rotas metabólicas para formação de metano a partir de metanol (FLORENCIO et al., 1993). 34

Figura 3.1. Ilustração das etapas metodológicas executadas durante o estudo..... 36

Figura 3.2. À esquerda, frascos de penicilina (com seringas acopladas) utilizados em ensaios de biodegradabilidade anaeróbia. À direita, ampolas de vidro utilizadas para armazenamento de biogás coletado nos frascos e posterior análise cromatográfica. . 40

Figura 3.3. Sistema experimental com o respirômetro. 41

Figura 3.4. À esquerda, reator UASB em operação durante o estudo e, à direita, desenho esquemático do reator com destaque para os principais componentes (VALENTE, 2009). 48

Figura 3.5. À esquerda, sistema para medição de biogás da marca Ritter. À direita, bolsa coletora de biogás para quantificação por cromatografia gasosa. 49

Figura 3.6. Cromatograma para dosagem de metanol no efluente com terc-butanol como padrão interno. Acima de cada pico são indicados os tempos de eluição. 52

Figura 3.7. Cromatograma para dosagem de metanol no efluente com acetonitrila como padrão interno. Acima de cada pico são indicados os tempos de eluição. 52

Figura 4.1. Produção de biogás (30ºC) do efluente pré-tratado sem suplementação (cond. 1) e com suplementação com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5), e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6). Relações DQO:N:P = 350:5:1, em frascos penicilina. 62

Figura 4.2. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem suplementação (cond. 1) e com suplementação com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5), e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6). Relações DQO:N:P = 350:5:1, em respirômetro, com DQO inicial de 3000 mg/L. 66

Figura 4.3. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl e fosfato (cond. 3) para relação DQO:N:P = 350:5:1 e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6) em respirômetro com DQO inicial 3000 mg/L. 67

Figura 4.4. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl, KH_2PO_4 e solução de micronutrientes 1 mL/L (cond. 5) em respirômetro com DQO de 12000 mg/L, com lodo novo e adaptado. 69

Figura 4.5. Evolução da produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (2000 mg/L) e misturas de ácido acético e metanol sob diferentes concentrações (500 -1500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 3000 mg/L. 71

Figura 4.6. Produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (4000 mg/L) e misturas de ácido acético contendo diferentes concentrações de metanol (2500 -3500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L. 73

Figura 4.7. Produção específica de metano (CNTP) mediante diferentes concentrações de metanol (0 a 4000 mg/L), para soluções de ácido acético e metanol suplementadas com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L..... 75

Figura 4.8. Produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (Controle) e metanol (4000 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L. lodo adaptado. LN = lodo novo, não adaptado. 77

Figura 4.9. Produção de metano (CNTP) em solução de sacarose com diferentes concentrações de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L.... 79

Figura 4.10. Produção de metano (CNTP) em solução de metanol (2000 mg/L) e glicerol (985 mg/L) com diferentes concentrações de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L. 81

Figura 4.11. Produção de metano (CNTP) em solução de metanol (2000 e 267 mg/L) e glicerol (985 e 2957 mg/L, respectivamente) com 200 mg/L de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L. 82

Figura 4.12 – Carga orgânica volumétrica nos diferentes regimes de operação do reator, separados pelas linhas verticais em azul (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d). Setas representam períodos de operação em batelada: seta 1 – 10 d, seta 2 – 7 d, seta 3 – 7 d, seta 4 – 8 d, seta 5 – 37 d, seta 6 – 18 d. 86

Figura 4.14. Variação de pH na entrada e saída do reator UASB ao longo da operação. As linhas verticais em azul marcam os cinco regimes de operação avaliados: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d). 89

Figura 4.15. Ácidos Graxos Voláteis (AGV), Alcalinidade (Alk) e relação AGV/Alk durante a operação do reator nos cinco regimes delimitados pela linhas verticais em azul: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d). 90

Figura 4.16. Variação da DQO de entrada e saída e da remoção de DQO durante a operação do reator nos cinco regimes delimitados pela linhas verticais em azul: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d)..... 92

Figura 4.17. Relação entre AGV/Alk e pH do reator e remoção de DQO solúvel no decorrer dos 5 regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d. 95

Figura 4.19. Sólidos suspensos totais, voláteis e fixos mensurados no efluente do reator no decorrer dos 5 regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d. 97

Figura 4.21. Correlação entre COV aplicada e produção de biogás (L CNTP/d) no reator. 98

Figura 4.22. Relação entre volume de biogás acumulado (CNTP) versus DQO removida acumulada no reator. 99

Figura 4.23. Correlação entre COV aplicada e COV removida durante toda a operação do reator. 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Características do efluente bruto da produção de biodiesel (Fonte: elaboração própria). 15

Tabela 3.1. Parâmetros e metodologias de análise empregados na caracterização do efluente. 37

Tabela 3.2. Solução de macro e micronutrientes (CHERNICHARO, 2007). 39

Tabela 3.3. Condições de suplementação avaliadas. 40

Tabela 3.4. Concentrações de metanol avaliadas no primeiro experimento em respirômetro (DQO inicial = 3000 mg/L). 44

Tabela 3.5. Concentrações de metanol avaliadas no segundo experimento em respirômetro (DQO inicial = 6000 mg/L). 44

Tabela 3.6. Concentrações de metanol e características do lodo, avaliadas no terceiro experimento em respirômetro (DQO inicial = 6000 mg/L). 45

Tabela 3.7. Composição dos meios sintéticos contendo diferentes concentrações de sódio, glicerol e metanol (mg/L) e DQO inicial de 4.000 mg/L. As quantidades estão calculadas por frasco (400 mL). 47

Tabela 3.8. Variáveis analisadas no monitoramento do reator UASB, com seus respectivos locais e periodicidade de amostragem. 50

Tabela 3.9. Parâmetros observados ao longo dos 291 dias de operação do reator UASB em regime contínuo. 50

Tabela 3.10. Parâmetros e valores utilizados na programação do cromatógrafo para quantificação do metanol no efluente da produção de biodiesel. 53

Tabela 3.11. Volumes utilizados para construção da curva de calibração e para determinação de metanol no efluente estudado. 54

Tabela 4.1. Caracterização do efluente da indústria de biodiesel antes e após tratamento físico-químico. 59

Tabela 4.2. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação em frascos penicilina. 64

Tabela 4.3. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação em respirômetro. 66

Tabela 4.4. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação. 67

Tabela 4.5. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação com lodo novo e adaptado. 69

Tabela 4.6. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (2000 mg/L) e misturas de ácido acético e metanol sob diferentes concentrações (500 -1500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 3000 mg/L. 72

Tabela 4.7. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (4000 mg/L) e misturas de ácido acético contendo diferentes concentrações de metanol (2500 -3500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L. 74

Tabela 4.8. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético e de metanol com lodo novo e adaptado..... 78

Tabela 4.9. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções com diferentes concentrações de sacarose, metanol, glicerol e sódio. 80

Tabela 4.10. Resumo dos resultados obtidos durante a operação do reator..... 84

SUMÁRIO

Capítulo 1: Introdução e Objetivos 1
1.1 – Introdução 2
1.2 – Objetivos 3
Capítulo 2: Revisão Bibliográfica 5
2.1 – Breve histórico dos biocombustíveis 6
2.2 – Produção nacional de biocombustíveis 7
2.3 – Biodiesel – o processo de produção 11
2.4 – Características do efluente gerado 14
2.5 – Tratamento de efluentes 16
2.5.1 – Tratamento preliminar 16
2.5.2 – Tratamento primário e primário avançado 16
2.5.2.1 – Flotação por Ar Dissolvido (FAD) 17
2.5.2.2 – Coagulação/Floculação 17
2.5.3 – Tratamento secundário 18
2.5.4 – Tratamento terciário 18
2.6 – Tratamento biológico anaeróbio 19
2.6.1 - Etapas do processo anaeróbio 20
2.6.1.1 - Hidrólise e acidogênese 20
2.6.1.2 - Acetogênese 22
2.6.1.3 - Metanogênese 22
2.6.2 – Fatores que influenciam a digestão anaeróbia 22
2.6.2.1 – Nutrientes 23
2.6.2.2 - Temperatura 25
2.6.2.3 – pH 25
2.6.2.4 – Acidez e alcalinidade 26
2.6.2.5 – Sais 27
2.6.2.6 - Tempo de Retenção Hidráulica (TRH) 27
2.6.2.8 – Outros fatores 28
2.6.3 - Reatores UASB 28
2.7 – Tratamento físico-químico e biológico de efluentes da produção de biodiesel 30
2.8 – Tratamento biológico anaeróbio de efluentes com alto teor de metanol 32
Capítulo 3: Materiais e Métodos 35
3.1 – Caracterização do efluente 37
3.2 – Tratamento físico-químico do efluente 38

3.3 – Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em frascos penicilina – efeito da suplementação 38
3.4 – Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em respirômetro – efeito da suplementação 41
3.5 – Avaliação de inibição por metanol em respirômetro 42
3.6 – Avaliação de inibição por salinidade, glicerol e metanol em respirômetro 45
3.7 – Experimentos conduzidos em reator UASB 48
3.8 - Métodos analíticos 51
3.8.1 – Determinação da temperatura 51
3.8.2 - Determinação de metanol 51
3.8.3 – Alcalinidade total – Método Potenciométrico (Ripley *et al*., 1986) 54
3.8.4 - Ácidos Voláteis Totais 55
3.8.5 – Determinação da composição do biogás 56
3.8.6 – Determinação de sódio 56
Capítulo 4: Resultados e Discussão 60
4.1 – Caracterização do efluente 58
4.2 - Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em frascos penicilina – efeito da suplementação 61
4.3 - Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em respirômetro – efeito da suplementação 65
4.4 – Avaliação de inibição por metanol em respirômetro 70
4.5 – Avaliação de inibição por salinidade, glicerol e metanol em respirômetro 79
4.6 – Operação do reator UASB 83
Capítulo 5: Conclusões e Sugestões 101
Referências Bibliográficas 105
Anexos 112

Capítulo 1: Introdução e Objetivos

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 – Introdução

Desde o final do século XIX, os biocombustíveis têm sido usados mundialmente como fonte alternativa de combustível. O uso deste tipo de combustível apresentou momentos de alta e baixa demanda, incentivados por marcos históricos como a Segunda Guerra Mundial e crise do petróleo em 1970. Em momentos de adversidade, a procura por alternativas que permitam suprir as necessidades da população é acentuada, como no caso dos períodos citados, em que a escassez do combustível usualmente utilizado forçou a busca por novas opções (KNOTHE *et al.,* 2010; SEBRAE, 2007).

No Brasil, o uso de biocombustíveis vem crescendo, bem como as pesquisas para aprimorar as técnicas de obtenção e melhorias de uso nos veículos de transporte. Os principais biocombustíveis usados nacionalmente são o álcool e o biodiesel. Ambos são considerados opções viáveis para substituição de combustíveis fósseis e mitigação da emissão de poluentes no ambiente (ANP, 2014).

Desde a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira em 2005, sua adição ao óleo diesel derivado do petróleo vem aumentando gradativamente, estando atualmente em 7% da composição do combustível adicionado aos veículos automotores. Uma maior demanda de biodiesel implica em maior produção nas usinas e, consequentemente, maior geração de efluentes, que devem ser devidamente tratados e enquadrados aos parâmetros da legislação em vigor antes de seu descarte (ANP, 2014; DE BONI *et al.*, 2007; MENESES *et al.*, 2012).

A produção do biodiesel no Brasil é realizada, em sua maioria, pelo processo de transesterificação alcalina de óleo vegetal e gordura animal, empregando metanol ou etanol. A transesterificação é catalisada por uma base e tem biodiesel e glicerol como produtos da reação. O biodiesel obtido nesta etapa do processo não está adequado para comercialização, necessitando de um polimento que é realizado com sucessivas etapas de lavagem (DABDOUB

et al., 2009; DE BONI *et al.*, 2007; FANGRUI e MILFORD, 1999; MATA *et al.*, 2010; MENESES *et al.*, 2012; PALOMINO-ROMERO *et al.,* 2012).

Na purificação do biodiesel é gerado um efluente aquoso, esbranquiçado, que apresenta elevada quantidade de óleos e graxas (8.000 a 25.000 mg/L), DQO (70.000 a 180.000 mg/L), turbidez (>500 NTU) e metanol (cerca de 30% m/m), dentre outros parâmetros. Estes elevados níveis de poluentes se mostra um grande desafio para o tratamento e enquadramento deste efluente aos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/2011, até que uma legislação específica para este tipo de efluente entre em vigor (DE BONI *et al*., 2007; GRANGEIRO, 2009).

O tratamento de efluentes é uma importante ferramenta para adequação de efluentes a níveis aceitáveis de determinados parâmetros, como DQO, DBO e óleos e graxas, e que permitam o correto despejo em ambientes aquáticos. Existem variedades de tratamentos possíveis, sendo as mais comuns as que utilizam processos físico-químicos e biológicos (PALOMINO-ROMERO *et al.*, 2012).

Rattanapan *et al.* (2011) e Siles *et al.* (2011) avaliaram os processos de flotação por ar dissolvido e coagulação/floculação no tratamento físico-químico de efluente de biodiesel, obtendo elevada remoção de óleos e graxas. No entanto, a remoção de DQO não foi superior a 50% nos estudos de Rattanapan *et al.* (2011) e a 63% nos de Siles *et al.* (2011). Neste último, o tratamento biológico subsequente ao físico-químico levou a uma remoção de DQO superior a 90%.

1.2 – Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o tratamento biológico anaeróbio do efluente gerado na produção de biodiesel via catálise básica, após tratamento físico-químico.

Para tal, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Obter as características do efluente antes e após o tratamento físico-químico;

- Obter a melhor condição de suplementação (macro e micronutrientes) para o tratamento biológico anaeróbio do efluente após o tratamento físico-químico;
- Obter dados de possíveis inibições do metabolismo microbiano por constituintes do efluente;
- Obter a melhor condição de operação de um biorreator de bancada do tipo UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*) no tratamento biológico anaeróbio do efluente após tratamento físico-químico.

Para se atingir os objetivos propostos, as seguintes etapas foram desenvolvidas:

- Coletar amostra representativa de efluente gerado no processo de transesterificação alcalina;
- Quantificar os principais poluentes presentes no efluente bruto;
- Selecionar uma condição de tratamento físico-químico e fixar esta condição para todo o estudo posterior;
- Quantificar os principais poluentes presentes no efluente após o tratamento físico-químico selecionado;
- Avaliar diferentes condições de suplementação (macro e micronutrientes) no tratamento biológico anaeróbio do efluente após tratamento físico-químico em frascos tipo penicilina e em respirômetro;
- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de metanol, glicerol e sódio no tratamento biológico anaeróbio em experimentos conduzidos com soluções sintéticas em respirômetro;
- Avaliar o tratamento biológico anaeróbio do efluente após tratamento físico-químico, com suplementação de macro e micronutrientes, em biorreator de bancada do tipo UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*) sob diferentes cargas orgânicas volumétricas.

.

Capítulo 2: Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Breve histórico dos biocombustíveis

A história do biodiesel começou paralelamente à criação dos motores diesel no final do século XIX. Um motor com maior eficiência termodinâmica foi construído por Rudolf Diesel para operar com óleo mineral. Em 1900, um motor diesel movido a óleo de amendoim foi apresentado na Exposição de Paris. Rudolf Diesel conduziu ainda experimentos que utilizavam locomotivas movidas a óleo de mamona e gorduras animais. Em ambos os casos, os resultados mostraram-se satisfatórios e os motores apresentaram bons desempenhos (KNOTHE *et al.*, 2010).

Knothe e colaboradores (2010) também relatam em seu trabalho que a maioria dos grandes países europeus com colônias africanas - Bélgica, França, Itália e Reino Unido com Portugal, além de países como Alemanha, tinham grande interesse em combustíveis de óleos vegetais, sobretudo visando a independência energética.

Os óleos vegetais também foram usados como combustíveis de emergência e para outros fins durante a Segunda Guerra Mundial. Países como os EUA, a Alemanha e a Índia deram sequência a pesquisas e atualmente desfrutam de importantes posições mundiais no uso de óleos vegetais como combustíveis (KNOTHE *et al.*, 2010).

Com o petróleo mais barato, frações apropriadas de petróleo bruto foram refinadas para servirem como combustível, assim como o combustível diesel e motores a diesel também evoluíram. Nas décadas de 1930 e 1940, os óleos vegetais foram usados como combustível diesel de tempos em tempos, mas em geral somente em situações de emergência (FANGRUI e MILFORD, 1999).

Devido ao aumento dos preços do petróleo bruto, aos recursos limitados de petróleo fóssil e a preocupação com as questões ambientais, a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e gorduras animais voltou a receber a atenção de pesquisadores e governantes (SEBRAE, 2007).

A trajetória do biodiesel no Brasil começou a ser delineada com as iniciativas de estudos realizados pelo Instituto Nacional de Tecnologia, na década de 20 do século 20, e ganhou destaque em meados de 1970, com a

criação do Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos (Pró-óleo), que nasceu com a primeira crise do petróleo (SEBRAE, 2007).

Ainda de acordo com o Sebrae (2007), em 1980, o Pró-óleo passou a ser o Programa Nacional de Óleos Vegetais para Fins Energéticos, pela Resolução nº 7 do Conselho Nacional de Energia. Este programa tinha como objetivo a promoção e substituição de até 30% de óleo diesel, apoiado na produção de soja, amendoim, colza e girassol. Mais uma vez, fatores como a estabilização dos preços do petróleo e a entrada do Proálcool, aliados ao alto custo da produção e esmagamento das oleaginosas, foram determinantes para a desaceleração do programa.

Apesar da escassez de incentivos e da desaceleração dos programas governamentais, muitas experiências concretas seguiram o seu curso. Diversas pesquisas na área ainda são realizadas para melhoria da qualidade do biodiesel produzido e há uma maior participação das indústrias produtoras no mercado (BIODIESELBR, 2014).

2.2 – Produção nacional de biocombustíveis

No Brasil, os principais biocombustíveis líquidos usados são o etanol obtido a partir da cana-de-açúcar e, em escala crescente, o biodiesel, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais e adicionado em proporções variáveis ao diesel de petróleo. Enquanto, mundialmente, 86% da energia vêm de fontes energéticas não renováveis, cerca de 45% da energia e 18% dos combustíveis consumidos no Brasil são renováveis. O país é pioneiro mundial no uso de biocombustíveis, sendo exemplo para muitos países que buscam fontes renováveis de energia como alternativas estratégicas ao petróleo (ANP, 2014).

Apesar da ANP (2014) afirmar que além dos biocombustíveis poluírem menos por emitirem menos compostos do que os combustíveis fósseis no processo de combustão dos motores, e estes tenham um processo de produção mais limpo, o que se nota na realidade é que durante a produção são gerados resíduos com carga orgânica, óleos e graxas, turbidez, sais, dentre outros compostos, que não estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, como é o caso da produção de biodiesel. Em comparação

com a produção de combustíveis fósseis, de fato, a de biocombustíveis tende a ser menos poluidora; no entanto, são necessários tratamentos para a água residuária remanescente do processo, para que esta possa ser lançada nos corpos d´água (MENESES *et al.*, 2012).

O uso do etanol é considerado um dos principais mecanismos de combate ao aquecimento global por reduzir as emissões de gás carbônico (CO_2). Segundo alguns defensores do uso desta fonte energética, parte do CO_2 emitido pelos veículos movidos a etanol seria reabsorvido pelas plantações de cana-de-açúcar, fazendo com que as emissões do CO_2 sejam parcialmente compensadas. Da mesma forma, o biodiesel também apresenta relevantes vantagens ambientais, quando comparado ao diesel do petróleo, dentre elas a emissão, em média, de 48% menos monóxido de carbono; 47% menos material particulado (que penetra nos pulmões); e 67% menos hidrocarbonetos, quando queimado (ANP, 2014).

Segundo a ANP (2014), desde 1º de novembro de 2014, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 7% de biodiesel. O Conselho Nacional de Política Energética (CNPE, 2009) estabeleceu esta regra para o aumento de 5% para 7% do percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. A contínua elevação do percentual de biodiesel adicionado ao diesel representa o sucesso da experiência acumulada pelo Brasil na produção e uso em larga escala de biocombustíveis. O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, tendo uma produção anual, em 2013, de 2,9 bilhões de litros e uma capacidade instalada para cerca de 7,9 bilhões de litros, no mesmo ano.

No período entre 2006 e 2014, a capacidade nominal acumulada pelas plantas de biodiesel autorizadas pela ANP apresentou uma tendência de alta, evidenciando um aumento mais acentuado nos primeiros anos com uma pequena queda, entre os anos de 2013 e 2014. Já a produção anual do biodiesel e a demanda anual deste biocombustível mantiveram a tendência de alta até o final do período estudado, conforme Figura 2.1.

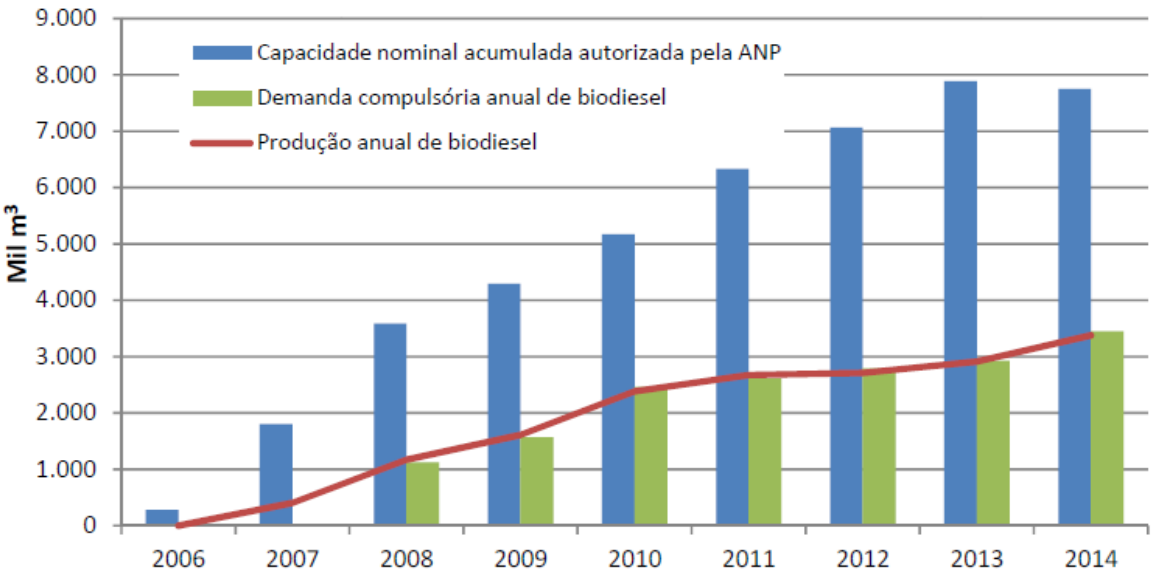


Figura 2.1. Evolução anual da produção, demanda compulsória e capacidade nominal de biodiesel autorizada pela ANP no Brasil entre 2006 e 2014. Fonte: http://www.anp.gov.br.

O biodiesel é um combustível produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais. Dezenas de espécies vegetais presentes no Brasil podem ser usadas na produção do biodiesel, entre elas soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso. Na Figura 2.2 estão representadas, graficamente, as principais matérias-primas utilizadas nacionalmente para produção deste biocombustível em fevereiro de 2015.

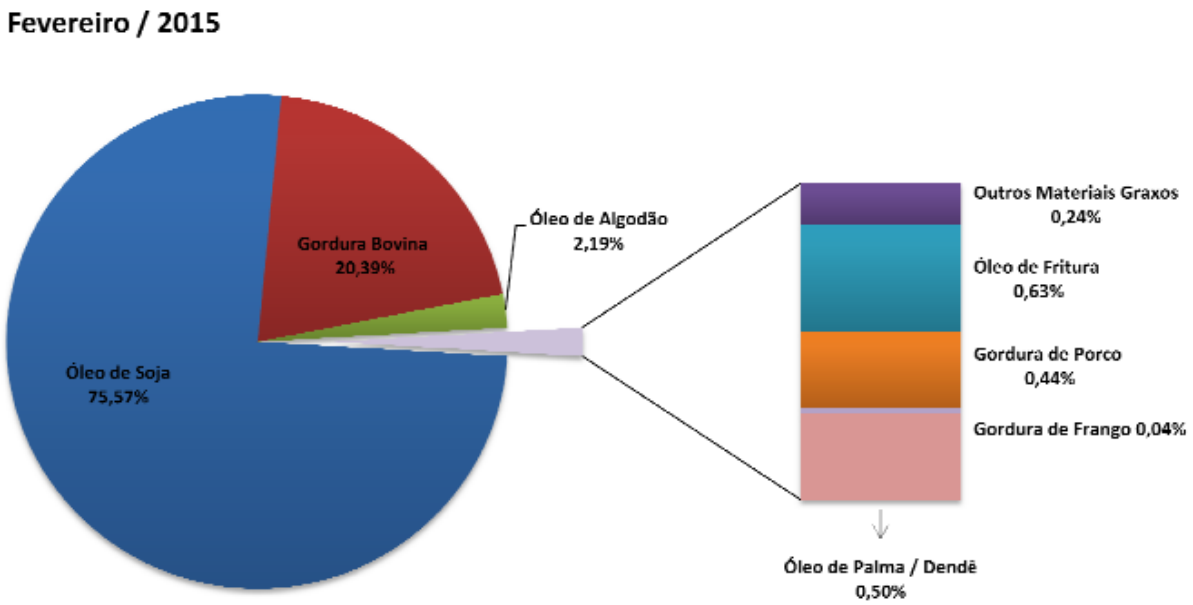


Figura 2.2. Perfil nacional das matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel em fevereiro de 2015. Fonte: http://www.anp.gov.br.

Entretanto, o óleo vegetal *in natura* é bem diferente do biodiesel, que deve atender à especificação estabelecida pela Resolução ANP n° 7/2008. Para a compatibilidade com os motores a diesel, o óleo vegetal precisa passar por um processo químico chamado transesterificação, realizado nas instalações produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP, o qual que será explicado mais adiante.

A ANP (2014) também indica a possibilidade de uso de mais de uma fonte vegetal no mesmo biodiesel. A mamona, por exemplo, se usada em mistura com outros óleos, agrega propriedades positivas ao produto final, como a redução do ponto de congelamento, sem alterar as especificações exigidas pela ANP.

Na produção do biodiesel que gera o efluente utilizado neste estudo, são utilizadas como matérias-primas a soja (80% da composição), algodão (8%) e sebo bovino (12%) (FLORIDO, 2015).

A venda de diesel BX – nome da mistura de óleo diesel derivado do petróleo e um percentual (7%, atualmente) de biodiesel – é obrigatória em todos os postos que revendem óleo diesel e estão sujeitos à fiscalização pela ANP. A adição de até 7% de biodiesel ao diesel de petróleo foi amplamente testada e os resultados demonstraram, até o momento, não haver necessidade de qualquer ajuste ou alteração nos motores e veículos que utilizem essa mistura (ANP, 2014).

A introdução do biodiesel na matriz brasileira se deu com a publicação da Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005 (ANP, 2014). Além do desenvolvimento de uma fonte energética sustentável sob os aspectos ambiental, econômico e social, a produção e o uso do biodiesel no Brasil também trazem a perspectiva da redução das importações de óleo diesel, gerando divisas para o país.

O biodiesel, além da diminuição da dependência do diesel importado, traz outros efeitos indiretos de sua produção e uso, como o incremento a economias locais e regionais, tanto na etapa agrícola como na indústria de bens e serviços. Outro benefício social resultante da ampliação do uso do biodiesel é o efeito positivo sobre o meio ambiente, acarretando a diminuição das principais emissões veiculares em comparação ao diesel derivado do petróleo (ANP, 2014).

Existem também desvantagens na alta demanda pela produção de biodiesel, entre elas o uso de uma extensa área para plantação das matérias-primas de origem vegetal, pressão para a mudança de uso do solo e aumento de campos de cultivo, que podem levar à competição pela terra e à perda de biodiversidade, devido ao corte das florestas existentes e a utilização de áreas de importância ecológica (RFA, 2008).

Uma alternativa que tem sido mais estudada recentemente para a produção de biocombustíveis é o uso de algas, principalmente as microalgas. As microalgas podem fornecer matéria-prima para vários tipos diferentes de combustíveis renováveis como o biodiesel, metano, hidrogênio, etanol, entre outros e necessitam de uma menor área quando comparada às demais culturas (menos de 3%), conferindo a estes organismos, um elevado rendimento e alta competitividade (CHISTI, 2007; MATA *et al.*, 2010).

2.3 – Biodiesel – o processo de produção

Os biocombustíveis vêm se mostrando uma alternativa bastante viável, tanto do ponto de vista econômico como ambiental. Neste cenário, a utilização de biodiesel como combustível tem apresentado potencial promissor no mundo inteiro, e se destaca como uma alternativa vantajosa, pois o biodiesel é obtido a partir de recursos renováveis, uma fonte estratégica de energia em substituição ao óleo diesel. Além disso, sua queima libera emissões gasosas bem menos impactantes quando comparadas as de combustíveis de origem fóssil (PALOMINO-ROMERO *et al.*, 2012).

Na produção de biodiesel são utilizadas técnicas como microemulsão, pirólise e, mais comumente, a transesterificação. Para todas as técnicas citadas, faz-se necessário o uso de óleo vegetal ou gordura animal (FANGRUI e MILFORD, 1999). No caso da transesterificação, os óleos vegetais são submetidos a uma reação química, que consiste na reação entre um triglicerídeo e um álcool de cadeia curta, na presença de um catalisador, geralmente alcalino, como pode ser observado na Figura 2.3 (DABDOUB *et al.*, 2009).

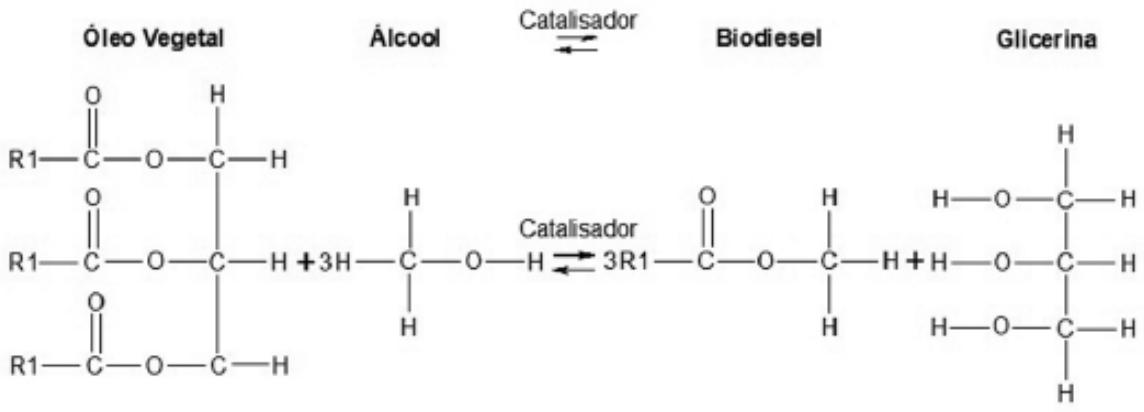


Figura 2.3. Reação de transesterificação por catálise (PALOMINO-ROMERO *et al*., 2012).

Após esta reação, o glicerol é separado dos ésteres por decantação. No entanto, visando atender aos critérios de qualidade do biodiesel, previstos na Resolução ANP 07/2008, é necessária uma etapa de purificação para remover qualquer resíduo do biodiesel, sendo a lavagem aquosa a técnica utilizada atualmente (MENESES *et al.*, 2012).

A referida etapa de lavagem é repetida de duas a cinco vezes, dependendo da quantidade de impurezas, sendo estas relacionadas a resíduos de glicerina, ácidos graxos e sabões. Após a etapa de purificação, o efluente é composto por resíduos de sabões de sódio ou potássio, além de ácidos graxos, glicerina e álcool (metanol ou etanol), dentre outros contaminantes (PALOMINO-ROMERO *et al.*, 2012). Um resumo das principais etapas envolvidas no processo de produção do biodiesel e pós-produção, pode ser visualizado na Figura 2.4.

Palomino-Romero e colaboradores (2012) ainda ressaltam que, em geral, o efluente proveniente da indústria de biodiesel mostra-se quimicamente inadequado para ser lançado em qualquer corpo hídrico. Sendo necessária, para isso, a adoção do tratamento destas águas residuárias.

Sendo assim, apesar das vantagens socioambientais e econômicas trazidas pelo mercado do biodiesel, os métodos tradicionais de purificação utilizam, para cada litro de biodiesel produzido, cerca de três litros de água (DE BONI *et al*., 2007), gerando grande quantidade de efluentes contendo os contaminantes já mencionados, que podem contaminar os corpos d'água e prejudicar o equilíbrio do ecossistema aquático, visto que estes componentes

inibem o crescimento da maioria dos micro-organismos, dificultando a degradação natural do efluente (MENESES *et al.*, 2012).

Palomino-Romero e colaboradores (2012) explicam que há quatro tipos de tratamento para este efluente – eletroquímico, biológico, físico-químico e combinações entre estes – mas considera esta uma área de pesquisa que começa a ser desenvolvida, já que os trabalhos destinados a este assunto são poucos e recentes.

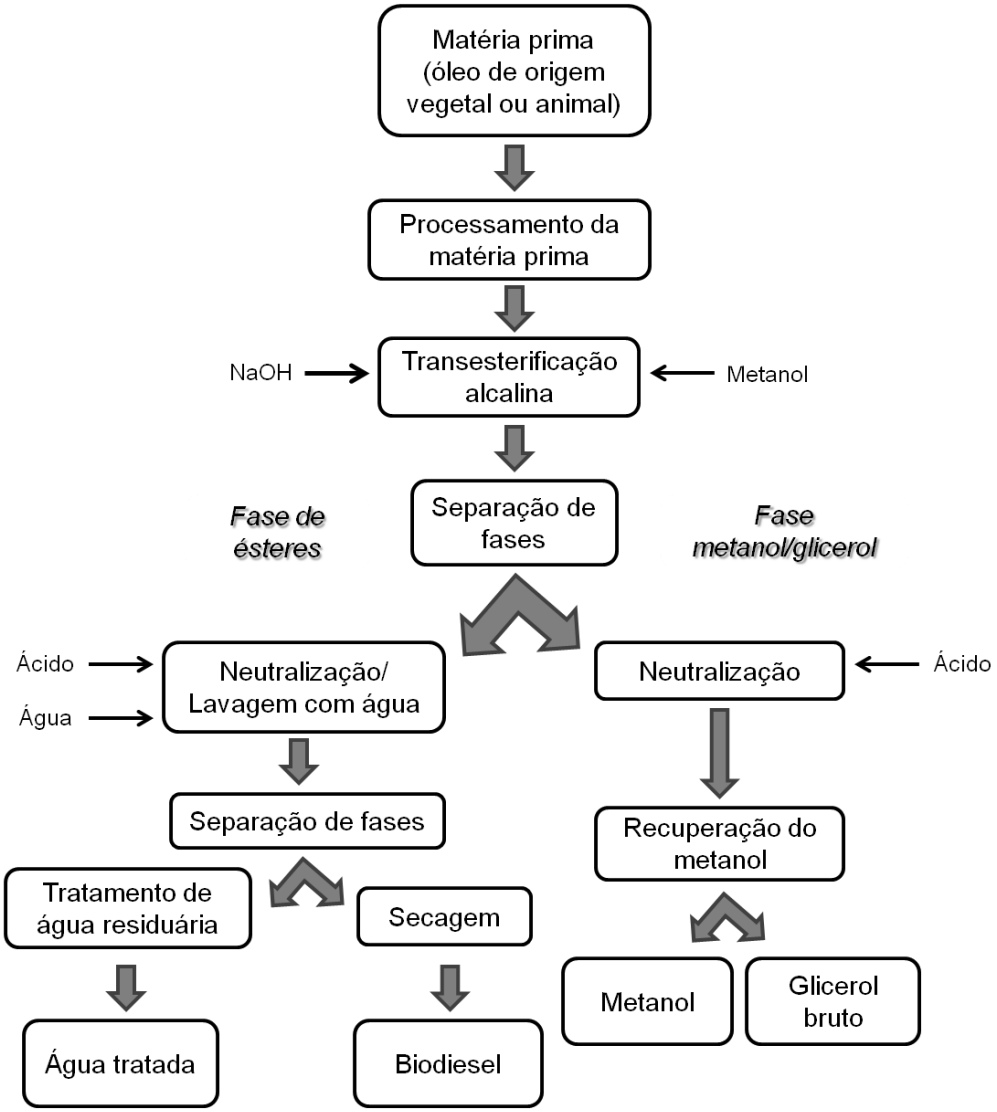


Figura 2.4. Representação esquemática do processo de produção de biodiesel a partir de transesterificação alcalina por rota metílica (adaptado de VELJKOVIC *et al.*, 2014).

2.4 – Características do efluente gerado

Segundo Grangeiro (2009), o efluente gerado na produção do biodiesel é esbranquiçado, com uma camada de óleo na superfície e apresenta elevada quantidade de óleos e graxas (8.000 a 25.000 mg/L), DQO (70.000 a 180.000 mg/L), turbidez (>500 NTU) e metanol (cerca de 30% m/m), entre outros parâmetros. Estes elevados níveis de poluentes tornam o tratamento e enquadramento deste efluente aos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/2011 um grande desafio, até que entre em vigor uma legislação específica para este tipo de efluente (DE BONI *et al*., 2007).

Na Tabela 2.1 são apresentados os resultados obtidos por diferentes autores para a caracterização do efluente gerado na produção de biodiesel. É possível observar que há uma variação acentuada entre os valores apresentados devido à origem diversificada dos efluentes estudados, ou seja, cada pesquisador caracterizou e estudou uma amostra distinta, resultante de diferentes matérias-primas, catalisadores e outros fatores. No entanto, de forma geral, verifica-se que os efluentes analisados apresentam elevados valores de pH, turbidez, sólidos suspensos, O&G e DQO.

Tabela 2.1. Características do efluente bruto da produção de biodiesel (Fonte: elaboração própria).

Parâmetro	De Boni *et al.* (2007)	Meneses *et al.* (2012)	Grangeiro (2009) Biodiesel de soja	Grangeiro (2009) Biodiesel de óleo de fritura	Araújo (2011)	Oliveira (2013)	Suehara *et al.* (2005)	Chavalparit e Ongwandee (2009)	Rattanapan *et al.* (2011)
Cor	3.000	Branco	-	-	-	-	-	-	Branco
pH	10,4	10,0	10,3	10,6	8,9	4,5	11,0	8,9	8,5 – 10,5
Turbidez (NTU)	905	-	2.295	2.550	788	3.196	-	-	-
DQO (mg/L)	16.564	-	8.000	9.500	21.683	79.760	-	30.980	60.000–150.000
DBO_5 (mg/L)	nd	-	2.600	3.150	11.700	5.970	-	-	30.000–60.000
SST (mg/L)	-	6.500	-	-	-	2.900	2.670	340	
Nitrogênio total (mg/L)	-	-	-	-	-	8,8	64,7	-	
Óleos e Graxas (mg/L)	500	9.469	1.225	1.105	693	1.074	15.100	6.020	7.000–15.000
Glicerol (mg/L)	-	-	-	-	-	-	-	1.360	-
Metanol (mg/L)	-	-	-	-	-	26.800	-	10.667	-

nd = não detectado; SST = sólidos suspensos totais.

2.5 – Tratamento de efluentes

Desde a Segunda Guerra Mundial e com o crescimento da industrialização, foram desenvolvidos novos processos de tratamento com o intuito de atender às diferentes especificidades dos efluentes e também à Legislação Ambiental, que tem sido aperfeiçoada ao longo dos anos. A poluição e degradação dos recursos naturais, dentre outros fatores negativos, têm sido ocasionadas pelo crescimento populacional e o desenvolvimento industrial. As alterações na natureza, em todas as suas formas, de origem tanto antropogênica (como no caso dos esgotos domésticos), quanto pelos processos industriais (esgotos industriais), podem deteriorar a qualidade dos corpos d´água receptores. Assim, tornam-se necessários o tratamento e a disposição adequada dos resíduos gerados (DEZOTTI, 2008).

No caso dos efluentes industriais, alguns deles apresentam, além de elevada concentração de matéria orgânica, inúmeros compostos tóxicos e recalcitrantes, e muitas variáveis dificultam a padronização dos processos de tratamento. O controle ambiental tem sido motivo de grande preocupação e atenção pelos governantes e centros de pesquisa de tecnologias para reversão do processo de degradação dos ambientes naturais. Assim, o tratamento de águas residuárias tem como objetivo, social e econômico, a proteção do meio ambiente e da saúde pública (DEZOTTI, 2008).

Segundo Metcalf e Eddy (2003), os vários níveis de tratamento são conhecidos como preliminar, primário, primário avançado, secundário (com ou sem remoção de nutrientes) e terciário ou avançado. Estes serão abordados de forma resumida a seguir.

2.5.1 – Tratamento preliminar

O tratamento preliminar consiste na remoção de constituintes do efluente como grãos, cascalhos, pedaços de tecidos, enfim, materiais grosseiros que podem causar problemas na operação e manutenção dos sistemas de tratamento.

2.5.2 – Tratamento primário e primário avançado

O tratamento primário de efluentes visa à remoção de sólidos em suspensão e/ou flutuantes ou até ao ajuste de pH para posterior tratamento da água residuária. Um tratamento primário eficiente é fundamental para um tratamento secundário bem sucedido, pois este último, na maioria das vezes, depende de um bom tratamento primário.

Tratamentos primários mais comuns: sedimentação, coagulação/floculação e flotação (DEZOTTI, 2008; METCALF & EDDY, 2003). O tratamento primário avançado mencionado por Metcalf e Eddy (2003) utiliza reagentes químicos para remoção mais eficiente de sólidos suspensos e, em menor proporção, os sólidos dissolvidos.

Dentre os tratamentos primários possíveis de serem aplicados, e consequentemente mais estudados, no tratamento de efluentes da produção de biodiesel estão os processos físico-químicos de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido, empregados de forma isolada ou combinados com processos biológicos. Portanto, a seguir, serão comentados alguns aspectos destes processos.

2.5.2.1 – Flotação por Ar Dissolvido (FAD)

O princípio do processo de flotação por ar dissolvido é a redução brusca de pressão por introdução e geração de microbolhas no efluente líquido, sendo a dissolução do ar na água dependente da temperatura e da pressão (SILVA e FRANÇA, 2003).

O método mais utilizado para contatar o ar com a água é o difusor, onde a água, junto com o ar, passa por um empacotamento de anéis sob uma pressão de ar de 4 a 5 atm. Este empacotamento amplia a superfície de contato e esta pressão permite a ocorrência de saturação do ar na água. A variação brusca de pressão faz com que o ar que estava dissolvido retorne à forma gasosa, formando bolhas minúsculas que aderem às partículas, ocorrendo a flotação (SILVA e FRANÇA, 2003).

2.5.2.2 – Coagulação/Floculação

A adesão bolha partícula pode ficar comprometida quando o efluente a ser tratado apresentar partículas finas (suspensões coloidais), já que estas

apresentam grande estabilidade, devido sua pequena dimensão e a existência de cargas superficiais que promovem a sua repulsão (BARRAQUE *et al.*, 1979). Um dos métodos utilizados para desestabilizar essas suspensões é a coagulação, que tem como objetivo unir as partículas finas em agregados maiores (flocos), suscetíveis de serem capturados pelas microbolhas. Alguns produtos químicos podem ser utilizados com o objetivo de favorecer a formação de flocos, denominados floculantes (SILVA e FRANÇA, 2003).

Alguns constituintes presentes nos efluentes são capazes de flocular após a adição de coagulantes, a partir de agitação homogênea e lenta. Esse processo possibilita o encontro de partículas coloidais neutralizadas com flocos já formados, favorecendo o processo de floculação (SILVA e FRANÇA, 2003).

2.5.3 – Tratamento secundário

O tratamento secundário de efluentes utiliza micro-organismos que atuam na oxidação dos constituintes biodegradáveis particulados e dissolvidos, na captura e incorporação de sólidos coloidais não sedimentáveis e suspensos para o interior dos flocos biológicos ou biofilmes e na transformação ou remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo (DEZOTTI, 2008).

A degradação é acompanhada da decomposição de carboidratos, óleos e graxas, proteínas e outros compostos orgânicos complexos em compostos mais simples. Dependendo do processo utilizado predominantemente, o produto formado pode variar. Os poluentes orgânicos podem ser degradados por consórcios microbianos heterogêneos, com predomínio de bactérias. O procedimento dos sistemas de tratamento segue a biodegradação de poluentes orgânicos como nos sistemas aquáticos, apesar do processo nos primeiros ser realizado em tempo mais curto e em larga escala, já que operam com elevadas concentrações microbianas e com aportes de energia e nutrientes adequados (DEZOTTI, 2008). Alguns exemplos destes processos são: digestão aeróbia e anaeróbia em diferentes tipos de reatores, lagoas de estabilização e lagoas anaeróbias.

2.5.4 – Tratamento terciário

O tratamento terciário, denominado também de polimento, visa principalmente à remoção de quantidades remanescentes de poluentes em águas residuárias, provenientes do tratamento secundário, antes de seu lançamento no corpo receptor (DEZOTTI, 2008; METCALF & EDDY, 2003).

Devido às necessidades de cada indústria, há uma diversidade de tratamentos terciários possíveis. Alguns exemplos são: filtração, ozonização, cloração, adsorção em carvão ativado e, adicionalmente, os processos de remoção biológica de nutrientes, como nitrogênio, fósforo e enxofre.

Metcalf e Eddy (2003) ainda ressaltam que para tratamentos avançados, o objetivo é a remoção de materiais dissolvidos ou em suspensão que não foram eliminados no tratamento biológico.

Considerando que o tratamento estudado no presente trabalho foi o tratamento biológico anaeróbio, os fundamentos deste processo, assim como a configuração do biorreator empregado nos estudos em regime contínuo, são apresentados a seguir.

2.6 – Tratamento biológico anaeróbio

A degradação biológica ocorre através da ação de agentes biológicos como as bactérias. O processo de degradação anaeróbia transforma a matéria orgânica em gás carbônico, metano, água e biomassa.

Nos processos anaeróbios, a produção de biomassa é significativamente menor quando comparada aos processos aeróbios, pois a taxa de crescimento dos micro-organismos anaeróbios é baixa. Uma parcela da energia potencial do resíduo é destinada à biomassa e a outra parcela para a formação de metano. Portanto, o conteúdo energético existente no biogás pode ser usado em substituição a combustíveis fósseis, reduzindo o consumo destes e o consequente aumento da concentração de CO_2 (CETESB, 2006).

Os compostos orgânicos podem ser degradados pela via anaeróbia de forma mais eficiente e mais econômica quando os dejetos são facilmente biodegradáveis. Atualmente, os digestores anaeróbios têm sido largamente empregados, tanto no tratamento de resíduos sólidos como lodos de estações de tratamento de esgoto e lixo urbano, quanto para o tratamento de efluentes

industriais, como é o caso das indústrias de biodiesel. Esta aplicação da digestão anaeróbia está presente em países desenvolvidos e em desenvolvimento (CHERNICHARO, 2007).

Dentre as vantagens dos processos anaeróbios podem-se citar menores produção de sólidos, consumo de energia e nutrientes, demanda de área e custos de implantação e a produção de metano, um gás combustível de elevado teor calorífico. Dentre as desvantagens, estão a remoção insatisfatória de nutrientes e patógenos e a produção de efluente com qualidade insuficiente para atender os padrões ambientais, exigindo alguma forma de pós-tratamento (SANT'ANNA, 2010).

2.6.1 - Etapas do processo anaeróbio

A digestão anaeróbia, segundo Chernicharo (2007), pode ser entendida como um ecossistema constituído por diversos grupos de organismos que, com suas interações, são capazes de converter matéria orgânica complexa em metano, gás carbônico, água, amônia e gás sulfídrico. Além, é claro, de novas células bacterianas a partir de processos reprodutivos.

Este processo de digestão é dividido, de forma simplificada, em duas fases, acidogênica e metanogênica. Entretanto, esse pode ser subdividido em diversas rotas metabólicas, variando a participação dos grupos microbianos atuantes no processo.

A seguir, são apresentadas as quatro rotas metabólicas da digestão anaeróbia, considerando somente o processo até a formação de metano, segundo Chernicharo (2007). As rotas metabólicas também podem ser visualizadas na Figura 2.5.

2.6.1.1 - Hidrólise e acidogênese

A assimilação de matéria orgânica particulada por micro-organismos dá-se a partir da quebra dos materiais particulados complexos (polímeros) em moléculas menores, as quais podem atravessar as membranas celulares das bactérias fermentativas. A lise desses materiais particulados é obtida através da ação de exoenzimas excretadas por bactérias fermentativas hidrolíticas.

Em anaerobiose, a hidrólise dos polímeros ocorre, geralmente, de forma lenta. Vários fatores podem afetar o grau e a velocidade com que o substrato é

hidrolisado, tais como a temperatura operacional do reator, tempo de residência do substrato no reator, pH do meio, composição do substrato, tamanho das partículas, concentração dos produtos de hidrólise e de $N\text{-}NH_4^+$ (LETTINGA *et al*.,1996 *apud* CHERNICHARO, 2007).

O tipo de substrato presente no sistema será um reflexo da relação entre os micro-organismos que compõem o processo e quais destes estão ativos.

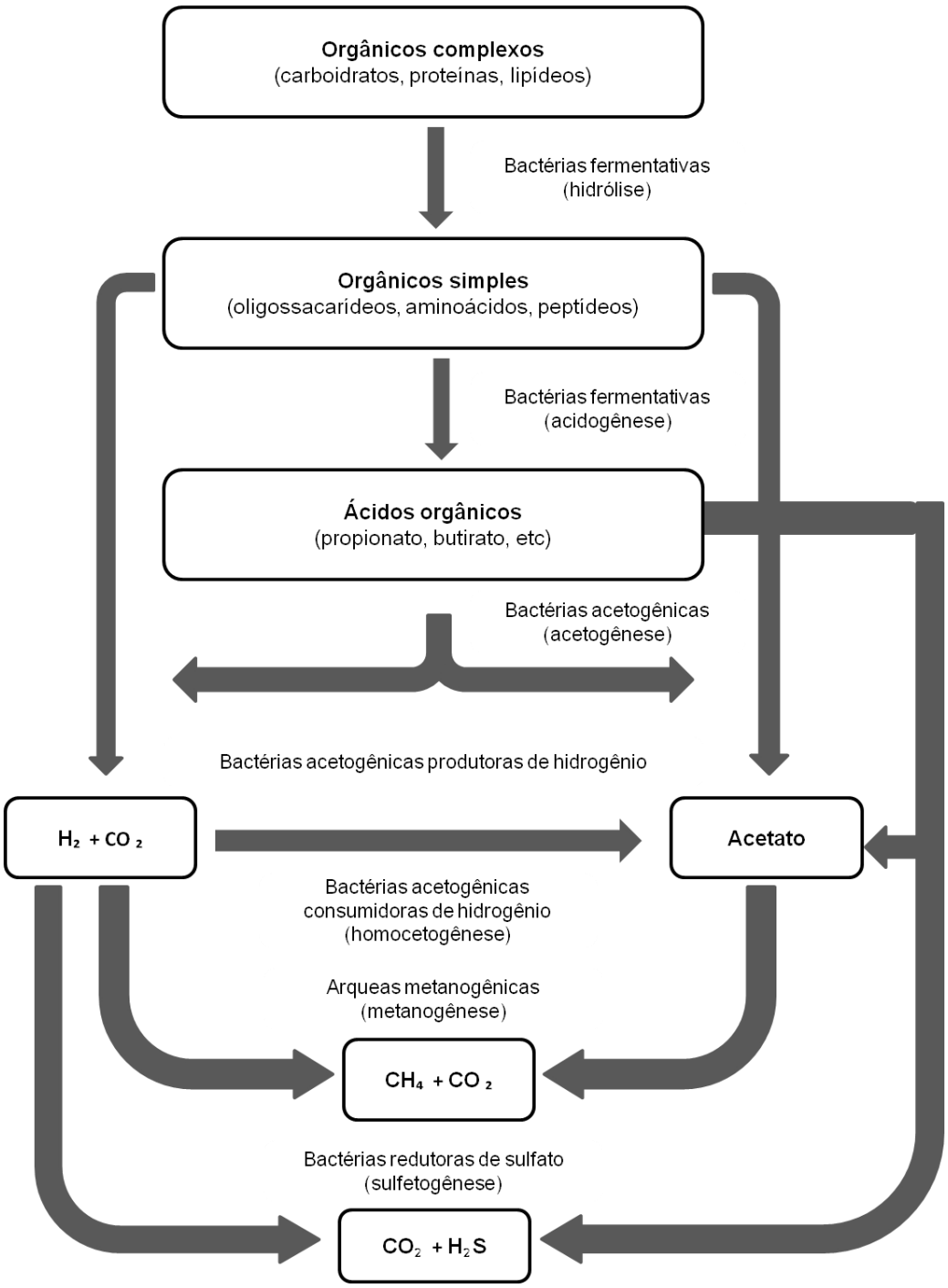


Figura 2.5. Etapas da digestão anaeróbia (adaptado de CHERNICHARO, 2007).

2.6.1.2 - Acetogênese

As bactérias responsáveis pela oxidação dos compostos originados a partir das etapas de hidrólise e acidogênese são denominadas sintróficas acetogênicas. Nesta etapa da digestão anaeróbia, há a conversão de compostos como propionato e butirato em substratos adequados para a ação dos micro-organismos metanogênicos; tais substratos podem ser acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. No entanto, a produção de acetato resulta em uma produção acentuada de H_2, o que acarreta uma redução do pH no meio aquoso.

Um dos fatores de grande importância dos micro-organismos acetogênicos no processo de digestão anaeróbia é que a DQO da fase líquida depende da conversão de acetato em metano, realizada pelos micro-organismos metanogênicos acetoclásticos. O metano também pode ser formado pela ação dos micro-organismos metanogênicos hidrogenotróficos, a partir de redução de dióxido de carbono ou formiato.

2.6.1.3 - Metanogênese

Os micro-organismos metanogênicos são responsáveis pela conversão de compostos orgânicos simples em metano e dióxido de carbono na etapa final da digestão anaeróbia. Estes micro-organismos são, atualmente, classificados como arqueobactérias, por apresentarem características morfológicas e bioquímicas próprias do domínio *Archaea*.

A produção de metano pode ser realizada por dois grupos de arqueas metanogênicas, distintos por sua fisiologia. Um que forma metano a partir de ácido acético ou metanol (metanogênicas acetoclásticas), e o segundo que produz metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (metanogênicas hidrogenotróficas).

2.6.2 – Fatores que influenciam a digestão anaeróbia

O metabolismo microbiano pode ser influenciado por características físicas e químicas do ambiente. Os fatores físicos, geralmente, atuam como agentes seletivos, enquanto os fatores químicos podem ou não atuar na seleção dos micro-organismos (CHERNICHARO, 2007).

A digestão anaeróbia, por requerer uma interação entre micro-organismos fermentativos e metanogênicos, é suscetível a um controle rigoroso das condições ambientais. Dentre estes micro-organismos, os que apresentam maior vulnerabilidade às mudanças ambientais são os metanogênicos.

Alguns dos fatores que influenciam o processo serão abordados a seguir.

2.6.2.1 – Nutrientes

Chernicharo (2007) destaca que macro e micronutrientes, que são requeridos em grandes e pequenas quantidades, respectivamente, podem ser muito importantes na seleção de espécies predominantes (macronutrientes) ou exercer pouca ou nenhuma ação seletiva (micronutrientes). Dentre os principais requisitos ambientais para a digestão anaeróbia estão a disponibilidade de nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo, enxofre e outros, como cobalto, molibdênio, ferro e níquel, que são requeridos em menores concentrações do que os inicialmente citados.

Como o efluente em questão é de origem industrial, tendo uma composição mais específica que os esgotos sanitários, geralmente é necessária uma suplementação mais específica para uma degradação ótima (CHERNICHARO, 2007). Normalmente, o nutriente inorgânico requerido em maiores concentrações para o crescimento dos micro-organismos é o nitrogênio. Este elemento, em anaerobiose e nas formas de nitrito e nitrato, não está disponível para a metabolização pelos micro-organismos, isto porque este é reduzido a gás nitrogênio e é liberado na atmosfera. Sendo assim, as principais fontes de nitrogênio utilizadas pelos micro-organismos são a amônia e a porção de nitrogênio orgânico (CHERNICHARO, 2007).

O fósforo é incorporado na digestão anaeróbia, pela maioria dos micro-organismos, na forma de ortofosfato inorgânico, que mediados por fosfatases podem ser incorporados pelas células em crescimento. A incorporação microbiana de fósforo é de aproximadamente 1/5 a 1/7 da estabelecida para o nitrogênio (CHERNICHARO, 2007).

Chernicharo (2007) destaca que mesmo a estimativa dos requisitos nutricionais ter como base a concentração do esgoto e esta não sendo a mais indicada, a maioria dos trabalhos especializados na área refere-se à

suplementação de nutrientes com base na DQO. Para os experimentos realizados neste estudo, utilizou-se, como será visto adiante, biomassa com elevado coeficiente de produção celular, o que, segundo o autor, equivale a um coeficiente de produção de biomassa de aproximadamente 0,15 g SSV/gDQO e a relação estabelecida é de DQO : N : P = 350 : 5 : 1, sendo esta a recomendada para o processo anaeróbio.

Oliveira (2013), ao caracterizar amostra de efluente de usina produtora de biodiesel, encontrou valores de concentrações de nitrogênio e fósforo dissolvidos de 8,8 mg/L e 127,2 mg/L, respectivamente, e valor de DQO de aproximadamente 79.760 mg/L. A partir destes dados foi possível calcular quanto seria a demanda de nitrogênio e fósforo para a digestão anaeróbia deste efluente em especial. Para os cálculos foi considerado o maior valor de DQO testado para o substrato alimentado no reator anaeróbio (45.800 mg/L). As necessidades mínimas de nutrientes podem ser calculadas pela equação 2.1, proposta por LETTINGA *et al*. (1996, *apud* CHERNICHARO, 2007):

$$R_{nut} = S_0 \,.\, Y.\, C_{nut} \,.\, \frac{SST}{SSV} \qquad \text{(Eq. 2.1)}$$

Onde:

R_{nut} = requisito de nutriente (g/L)

S_0 = concentração de substrato afluente ao reator (g DQO/L)

Y = coeficiente de produção de biomassa (g SSV/g DQO)

C_{nut} = concentração de nutriente na célula bacteriana (g/g SST)

SST/SSV = relação entre sólidos totais e sólidos voláteis para a célula bacteriana, que tem valor usual de 1,14 g SST/g SSV.

Considerando a concentração de nutriente na célula bacteriana proposta por LETTINGA *et al*. (1996, *apud* CHERNICHARO, 2007) para nitrogênio e fósforo, 0,065 e 0,015 g/g SST, respectivamente, e tendo como base a equação e valores de referência propostos por este autor e os dados fornecidos por Oliveira (2013), verifica-se que o requisito de nitrogênio para o efluente de biodiesel estudado por Oliveira (2013) foi de 0,509 g/L ou 509 mg/L e para fósforo foi de 0,117 g/L ou 117 mg/L.

Comparando com os valores encontrados para este efluente, é possível constatar que há uma carência significativa de cerca de 500 mg/L de nitrogênio neste efluente a ser suprida por suplementação. Já o fósforo, para este caso específico, mostrou-se com concentração superior à necessária para o crescimento microbiano, não sendo necessária a suplementação deste elemento.

2.6.2.2 - Temperatura

Em relação à temperatura, Speece (1996) afirma que um melhor desempenho da digestão anaeróbia é obtido quando o sistema está em temperaturas na faixa de 30^0 a 40^0C para os micro-organismos mesofílicos e 50^0 a 60^0 para os termofílicos.

Chernicharo (2007) destaca que a formação de metano por micro-organismos pode ocorrer em um intervalo amplo de temperatura (0^0 a 97^0C). Entretanto, dois níveis ótimos de temperatura são associados à digestão anaeróbia, um na faixa mesófila (30^0 a 35^0C) e outro na faixa termófila (50^0 a 55^0C). A maioria dos reatores anaeróbios tem sido projetada para a faixa mesofílica.

A influência da temperatura nos processos biológicos se dá nas velocidades das reações enzimáticas e de difusão de substrato. Acima da temperatura ótima, ocorre uma queda brusca da velocidade de crescimento, tendo o decaimento uma prevalência sobre a síntese. Isto se deve à inativação e desnaturação de enzimas e proteínas essenciais ao processo metabólico de digestão pelo aumento de temperatura acima da faixa ótima para estes micro-organismos.

2.6.2.3 – pH

Os micro-organismos produtores de metano têm seu pH ótimo na faixa entre 6,6 e 7,4, apesar de esta faixa poder ser ampliada para 6,0 a 8,0. Este valor ótimo depende do micro-organismo e do substrato envolvido no processo de digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2007).

O pH pode influenciar diretamente o metabolismo anaeróbio, afetando a atividade enzimática, resultando em possíveis mudanças de pH, ou afetando a

toxicidade de alguns compostos. Em casos onde há aumento de ácidos graxos totais no sistema, o pH tem um decréscimo acentuado no meio, quando a alcalinidade não é suficientemente elevada. Se esta queda atinge valores inferiores a 6,0, há favorecimento das bactérias acidogênicas (pH ótimo entre 5,5 e 6,0) e prejuízo para as metanogênicas, que são mais sensíveis a bruscas variações de pH, parando consequentemente a produção de metano. Esse desbalanço pode afetar o reator, ocorrendo o azedamento do conteúdo do reator e perda de todo o material (SOUZA, 1984; CHERNICHARO, 2007).

Sialve *et al*. (2009) ressalta que a composição do biogás, no entanto, está fortemente associada ao pH do meio, já que depende da quantidade de CO_2, que é dissolvido na fase líquida na forma de carbonato.

Como observado no item 2.4 deste trabalho e mais precisamente na Tabela 2.1, o pH médio do efluente da produção de biodiesel em diversos trabalhos é 9,3 e mesmo após o tratamento físico-químico, o pH fica ácido devido às etapas de acidificação, tendo valores próximos a 4, como avaliado na metodologia deste estudo. Assim, estando este pH fora da faixa ótima para os micro-organismos metanogênicos, torna-se necessário o ajuste do pH para a faixa próxima à neutralidade (CHERNICHARO, 2007).

2.6.2.4 – Acidez e alcalinidade

O acúmulo dos ácidos voláteis pode ocorrer por diversos fatores, entre eles: sobrecarga orgânica (aumento súbito de carga orgânica aplicada), variações bruscas de pH e temperatura, sobrecarga tóxica com aumento repentino da concentração de algum composto inibidor no meio ou sobrecarga hidráulica devido a um possível aumento súbito da vazão de despejo, podendo ocorrer remoção dos micro-organismos metanogênicos ali presentes (SOUZA, 1984).

Chernicharo (2007) reporta que, durante a digestão anaeróbia, a interação entre alcalinidade e ácidos voláteis é essencial para neutralizar os ácidos derivados da decomposição dos compostos orgânicos e tamponar o pH, caso ocorra acúmulo de ácidos voláteis.

Os principais reagentes químicos utilizados para manutenção do pH dos processos anaeróbios, de acordo com Chernicharo (2007), são a cal hidratada

($Ca(OH)_2$), cal virgem (CaO), carbonato de sódio (Na_2CO_3), bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), hidróxido de sódio (NaOH) e bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3). Para este último reagente, é indicada cautela para prevenção de toxicidade da biomassa por amônia.

2.6.2.5 – Sais

Metais alcalinos e alcalino-terrosos, como sódio, cálcio, potássio e magnésio, que estão presentes na digestão anaeróbia, podem ter sua origem no próprio processo que gerou o efluente a ser tratado ou serem adicionados aos reatores em forma de sais, para equilíbrio do pH do meio. Quando estes cátions estão combinados, podem atuar de forma antagônica ou sinergética (SOUZA, 1984).

A toxicidade do sal normalmente está associada ao cátion do sal. As concentrações consideradas inibitórias para um dado cátion podem atingir níveis mais elevados se a biomassa passar por um processo de adaptação (CHERNICHARO, 2007).

Os efeitos antagônicos podem ser entendidos como o uso alternativo de um determinado cátion para reduzir o efeito inibitório de outro. O sódio e o potássio são os antagonistas mais utilizados quando em concentrações estimuladoras (CHERNICHARO, 2007). De acordo com este autor, as concentrações estimuladoras destes cátions estão nas faixas entre 100 a 200 mg/L para o sódio e 200 a 400 mg/L para o potássio.

No efluente analisado neste estudo, foram encontradas concentrações de sódio dentro das categorias de estimuladoras e moderadamente inibitórias, conforme será visto na seção de resultados e discussão. A presença de sódio se deve ao uso de NaOH no processo de produção do biodiesel e no tratamento físico-químico, assim como na etapa de ajuste de pH com NaHCO3, anterior ao tratamento biológico anaeróbio.

2.6.2.6 - Tempo de Retenção Hidráulica (TRH)

O tempo de retenção hidráulica (TRH) e o tempo de retenção de sólidos (TRS) são os parâmetros-chave dos processos anaeróbios. Eles devem ser suficientemente elevados para permitir a permanência das populações

microbianas no reator, especialmente as arqueas metanogênicas, não limitando a metanogênese, que é geralmente a etapa crucial da conversão global de substratos a metano (SIALVE *et al*., 2009).

No caso dos poluentes orgânicos complexos lentamente degradáveis, o TRH é um fator decisivo (SPEECE, 1996). Quando o processo é operado a uma baixa taxa de alimentação e alto tempo de retenção hidráulica, o rendimento da produção de metano é constante e máximo. Do contrário, quando a carga é máxima ou o tempo de retenção hidráulica mínimo é atingido, ocorre uma diminuição do rendimento em metano.

Para uma conversão eficiente de matéria orgânica, as taxas de alimentação e tempos de retenção hidráulica ideais devem ser selecionados considerando o tipo e composição do substrato (SIALVE *et al*., 2009).

2.6.2.8 – Outros fatores

Outros fatores, além dos já mencionados, podem influenciar a digestão anaeróbia, inibindo as etapas do processo metabólico. Dentre eles, podem ser citados a composição do resíduo a ser tratado, a biodegradabilidade do mesmo, nanocompostos, amônia, sulfeto, entre outros (SOUZA, 1984; CHEN, 2014).

Como o processo de tratamento biológico anaeróbio, aplicado após o tratamento físico-químico, foi avaliado em um reator do tipo UASB de bancada, no item a seguir são apresentados o reator e sua operação.

2.6.3 - Reatores UASB

As diversas vantagens da tecnologia anaeróbia conferem aos reatores anaeróbios um grande potencial de aplicabilidade no tratamento de águas residuárias concentradas e diluídas (CHERNICHARO, 2007).

Apesar da sua introdução precoce, o interesse em sistemas anaeróbios como o principal passo biológico (tratamento secundário) no tratamento de águas residuárias era escasso até o desenvolvimento do reator de manta de lodo anaeróbio e fluxo ascendente (UASB), no início dos anos 70. Há relatos da existência de um sistema semelhante chamado de "tanque biolítico” que já

havia sido usado em 1910 por Winslow e Phelps. Atualmente, o reator UASB é usado extensivamente para o tratamento de vários tipos de águas residuárias (SEGHEZZO *et al.*, 1998).

De acordo com Chernicharo (2007), o principio de funcionamento do reator UASB consiste na aplicação inicial de quantidade suficiente de lodo anaeróbio, com posterior alimentação em baixa taxa, no modo ascendente – esta etapa é denominada de *start up* ou partida do sistema, sendo uma fase crítica na operação deste tipo de reator. Com o aumento progressivo da taxa de alimentação, ocorre o desenvolvimento de um leito de lodo bastante concentrado (40 a 100 g ST/L) no fundo do reator. Apesar da alta densidade do lodo, pode ocorrer o desenvolvimento de grânulos de lodo com diâmetro variando entre 1 a 5 mm, dependendo das características operacionais do reator, da natureza do lodo de semeadura e das características do efluente a ser tratado.

A manta de lodo, uma zona de crescimento bacteriano mais disperso, desenvolve-se acima do leito de lodo e os sólidos presentes nesta região – com velocidades de sedimentação mais baixas – tendem a ser misturados ao substrato e às partículas presentes no leito de lodo, através do movimento ascendente das bolhas de gás produzidas no processo anaeróbio. A presença destas bolhas permite uma agitação natural no sistema, mas também pode levar ao carreamento de lodo, sendo necessária a instalação de um separador trifásico (gases, sólidos e líquidos) na parte superior do reator para permitir a retenção de grandes quantidades de biomassa, de elevada atividade, e retorno do lodo.

A água residuária a ser tratada é inserida no reator UASB na parte inferior, entra em contato com o leito de lodo, e a matéria orgânica ali presente sofre então uma digestão por micro-organismos anaeróbios, processo explicado anteriormente.

O efluente tratado, gerado no processo, é coletado na porção superior do reator e geralmente precisa de tratamento adicional, a fim de remover a matéria orgânica remanescente, nutrientes e agentes patogênicos. Este pós-tratamento pode ser realizado em sistemas aeróbios convencionais como lagoas de estabilização, plantas de lodos ativados, entre outros (SEGHEZZO *et al.*, 1998).

O esquema do reator com seus principais constituintes é apresentado na Figura 2.6.

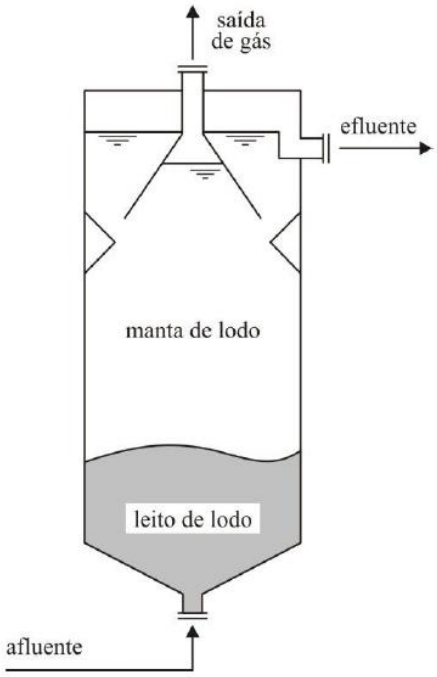


Figura 2.6. Ilustração de um reator UASB (CHERNICHARO, 2007).

2.7 – Tratamento físico-químico e biológico de efluentes da produção de biodiesel

Quando os efluentes da produção de biodiesel são encaminhados para o processo biológico, os elevados teores de óleos e graxas na forma emulsionada, geralmente acima de 1000 mg/L (GRANGEIRO, 2009), podem ocasionar o recobrimento da biota suspensa e a diminuição do seu rendimento (RINZEMA *et al*., 1994). Além disso, a presença de elevados teores de ácidos graxos e glicerina, dentre outras substâncias, confere ao efluente um elevado teor de material em suspensão sob a forma coloidal, aumentando sua turbidez (GRANGEIRO, 2009).

Suehara *et al*. (2005) realizaram um tratamento biológico utilizando *Rhodotorula mucilaginosa* para degradar o óleo e verificaram que este tipo de tratamento foi dificultado devido à complexa composição do efluente, que não é apropriado ao crescimento microbiano, mesmo alterando o pH de 11,0 para 6,8 e suplementando o efluente com diversos nutrientes, como nitrogênio, extrato de levedura, potássio e magnésio. Os experimentos conduzidos por estes pesquisadores demonstraram que quanto maior a concentração de sólidos

presentes no efluente, menor é a taxa de crescimento específica máxima do micro-organismo. Portanto, uma remoção preliminar de óleos e graxas e matéria suspensa se faz necessária antes do tratamento biológico.

Rattanapan *et al.* (2011) avaliaram a eficiência de remoção de óleos e graxas por FAD em Jar test, com policloreto de alumínio, cloreto férrico e sulfato de alumínio hidratado como coagulantes, em águas residuais da produção de biodiesel sem e com pré-tratamento. Para a etapa de acidificação, foi utilizado HCl e H_2SO_4 1N, sob agitação de 30 rpm por 20 min. Em seguida, foi empregada a etapa de coagulação/floculação, sendo as melhores concentrações de cada coagulante avaliadas a 100 rpm por 1 min seguida de 30 rpm por 20 min. A etapa de FAD foi feita em dois grupos de amostras, as somente acidificadas e as acidificadas e coaguladas. A melhor remoção de O&G (85-95%) foi encontrada com sulfato de alumínio hidratado. A eficiência de remoção de DQO com sulfato de alumínio e FAD foi de 20-30% e 40-50% com razão de reciclo de 0,2 e 0,4, respectivamente. Os autores constataram que o pré-tratamento do efluente por acidificação e posterior coagulação pode levar a uma melhor eficiência na FAD.

Siles e colaboradores (2011) testaram a técnica de coagulação/floculação no tratamento de efluente da produção de biodiesel utilizando Jar- test e PAC (policloreto de alumínio) 18% como coagulante. Após a acidificação com H_2SO_4 comercial seguida de coagulação/floculação, a DQO que inicialmente era de aproximadamente 428.000 mg/L foi reduzida em 63% e o pH que inicialmente era próximo de 10,35 e foi ajustado para os testes para 9,26, decaiu para aproximadamente 6,43.

Mesmo após o tratamento por coagulação/floculação, os valores de DQO ainda permanecem bastante elevados, cerca de 158.360 mg/L (SILES *et al.*, 2011) indicando a necessidade de um tratamento biológico para reduzir esses valores. Os mesmos autores avaliaram a remoção de DQO do efluente por tratamento anaeróbio após coagulação/floculação e constataram que a remoção de DQO chegou a 94%.

Estudos anteriores aos conduzidos neste trabalho avaliaram os processos de coagulação/floculação utilizando coagulantes sulfato de alumínio, cloreto férrico e policloreto de alumínio e flotação por ar dissolvido (FAD), sob diferentes condições operacionais. Melhores resultados foram obtidos com

FAD seguida de coagulação/floculação, utilizando sulfato de alumínio a 950 mg/L como coagulante e pressão de 4 bar, com remoções de DQO e Óleos e Graxas de 68% e 84,8%, respectivamente (ARAÚJO, 2011).

Mesmo após o tratamento por FAD seguido de coagulação/floculação com diferentes coagulantes, os valores de DQO ainda permaneceram bastante elevados (em torno de 6000 mg/L) indicando a necessidade de um tratamento biológico para reduzir esses valores (ARAÚJO, 2011). A elevada carga orgânica desses efluentes torna o processo de biodigestão anaeróbia muito mais adequado para seu tratamento, embora esta alternativa ainda seja pouco utilizada nas usinas.

Siles *et al*. (2010), avaliando a combinação de técnicas de pré-tratamento como a acidificação do glicerol e a eletrocoagulação do efluente, ambos originados a partir do processo de produção do biodiesel, com a codigestão anaeróbia destes dois subprodutos pré-tratados, verificaram que a maior parte da DQO removida no tratamento biológico era empregada na produção de metano e o metabolismo microbiano era orientado para a geração deste gás, o que caracteriza este tratamento como potencial gerador de energia que pode ser utilizada na própria usina de produção.

2.8 – Tratamento biológico anaeróbio de efluentes com alto teor de metanol

Paulo e colaboradores (2003) avaliaram a conversão anaeróbia de metanol, um dos principais constituintes do efluente da produção de biodiesel, em reator UASB operado sob condições termofílicas (55ºC). Foram avaliados meios não tamponados, com pH próximo a 4 e meios tamponados com fosfato e pH próximo a 6,4, ambos sem adição de bicarbonato. Durante os 160 d de regime contínuo, sob COV de 6 g.DQO/L.d e pH em torno de 4, somente 5% da carga de metanol aplicada foi consumida, sem detecção de metano. Nestas condições, os autores averiguaram que as metanogênicas hidrogenotróficas são mais resistentes que as acetoclásticas. Em um segundo reator UASB, os pesquisadores testaram o aumento da COV para 25,4 g.DQO/L.d em pH neutro (obtido pela adição de fosfatos), sem adição de bicarbonato e observaram que a assimilação de DQO associada ao metanol era limitada a 9,5 gDQO/L.d e

que o consórcio perdia a capacidade de converter acetato a metano, devido a uma inibição por fosfato. Os pesquisadores concluíram que a competição entre as metanogênicas e as homoacetogênicas parecia estar igualada.

Em 2004, Paulo e colaboradores avaliaram dois reatores UASB operados por 80 d a 55ºC com metanol como substrato, COV de 20 g DQO/L.d e TRH de 10 h. Um UASB foi operado sem adição de sulfato (controle do reator-R1), enquanto que o segundo foi alimentado com sulfato a uma razão de DQO:SO_4^{2-} de 10:1 (reator alimentado por sulfato-R2), proporcionando uma concentração de sulfato no afluente de 0,6 g/L. Para ambos os reatores, o processo de metanogênese foi dominante, sem nenhuma acumulação considerável de acetato. A remoção do metanol apresentou médias de 93% e 83% em R1 e R2, respectivamente. A via de conversão do metanol para ambos os consórcios foi investigada por medição do destino de carbono na presença e ausência de inibidores específicos. Em ambos os consórcios, cerca de 70% do metanol foi sintroficamente convertido em metano e/ou sulfeto, por meio dos intermediários H_2/CO_2. O estudo indica que, embora o acetato não represente um importante intermediário, o sistema é suscetível à sua acumulação, o que foi constatado na operação do reator UASB deste estudo.

Florencio et al. (1993) reportaram que os micro-organismos envolvidos na degradação anaeróbia de metanol são específicos, não sendo os mesmos encontrados na degradação da maior parte das águas residuais industriais, nos quais as arqueas metanogênicas acetoclásticas desempenham um papel crítico no fim da cadeia alimentar.

Os autores ainda destacam que a possível conversão do metanol por diversas vias, como é mostrado na Figura 2.7, diferencia os efluentes com conteúdo metanólico dos demais. A conversão do metanol pode ser direta a metano por metanogênicas metilotróficas ou a acetato pelas acetogênicas, podendo ainda este acetato ser convertido em metano por metanogênicas acetoclásticas. Outra possibilidade é a conversão de metanol a H_2 e CO_2.

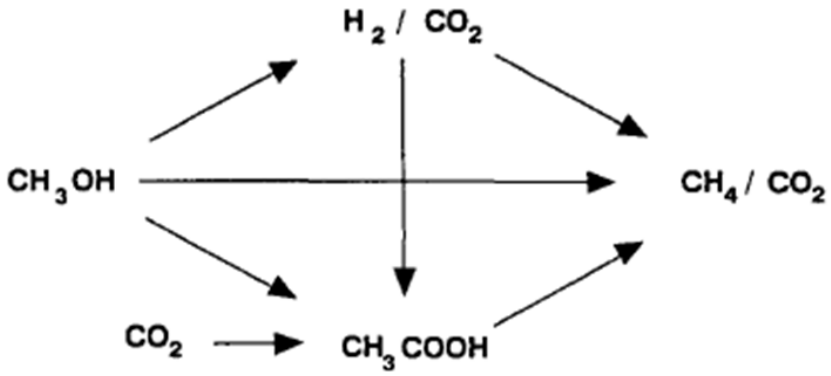


Figura 2.7. Possíveis rotas metabólicas para formação de metano a partir de metanol (FLORENCIO et al., 1993).

A formação de acetato é limitada pela disponibilidade de carbono inorgânico. Em uma cultura mista anaeróbia, a produção máxima de acetato será igual a 50% da produção de metano, se nenhum carbono inorgânico exógeno (por exemplo, HCO_3^-) for adicionado. Ou seja, dependendo da disponibilidade de carbono inorgânico presente no meio, pode ocorrer a formação prioritária de ácido acético ao invés de metano, o que diminuiria o rendimento da produção desde gás (FLORENCIO *et al*., 1993).

Em pH superior a 6,0 e com adição de elementos traços, a digestão anaeróbia de meios contendo metanol é afetada negativamente, tendo uma formação majoritária de ácidos graxos voláteis, ao invés da conversão direta de metanol a metano. Isto se deve à grande formação e acúmulo de ácidos graxos voláteis, que fazem com que ocorra redução do pH do meio (LETTINGA *et al*., 1979), afetando a sobrevivência dos micro-organismos presentes, cujo pH ótimo para atuação na degradação anaeróbia é na faixa de 6,6 a 7,4 (CHERNICHARO, 2007).

Segundo Chernicharo (2007), a manutenção de um pH ácido pode não influenciar muito as bactérias acidogênicas, quando comparadas às arqueas metanogênicas, já que estas são menos sensíveis ao pH do meio. Isto poderia implicar em uma baixa formação de metano e alta concentração de ácidos no meio, tornando o meio tóxico para as metanogênicas e podendo afetar, por exemplo, as enzimas que atuam no processo de digestão anaeróbia.

Capítulo 3: Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no período de 2013 a 2014 no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LTA) da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Os equipamentos utilizados serão descritos no decorrer deste capítulo, bem como as metodologias empregadas, que são resumidas no esquema da Figura 3.1. Os reagentes químicos utilizados foram de grau P.A. (pureza absoluta).

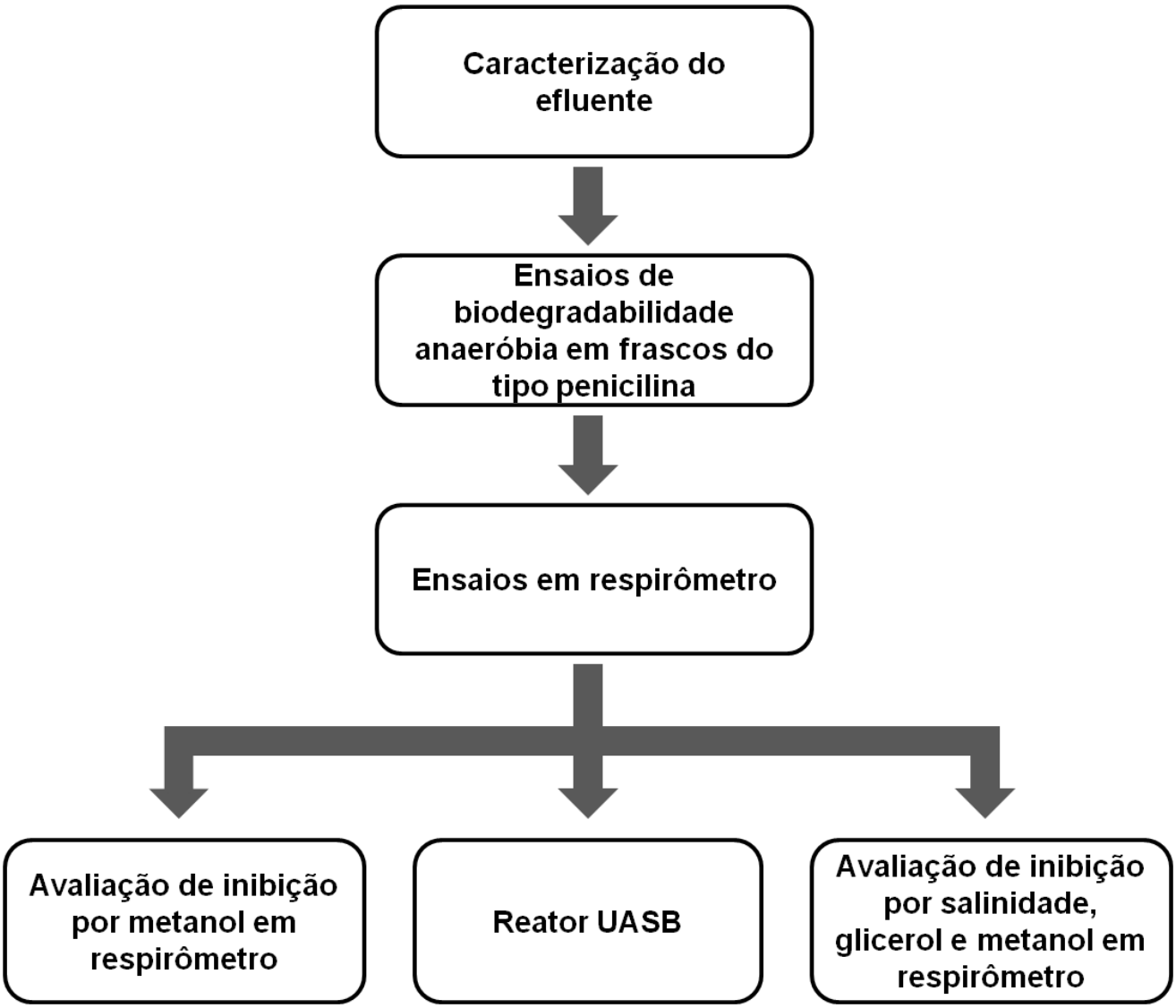


Figura 3.1. Ilustração das etapas metodológicas executadas durante o estudo.

3.1 – Caracterização do efluente

Cinco amostras do efluente gerado na Usina de Candeias (Salvador, Bahia) foram coletadas após o separador água/óleo (SAO) da planta de tratamento de efluentes, e enviadas ao Laboratório de Tratamento e Reuso de Efluentes (LabTare – EQ/UFRJ). Assim que recebidas, uma alíquota era separada para caracterização do efluente bruto (após SAO) e o restante empregado no tratamento físico-químico.

O efluente do processo físico-químico, compondo ao todo 12 amostras, era enviado ao Laboratório de Tecnologia Ambiental (LTA – EQ/UFRJ) onde também era caracterizado e armazenado sob refrigeração a 4^0C. No momento de sua utilização, alíquotas (com volume necessário para determinado experimento) eram retiradas da refrigeração até atingir temperatura ambiente.

A caracterização do efluente foi realizada com métodos físico-químicos conduzidos sob condições padrão, segundo o Standard Methods (APHA, 2005), a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2012), Ripley *et al*. (1986) e British Standards (2003) e estão listados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Parâmetros e metodologias de análise empregados na caracterização do efluente.

Parâmetro	Método
pH	4500-H+B (APHA, 2005)
Demanda química de oxigênio (DQO)	5220 D (APHA, 2005)
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5)	5210-B (APHA, 2005)
Nitrogênio total	4500-N B (APHA, 2005)
N amoniacal	4500-NH_3 D (APHA, 2005)
o-fosfatos	4500-P C (APHA, 2005)
Óleos e graxas (O&G)	5520-D (APHA, 2005)
Sólidos	2540-B, D, E (APHA, 2005)
Sólidos sedimentáveis	2540-F (APHA, 2005)
Sódio	AAS (BS EN 14109:2003)
Turbidez	2130-B (APHA, 2005)
Ácidos graxos voláteis	Ripley *et al*. (1986)
Cloretos	4500-CT B (APHA, 2005)
Metanol	CG (ABNT NBR 15343:2012)

3.2 – Tratamento físico-químico do efluente

O tratamento físico-químico do efluente foi conduzido no Laboratório de Tratamento e Reuso de Efluentes (LabTare) da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Este tratamento foi necessário a fim de adequar o efluente ao tratamento biológico anaeróbio e consistiu de uma etapa de coagulação/floculação para remoção de O&G e sólidos suspensos (colóides). As condições adotadas para o tratamento físico-químico foram as seguintes (OLIVEIRA, 2013):

- coagulante: $FeCl_3.6H_2O$ 150 - 300 mg/L
- ajuste de pH para 4,0 com hidróxido de sódio 6N
- coagulação: 140 rpm/ 1 min
- floculação: 40 rpm/ 15 min
- sedimentação: 20 min

O sobrenadante do tratamento físico-químico era então enviado ao Laboratório de Tecnologia Ambiental e armazenado sob refrigeração (4ºC) até sua utilização nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

3.3 – Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em frascos penicilina – efeito da suplementação

Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia foram conduzidos em frascos tipo penicilina com efluente após tratamento físico-químico diluído (baixa concentração de matéria orgânica) sob diferentes condições de suplementação com macro e micronutrientes.

A digestão anaeróbia foi avaliada em ensaios em batelada em frascos tipo penicilina de 100 mL com volume útil de 90 mL, composto de lodo anaeróbio (proveniente de reator UASB - *upflow anaerobic sludge blanket* em operação em indústria de abate de aves) e efluente diluído. O efluente foi diluído para uma DQO inicial em torno de 3000 mg/L e lodo foi adicionado aos frascos para uma relação DQO/SVT inicial de 1:1.

O lodo apresentava concentração de Sólidos Voláteis Totais de 18000 mg/L e atividade metanogênica específica (AME) de 0,173 g DQO_{CH4}/g SVS.d, determinada por Damasceno (2013), de acordo com procedimento descrito por Chernicharo (2007), sendo compatível com valores citados na literatura: 0,17 –

0,23 g DQO_{CH4}/g SVS.d (BARBOSA, 1988 *apud* DAMASCENO, 2013) e 0,10 – 0,25 g DQO_{CH4}/g SVS.d (SCHELLINKHOUT *et al*., 1985 *apud* DAMASCENO, 2013), e indicando que o lodo apresentava boa atividade metanogênica e poderia ser usado nos testes de biodegradabilidade anaeróbia e tratamento contínuo com biorreatores de bancada.

A caracterização do efluente após tratamento físico-químico indicou elevada deficiência de nitrogênio e fósforo (relações DQO:N: = 71.775:5 e DQO:P = 188.409:1), tendo-se avaliado a suplementação do meio com nitrogênio (NH_4Cl ou ureia) e fósforo (KH_2PO_4) para relações ideais DQO:N = 350:5: e DQO:P = 350:1 (CHERNICHARO, 2007).

Avaliou-se também a suplementação com soluções de macro e micronutrientes propostas por Chernicharo (2007), cuja composição é apresentada na Tabela 3.2. O volume de solução de micronutrientes adicionado foi calculado com base na proporção das soluções de macro e micronutrientes propostas por Chernicharo (1 mL da solução micro/L da solução macro).

Tabela 3.2. Solução de macro e micronutrientes (CHERNICHARO, 2007).

Solução	Nutriente	Concentração (mg/L)
Macronutrientes	$NaHCO_3$	1000
	KH_2PO_4	650
	K_2HPO_4	150
	NH_4Cl	500
	$MgCl_2$	100
	$CaCl_2.2H_2O$	100
	$Na_2S.7H_2O$	50
	Extrato de levedura	50
Micronutrientes	$FeCl_3.6H_2O$	2,0
	$ZnCl_2$	0,05
	$CuCl_2.2H_2O$	0,03
	$MnCl_2.4H_2O$	0,5
	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	0,05
	$AlCl_3.6H_2O$	0,05
	$CoCl_2.6H_2O$	2,0
	$NiCl_2.6H_2O$	0,05
	H_3BO_3	0,01
	HCl	1,0 ml/L

O pH do meio foi ajustado para 7,0 com adição de bicarbonato de sódio, antes da mistura com o lodo. Os frascos, após vedação com batoques de

borracha e lacres de alumínio, foram incubados em sala climatizada com temperatura controlada a 30ºC até estabilização da produção de biogás.

Cada condição de suplementação (Tabela 3.3) foi avaliada em cinco réplicas, sendo a biodegradabilidade avaliada através da medida de eficiência de remoção de DQO, produção de biogás (realizada por deslocamento do êmbolo de seringas plásticas graduadas conectadas aos frascos – Figura 3.2) e porcentagem de metano.

Alíquotas para determinação da DQO inicial foram tomadas antes do contato com o lodo anaeróbio. A DQO solúvel final (obtida através da filtração do meio sobrenadante em membrana de celulose com tamanho de poro de 0,45 µm) foi determinada no último dia do ensaio, após coleta do biogás em ampolas de vidro (Figura 3.2) para análise por cromatografia gasosa.

Tabela 3.3. Condições de suplementação avaliadas.

Condição	Suplementação
1 (Controle)	Sem
2	Ureia + KH_2PO_4
3	NH_4Cl + KH_2PO_4
4	Ureia + KH_2PO_4 + Sol. de micronutrientes
5	NH_4Cl + KH_2PO_4 + Sol. de micronutrientes
6	Sol. de macronutrientes + Sol. de micronutrientes

Figura 3.2. À esquerda, frascos de penicilina (com seringas acopladas) utilizados em ensaios de biodegradabilidade anaeróbia. À direita, ampolas de vidro utilizadas para armazenamento de biogás coletado nos frascos e posterior análise cromatográfica.

3.4 – Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em respirômetro – efeito da suplementação

Para avaliar a melhor condição de suplementação na produção de metano, foram realizados experimentos em respirômetro BIOPROCESS CONTROL AMPTS II (Figura 3.3). Os testes foram conduzidos em frascos de vidro com volume útil de 400 mL, contendo misturas de lodo anaeróbio (proveniente de reator UASB - *upflow anaerobic sludge blanket* em operação em indústria de abate de aves, com SVT = 26.130 mg/L) e efluente diluído (DQO = 3000 mg/L ou 12.000 mg/L) para uma relação DQO:SVT inicial de 1:1.

A mistura foi suplementada conforme condições 1 a 5 apresentadas na Tabela 3.3. Os frascos foram imersos em banho-maria com temperatura controlada a 30ºC e agitação intermitente. O biogás produzido era conduzido a frascos de absorção de gases ácidos, contendo solução de NaOH 0,1N e fenolftaleína, e o volume de metano medido diretamente nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP).

Figura 3.3. Sistema experimental com o respirômetro.

Dois experimentos foram realizados com DQO inicial em torno de 3000 mg/L, no primeiro foram avaliadas triplicatas das condições 1 a 5. A produção de metano neste experimento foi monitorada até 12 dias. Um segundo experimento foi conduzido com a mesma DQO inicial e em 5 réplicas das condições 1, 3 e 6, sendo a produção de metano neste experimento monitorada até 8 dias.

Um terceiro experimento foi realizado com DQO inicial em torno de 12.000 mg/L e lodo anaeróbio contendo 28.160 mg SVT/L a fim de avaliar o efeito da suplementação sob uma maior concentração de substrato e da adaptação do lodo. Foram avaliadas triplicatas das condições 1 e 5 com lodo não adaptado e adaptado (do experimento anterior). A produção de metano neste experimento foi monitorada por 8 dias.

3.5 – Avaliação de inibição por metanol em respirômetro

Para avaliar o efeito do metanol na produção de metano, foram realizados novos experimentos em respirômetro. Os ensaios foram realizados em frascos de vidro com volume útil de 400 mL, contendo misturas de lodo anaeróbio (proveniente de reator UASB - *upflow anaerobic sludge blanket* em operação em indústria de abate de aves, com SVT = 31.940 mg/L) e meio sintético diluído para uma relação DQO:SVT inicial de 1:1.

O meio basal, adaptado de Florencio et al. (1993), era composto por NH_4Cl (560 mg/L), KH_2PO_4 (660 mg/L), $MgSO_4$ (200 mg/L), $CaCl_2$ (20 mg/L) e solução de micronutrientes proposta por Chernicharo (2007) (2mL/L – cuja composição é apresentada na Tabela 3.2), além de soluções de ácido acético e metanol (com DQO variando de 3000 a 6000 mg/L, de acordo com cada experimento). A seguir é apresentado um resumo dos cálculos realizados para obtenção das concentrações de metanol e DQO iniciais desejadas no primeiro experimento em respirômetro.

Após preparo das soluções de ácido acético e metanol em meio basal, a DQO de ambas era medida e os valores obtidos usados para o cálculo do volume de lodo, considerando que a mesma concentração de SVT era necessária para se manter a relação DQO:SVT de 1:1. Assim, como no primeiro experimento a DQO das soluções de ácido acético e metanol foram 2687 mg/L e 2770 mg/L, respectivamente, um volume de lodo de 35 mL e volumes de meio de 365 mL foram empregados em cada frasco.

A demanda teórica de oxigênio (DQO_{Th}) das soluções de ácido acético e metanol foram calculadas, conforme as reações 1 e 2 a seguir. Considerou-se que estas substâncias eram completamente oxidadas na determinação da DQO e que, portanto, a DQO_{Th} se igualava à DQO.

$$CH_3COOH + 2O_2 \rightarrow 2CO_2 + 2H_2O \quad (1)$$

60 64

DQO_{Th} = 64 mg/60 mg ácido acético

Para uma solução de ácido acético com DQO 3000 mg/L, uma solução de 2,8 g ácido acético p.a./L foi preparada.

$$CH_3OH + 3/2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O \quad (2)$$

32 48

DQO_{Th} = 48 mg/32 mg metanol

Para uma solução de metanol com DQO 3000 mg/L, uma solução de 2,0 g metanol p.a./L foi preparada.

Para cada concentração de metanol avaliada, calculava-se a DQO correspondente (com base no valor obtido para a solução de metanol) e completava-se o valor inicial desejado de DQO com a solução de ácido acético. Por exemplo, uma concentração de 500 mg/L de metanol no meio era obtida adicionando-se 182,5 mg ou 91,25 mL da solução de metanol ao frasco. Esta concentração de metanol contribuiria para uma DQO de 500 x 48/32 = 750 mg/L no meio. Para completar uma DQO inicial de 3000 mg/L, eram necessários 2250 mg/L ou 821,25 mg (= 2250 x 365/1000) por frasco de DQO da solução de ácido acético, sendo adicionados 273,75 mL (= 825 x 1000/3000) desta solução ao frasco. Para facilitar a medição dos volumes das soluções, os volumes empregados foram de 90 e 275 mL para a solução de metanol e de ácido acético, respectivamente, e as concentrações de metanol no meio recalculadas, conforme apresentado na Tabela 3.4.

O pH das soluções era ajustado com $NaHCO_3$ para valores iniciais em torno de 7,0. Após adição do lodo e do meio sintético, os frascos eram imersos em banho-maria com temperatura controlada a 30ºC e agitação intermitente. O biogás gerado era conduzido de forma semelhante à apresentada no item 3.4 e o volume de metano também medido nas CNTP.

O primeiro experimento foi realizado com DQO inicial em torno de 3000 mg/L, sendo avaliadas triplicatas de um controle (sem metanol) e quatro diferentes concentrações de metanol (até cerca de 2000 mg/L), conforme Tabela 3.4. O monitoramento da produção de metano foi realizado por 7 dias.

Tabela 3.4. Concentrações de metanol avaliadas no primeiro experimento em respirômetro (DQO inicial = 3000 mg/L).

Condição	Metanol no meio (mg/L)	Solução metanol (mL)	Solução HAc (mL)	Lodo (mL)
1 (controle)	0	-	365	35
2	493	90	275	35
3	986	180	185	35
4	1479	270	95	35
5	2000	365	-	35

Solução HAc – 2,8 g/L; Solução metanol - 2,0 g/L; lodo com 31940 mg SVT/L.

Para avaliar o efeito de maiores concentrações de metanol (até cerca de 4000 mg/L), um segundo experimento foi realizado com DQO teórica inicial de 6000 mg/L. O valor da DQO inicial teve de ser aumentado para se atingir maiores concentrações de metanol nos 400 mL do frasco. O experimento foi encerrado no oitavo dia. Foram avaliadas triplicatas do Controle (sem metanol) e mais quatro concentrações de metanol, conforme Tabela 3.5.

Tabela 3.5. Concentrações de metanol avaliadas no segundo experimento em respirômetro (DQO inicial = 6000 mg/L).

Condição	Metanol no meio (mg/L)	Solução metanol (mL)	Solução HAc (mL)	Lodo (mL)	H_2O dest. (mL)
1 (controle)	0	--	320	68	12
2	2500	200	120	68	12
3	3000	240	80	68	12
4	3500	280	40	68	12
5	4000	320	--	68	12

Solução HAc – 5,6 g/L; Solução metanol - 4,0 g/L; lodo com 31940 mg SVT/L.

Como os frascos do respirômetro continham um volume útil de 400 mL e pelos cálculos, considerando os valores de DQO inicial e concentrações de metanol (mg/L) previstas para os testes, obteve-se um valor máximo de 320 mL para as soluções de metanol e ácido acético, para alcançar o volume final

restariam 80 mL a serem preenchidos com lodo. Contudo, considerando a DQO inicial das soluções preparadas e o valor de SVT do lodo, o volume de lodo necessário para cada frasco seria de 68 mL de lodo, aproximadamente, sendo necessário completar os 80 mL com 12 mL de água destilada.

Um terceiro experimento foi realizado com DQO inicial em torno de 6000 mg/L e lodo anaeróbio adaptado (proveniente de experimento anterior, submetido à mesma concentração de metanol – 0 no Controle e 4000 mg/L), contendo 31940 mg SVT/L, e lodo novo, contendo 21999 mg SVT/L, a fim de avaliar o efeito da concentração de metanol sob uma maior concentração de substrato e da adaptação do lodo.

Foram avaliadas triplicatas do controle (sem metanol) e da concentração de 4000 mg/L de metanol, conforme descrito na Tabela 3.6, com lodo não adaptado e adaptado (do experimento anterior). A produção de metano neste experimento foi monitorada por 11 dias.

Tabela 3.6. Concentrações de metanol e características do lodo, avaliadas no terceiro experimento em respirômetro (DQO inicial = 6000 mg/L).

Condição	Característica do lodo	Metanol no meio (mg/L)	Solução metanol (mL)	Solução HAc (mL)	Lodo (mL)
1	Adaptado	0	-	320	51
2	Novo	0	-	320	74
3	Adaptado	4000	320	-	63
4	Novo	4000	320	-	92

Solução HAc – 5,6 g/L; Solução metanol - 4,0 g/L; lodo adaptado com 31940 mg SVT/L e lodo novo com 21999 mg SVT/L.

3.6 – Avaliação de inibição por salinidade, glicerol e metanol em respirômetro

Como indicado no estudo sobre composição do efluente gerado na produção e purificação do biodiesel, este apresenta metanol, glicerol e sais em sua composição. Para avaliar os possíveis efeitos gerados por estes compostos no reator anaeróbio e o impacto gerado na produção de metano,

foram realizados ensaios com diferentes concentrações de sódio, metanol e glicerol em testes em batelada em respirômetro.

Os ensaios foram conduzidos conforme itens 3.4 e 3.5, com o mesmo lodo utilizado no último experimento do item 3.5 (contendo 21.999 mg SVT/L), relação DQO:SVT inicial de 1:1, valores iniciais de DQO em torno de 4.000 mg/L para o meio sintético, composto por sacarose e concentrações variadas de metanol, sódio e glicerol, conforme Tabela 3.7.

As seguintes condições foram avaliadas, em duplicata:

1 – Controle – solução de sacarose suplementada com nutrientes. O ácido acético foi substituído por sacarose a fim de evitar uma acidez inicial elevada e uma lenta metabolização do substrato, observada na condição Controle dos experimentos anteriores.

2 – Meio com sacarose e 200 mg Na/L (concentração de sódio obtida com diluição do efluente pós tratamento físico-químico para DQO 4000 mg/L).

3 - Meio com sacarose e 2000 mg Na/L (concentração de sódio 10 vezes maior que a obtida com diluição do efluente pós tratamento físico-químico para DQO 4000 mg/L).

4 - Meio com sacarose e 5000 mg Na/L (concentração de sódio 25 vezes maior que a obtida com diluição do efluente pós tratamento físico-químico para DQO 4000 mg/L).

5 – Meio com metanol na concentração tolerável (2000 mg/L ou DQO = 3000 mg/L), com concentração de sódio obtida com diluição do efluente (200 mg/L) e baixa concentração de glicerol (985 mg/L ou 30% DQO).

6 – Meio com metanol na concentração tolerável (2000 mg/L), concentração de sódio inibitória (5000 mg/L – (CHERNICHARO, 2007)) e baixa concentração de glicerol (985 mg/L ou 30% DQO).

7 – Meio com metanol em concentração tolerável (267 mg/L), concentração de sódio tolerável, obtida com diluição do efluente (200 mg/L), e alta concentração de glicerol (2957 mg/L ou 90% DQO).

Todas as condições foram suplementadas com NH_4Cl, KH_2PO_4, mantendo a relação DQO:N:P = 350:5:1, e micronutrientes (1mL/L, conforme CHERNICHARO, 2007). O pH foi ajustado para 7,0 com $NaHCO_3$ e a produção de metano monitorada por até 14 dias.

Tabela 3.7. Composição dos meios sintéticos contendo diferentes concentrações de sódio, glicerol e metanol (mg/L) e DQO inicial de 4.000 mg/L. As quantidades estão calculadas por frasco (400 mL).

Condição	Concentrações no meio			Volumes nos frascos				
	Sódio (mg/L)	Glicerol (mg/L)	Metanol (mg/L)	Sacarose (mL)	Metanol (mL)	Glicerol (mL)	NaCl (mL)	Lodo (mL)
1 - Controle	0	0	0	0,91	0	0	0	88,0
2	200	0	0	0,91	--	--	0,09	87,5
3	2000	0	0	0,91	--	--	0,94	86,5
4	5000	0	0	0,91	--	--	2,36	87,5
5	200	985	2000	--	0,94	0,31	0,09	85,0
6	5000	985	2000	--	0,94	0,31	2,36	80,5
7	200	2957	267	--	0,13	0,94	0,09	67,0

Lodo com 21999 mg SVT/L.
Sacarose para DQO 4000 mg/L = 3562,5 mg/L ou 1425 mg/400 mL
Metanol para DQO 2800 mg/L = 746,7 mg/400 mL, para DQO= 400 mg/L = 106,7 mg/400 mL
Glicerol para DQO 3600 mg/L = 1183 mg/400 mL, para DQO= 1200 mg/L = 394,3 mg/400 mL

3.7 – Experimentos conduzidos em reator UASB

Um reator do tipo UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*), de volume útil de 6,0 litros, foi construído em acrílico com acessórios em inox e teflon, sendo constituído de um tanque cilíndrico, com 13 cm de diâmetro e 37 cm de altura (Figura 3.4). A alimentação foi introduzida na base do reator (ponto A7 na Figura 3.4) através de bomba peristáltica. Para melhor distribuição da alimentação, a base do reator foi preenchida com uma camada de cerca de 2 cm de peças plásticas usadas como meio suporte em reatores de biomassa fixa.

O topo do reator é equipado com um separador sólido-líquido-gás constituído de quatro placas inclinadas a 30º e fixadas a um eixo central com um espaçamento de 1,5 cm uma da outra. As placas são dotadas de uma abertura, posicionada alternadamente no eixo para encaminhar o fluxo de efluente em diferentes direções, separando as bolhas de gás do lodo e efluente. Cinco pontos de amostragem (A2, A3, A4, A5 e A6 na Figura 3.4) estão localizados ao longo da altura do reator para retirada de amostras e quantificação da biomassa. A saída de efluente se dá após passagem por um tubo em U invertido (ponto A1 na Figura 3.4) para formar um selo hídrico e evitar perdas de biogás.

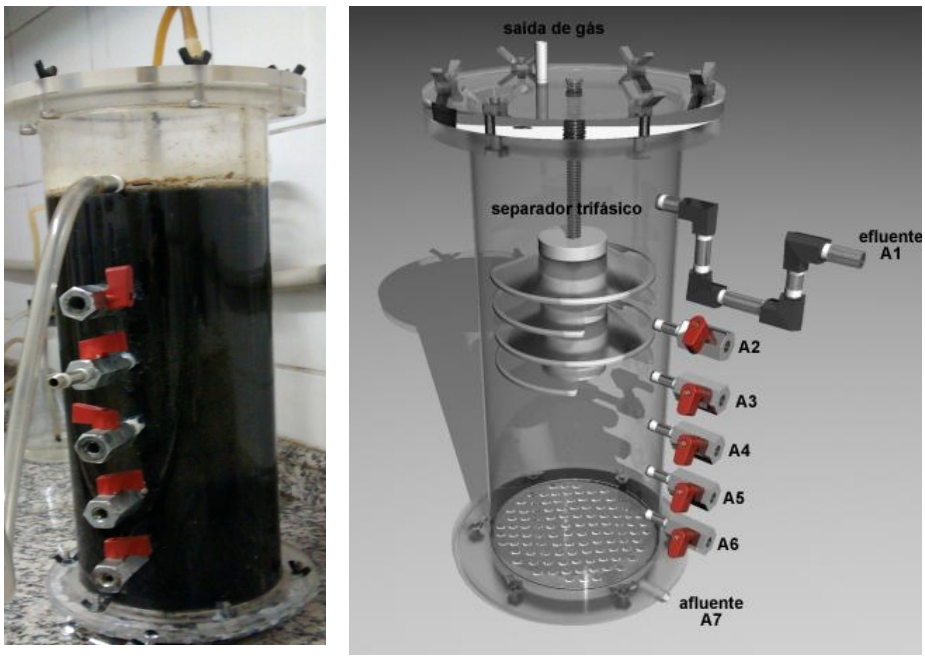


Figura 3.4. À esquerda, reator UASB em operação durante o estudo e, à direita, desenho esquemático do reator com destaque para os principais componentes (VALENTE, 2009).

A saída de gás do biorreator foi ligada a um medidor de biogás da marca Ritter (Milligascounter). Amostras do biogás foram coletadas para determinação da composição deste por cromatografia gasosa (Figura 3.5).

Figura 3.5. À esquerda, sistema para medição de biogás da marca Ritter. À direita, bolsa coletora de biogás para quantificação por cromatografia gasosa.

O reator foi instalado e operado em sala climatizada a 30ºC. O lodo anaeróbio utilizado como inóculo foi coletado de um reator UASB em escala industrial, e apresentava-se na forma granular e com concentração de SVT de 26.130 mg/L. Cerca de 2 L deste lodo (1/3 do volume útil) foram transferidos para o reator e o restante do volume completado com efluente diluído suplementado. O reator foi deixado em batelada por 7 dias para ambientação do lodo à temperatura da sala climatizada, sendo em seguida iniciada a alimentação contínua com efluente diluído para uma DQO inicial de 10.000 mg/L e suplementado com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P de 350:5:1 e solução de micronutrientes (1 mL/L).

Os parâmetros de monitoramento do reator foram: temperatura, pH, vazão, demanda química de oxigênio total e solúvel, ácidos voláteis totais, alcalinidade total, volume e composição de biogás (APHA, 2005), de acordo com a Tabela 3.8. Cabe ressaltar que a DQO total e solúvel na alimentação do reator apresentavam os mesmos valores, pois todos os sólidos suspensos do efluente eram removidos no tratamento físico-químico anterior.

Tabela 3.8. Variáveis analisadas no monitoramento do reator UASB, com seus respectivos locais e periodicidade de amostragem.

Parâmetro	Periodicidade	Local
Temperatura	Diária	Sala/Reator
Vazão	Diária	Saída do reator
Produção de biogás	Diária	Saída de gás do reator
pH	Diária	Entrada e saída do reator
DQO total	3 vezes/ semana	Entrada e saída do reator
DQO solúvel	3 vezes/ semana	Saída do reator
Ácidos Voláteis Totais	semanal	Saída do reator
Alcalinidade Total	semanal	Saída do reator
Percentual de metano	Final de regime	Biogás
Perfil de Sólidos	semanal	Saída do reator

O reator operou 7 dias em batelada, seguidos de 291 dias sob regime contínuo, divididos em 5 regimes. Valores aproximados de carga orgânica volumétrica (COV) em kg/m^3.dia, tempo de retenção hidráulica (TRH) em dias, DQO de alimentação em mg/L e tempo de operação em dias, podem ser visualizados na Tabela 3.9.

Tabela 3.9. Parâmetros observados ao longo dos 291 dias de operação do reator UASB em regime contínuo.

Regime	COV (kg/m^3.d)	DQO aproximada (mg/L)	TRH (dias)	Duração (dias)
1	4,54	10000	2,3	32
2	1,88	5000	2,6	53
3	2,52	6500	2,6	104
4	1,53	4000	2,6	54
5	0,63	2000	2,9	48

3.8 - Métodos analíticos

A seguir são descritos métodos cuja metodologia não seguiu procedimentos do Standard Methods. Estes métodos foram empregados na caracterização do efluente e no monitoramento do reator UASB.

3.8.1 – Determinação da temperatura

A leitura da temperatura da sala climatizada era feita diariamente no painel digital do equipamento de controle de temperatura. Além disto, a temperatura do interior do reator era medida por termômetro de mercúrio que permanecia dentro da sala climatizada. A temperatura da saída do reator também era monitorada pelo método 2550-B (APHA, 2005).

3.8.2 - Determinação de metanol

A quantificação do metanol foi realizada por cromatografia gasosa empregando o método de padrão interno, utilizando-se um cromatógrafo a gás da Shimadzu, modelo GC 17-A e o software Class GC-10.

Para as análises cromatográficas foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida, com fase estacionária 100 % metil silicone e dimensões 30m x 0,32 mm x 3 micrômetros. Tanto a seleção da coluna de cromatografia quanto o programa de análise foram baseados nas especificações da metodologia ABNT NBR 15343:2012, para a quantificação de metanol no biodiesel.

Porém, foram realizadas algumas modificações desta metodologia, considerando que o efluente da produção do biodiesel apresentava características polares atribuídas à sua matriz aquosa, sendo significativamente diferente das características apresentadas na matriz apolar do biodiesel.

Portanto, foi necessário mudar tanto o programa de temperatura de análise, quanto o padrão interno e o solvente propostos na metodologia da ABNT, visando obter melhores resultados na quantificação do metanol na matriz aquosa e reduzir o tempo total de análise.

Inicialmente, utilizou-se como padrão interno o terc-butanol, como referenciado na metodologia da ABNT, e como matriz de análise se usou água.

Porém, surgiram problemas no decorrer da quantificação do metanol na matriz aquosa do efluente, tais como a sobreposição de picos com o metanol e a eluição do terc-butanol em diferentes tempos de retenção.

Nas Figuras 3.6 e 3.7 são apresentados os cromatogramas obtidos com terc-butanol e acetonitrila, respectivamente, como padrões internos.

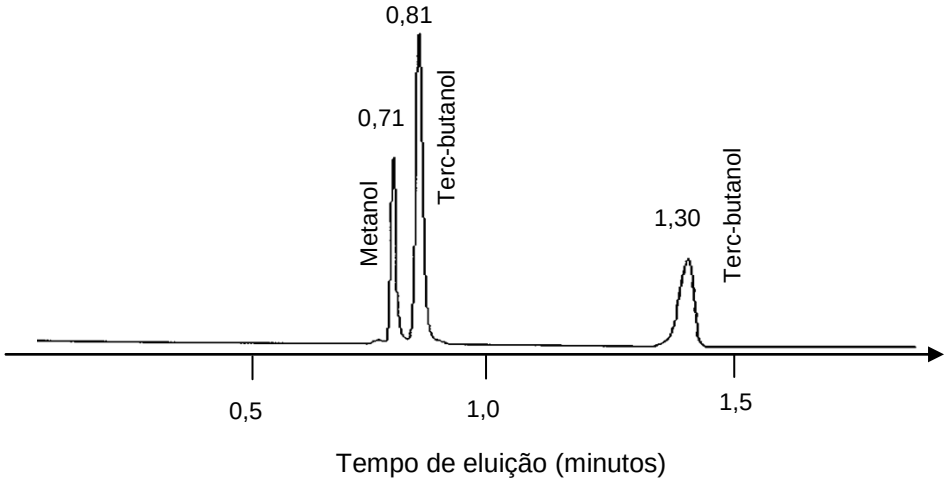


Figura 3.6. Cromatograma para dosagem de metanol no efluente com terc-butanol como padrão interno. Acima de cada pico são indicados os tempos de eluição.

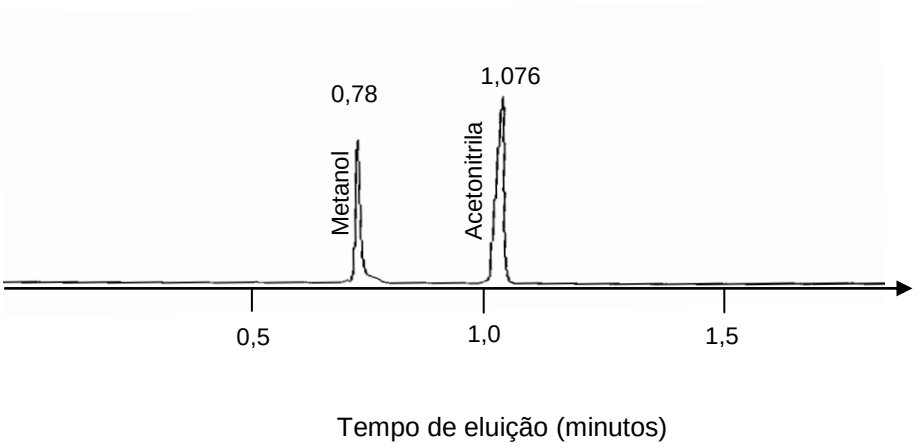


Figura 3.7. Cromatograma para dosagem de metanol no efluente com acetonitrila como padrão interno. Acima de cada pico são indicados os tempos de eluição.

Na Figura 3.6 identificou-se o surgimento de um pico com tempo de retenção de 0,71 minutos para o metanol e dois picos com tempos de retenção de 0,81 e 1,30 minutos para o terc-butanol. Já na Figura 3.7 se apresentam dois picos distintos, sendo o da esquerda, com tempo de eluição de 0,78 minutos, o metanol e o da direita, com 1,076 minutos, a acetonitrila. Após a realização de testes, o padrão interno selecionado, pelas suas características de alta solubilidade, tanto em fase aquosa quanto no metanol, foi a acetonitrila.

O programa de temperatura usado nas análises cromatográficas se apresenta na Tabela 3.10, este foi basicamente o mesmo referenciado na metodologia da ABNT, à exceção do tempo de aquecimento final da coluna a 260ºC por 50 min, que foi descartado porque não se identificaram sinais de eluição de compostos de alta temperatura no efluente, tornando desnecessário o aquecimento prolongado.

Tabela 3.10. Parâmetros e valores utilizados na programação do cromatógrafo para quantificação do metanol no efluente da produção de biodiesel.

Parâmetros	Valores
Temperatura inicial da coluna	50^0C
Temperatura final da coluna	260^0C
Tempo de aquecimento da temperatura inicial à final	6 minutos
Taxa de aquecimento da coluna	20^0C/minuto
Temperatura do detector FID	250^0C
Temperatura do injetor	250^0C
Pressão na coluna	100 Pa

A quantificação do metanol foi realizada através de uma curva de calibração feita com soluções padrão produzidas com diferentes volumes de água, metanol e acetonitrila grau analítico. As quantidades usadas para cada um dos compostos descritos na construção da curva de calibração são apresentadas na Tabela 3.11. A curva de calibração pode ser visualizada no Anexo A1.

Cada uma das soluções empregadas foi analisada em triplicata e a equação da curva foi obtida por regressão linear através do método dos mínimos quadrados. Para conferir a confiabilidade da curva de calibração

obtida, analisou-se uma amostra de concentração conhecida de metanol, comparando o valor gerado pela curva e o teórico da amostra.

Tabela 3.11. Volumes utilizados para construção da curva de calibração e para determinação de metanol no efluente estudado.

Concentração (%v/v)	Massa de Metanol (g)	Masssa de acetonitrila (g)	Volume metanol (mL)	Volume acetonitrila (mL)	Volume padrão (mL)	Relação g MeOH/ g acetonitrila
0,06%	0,25	2,50	0,32	3,21	500,00	0,10
0,13%	0,51	2,50	0,64	3,21	500,00	0,20
0,26%	0,20	0,50	0,26	0,64	100,00	0,40
0,51%	0,20	0,25	0,26	0,32	50,00	0,81
0,64%	0,25	0,25	0,32	0,32	50,00	1,01
1,28%	0,51	0,25	0,64	0,32	50,00	2,03

3.8.3 – Alcalinidade total – Método Potenciométrico (Ripley *et al*., 1986)

A metodologia utilizada neste trabalho foi adaptada da descrita por Ripley *et al*. (1986) e consistia na transferência de 50 mL da amostra para um bécher de 100 mL. O pH era medido e levado até 4,3 com adição de H_2SO_4 0,1N, anotando-se este valor (V). Esta alcalinidade é denominada intermediária, podendo ser aproximada à total devido a sais de ácidos voláteis (DAMASCENO, 2013). O valor de alcalinidade total pode ser calculado pela equação 3.1 a seguir:

$$Alcalinidade\ total = \frac{V\ x\ N\ H_2SO_4\ x\ 50000}{V\ amostra} \qquad \text{(Eq. 3.1)}$$

Sendo:

Alcalinidade Total em mg $CaCO_3$/L

V = Volume de H_2SO_4 gasto na titulação

N H_2SO_4 = Normalidade do ácido sulfúrico diluído utilizado na titulação

V amostra = Volume de amostra utilizada em mL.

3.8.4 - Ácidos Voláteis Totais

A quantificação de ácidos voláteis totais era realizada a partir de uma adaptação do método descrito por DiLallo e Albertson (1961), e consistia na redução do pH da amostra utilizada para determinação da alcalinidade total de 4,3 para 3,3 com H_2SO_4 0,1N e posterior fervura durante 3 minutos para remoção do dióxido de carbono presente em solução.

Após o tempo de fervura, a amostra era submetida a um banho de água até temperatura ambiente e então era realizada a titulação com solução padronizada de NaOH 0,1N até pH 4,0, desprezando-se esse volume; continuava-se a titulação da amostra (pH=4,0) com solução padronizada de NaOH 0,1N até pH 7,0 e anotava-se o volume (V) (DAMASCENO, 2013). A adição de base à amostra permitia a neutralização de ácidos orgânicos, sendo o valor de acidez volátil total calculado através da equação 3.2:

$$Ácidos\ voláteis\ totais = \frac{V\ x\ N\ \ NaOH\ x\ 60000}{V\ amostra} \qquad \text{(Eq. 3.2)}$$

Sendo:

Ácidos Voláteis Totais em mg/L como ácido acético

V = Volume de NaOH utilizado na titulação da amostra entre pH 4 e 7

V amostra = Volume da amostra utilizada para análise.

Porém, vale ressaltar que DiLallo e Albertson (1961) observaram, experimentalmente, a relação 1,5 para a alcalinidade superior a 216 mg/L e relação 1,0 para valores inferiores. Esse fator de conversão para determinar os ácidos voláteis presentes, a partir da alcalinidade, dependia da quantidade de ácidos que era titulada entre pH 4,0 e 7,0. O pH de equilíbrio de ácidos orgânicos é menor que 4,0, mas variável com a concentração de ácidos.

A existência desses dois fatores se deve a influência mais significativa da alcalinidade denominada básica para valores menores de alcalinidade total. Portanto, o valor da acidez total era corrigido, se necessário, de acordo com a alcalinidade total da amostra, conforme apresentado nas equações 3.3 e 3.4, a seguir:

Situação 1: Alcalinidade total maior que 216 mg/L

$$AVT = Av \times 1,5 \qquad \text{(Eq. 3.3)}$$

Situação 2: Alcalinidade total menor ou igual a 216 mg/L

$$AVT = Av \times 1,0 \qquad \text{(Eq. 3.4)}$$

Sendo:

AVT = Ácidos Voláteis Totais, em mg HAc/L

Av = Ácidos Voláteis Totais em mg/L como ácido acético, determinados na análise de Acidez Volátil, sem considerar a influência da alcalinidade da amostra.

3.8.5 – Determinação da composição do biogás

Como descrito por Damasceno (2013), a determinação da composição do biogás foi realizada em um cromatógrafo Micro CG VARIAN (CP-4900), utilizando coluna PPQ 10 m x 0,32 mm, detector TCD de condutividade térmica de 250^0C, temperatura da coluna de 50^0C, temperatura de injetor de 80^0C e gás hélio como gás de arraste.

3.8.6 – Determinação de sódio

A quantificação de sódio no efluente foi realizada no Laboratório de Análises Químicas e Ambientais (LAQAM) do Pólo de Biotecnologia (BioRio), situado na Cidade Universitária. A análise foi realizada por espectrometria por Absorção Atômica (EAA), utilizando o equipamento AA200 da Perkin Elmer.

Capítulo 4: Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Caracterização do efluente

As 5 amostras de efluente, tal como recebidas, e as 12 recebidas após tratamento físico-químico conduzido no Laboratório de Tratamento de Resíduos (LABTARE – EQ/UFRJ) foram caracterizadas. O tratamento físico-químico foi conduzido no LABTARE em condições determinadas em trabalhos anteriores (OLIVEIRA, 2013).

As faixas de valores obtidos na caracterização destes efluentes são apresentadas na Tabela 4.1. Por vezes, como o envio das amostras demandava um tempo considerável, uma caracterização simplificada era aplicada para preservar o efluente para alimentação do reator. Assim, eram medidos somente alguns parâmetros mais importantes como pH, DQO, N e P.

O efluente denominado bruto, coletado após o separador água-óleo (SAO) na ETE da Usina, apresenta pH muito ácido (< 3,0) em função da adição de HCl para melhor separação do óleo livre no SAO. O pH aumenta após o tratamento físico-químico, mas ainda permanece ácido (valores próximos a 4,0) na maioria das amostras analisadas, necessitando de ajuste com $NaHCO_3$ para valores próximos de 7,0 antes dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

A concentração de matéria orgânica é elevada nos efluentes bruto e após físico-químico. Considerando o erro do método de determinação da demanda química de oxigênio (DQO), pode-se dizer que, para as amostras recebidas, apesar de o tratamento físico-químico reduzir a concentração de óleos e graxas (O&G) de 83-89%, a DQO permanece praticamente constante. Tal resultado se deve à DQO encontrar-se predominantemente na forma solúvel (85-89% no efluente bruto e 96% no efluente após tratamento físico-químico), fração não removida no tratamento físico-químico.

Esta DQO solúvel provavelmente se deve ao metanol não recuperado no processo. Oliveira (2013) também avaliou o efluente proveniente de uma usina de produção de biodiesel do sistema Petrobras que utiliza como matéria-prima uma mistura de óleos vegetais e sebo bovino com reação de transesterificação seguindo a rota metílica e obteve 26800 mg/L de metanol e uma DQO de 79760 mg/L no efluente bruto. Assim, na caracterização do efluente do

presente estudo, observou-se uma maior concentração de metanol (50,1 g/L) e, consequentemente, de DQO (164.000 mg/L, em média).

Tabela 4.1. Caracterização do efluente da indústria de biodiesel antes e após tratamento físico-químico

Parâmetro	Efluente bruto	Efluente após tratamento físico-químico
pH	1,2 – 2,2	1,2 – 4,2
DQO total	135.812 – 188.160	34.666 – 182.833
DQO solúvel	115.304 – 184.493	30.056 – 178.582
DBO_5	37.120 – 115.760	36.320 – 60.960
Sólidos Totais	809 – 35.363	651 – 35.767
Sólidos Totais Voláteis	563 – 28.893	511 – 24.333
Sólidos Totais Fixos	246 – 6.470	140 – 11.434
Sólidos sedimentáveis	< 1	< 1
Turbidez	26 – 36	10 – 29
Óleos e Graxas	136 – 298	24 – 228
Ácidos graxos voláteis	120 – 481	345 – 540
Cloretos	400 – 6.498	600 – 7.098
Sódio	1.490	5.000
o-fosfatos	0,8 – 91,0	2,3 – 129,0
Nitrogênio total	2,8 – 7,3	4,6 – 11,7
Nitrogênio amoniacal	0 – 1,5	0 – 2,8
Metanol	50,1	7,8 – 128,0

Todos os valores em mg/L, exceto pH, Sólidos Sedimentáveis (mL/L), metanol (g/L) e turbidez (FTU). DQO = demanda química de oxigênio; DBO_5 = demanda bioquímica de oxigênio em 5 dias/20ºC.

Chavalparit e Ongwandee (2009) caracterizaram um efluente da produção de biodiesel, obtendo 10.667 mg/L de metanol e 30.980 mg/L de DQO. Selma et al. (2010) encontraram no efluente da produção de biodiesel de óleo de soja e metanol, produzido em escala laboratorial, 10,4% de glicerina e 7,2% de metanol.

A dosagem de metanol só pôde ser avaliada em quatro amostras, sendo somente uma amostra de efluente bruto, pois esta apresentava menor conteúdo de óleos e graxas e pôde ser injetada no cromatógrafo, a fim de se evitar contaminação da coluna empregada no método. Como a metodologia demandou muito tempo para ser de fato empregada e grande parte do efluente era destinada à alimentação do reator, para que não fosse interrompido o regime contínuo, não foi possível a análise de um número maior de amostras.

A princípio, o tratamento físico-químico não contribui para uma maior fração de matéria orgânica biodegradável no efluente, pois esta é de 32-35% antes e 25% após o pré-tratamento. Considerando que o método de determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5) emprega micro-organismos não adaptados aos constituintes do efluente, pode-se inferir que apesar da baixa relação DBO_5/DQO (0,27), o efluente após o tratamento físico-químico deve apresentar melhores resultados nos ensaios de biodegradabilidade mediante uma gradual adaptação. Vale ressaltar que a relação de 0,27 para DBO_5/DQO foi calculada a partir da média das relações obtidas para amostras em que ambas as análises (DBO_5 e DQO) puderam ser realizadas.

O efluente apresentou-se límpido, com cor amarelo claro, sendo os sólidos detectados na caracterização predominantemente dissolvidos, o que também explica a pouca alteração após o tratamento físico-químico. Os sólidos apresentam elevado teor de orgânicos (como SVT, alcançando cerca de 80% do total), que é ligeiramente reduzido após o tratamento físico-químico (para 68% do total), provavelmente em função da remoção de material orgânico insolúvel como óleo livre e emulsionado (O&G).

Apesar da menor proporção, a concentração de sólidos totais fixos apresenta valores elevados, denotando salinidade elevada. A salinidade do efluente é confirmada pelos resultados de cloretos (presente no efluente em função da redução de pH na entrada do SAO ser realizada com HCl) e sódio

(que aumenta no efluente após tratamento físico-químico em função do ajuste de pH com NaOH) e é uma preocupação para o tratamento biológico, pois a presença de sais em altas concentrações também pode inibir a atividade microbiana (SPEECE, 1996).

As baixas concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV) e nitrogênio amoniacal indicam que o efluente apresenta-se pouco deteriorado, provavelmente em decorrência dos baixos valores de pH, que inibem a ação de micro-organismos. Os níveis de nitrogênio e fósforo são baixos e apontam para a necessidade de suplementação destes macronutrientes no tratamento biológico.

4.2 - Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em frascos penicilina – efeito da suplementação

O efeito da suplementação no tratamento biológico anaeróbio do efluente após tratamento físico-químico foi avaliado em frascos tipo penicilina por 25 dias a 30^0C. Os resultados podem ser observados a seguir.

Na Figura 4.1 é apresentada a evolução da produção de biogás sob diferentes condições de suplementação (valores médios de cinco réplicas) ao longo de 25 dias. Verifica-se que as curvas de produção de biogás apresentam perfis similares, com um formato em “S” e uma pequena fase lag (menos de 1 dia), indicando uma rápida adaptação do lodo aos constituintes do meio.

Verifica-se que a adição de macronutrientes ao meio (condições 2 e 3) aumentou a produção de biogás em 46,4% e 10,6%, respectivamente, em comparação ao Controle (condição 1, somente efluente) e que a adição de NH_4Cl (condição 3) foi mais estimuladora do que a adição de ureia (condição 2), com produção específica de metano (PEM) equivalente a 199,6 $mLCH_4$/g DQO_{remov} em relação a PEM de 141,1 $mLCH_4$/g DQO_{remov} da condição 2.

Não foi encontrada na literatura uma referência que contemplasse a suplementação por NH_4Cl ou ureia em efluente da produção de biodiesel. Entretanto, foram encontrados trabalhos (VAN VELSEN, 1979; KOSTER e LETTINGA, 1988) nos quais os efeitos da amônia foram estudados. Assim como no trabalho de Angelidaki *et al*. (1993), os pesquisadores tinham como objetivo investigar a concentração máxima de amônia suplementada na

digestão anaeróbia, sem afetar as metanogênicas e a produção final de metano.

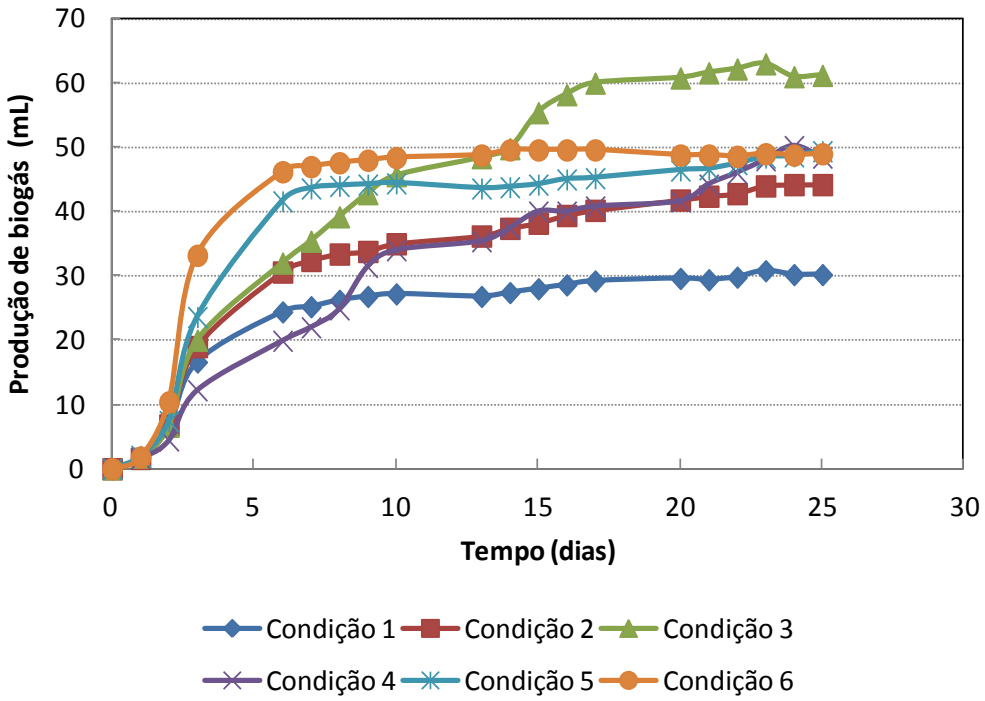


Figura 4.1. Produção de biogás (30ºC) do efluente pré-tratado sem suplementação (cond. 1) e com suplementação com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5), e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6). Relações DQO:N:P = 350:5:1, em frascos penicilina.

Van Velsen (1979) e Koster e Lettinga (1988) observaram que a inibição por amônia pode ocorrer em pH 7,4 na faixa de 1500–3000 mg/L de nitrogênio amoniacal, enquanto em concentrações superiores a 3000 mg/L, amônia é considerada tóxica independente do pH do meio, como também destacou McCarty (1964).

Além destes autores, Calli *et al*. (2005) também identificaram a capacidade de adaptação dos micro-organismos metanogênicos a concentrações crescentes de amônia, desde que inicialmente estivessem em contato com um meio com baixa concentração deste nutriente.

A maior estimulação da produção de biogás por NH_4Cl em relação a ureia seria devido à maior facilidade de assimilação de compostos iônicos em detrimento a compostos moleculares contendo carbono, como é o caso da ureia. Os micro-organismos tendem a metabolizar compostos mais simples mais fácil e rapidamente. Além disso, a ureia, em seu ciclo metabólico, é

convertida a amônia, o que necessitaria mais energia para sua assimilação pelos micro-organismos, quando comparada ao nitrogênio mais facilmente assimilável na forma de NH_4Cl (VOET & VOET, 2007).

A adição de micronutrientes com ureia e fosfato (condição 4) praticamente não alterou a produção de biogás em comparação à condição com somente ureia e fosfato (condição 2), reduzindo a velocidade inicial de produção, mas atingindo valores finais de biogás muito próximos.

Já a adição de micronutrientes com NH_4Cl e fosfato (condição 5) inibiu a produção de biogás em comparação à condição com somente NH_4Cl e fosfato (condição 3), pois obteve-se menores valores finais de biogás com micronutrientes. A suplementação com soluções de macro e micronutrientes (condição 6), apesar de acelerar a produção inicial de biogás não superou os resultados obtidos com adição de somente NH_4Cl e fosfato (condição 3).

Assim como no caso da suplementação com as fontes de nitrogênio mencionadas, a suplementação com fósforo somente foi encontrada em casos genéricos ou com efluentes diferentes deste estudo. Alguns casos mais genéricos serão relatados a seguir para fins de observação de faixas ótimas de suplementação com macro e micronutrientes e seus efeitos na digestão anaeróbia.

Alphenaar *et al*. (1993) realizaram estudo sobre os efeitos de diferentes dosagens de fósforo em reator UASB alimentado com meio contendo ácidos graxos voláteis e deficiente em fósforo. Os pesquisadores observaram que com suplementação de 39 mg/L de fosfato, a eficiência de remoção de DQO atingia níveis superiores a 90%. Quando esta suplementação era cessada, mesmo que por poucos dias, a eficiência de remoção chegava a valores próximos de 50%, tendo picos temporários de recuperação quando a alimentação do reator era novamente suplementada com 39 mg/L de fosfato. Quando a suplementação foi novamente retirada, os autores testaram a adição de somente 4 mg/L de fosfato, que resultou em uma breve recuperação da eficiência, mas não suficiente para mantê-la por longo período.

No presente trabalho, as condições suplementadas com KH_2PO_4, continham 37,6 mg/L de fosfato, valor muito próximo do apresentado por Alphenaar *et al*. (1993).

Em relação à suplementação com macro e micronutrientes, Ma *et al*. (2009) relatam que o efeito estimulador dos macronutrientes foi observado imediatamente após a sua suplementação, o que reduziu em mais de 50% a DQO solúvel obtida na saída do reator. Além disso, o efeito positivo da suplementação também foi confirmado quando houve interrupção da suplementação por micronutrientes e, em seguida, aumento da concentração de DQO solúvel do efluente em 282% e 115%, e diminuição da taxa de produção de biogás em cerca de 42% e 69%, nos dois reatores UASB utilizados nos experimentos em bancada (MA *et al.,* 2009).

A Tabela 4.2 apresenta um resumo dos resultados obtidos no ensaio de biodegradabilidade do efluente pré-tratado, na qual se verifica que o pH final se encontra próximo da neutralidade, indicando que a biodegradação atingiu a etapa metanogênica ou uma elevada capacidade de tamponamento do meio. A DQO inicial na tabela é a DQO total do efluente, enquanto a DQO final foi medida como solúvel, sem interferência de sólidos biológicos na análise para uma melhor avaliação do potencial de produção de metano em cada condição.

Tabela 4.2. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação em frascos penicilina.

Condição*	pHi	pHf	DQOi (mg/L)	DQOf (mg/L)	Remoção DQO (%)	Vol biogás (mL)	% CH_4	Vol CH_4 CNTP	PEM (CNTP) ($mLCH_4/g\ DQO_{remov}$)
1	7,1	6,9	2891	64	97,8	30,2	73,4	20,0	94,1
2	7,0	6,9	2855	95	96,7	44,2	73,5	29,3	141,1
3	7,1	7,0	2709	87	96,8	61,2	72,1	39,8	199,6
4	7,0	6,9	2761	56	98,0	48,4	48,9	21,3	104,0
5	7,1	6,9	2829	60	97,9	49,4	70,9	31,6	150,8
6	7,0	7,1	2869	57	98,0	49	80,9	35,7	168,8

* Efluente sem suplementação (cond. 1) e com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5), e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6). Relações DQO:N:P = 350:5:1.

Observa-se uma remoção de DQO de 97% a 98%; no entanto, boa parte desta DQO não foi metabolizada a metano, podendo ter sido adsorvida ao lodo ou convertida a CO_2, pois a produção específica de metano (PEM) ainda é bem menor que o valor teórico (350 mL CH_4(CNTP)/g DQO removida). Os percentuais de metano no biogás – 71 a 81%, à exceção da condição 4 (com 49%), estão condizentes com o esperado nas condições do ensaio. Melhores resultados em termos de produção específica de metano foram obtidos na condição 3, com suplementação com NH_4Cl e fosfato (199,6 mL CH_4(CNTP)/g DQO removida).

4.3 - Ensaios de biodegradabilidade anaeróbia em respirômetro – efeito da suplementação

Foram realizados experimentos em respirômetro, visando avaliar as condições adotadas nos testes de biodegradabilidade anaeróbia em frascos penicilina de forma mais controlada. As condições de suplementação avaliadas foram as mesmas dos ensaios anteriores em frascos penicilina.

Dois experimentos foram realizados com DQO inicial em torno de 3000 mg/L. No primeiro, foram avaliadas triplicatas das condições 1 a 5. A produção de metano neste experimento foi monitorada até 12 dias, sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 4.2 e Tabela 4.3.

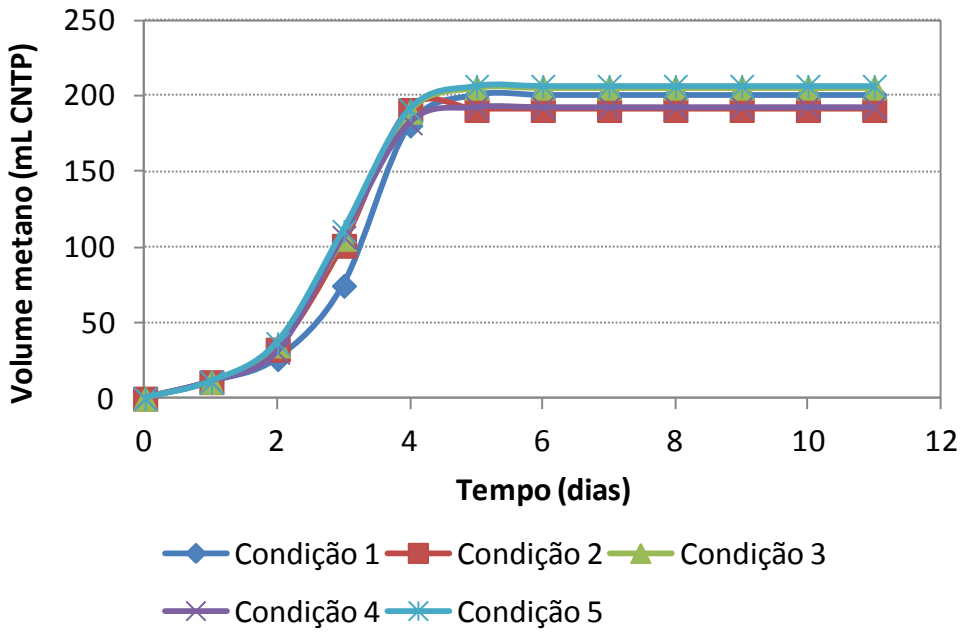


Figura 4.2. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem suplementação (cond. 1) e com suplementação com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5), e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6). Relações DQO:N:P = 350:5:1, em respirômetro, com DQO inicial de 3000 mg/L.

Tabela 4.3. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação em respirômetro.

Condição*	DQO inicial (mg/L)	DQO final (mg/L)	pH final	Remoção DQO (%)	Volume CH_4 (CNTP)	PEM ($mLCH_4$/g DQO removida)
1	2493 ± 9	60 ± 1	6,3±0,1	97,6±0,1	201,0±3,1	229,4
2	2515 ± 76	57 ± 6	7,0±0,0	97,7±0,2	190,8±1,0	208,7
3	2629 ± 57	54 ± 8	6,5±0,1	97,9±0,3	205,5±5,9	223,4
4	2516 ± 109	64 ± 3	7,0±0,0	97,5±0,2	192,6±0,7	213,5
5	2583 ± 6	73 ± 7	6,7±0,1	97,2±0,5	206,6±3,5	229,7

pH inicial = 7,0, DQO inicial = 3000 mg/L. * Efluente sem suplementação (cond. 1) e com ureia e KH_2PO_4 (cond. 2), NH_4Cl e KH_2PO_4 (cond. 3), ureia, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 4), e NH_4Cl, KH_2PO_4 e micronutrientes 1 mL/L (cond. 5). Relações DQO:N:P = 350:5:1.

Verifica-se que um melhor controle das condições de incubação no respirômetro, além da introdução de agitação intermitente, aumentaram consideravelmente a PEM em comparação aos valores obtidos nos frascos

penicilina. A diferença entre as condições foi reduzida e a condição 5 seguida da condição 3 foram as que apresentaram maiores valores de PEM.

Um segundo experimento foi conduzido com DQO inicial de 3000 mg/L em 5 réplicas das condições 1, 3 e 6. A produção de metano neste experimento foi monitorada até 8 dias, sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 4.3 e Tabela 4.4.

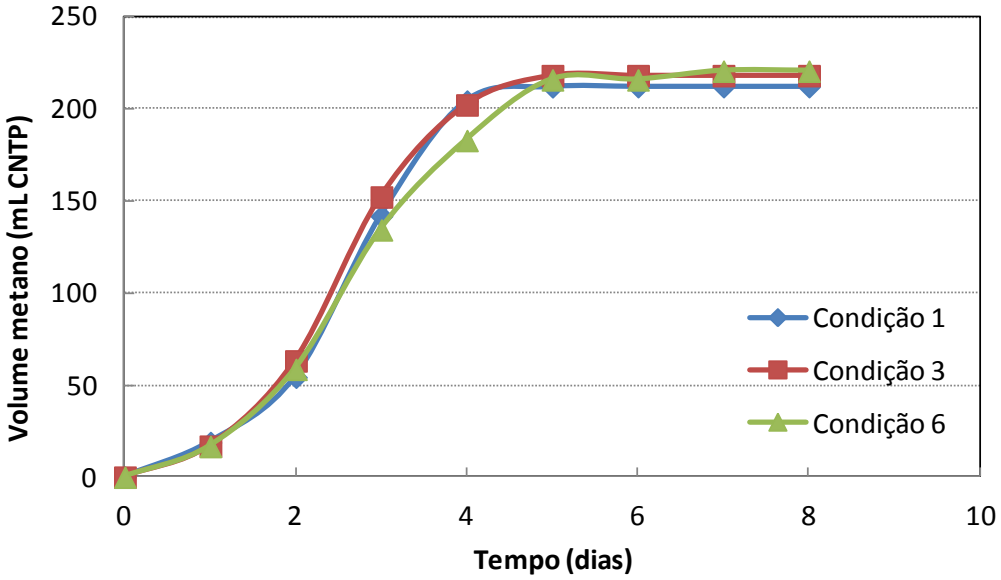


Figura 4.3. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl e fosfato (cond. 3) para relação DQO:N:P = 350:5:1 e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6) em respirômetro com DQO inicial 3000 mg/L.

Tabela 4.4. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação.

Condição	DQO inicial (mg/L)	DQO final (mg/L)	pH inicial	pH final	Remoção DQO (%)	Volume CH_4 (CNTP)	PEM ($mLCH_4$/g DQO removida
1	2898±35	128±32	7,00	6,50±0,04	95,1±1,2	221,1±7,3	216,9
3	2908±76	146±9	6,98	6,57±0,05	95,0±0,3	218,1±6,3	224,0
6	2951±35	116±6	7,01	6,48±0,05	96,1±0,2	220,5±7,0	220,8

Efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl e fosfato (cond. 3) para relação DQO:N:P = 350:5:1 e soluções de macro e micronutrientes 1 mL/L (cond. 6) em respirômetro com DQO inicial 3000 mg/L.

A reprodutibilidade dos ensaios pode ser conferida nas condições 1 e 3. Verifica-se que os resultados são bem próximos nas duas condições e que a

condição 3 apresentou o maior valor de PEM. A adição das soluções de macro e micronutrientes (condição 6) não apresentou muita diferença na produção de metano em comparação à condição Controle.

O estudo de Florencio *et al.* (1993), entretanto, comprova a importância dos micronutrientes, em especial, o cobalto. Os resultados indicaram que o cobalto é um elemento crítico para a digestão anaeróbia de efluentes com conteúdo metanólico, já que este elemento está diretamente relacionado à síntese de proteínas corrinóides que, por sua vez, atuam na formação de metano. Quando os autores testaram meios sem cobalto, a atividade metanogênica foi bastante reduzida. Com o uso de uma mistura de micronutrientes, com cobalto adicionado a estes, a eficiência da degradação aumentou significativamente.

Os autores (FLORENCIO *et al*., 1993) reportaram que no reator com suplementação com cobalto, foi identificado o maior valor de atividade metanogênica específica (AME), com 1891 g DQO_{CH4}/g SVS.d, enquanto no reator sem suplementação com cobalto o valor de AME foi 1104 g DQO_{CH4}/g SVS.d, tendo uma diferença percentual de aproximadamente 42%.

Um terceiro experimento foi realizado com DQO inicial em torno de 12.000 mg/L a fim de avaliar o efeito da suplementação sob uma maior concentração de substrato e da adaptação do lodo.

Foram avaliadas triplicatas das condições 1 e 5, que apresentaram maiores valores de PEM no primeiro teste em respirômetro, com lodo não adaptado e adaptado (do experimento anterior). A produção de metano neste experimento foi monitorada até 8 dias, sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 4.4 e Tabela 4.5.

Conforme esperado, os lodos adaptados apresentaram maior PEM que os lodos novos, comprovando que a adaptação pode gerar resultados mais promissores em termos de metano. Ao se comparar a PEM nas condições 1 e 5 com lodo novo e DQO inicial 3000 mg/L (Tabelas 4.3 e 4.4) com os dados da Tabela 4.5 (com DQO inicial 12.000 mg/L), a PEM aumenta cerca de 17% na condição 5 e 11% na condição 1, com maior DQO inicial. Portanto, não houve inibição pelo substrato.

Os micro-organismos geralmente têm a capacidade de se adaptar, em certa medida, para as concentrações inibidoras da maioria dos materiais. O

grau de adaptação é relativo, e em alguns casos, a atividade depois da adaptação pode aproximar-se da obtida na ausência do material inibitório, e em outros casos, a adaptação pode não ser suficiente para alguns micro-organismos quando entram em contato com determinados agentes inibitórios, fazendo com que sua eficiência seja menor que a inicial (MCCARTY, 1964).

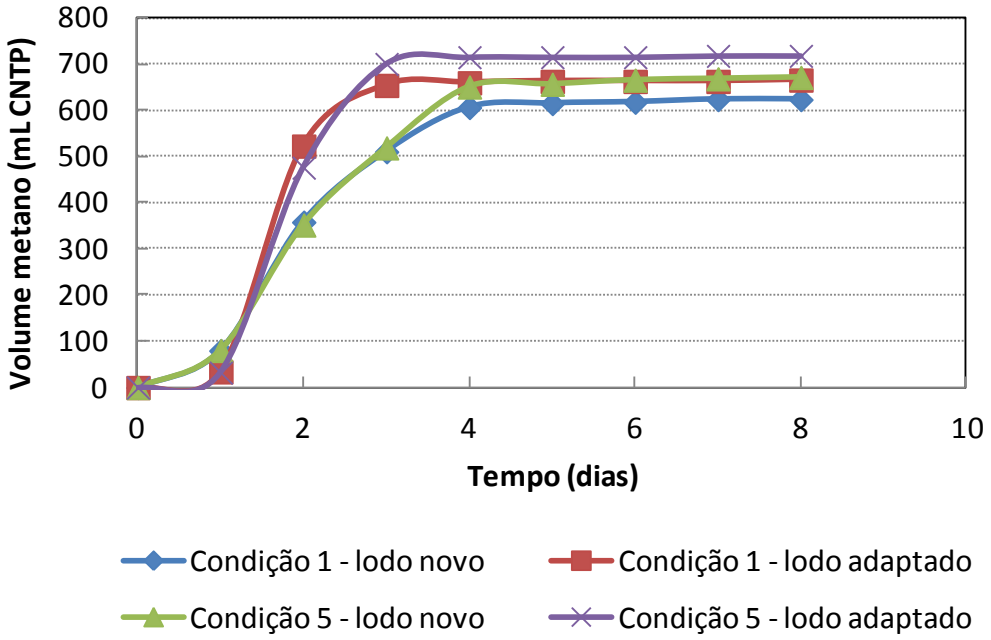


Figura 4.4. Produção de metano (CNTP) do efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl, KH_2PO_4 e solução de micronutrientes 1 mL/L (cond. 5) em respirômetro com DQO de 12000 mg/L, com lodo novo e adaptado.

Tabela 4.5. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção específica de metano para o efluente pré-tratado sob diferentes condições de suplementação com lodo novo e adaptado.

Condição	DQO inicial (mg/L)	DQO final (mg/L)	pH final	Remoção DQO (%)	Volume CH_4 (CNTP)	PEM ($mLCH_4$/g DQO removida)
1 LN	11340	94 ± 12	6,4±0,0	99,2±0,1	623,2±14,0	246,8
1 LA	12318	346 ± 169	6,9±0,0	97,2±1,4	665,5±5,1	252,7
5 LN	10856	108 ± 7	6,4±0,0	99,0±0,1	671,2±21,1	268,8
5 LA	11461	357 ± 137	6,9±0,0	96,9±1,2	717,9±11,0	278,9

pH inicial = 7,00 ± 0,02. LN = lodo novo (não adaptado), LA = lodo adaptado. Efluente pré-tratado sem (cond. 1) e com suplementação com NH_4Cl, KH_2PO_4 e solução de micronutrientes 1 mL/L (cond. 5)

Com base nos resultados obtidos, decidiu-se por selecionar a condição 5 (suplementação com NH_4Cl, KH_2PO_4 para relação DQO:N:P = 350:5:1, e solução de micronutrientes 1 mL/L) para a partida de um reator UASB de bancada.

4.4 – Avaliação de inibição por metanol em respirômetro

Sendo o metanol um dos compostos presentes no efluente da produção de biodiesel e conhecendo sua potencial ação inibitória (FLORENCIO *et al*., 1993), observou-se a necessidade de uma investigação de seu potencial inibitório no tratamento anaeróbio do efluente estudado.

Assim, a partir dos dados de caracterização do metanol no efluente estudado, bem como do estudo da ação de elementos traço na digestão anaeróbia de efluentes ricos em resíduos metanólicos (FLORENCIO *et al*., 1993), foram realizados novos ensaios em respirômetro, visando à investigação da possível concentração de inibição do metanol em meio sintético a base de ácido acético suplementado, conforme descrito no item 3.5. Neste meio as concentrações de ácido acético decresciam, enquanto as concentrações de metanol aumentavam.

O primeiro experimento foi realizado com concentrações iniciais de metanol na faixa entre zero (somente solução de ácido acético – Controle) e cerca de 2000 mg/L (somente solução de metanol), em triplicata, e DQO inicial teórica de 3000 mg/L em todas as condições. A produção de metano neste experimento foi monitorada até 7 dias, sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 4.5 e Tabela 4.6. Observa-se que nos frascos contendo metanol a produção de metano foi sempre maior que no experimento Controle (sem metanol), apresentando maior velocidade inicial, maior velocidade máxima e maior volume final de metano.

A remoção de DQO também não foi afetada, apresentando valores elevados sem e com metanol. Valores de DQO inicial obtidos (2687 – 2770 mg/L) se mostraram menores que o teórico, provavelmente em função da mistura conter substâncias voláteis como ácido acético e metanol.

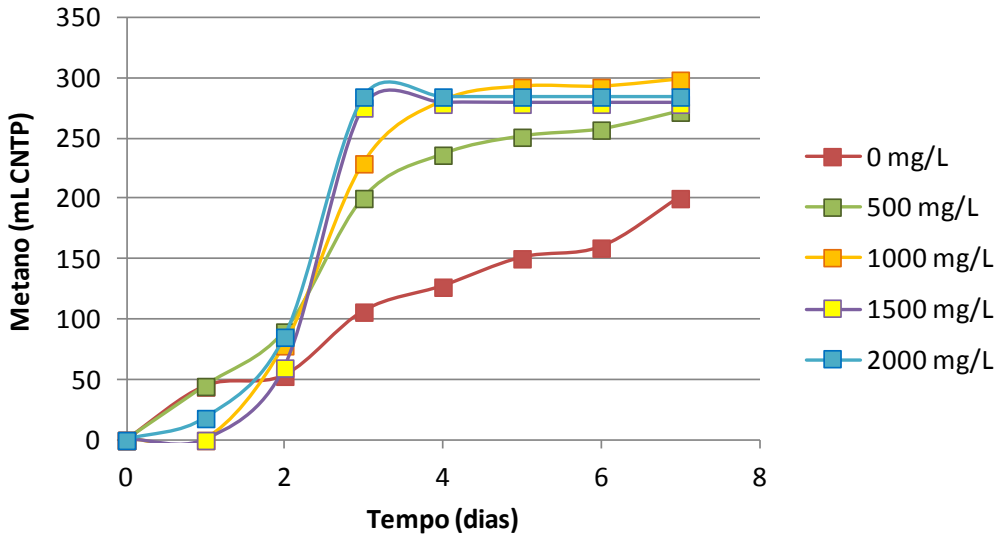


Figura 4.5. Evolução da produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (2000 mg/L) e misturas de ácido acético e metanol sob diferentes concentrações (500 -1500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 3000 mg/L.

Em resumo, até cerca de 2000 mg/L de metanol não se verificou qualquer efeito inibitório sobre a produção de metano. Ao contrário, maiores valores de PEM foram obtidos nos experimentos com 2000 mg/L de metanol comparados ao Controle (281,5 e 189,4 mL CH_4/g $DQO_{removida}$, respectivamente). Provavelmente, em função de menores valores iniciais de acidez com a redução do percentual de acetato na mistura com metanol.

Tabela 4.6. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (2000 mg/L) e misturas de ácido acético e metanol sob diferentes concentrações (500 -1500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 3000 mg/L.

Metanol no meio (mg/L)	Fase lag (d)	Vi (mg/L)	Vmax (mL/d)	pHf	DQOi (mg/L)	DQOf (mg/L)	Remoção DQO (%)	CH_4 (mL)	PEM (mL/g DQO remov)
0	0	44,4	44,4	7,84	2770	119	95,7	200,8	189,4
493	2	45,2	110,8	7,83	2750	101	96,3	272,5	257,2
986	2	78,6	151,1	7,53	2729	113	95,9	299,0	285,7
1479	2	60,1	215,9	7,40	2709	113	95,8	279,1	268,8
2000	2	18,2	199,4	7,17	2687	155	94,2	285,1	281,5

Considerando fase lag o período anterior à obtenção de velocidade máxima (Vmax). Vi = velocidade inicial.

Um segundo experimento foi conduzido com DQO teórica inicial de 6000 mg/L, em 3 réplicas, com concentrações de metanol no meio de 2500 a 4000 mg/L. A produção de metano neste experimento foi monitorada até 8 dias, sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 4.6 e Tabela 4.7.

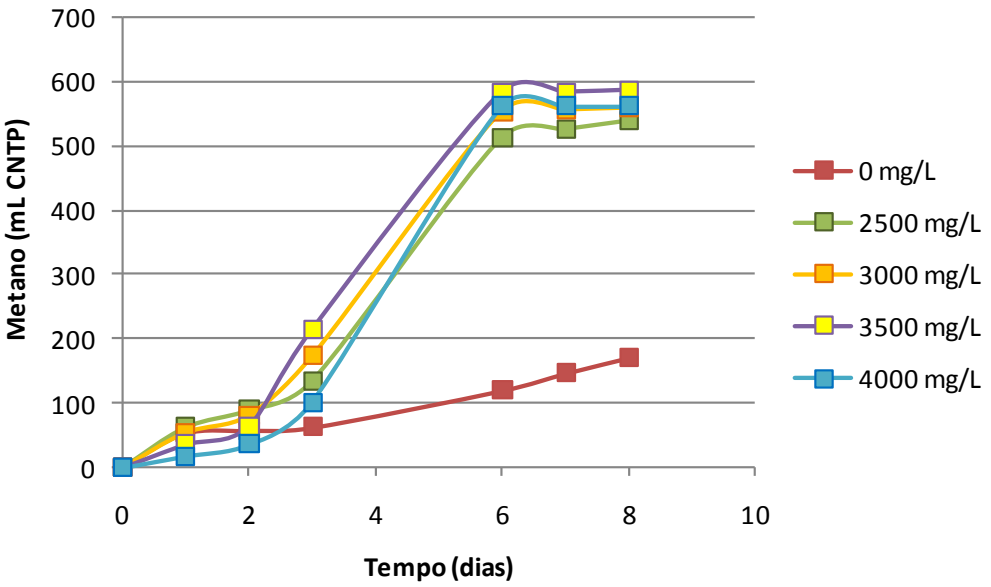


Figura 4.6. Produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (4000 mg/L) e misturas de ácido acético contendo diferentes concentrações de metanol (2500 -3500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L.

Verifica-se que a adição de metanol até 4000 mg/L não reduziu a produção de metano em comparação à condição Controle. Ao contrário, maiores volumes de metano (538,2 - 562,1 mL) foram obtidos com metanol até 4000 mg/L.

Como na solução de micronutrientes empregada no estudo (CHERNICHARO, 2007) há cobalto na forma de $CoCl_2.6H_2O$, acredita-se que os altos valores de PEM tenham sido obtidos pelo estímulo gerado por esse elemento. Possivelmente, a aplicação de concentrações isoladas de cobalto geraria valores maiores de PEM, conforme observado por Florêncio *et al.* (1993).

Tabela 4.7. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético (0 mg/L de metanol), soluções de metanol (4000 mg/L) e misturas de ácido acético contendo diferentes concentrações de metanol (2500 -3500 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P = 350:5:1 e solução de micronutrientes 1 mL/L em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L.

Metanol no meio (mg/L)	Fase lag (d)	Vi (mL/d)	Vmax (mL/d)	DQOi (mg/L)	DQOf (mg/L)	pHf	Remoção DQO (%)	CH4 (mL)	PEM (mL/g DQO remov)
0	0	53,4	53,4	5387	995	7,93	81,5	170,4	97,0
2500	3	43,0	125,7	5685	264	7,65	95,4	538,2	248,2
3000	2	41,0	127,1	5745	295	7,45	94,9	561,1	257,4
3500	3	31,8	128,1	5131	359	7,18	93,0	586,0	307,0
4000	3	18,0	153,4	5864	354	6,82	94,0	562,1	255,0

Considerando fase lag o período anterior à obtenção de velocidade máxima (Vmax). Vi = velocidade inicial.

A remoção de DQO apresentou novamente valores superiores a 80%, tanto na condição em que o metanol não estava presente (Controle), como nas condições em que este composto foi adicionado. No entanto, na condição Controle, a remoção foi bem menor, provavelmente em função da maior concentração inicial de ácido acético, molécula maior que o metanol e mais difícil de degradação que a segunda, o que implicou em uma velocidade de degradação mais lenta.

Nos dois experimentos Controle realizados (Tabelas 4.6 e 4.7) observou-se uma degradação mais lenta, sendo os experimentos encerrados antes da completa estabilização da produção de metano, o que certamente contribuiu para valores mais baixos da PEM.

Apesar da baixa PEM obtida nos experimentos Controle, pode-se avaliar o efeito de concentrações crescentes de metanol no meio, considerando que nos experimentos com metanol observou-se a estabilização da produção de metano. Na Figura 4.7 são apresentados os valores de PEM para as concentrações de metanol avaliadas nos dois experimentos em respirômetro (vermelho – 1^0 experimento, amarelo – 2^0 experimento), verificando-se que até 4000 mg/L não houve qualquer inibição nas condições do ensaio (batelada, primeiro contato do lodo com o composto).

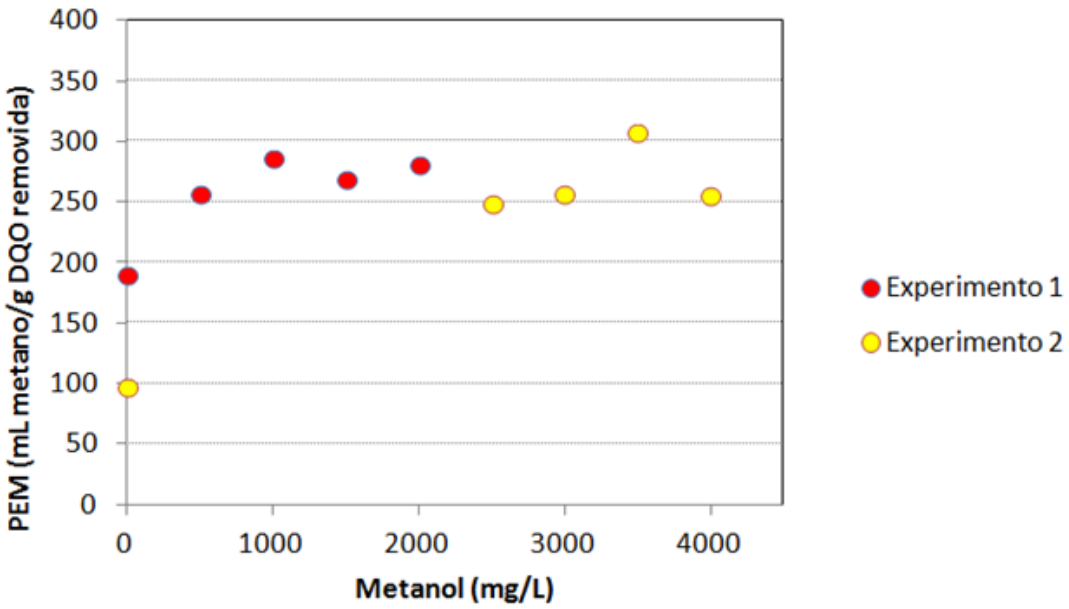


Figura 4.7. Produção específica de metano (CNTP) mediante diferentes concentrações de metanol (0 a 4000 mg/L), para soluções de ácido acético e metanol suplementadas com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L.

Na literatura são citados trabalhos de biodegradação de metanol nos quais se verifica que o metanol ainda é biodegradável em pH 3,5, embora a faixa ótima de pH seja entre 5,5 e 6,0 (LETTINGA *et al*., 1979). Em pH superior a 6,0 e com suplementação de micronutrientes, há a formação de ácidos voláteis a partir do metanol. Em contrapartida, na ausência dos micronutrientes, esta formação é muito mais lenta, assim como a de metano.

Outras observações realizadas por Lettinga *et al.* (1979) foram o aumento gradual da produção de biogás, com remoção neste período de cerca de 80 a 95% do metanol presente na solução de alimentação. Entretanto, quando, em um dos testes, o metanol foi retirado por completo, houve uma queda brusca da produção de biogás.

Na presença de elementos traço, uma mudança na concentração de bicarbonato na solução de alimentação é acompanhada de uma variação, quase que proporcional, da concentração de ácidos voláteis no efluente. Isto porque, preferencialmente, o metanol é convertido a metano, mas quando há outra fonte de carbono, como no caso do bicarbonato, ocorre a formação de ácidos voláteis que têm sua concentração aumentada no reator e, consequentemente, no efluente do mesmo (FLORENCIO *et al*., 1993; LETTINGA *et al*., 1979).

Lettinga *et al.* (1979) também constataram que a formação mais rápida de metano a partir de metanol ocorre em maiores concentrações de bicarbonato e pH mais elevado. Em situações de baixo pH, o aumento da concentração de bicarbonato não é seguido imediatamente de um aumento da concentração de ácidos voláteis.

A fim de avaliar se o comportamento observado nos dois primeiros ensaios em respirômetro se reproduziria mediante um segundo contato do lodo com a solução de metanol, um terceiro experimento foi realizado nas condições Controle e com 4000 mg/L de metanol, com lodo novo e com lodo submetido a um contato anterior, supostamente já adaptado aos constituintes do meio. Os resultados são apresentados na Figura 4.8 e Tabela 4.8.

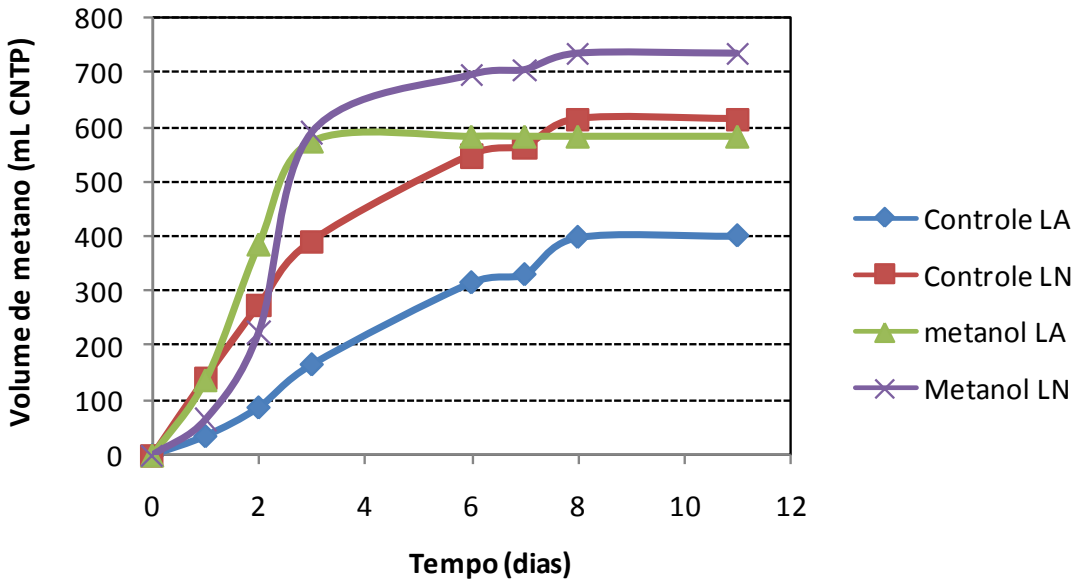


Figura 4.8. Produção de metano (CNTP) de soluções de ácido acético (Controle) e metanol (4000 mg/L), com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, em respirômetro com DQO teórica inicial de 6000 mg/L. lodo adaptado. LN = lodo novo, não adaptado.

Este experimento confirmou que não há inibição da produção de metano, na concentração de 4000 mg/L, pois volumes maiores de metano foram obtidos com metanol, tanto com lodo novo (734,8 mL), quanto com lodo adaptado (585,0 mL) (Figura 4.8). Considerando que a DQO inicial nos frascos com metanol era maior, o que pode ter contribuído para a uma maior produção de metano, uma comparação em termos de PEM seria mais adequada. Verifica-se na Tabela 4.8 que a adição de metanol, tanto no primeiro contato com o lodo (lodo novo) quanto com o lodo adaptado, não reduziu a produção específica de metano, obtendo-se valores de PEM similares sem e com metanol.

Uma pequena diferença em termos de PEM foi verificada entre as condições com lodo novo e adaptado, que apresentou valores 27% e 22% menores para o lodo adaptado em comparação ao lodo novo para a condição Controle e com 4000 mg/L de metanol, respectivamente. Tal resultado indica que o fornecimento continuado de altas concentrações de metanol ao lodo poderia levar a alguma inibição da produção de metano, o que se verificou na operação do reator UASB.

Tabela 4.8. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções de ácido acético e de metanol com lodo novo e adaptado.

Metanol no meio (mg/L)	Fase lag (d)	Vi (mL/d)	Vmax (mL/d)	DQOi (mg/L)	DQOf (mg/L)	pHf	Remoção DQO (%)	CH4 (mL)	PEM (mL/g DQO remov)
0 - LA	0	50,1	50,1	5075	702	8,2	82,7	401,2	229,3
0 - LN	0	129,1	129,1	5075	197	8,0	95,1	615,0	315,2
4000 LA	1	126,9	225,8	6298	152	6,7	97,0	585,0	238,0
4000 - LN	2	62,3	337,4	6298	263	6,8	94,8	734,8	304,4

Considerando fase lag o período anterior à obtenção de velocidade máxima (Vmax). Vi = velocidade inicial. LA = lodo adaptado. LN = lodo novo, não adaptado.

4.5 – Avaliação de inibição por salinidade, glicerol e metanol em respirômetro

Foram avaliadas sete composições de meio para se verificar o potencial inibitório de metanol, glicerol e sódio presentes no efluente da indústria produtora de biodiesel.

Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 4.9 a 4.11 e Tabela 4.9. Na Figura 4.9 pode-se avaliar o efeito da concentração de sódio em meio constituído de sacarose como fonte de carbono. Observa-se que os valores de metano produzido para concentrações de sódio de 0 até 2000 mg/L são próximos (600,9; 612,0 e 631,9 mL, respectivamente), enquanto na concentração de sódio de 5000 mg/L ocorrem menores taxas de produção e, consequentemente, menor volume de metano no mesmo período de teste (471,0 mL) (Tabela 4.9).

A PEM com adição de sódio até 2000 mg/L é maior que no Controle sem adição de sódio, com valores de 314,0; 358,6 e 360,2 mL CH_4/g $DQO_{removida}$ para as condições Controle, com 200 e 2000 mg/L de sódio. Estes resultados são muito próximos ao valor estequiométrico de referência (350 mL CH_4/g $DQO_{removida}$). Enquanto que com 5000 mg/L de sódio a PEM é 19% menor que no Controle.

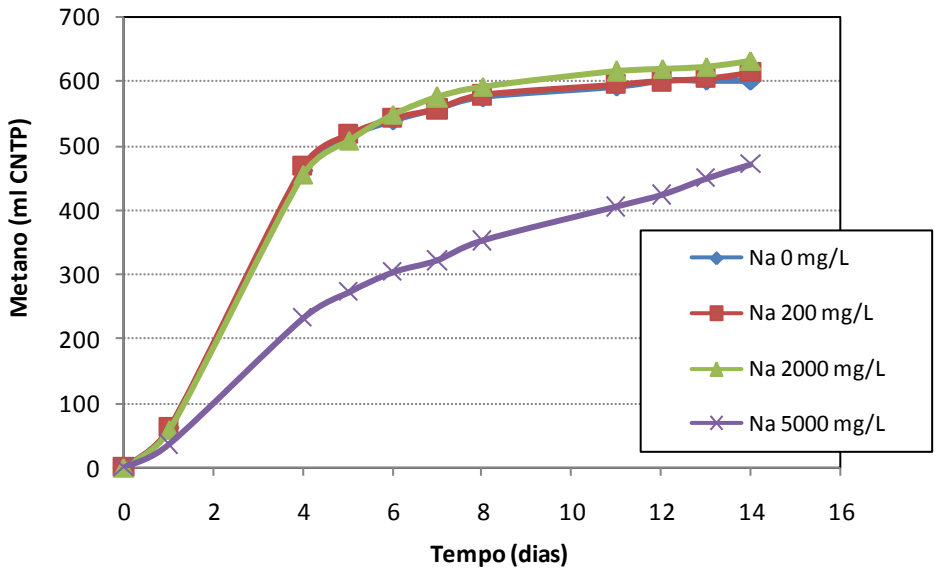


Figura 4.9. Produção de metano (CNTP) em solução de sacarose com diferentes concentrações de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L.

Tabela 4.9. Resumo dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e produção de metano para soluções com diferentes concentrações de sacarose, metanol, glicerol e sódio.

Condição	Fase lag (d)	Vi (mL/d)	Vmax (mL/d)	DQOi (mg/L)	DQOf (mg/L)	pHf	Remoção DQO (%)	CH_4 (mL)	PEM (mL/g DQO remov)
1 - Controle	1	59,6	133,4	4833	49	6,6	95,9	600,9	314,0
2	1	61,5	135,6	4812	545	6,5	88,7	612,0	358,6
3	1	58,7	131,9	4761	375	6,5	92,1	631,9	360,2
4	1	35,1	65,5	4830	200	6,5	95,9	471,0	254,3
5	1	41,2	139,2	4676	360	6,6	92,3	567,4	328,6
6	4	40,3	142,9	4429	156	6,5	88,3	527,2	308,4
7	1	29,3	53,3	3695	230	6,5	93,8	412,6	297,7

Considerando fase lag o período anterior à obtenção de velocidade máxima (Vmax). Vi = velocidade inicial. 1 – Controle com sacarose somente, 2 – Sacarose e 200 mg Na/L, 3 - Sacarose e 2000 mg Na/L, 4 - Sacarose e 5000 mg Na/L, 5 – Metanol (2000 mg/L), 200 mg Na/L e glicerol (985 mg/L), 6 – Metanol (2000 mg/L), 5000 mg Na/L e glicerol (985 mg/L), 7 – Metanol (267 mg/L), 200 mg Na/L e glicerol (2957 mg/L).

Na Figura 4.10 são apresentados efeitos de diferentes concentrações de sódio em meio com metanol e glicerol como substratos. Observa-se que o volume final de metano é próximo entre as duas concentrações de sódio (200 e 5000 mg/L), sendo para a concentração de 200 mg/L de sódio, o volume de 567,4 mL e para a de 5000 mg/L de sódio, 527,2 mL de CH_4. No entanto, há um período maior de adaptação do lodo aos componentes do meio quando a concentração de sódio é de 5000 mg/L. A fase lag aumenta de 1 dia (com 200 mg/L de sódio) para 4 dias (com 5000 mg/L de sódio).

De acordo com Chernicharo (2007) e Speece (1996), as concentrações de um determinado íon podem atuar como estimuladoras ou inibidoras. Para o sódio, as concentrações estimuladoras estão na faixa entre 100 e 200 mg/L, o que foi observado nos gráficos, mesmo com a variação do substrato. Já as concentrações de sódio na faixa de 3500 a 5500 mg/L, dentro da qual se encontra a concentração de 5000 mg/L, também testada em respirômetro, é considerada moderadamente inibitória.

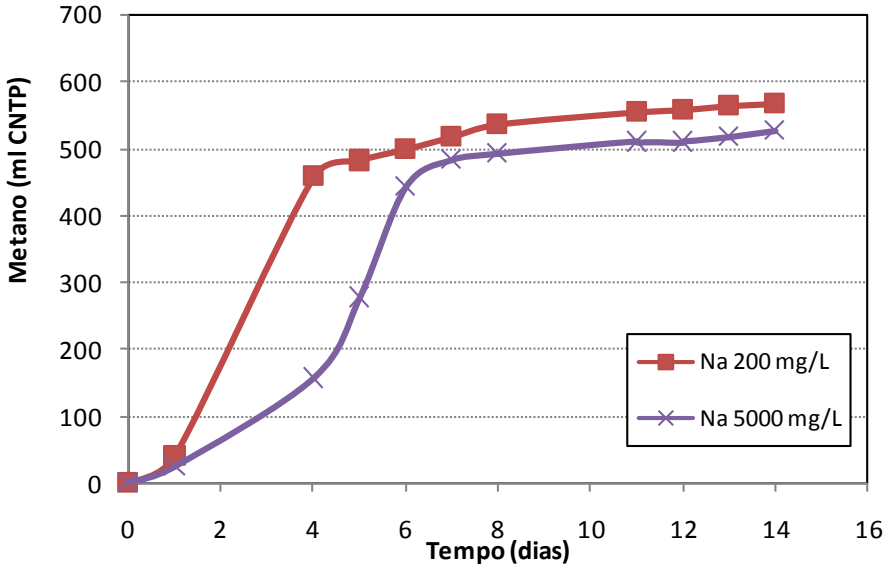


Figura 4.10. Produção de metano (CNTP) em solução de metanol (2000 mg/L) e glicerol (985 mg/L) com diferentes concentrações de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e solução de micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L.

Os efeitos de diferentes concentrações de glicerol, em meio contendo metanol e glicerol como substratos, podem ser visualizados na Figura 4.11. A produção de metano é inibida sob maior concentração de glicerol (2957 mg/L), já que no mesmo período de incubação observa-se uma menor produção de

metano (412,6 mL) que a obtida na concentração de 985 mg/L de glicerol (567,4 mL). Menores taxas de produção inicial e máxima de metano são obtidas com 2957 mg/L de glicerol, comparadas com valores obtidos com 985 mg/L de glicerol. Já a PEM não apresenta variação entre as condições.

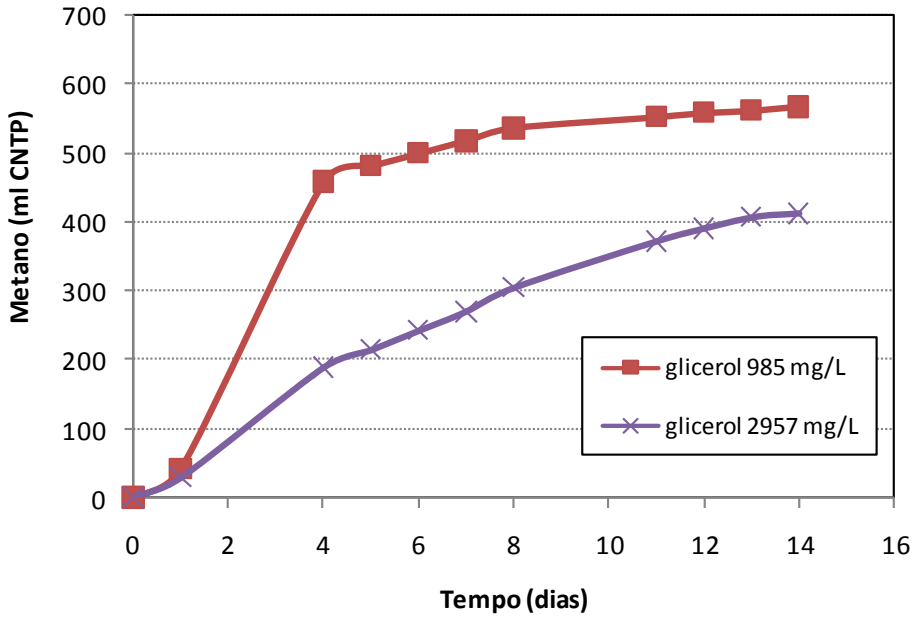


Figura 4.11. Produção de metano (CNTP) em solução de metanol (2000 e 267 mg/L) e glicerol (985 e 2957 mg/L, respectivamente) com 200 mg/L de sódio, com suplementação com NH_4Cl e KH_2PO_4 (DQO:N:P = 350:5:1) e micronutrientes 1 mL/L, e DQO teórica inicial de 4000 mg/L.

Conforme observado nos gráficos anteriores e nos resultados apresentados na Tabela 4.9, concentrações de sódio de até 2000 mg/L não apresentam efeito inibitório. Este efeito aparece na concentração de 5000 mg/L (concentração no efluente sem diluição).

As porcentagens de inibição calculadas com base na PEM obtida na condição Controle também confirmam o apresentado nos gráficos, havendo inibição somente nas condições 4 e 7, onde há maior concentração de sódio e glicerol, respectivamente, sendo o efeito do sódio mais acentuado.

Síles *et al* (2009) investigaram o processo de digestão anaeróbia de glicerol gerado na produção de biodiesel. A estabilidade do processo foi avaliada baseada em alguns fatores, dentre eles pH, acidez e alcalinidade. Os autores testaram reatores com dois tipos de lodo (granular e não-granular) e diferentes substratos, sendo o primeiro denominado glicerol acidificado, que teve como pré-tratamento a adição de ácido fosfórico, centrifugação para

recuperação do catalisador usado na reação de transesterficação e remoção de água e metanol por destilação a vácuo. O segundo foi denominado glicerol destilado e sofreu acidificação com posterior destilação. Após a etapa de destilação, impurezas foram removidas por extração com hexano e destilação a vácuo.

Os resultados obtidos por Siles *et al.* (2009) mostraram que o efluente da produção de biodiesel contendo glicerol, após pré-tratamento, apresenta altos níveis de biodegradabilidade anaeróbia e uma quantidade significativa de metano pode ser obtida desta forma. Além disso, os autores constataram que os maiores valores de PEM (356 mL CH_4/g $DQO_{removida}$) foram obtidos quando usaram glicerol destilado e lodo granular, embora fosse observada uma inibição conforme a carga orgânica volumétrica era aumentada.

O efeito da salinidade, em conjunto com o glicerol, sobre a digestão anaeróbia também foi discutido por Hutnan *et al.* (2013). Os pesquisadores reportaram que altas concentrações de sais inorgânicos, em conjunto com o glicerol bruto, podem causar problemas, já que estes sais, que também são produtos da produção do biodiesel, podem acumular no reator impactando negativamente a atividade dos micro-organismos metanogênicos. Os autores destacam que o efeito inibitório pode ser contornado, caso sejam realizados experimentos simples em batelada com baixas concentrações de sais, diluição destes ou co-fermentação, em pequena escala, de glicerol bruto com outros substratos.

4.6 – Operação do reator UASB

O reator operou por 291 dias em regime contínuo, divididos em cinco regimes de acordo com a carga orgânica volumétrica aplicada. Os resultados obtidos durante a operação do reator UASB de bancada nestes regimes estão resumidos na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Resumo dos resultados obtidos durante a operação do reator.

Parâmetros	1º regime	2º regime	3º regime	4º regime	5º regime
Dias de operação	32	53	104	54	48
T (ºC)	31,6±0,5	30,5±0,9	30,2±0,4	30,0	30,4±1,0
TRH (d)	2,3±0,2	2,6±0,4	2,6±0,2	2,6±0,2	2,9±0,2
COV (kg DQO/m^3.d)	4,5±0,7	1,9±0,4	2,5±0,4	1,5±0,2	0,6±0,1
pH entrada	7,9±0,6	7,8±0,5	7,8±0,6	8,4±0,6	7,7±0,5
pH saída	7,2±0,4	7,4±0,6	6,4±0,5	6,5±0,3	6,5±0,3
AVT (mg HAc/L) [a]	373,3±241,1	32,4±15,6	115,8±53,2	52,8±41,2	46,0±26,3
ALC (mg $CaCO_3$/L) [a]	640,0±69,3	133,3±49,3	249,5±87,1	278,0±54,5	540,7±250,8
AVT/ALC [a]	0,6±0,3	0,2±0,1	0,5±0,2	0,2±0,2	0,09±0,05
DQO total entrada (mg/L) [a]	10146±918	5184±637	6456±926	3814±314	1825±210
DQO total saída (mg/L) [a]	1324±591	261±132	568±186	156±58	129±78
DQO solúvel saída (mg/L) [a]	660±173	142±67	416±187	109±67	93±76
Remoção DQO total (%) [a]	86,8±6,2	94,8±2,5	91,1±3,0	95,9±1,5	93,1±3,8
Remoção DQO solúvel (%) [a]	93,5±1,7	97,2±1,4	93,6±2,7	97,1±1,7	95,1±3,8
Produção $Biogás_{CNTP}$ (L/d) [a,b]	5,8	3,1	2,0	2,5	1,5
CH_4 (%)	--	93,6	89,6±8,6	95,9±2,7	93,6±1,8
Produção $Metano_{CNTP}$ (L CH_4/d) [a]	--	2,9	1,8	2,4	1,4
PEM_{CNTP} (mLCH_4/g DQO_{remov})[c]	--	142	83	198	254

[a] = no período estável; [b] determinada em gráfico de volume acumulado x tempo; [c] determinada em gráfico de volume acumulado x DQO removida acumulada.

Com base nos resultados obtidos nos experimentos conduzidos em respirômetro, foram estabelecidas as seguintes condições para a partida do reator: DQO na alimentação em torno de 12.000 mg/L e TRH de 3 dias, para uma carga orgânica volumétrica (COV) de 4 kg DQO/m^3.d.

No primeiro regime manteve-se uma COV média de 4,5 kg DQO/m^3.d, que resultou no decaimento da eficiência de remoção de DQO após cerca de 20 dias de operação. A COV foi então reduzida no segundo regime para 1,9 kg DQO/m^3.d, o que resultou na recuperação da eficiência de remoção de DQO por quase 30 dias, decaindo em seguida.

No terceiro regime tentou-se um aumento menor da concentração de DQO, passando-se para uma COV média de 2,5 kg DQO/m^3.d, que resultou em um período de boa remoção de DQO (entre o 120º e 140º dia de operação), novamente seguido de queda da eficiência de remoção de DQO.

No quarto regime, já com conhecimento da concentração de metanol no meio de alimentação, reduziu-se a COV para uma média de 1,5 kg DQO/m^3.d, resultando na recuperação da eficiência do reator por mais de 40 dias, decaindo em seguida. No quinto e último regime a COV foi reduzida ainda mais para uma média de 0,6 kg DQO/m^3.d, com o reator se recuperando e mantendo uma boa remoção de DQO por cerca de 40 dias.

A variação da COV ao longo da operação do reator é apresentada na Figura 4.12. As setas na Figura representam períodos de operação em batelada, em função de feriados ou recessos ou falta de efluente, que impediram a alimentação do reator. Verificou-se que, em geral, após estes períodos em batelada, sem alimentação, o reator apresentava uma recuperação da eficiência de remoção de DQO, conforme será apresentado em seguida.

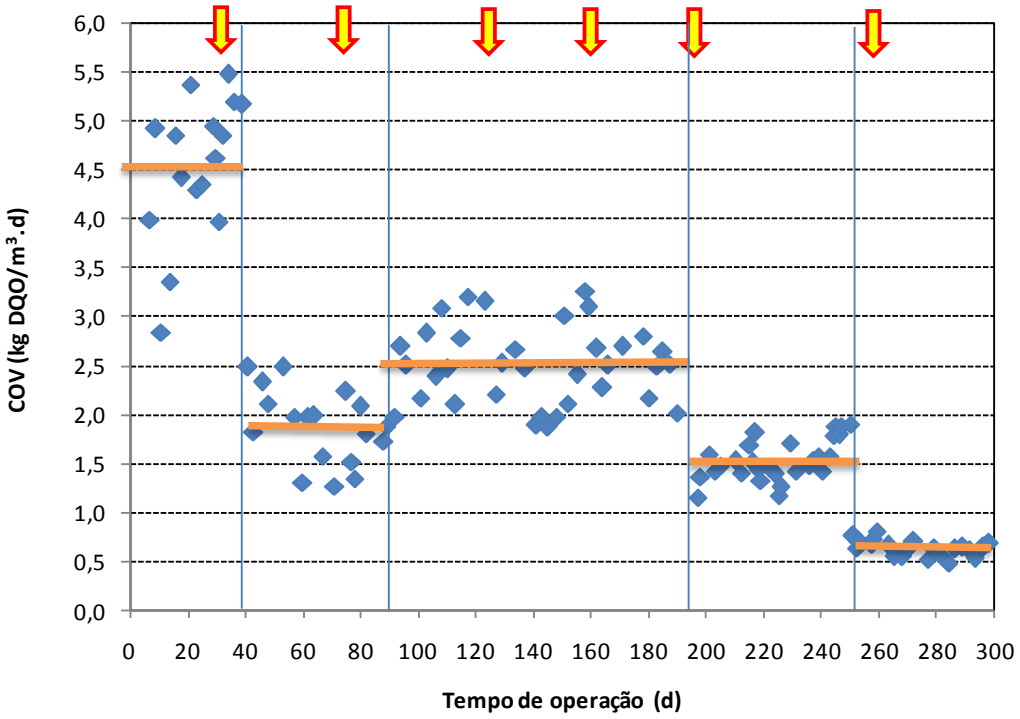


Figura 4.12 – Carga orgânica volumétrica nos diferentes regimes de operação do reator, separados pelas linhas verticais em azul (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d). Setas representam períodos de operação em batelada: seta 1 – 10 d, seta 2 – 7 d, seta 3 – 7 d, seta 4 – 8 d, seta 5 – 37 d, seta 6 – 18 d.

Zandvoort *et al.* (2003) avaliaram diferentes cargas orgânicas em reator UASB contendo meio basal composto de metanol, macro e micronutrientes. Os valores médios de COV empregados no estudo foram 2,6 kg DQO/m^3.d para o primeiro regime, 5,2 kg DQO/m^3.d para o segundo e 7,8 kg DQO/m^3.d para o terceiro regime. O TRH foi mantido em 12 h durante os 261 dias de operação. Nestes regimes, os autores observaram que o pH de saída manteve-se próximo de 7,5 para o primeiro, 7,1 para o segundo e 6,6 para o terceiro regime. A diminuição do pH no último regime, segundo os pesquisadores, ocorreu devido ao acúmulo de ácidos voláteis no reator. O que também foi comprovado pela comparação do percentual de metano no biogás gerado, sendo de aproximadamente 86,8 e 79,4%, para o primeiro e terceiro regimes, respectivamente.

Pode-se observar que, neste trabalho, como já mencionado anteriormente, para uma COV média de 2,5 kg DQO/m^3.d, o pH de saída ficou próximo de 6,4, provavelmente devido ao acúmulo de ácidos voláteis no reator. Uma possível explicação para a diferença de pH com COV similares, pode ser

o TRH, que neste estudo foi maior (3 dias). O maior tempo de contato entre possíveis compostos tóxicos presentes no efluente da produção de biodiesel e o consórcio microbiano pode ter inibido a produção de metano, que no segundo regime, com COV próxima a 1,9 kg DQO/m^3.d foi de 2,9 L CH_4/d (CNTP), enquanto no terceiro regime, com aumento da COV para cerca de 2,5 DQO/m^3.d, a produção de metano foi reduzida para cerca de 1,8 L CH_4/d (CNTP) .

A temperatura da sala climatizada manteve-se relativamente constante ao longo de todo o período de operação, oscilando entre 28^0C e 32^0C. Apesar da temperatura não ser medida diretamente dentro do reator, o material de construção do mesmo (acrílico) permite uma troca eficiente de temperatura. Desta forma, a temperatura da sala é praticamente a mesma do conteúdo do reator.

Sant'Anna Jr. (2010) cita que, independentemente da capacidade de adaptação das comunidades microbianas, deve-se evitar que os reatores anaeróbios sejam submetidos a mudanças bruscas de temperatura de grande amplitude e por períodos suficientemente longos.

Deublein e Steinhauser (2011) afirmam que a temperatura deve ser mantida precisamente dentro de uma faixa de ± 2ºC. Do contrário, perdas de biogás de até 30% têm de ser levadas em conta. Após o primeiro e segundo regimes, nos quais a variação foi maior, a temperatura se manteve estável, em 30ºC, em média. A variação da temperatura foi muito pequena, de no máximo 1ºC/dia, o que é favorável à manutenção da atividade metanogênica.

Em função do preparo da alimentação do reator três vezes por semana e do ajuste diário da vazão da bomba de alimentação, ocorreram variações na DQO de alimentação e no TRH, resultando nas médias e desvios-padrão apresentados na Tabela 4.10. As variações do TRH também podem ser visualizadas graficamente na Figura 4.13. Os resultados dos experimentos conduzidos em frascos penicilina e em respirômetro indicaram valores em torno de 2 a 3 dias. Assim, procurou-se manter estes valores de TRH, com pequenas variações em função de alterações da vazão da bomba de alimentação.

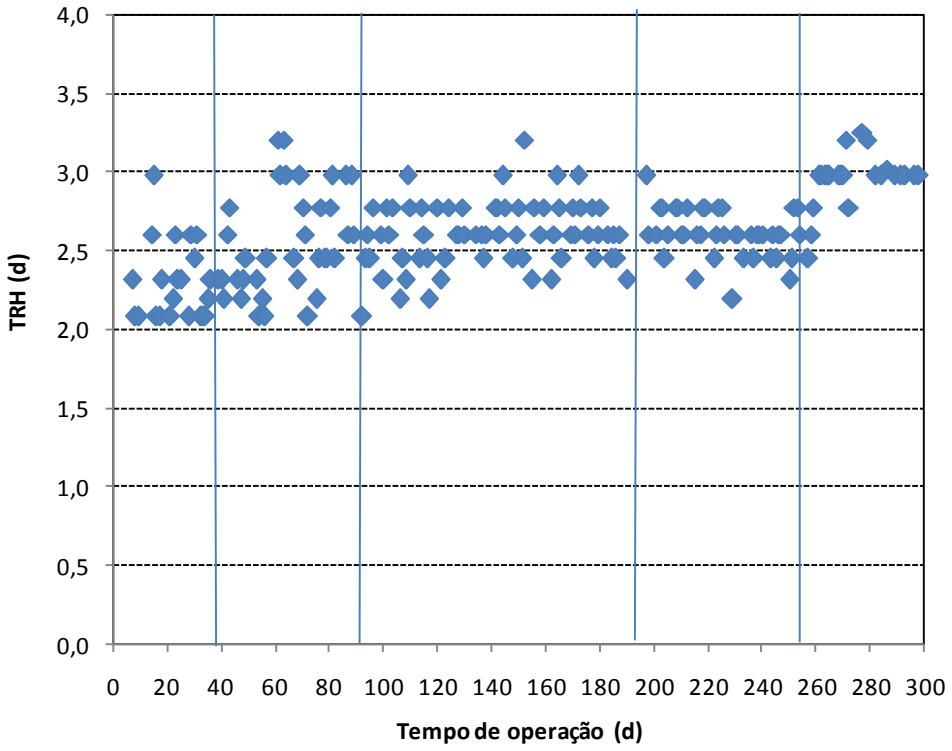


Figura 4.13. Variação do TRH do reator UASB ao longo do período de operação. As linhas verticais em azul marcam os cinco regimes de operação avaliados: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d).

Os micro-organismos produtores de metano apresentam crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4, embora se possa conseguir estabilidade na formação de metano em uma 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 estes podem inibir por completo os micro-organismos formadores de metano (CHERNICHARO, 2007).

Os valores de pH observados nos cinco regimes de operação permaneceram, em geral, dentro da faixa recomendada para uma operação estável (entre 6,0 e 8,0), à exceção de alguns períodos de instabilidade, mais adiante relacionados com o aumento da acidez no meio (Figura 4.14).

O pH do reator (pH saída) oscilou entre 6,5 e 8,0 no primeiro e segundo regimes e início do terceiro regime, estabilizando em torno de 6,5 a partir do 160º dia. No terceiro regime, o pH do reator decaiu consideravelmente, chegando a atingir valores abaixo de 6,0. Em valores de pH muito baixos o metabolismo da maioria das metanogênicas é inibido e a produção de ácidos orgânicos pelas bactérias hidrolíticas leva a uma redução ainda maior do pH e à interrupção da fermentação (DEUBLEIN e STEINHAUSER, 2011).

No quarto regime a alimentação teve o pH ajustado para valores próximos de 8,4 a fim de aumentar a alcalinidade do meio e o pH do reator. No entanto, tal procedimento não prejudicou de fato o reator, já que a remoção de DQO manteve-se acima dos 90% (Tabela 4.10). Já no quinto regime o pH da alimentação pôde ser reduzido (em média 7,7) para valores dentro da faixa recomendada, pois a produção e acúmulo de ácidos também foram reduzidos em função de uma menor COV aplicada.

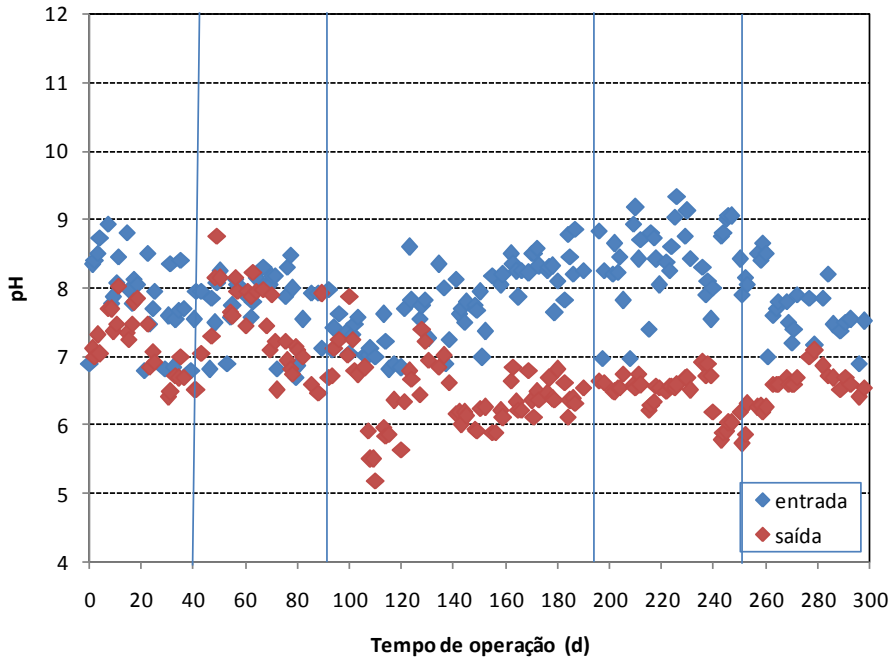


Figura 4.14. Variação de pH na entrada e saída do reator UASB ao longo da operação. As linhas verticais em azul marcam os cinco regimes de operação avaliados: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d).

A concentração de ácidos graxos voláteis totais (AGV) e a alcalinidade (Alk), de início elevadas, caíram consideravelmente após a partida do reator (Figura 4.15), indicando que os ácidos graxos voláteis produzidos nas etapas acidogênica e acetogênica foram consumidos na etapa metanogênica, sem acúmulo.

No entanto, a queda muito acentuada da alcalinidade (Alk), após 15 dias de operação do reator, reduziu a capacidade de tamponamento do mesmo e permitiu que a relação AGV/Alk saísse dos limites recomendados na literatura para a digestão anaeróbia, entre 0,1 e 0,5 mg HAc/mg $CaCO_3$ (CHERNICHARO, 2007), ao final do primeiro regime (Figura 4.15).

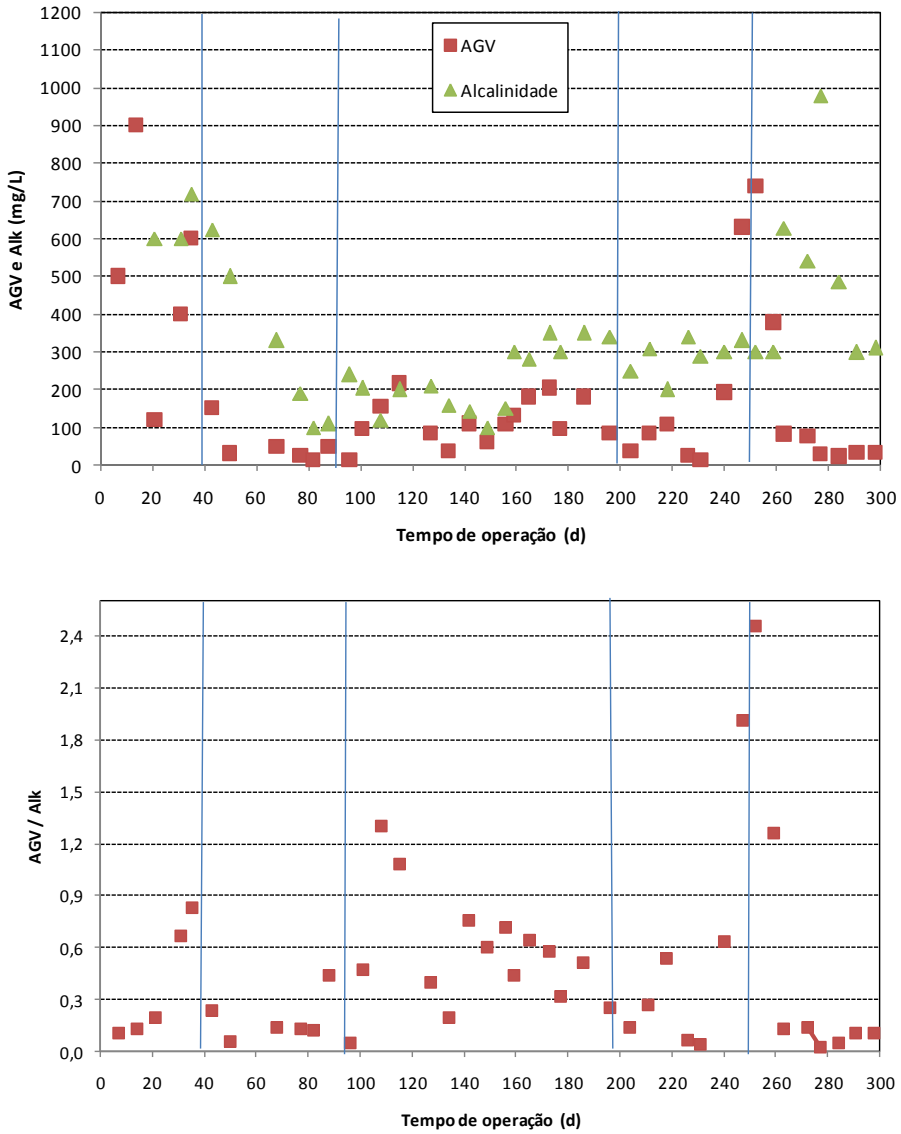


Figura 4.15. Ácidos Graxos Voláteis (AGV), Alcalinidade (Alk) e relação AGV/Alk durante a operação do reator nos cinco regimes delimitados pela linhas verticais em azul: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d).

Com a redução da DQO na alimentação no segundo regime, a produção de ácidos diminuiu e o reator retomou sua capacidade de tamponamento, com relações AGV/Alk dentro dos valores recomendados. Ao se aumentar a DQO de alimentação no terceiro regime para cerca de 6500 mg/L, entre os dias 100º e 120º ocorreu uma forte redução da capacidade de tamponamento do reator, levando a relação AGV/Alk novamente para valores acima de 1,0. Em função de algumas interrupções da alimentação (mostrados na Figura 4.12), o reator teve a concentração de AGV reduzida e recuperou sua capacidade de tamponamento, que voltou a se perder em torno de 160 dias de operação.

No quarto e quinto regimes a DQO da alimentação foi reduzida para 4000 e 2000 mg/L, respectivamente, na tentativa de reduzir os episódios de instabilidade, que cessaram no último regime avaliado. Após os primeiros 10 dias de operação, o reator recuperou sua estabilidade, que se manteve por mais 40 dias.

No primeiro regime o reator operou com DQO média na alimentação de 10146±918 mg/L, mantendo uma remoção acima de 90% nos primeiros 11 dias (DQO solúvel na saída de 561±155 mg/L), que caiu para cerca de 80% do 14º ao 21º dia (DQO solúvel na saída de 808±37 mg/L). Daí por diante, a remoção de DQO se manteve em valores reduzidos até que a alimentação do reator teve sua DQO reduzida para valores de 5184±637 mg/L a fim de reduzir uma provável inibição por metanol (até então os experimentos de inibição em respirômetro ainda não haviam sido realizados).

Neste segundo regime, a remoção de DQO estabilizou a partir do 6º dia, apresentando novamente valores acima de 90% e acompanhando a redução da relação AGV/Alk (Figura 4.16). No entanto, após cerca de 20 dias de operação estável, a remoção de DQO tornou a cair.

Uma nova tentativa de aumento gradual da DQO de alimentação foi feita no terceiro regime, e o mesmo comportamento se repetiu: após um curto período de estabilidade com DQO média de 6456±926 mg/L na alimentação, a remoção tornou a cair e não foi recuperada mesmo após um período em batelada no 156º dia.

No quarto regime, com DQO média na alimentação de 3814±314 mg/L, a remoção de DQO se manteve elevada por cerca de 40 dias, quando a relação AGV/Alk voltou a apresentar valores elevados.

No quinto regime, com redução da DQO de alimentação para 1825±210 mg/L, o reator recuperou a remoção de DQO concomitantemente com a redução da relação AGV/Alk.

Uma análise dos resultados obtidos em termos de remoção de DQO e da relação AGV/Alk revelou que os períodos de melhor desempenho do reator ocorreram após períodos de operação em batelada e com menor relação AGV/Alk. Enquanto os períodos de instabilidade e baixa eficiência coincidiram com o acúmulo de AGV, inibição da atividade das metanogênicas e menor produção de biogás.

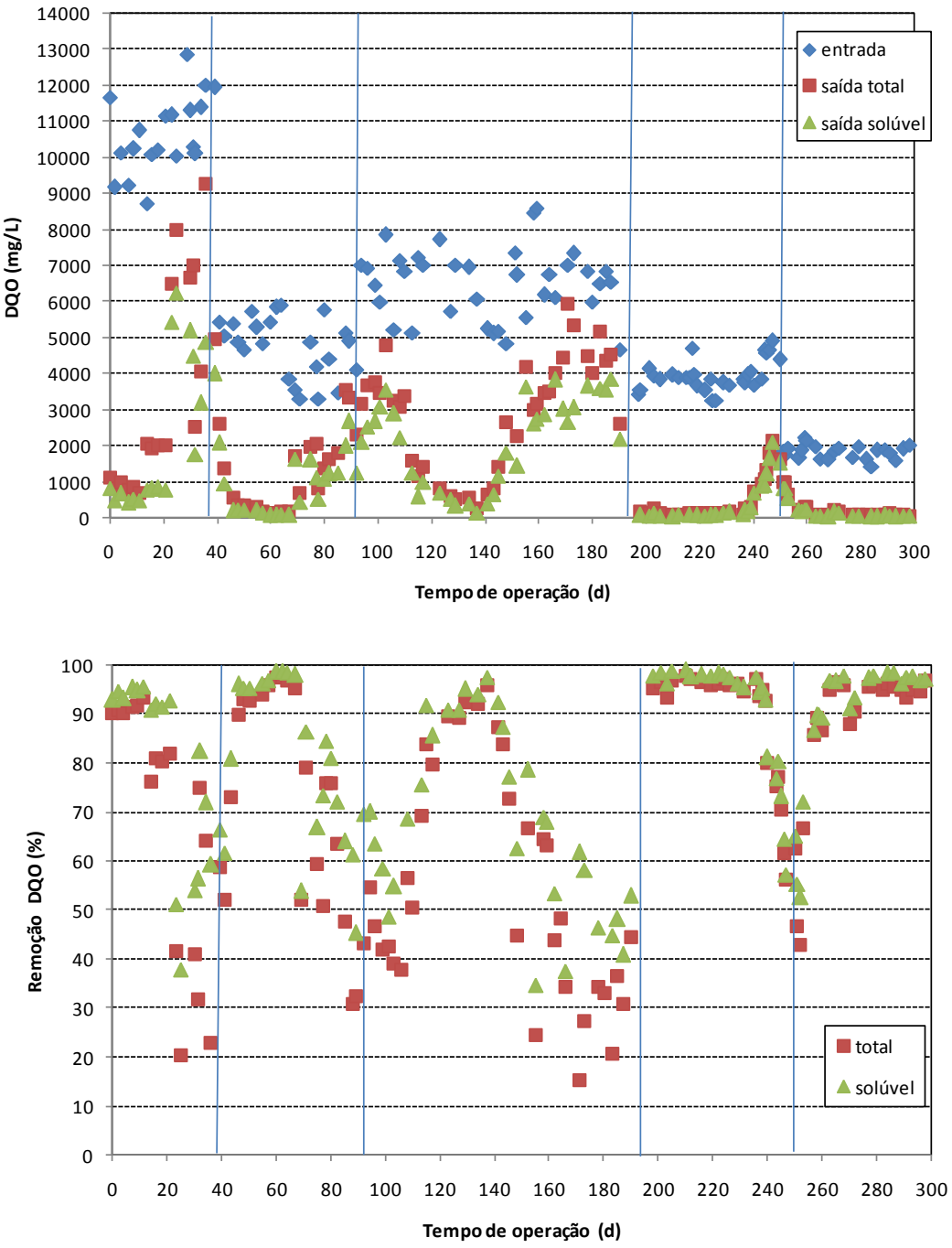


Figura 4.16. Variação da DQO de entrada e saída e da remoção de DQO durante a operação do reator nos cinco regimes delimitados pela linhas verticais em azul: (reg. 1 – 4,54; reg. 2 – 1,88; reg. 3 – 2,52; reg. 4 – 1,53; e reg. 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d).

Tendo sido estabelecida uma metodologia para quantificação de metanol por cromatografia gasosa, constatou-se que nos períodos de pior desempenho do reator - entre os dias 70 e 110 do segundo para o terceiro regime, e entre os dias 150 e 190 do terceiro regime – as amostras do efluente após o tratamento físico-químico apresentavam 50,08 e 128,04 g metanol/L, respectivamente. Considerando a diluição necessária para reduzir a DQO aos valores de

operação, a alimentação do reator apresentava concentrações de metanol de 4,2 a 5,0 g/L.

Lettinga *et al.* (1979) avaliaram a influência do pH e das concentrações de elementos-traço, AGV e bicarbonato em um reator UASB tratando solução aquosa contendo metanol, apontando uma faixa ótima de pH entre 5,5-6,0 para a conversão direta de metanol a metano. A conversão global de metanol a metano era mais rápida a concentrações mais altas de bicarbonato e consequentemente a valores mais altos de pH. O processo de fermentação era estimulado pela adição de um ou mais elementos-traço (Co, Mo, B, Zn, Mn, Cu ou Fe). Na presença de elementos-traço, uma fração significativa do metanol, que dependia diretamente da concentração de bicarbonato, era convertida a AGV. Ao suprimir a solução de elementos-traço na alimentação, a formação de AGV era reduzida, assim como a produção de metano.

Bhatti *et al*. (1993) avaliaram a degradação de metanol em reator UASB e obtiveram eficiência de remoção de 83,9% para uma carga de 15 g metanol/L.d. A eficiência caía para cerca de 70% com uma carga de 32 g metanol/L.d. No reator do presente estudo, as concentrações de metanol obtidas nos períodos de instabilidade correspondem a cargas de 2 g metanol/L.d, ou seja, bem abaixo dos valores operados pelos autores. No entanto, os autores mencionam que em torno do 40º dia de operação do reator ocorreu um descontrole do processo com o pH caindo para 5,5 por dois ou três dias.

A operação foi normalizada e o pH aumentou após adição contínua de 60 mL/L de uma solução 0,5 M de $NaHCO_3$ (ou 2,52 g/L) na alimentação do reator para manter a capacidade de tamponamento. No último regime deste estudo, cerca de 0,94 g/L de $NaHCO_3$ foi adicionado à alimentação do reator, visando o ajuste de pH. A produção de AGV e o pH resultante seriam, segundo os autores, os principais parâmetros de controle da digestão anaeróbia de resíduos metanólicos.

Mais tarde, os mesmos autores (BHATTI *et al*., 1996) chegaram às seguintes conclusões, após avaliarem a operação de um reator UASB alimentado com solução de metanol e nutrientes por mais de 400 dias: o pH ótimo está na faixa de 7,0-7,3. Nesta faixa de pH não ocorreu qualquer descontrole ou falha do processo. Eficiências de remoção de 80% de COT

foram obtidas para cargas de até 21 g metanol/L.d e TRH de 45h. Outra conclusão do estudo foi a de que a rota de degradação do metanol é governada pelo pH. Para pH próximo de 7,0, o metanol é convertido diretamente a metano (por espécies do gênero *Methanosarcina*) ou através da formação de acetato (por metanogênicas acetoclásticas) ou uma combinação de ambas. A pH 5,0 ~ 6,0, metanogênicas hidrogenotróficas são responsáveis pela conversão (utilizando H_2 e CO_2). Uma última conclusão foi a de que o tratamento em uma única etapa de resíduos metanólicos é possível desde que o pH seja mantido entre 7,0 e 7,5.

Os resultados da literatura demonstram que a operação do reator deve ser monitorada com mais cuidado em termos de pH e concentração de bicarbonato na alimentação. A operação com menor COV (no 5º regime) permitiu a manutenção do pH do reator em uma faixa mais adequada (entre 6,6 e 7,1 no período de estabilidade – Figura 4.14) e boas eficiências de remoção de DQO total e solúvel (93% e 95%, em média).

Com base na determinação de metanol e DQO em amostras de efluente bruto estabeleceu-se uma relação entre estes dois parâmetros (Anexo A2), que permitiu a verificação da relação entre a concentração de metanol e os resultados de operação do reator em termos de pH e remoção de DQO.

Verifica-se na Figura 4.17 que os períodos de melhor remoção de DQO solúvel (acima de 90% - destacados na figura) coincidem com períodos de menor relação AGV/Alk e maiores valores de pH no reator, comprovando dados da literatura.

Com relação à concentração de metanol, já não se observa uma relação tão forte com a remoção de DQO solúvel (Figura 4.18). Pode-se verificar que se obtém elevadas remoções de DQO com concentrações de metanol variando de 1000 a 7000 mg/L.

No entanto, à exceção do período de partida do reator, quando o lodo ainda se encontrava em período de adaptação aos constituintes do efluente, maiores remoções de DQO e maior estabilidade só seriam observadas nos períodos de menor concentração de metanol (abaixo de 4000 mg/L). Tal comportamento corrobora os resultados observados nos ensaios realizados em respirômetro, de que um contato prolongado com maiores concentrações de metanol poderia levar a alguma inibição do processo de degradação anaeróbia.

Na verdade, os períodos de melhor operação do reator coincidem com períodos após redução da DQO de alimentação (e, portanto, da carga de metanol), interrupção da alimentação (operação em batelada) e melhor controle do pH no reator.

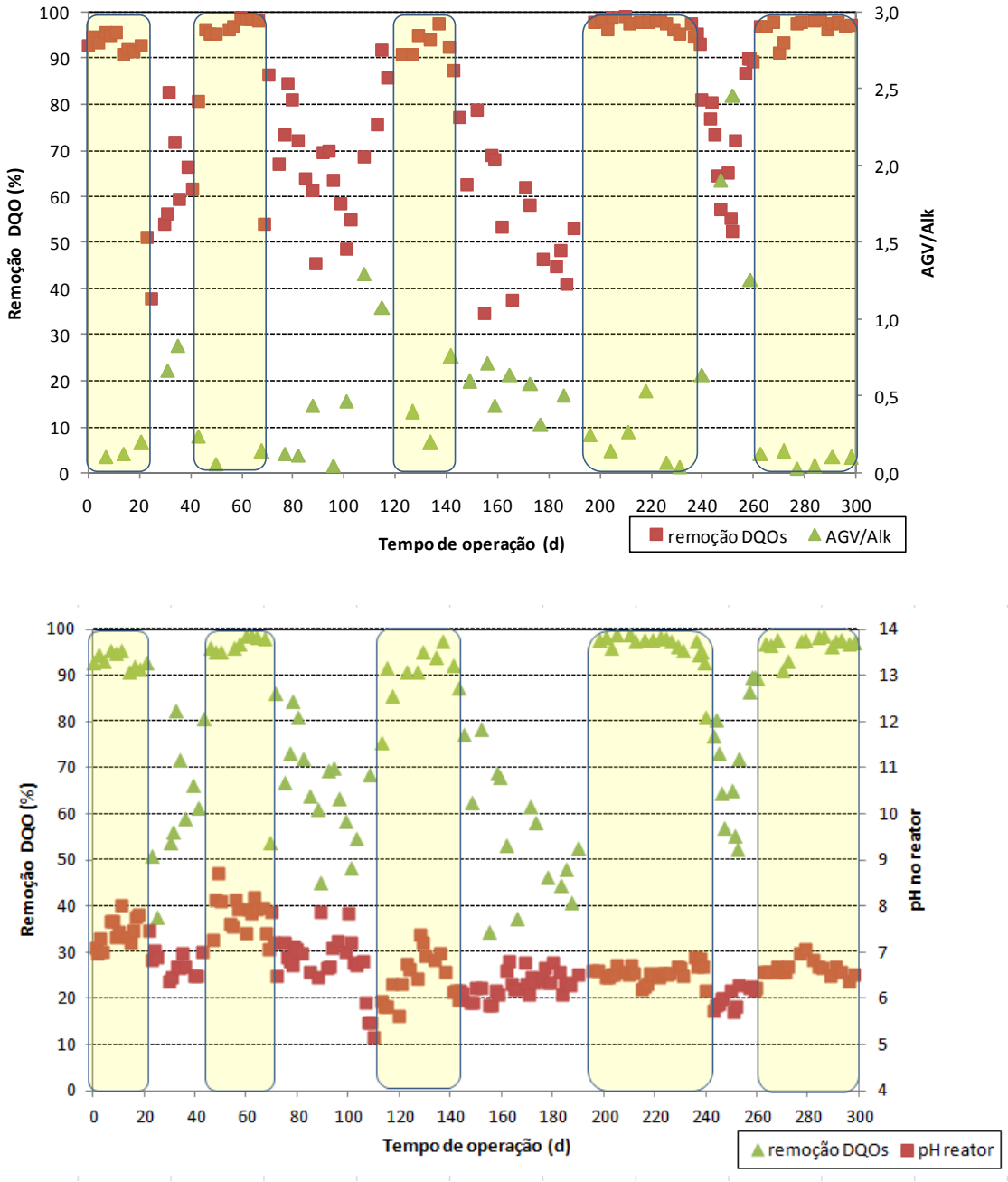


Figura 4.17. Relação entre AGV/Alk e pH do reator e remoção de DQO solúvel no decorrer dos 5 regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d.

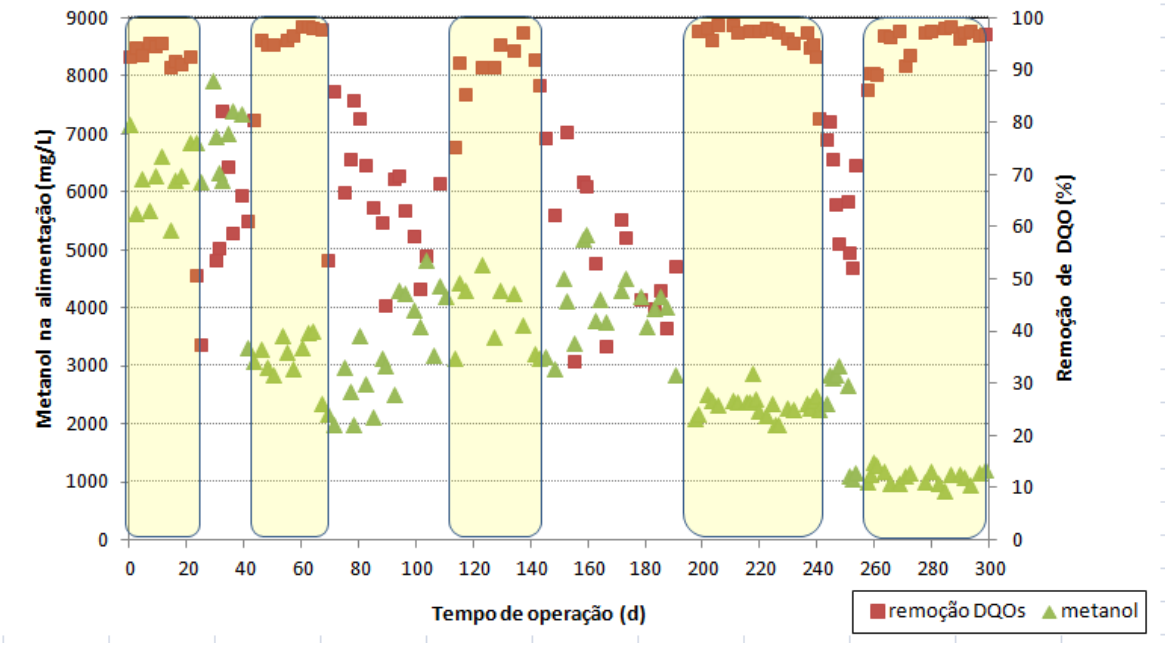


Figura 4.18. Relação entre remoção de DQO solúvel e concentração de metanol na alimentação no decorrer nos regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d.

A concentração de sólidos suspensos no efluente do reator se manteve relativamente constante e alta no 1º regime, decaindo no 2º regime e mantendo-se em níveis muito baixos do 3^0 regime em diante. Considerando que a vazão de alimentação não foi alterada do 1º para o 2º regime, esta queda se deve a um arraste quase total de partículas de lodo de menor tamanho no 1º regime.

Os valores de sólidos suspensos voláteis e fixos apresentaram valores próximos de zero, desde o 2º regime, mesmo com o aumento do volume de amostra proveniente da saída do reator levada à filtração, visando melhor quantificar estes sólidos e comprovar se os valores eram realmente próximos a zero. Os resultados de sólidos suspensos totais podem ser visualizados na Figura 4.19.

No 1º regime de operação do reator, a produção de biogás foi de 5,8 L/dia (CNTP) do início da operação em regime contínuo até o 18º dia de operação e, após este dia, reduziu para 3,6 L/dia (CNTP), conforme pode ser visualizado na Figura 4.20, que ilustra a produção acumulada de biogás no decorrer da operação. O declínio acentuado da produção de biogás no 1º regime pode ser associado a um acúmulo de AGV no reator, que reduziu a

assimilação da matéria orgânica, conforme observado para a DQO na Figura 4.16.

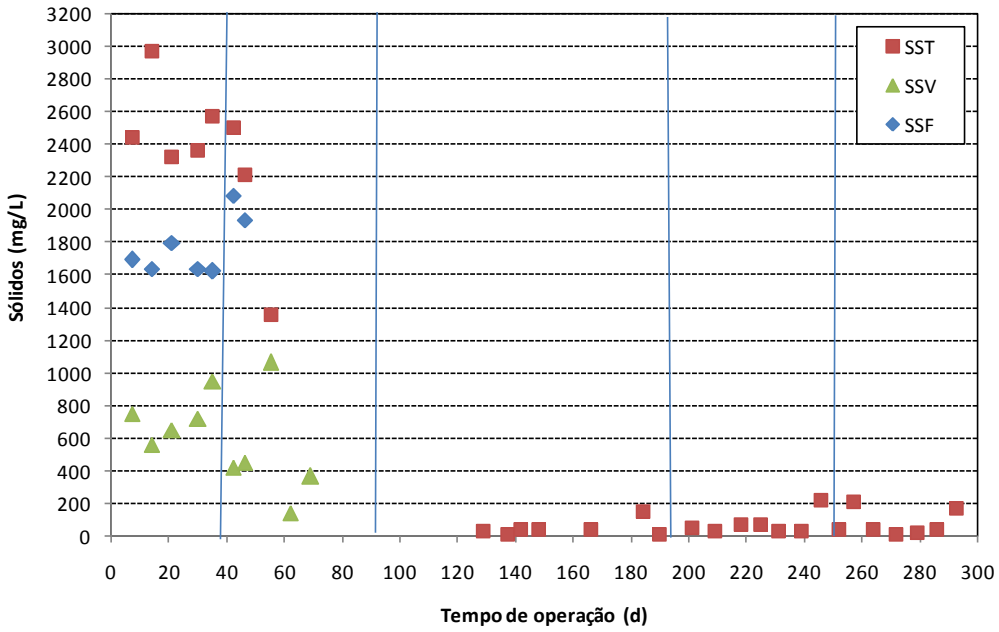


Figura 4.19. Sólidos suspensos totais, voláteis e fixos mensurados no efluente do reator no decorrer dos 5 regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d.

Com uma maior diluição do efluente no 2º regime, esta inibição foi reduzida e o reator retomou a produção de biogás a uma velocidade similar à obtida no regime anterior, apesar da menor COV (3,1 L/d – CNTP). A produção de biogás cai à metade (1,6 L/d) após cerca de 20 dias de operação neste regime. No 3º regime, ao se aumentar a COV novamente, a produção aumenta para quase 2 L/d mas volta a cair à metade após cerca de 40 dias de operação (para 1 L/d).

No 4º e 5º regimes, com COV mais baixa, a produção de biogás se manteve em 2,5 e 1,4 L/d, respectivamente. Uma boa correlação entre COV aplicada e produção de biogás foi obtida nos períodos de operação estável do reator, descartando o valor obtido para o 3º regime, no qual a instabilidade se manteve por quase todo o regime (Figura 4.21). Este resultado é indicativo de que nestes períodos de operação estável, a população microbiana mantinha as mesmas taxas de conversão de matéria orgânica, produzindo biogás proporcionalmente à matéria orgânica fornecida.

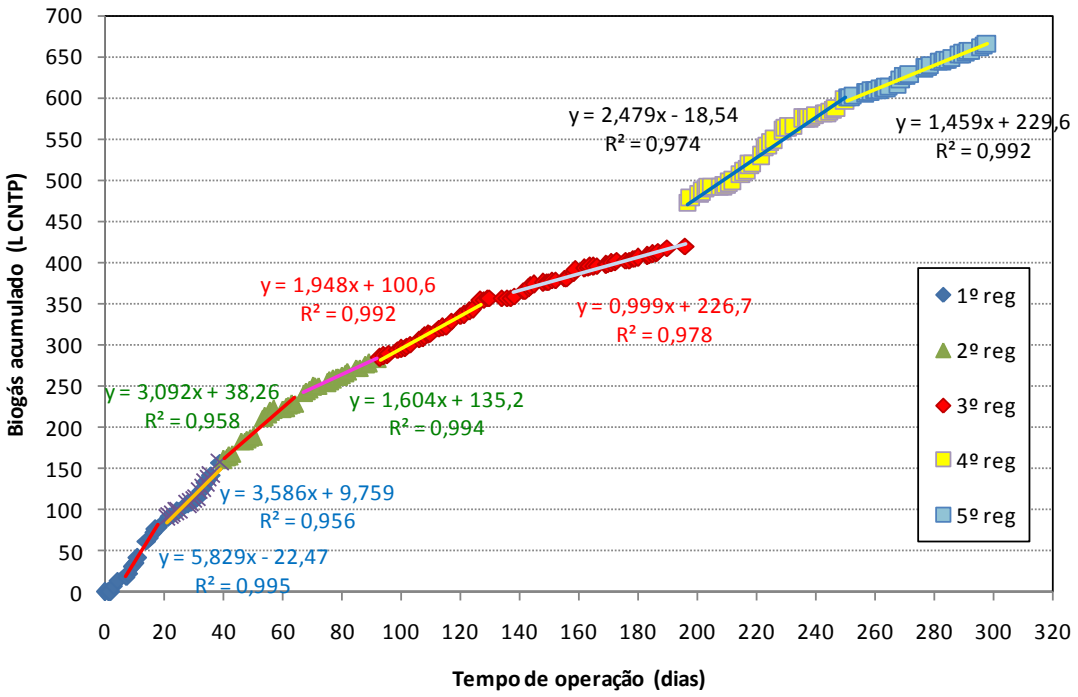


Figura 4.20. Produção acumulada de biogás (CNTP) no decorrer dos 5 regimes: 1 – 4,54; 2 – 1,88; 3 – 2,52; 4 – 1,53; e 5 – 0,63 kg DQO/m^3.d.

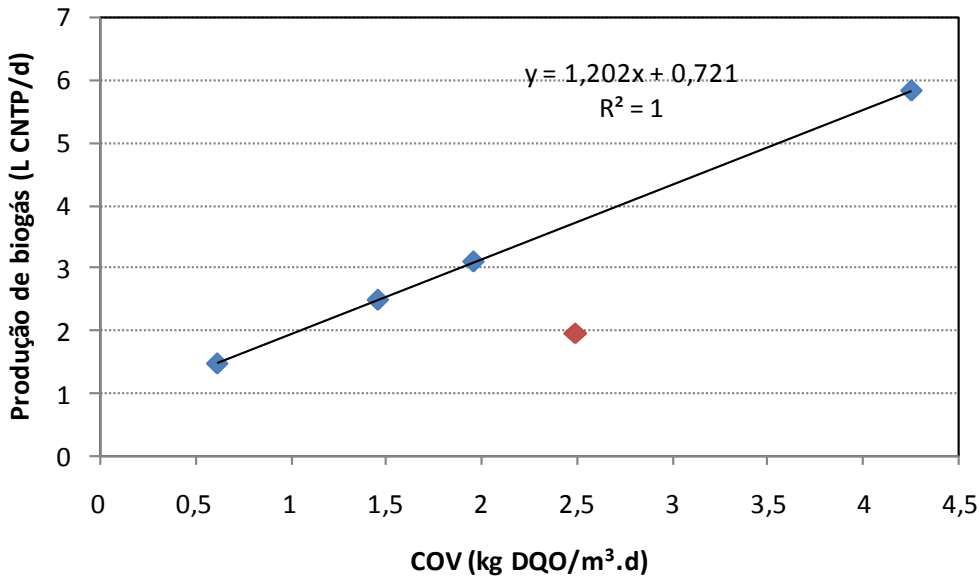


Figura 4.21. Correlação entre COV aplicada e produção de biogás (L CNTP/d) no reator.

Uma produção específica de biogás média foi calculada para cada regime através de gráficos de taxa de produção de biogás acumulado versus DQO removida acumulada, como apresentado na Figura 4.22. Verifica-se que esta apresenta valores menores até o 3º regime, provavelmente devido a

sucessivos episódios de inibição da degradação completa de matéria orgânica. No 4º e 5º regimes, com períodos mais prolongados de operação estável, esta já apresenta valores bem maiores.

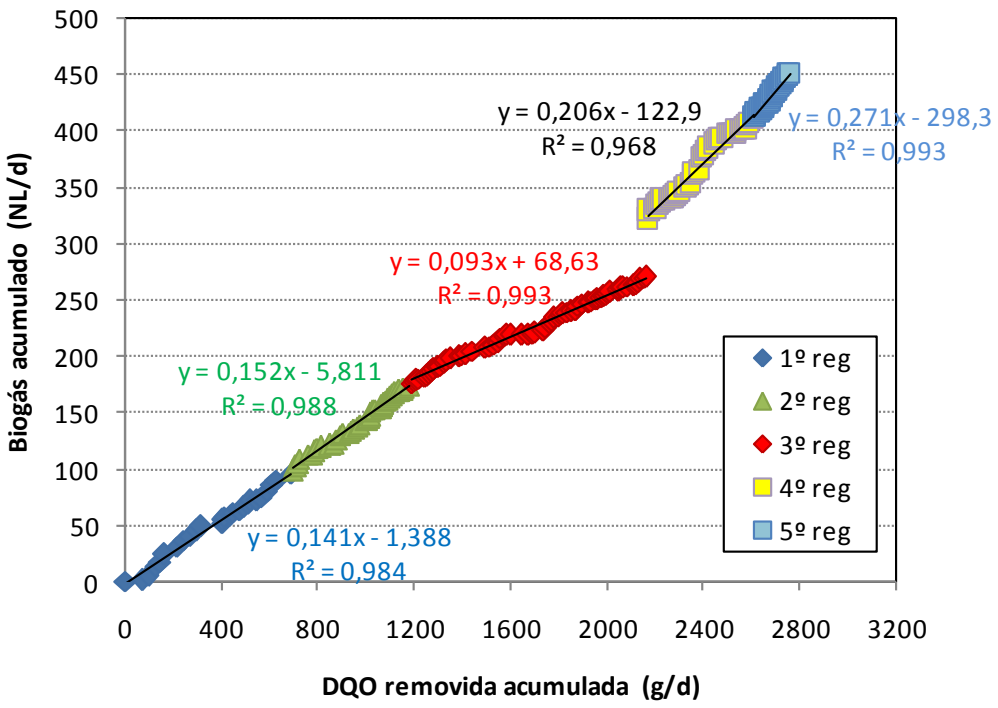


Figura 4.22. Relação entre volume de biogás acumulado (CNTP) versus DQO removida acumulada no reator.

Os valores de produção específica de biogás foram usados, juntamente com os percentuais de metano apresentados na Tabela 4.10, para estimar a produção específica de metano (PEM). No 2º e 3º regimes, a PEM foi de 142 mL CH_4(CNTP)/g $DQO_{removida}$ e 83 mL CH_4(CNTP)/g $DQO_{removida}$, respectivamente. Os dois regimes apresentaram valores muito aquém do valor estequiométrico (350 mL CH_4/g DQO nas CNTP) (CHERNICHARO, 2007).

Já no 4º e 5º regimes, a PEM foi de 198 e 254 mL CH_4(CNTP)/g $DQO_{removida}$, respectivamente. Este resultado comprova que a alimentação do reator com baixas cargas, associada a um controle rigoroso do pH, melhora consideravelmente a atuação das metanogênicas, que respondem com uma maior produção de metano.

Na Figura 4.23 é apresentada uma correlação entre COV aplicada no reator UASB e COV removida com dados de todos os regimes de operação avaliados. Verifica-se que nos regimes 1, 2 e 3, com COV aplicada de 4,5, 1,9 e 2,5 kg DQO/m^3.d, respectivamente, os pares de dados (COV aplicada x COV removida) se distanciam muito mais da diagonal que representa a completa remoção de DQO total. Enquanto nos regimes 3 e 4, com COV aplicadas menores (1,5 e 0,6 kg DQO/m^3.d), os pares de dados se apresentam mais próximos da completa remoção. Este resultado comprova que a alimentação do reator com baixas cargas facilita a atuação das metanogênicas, promovendo uma melhor remoção de DQO do efluente.

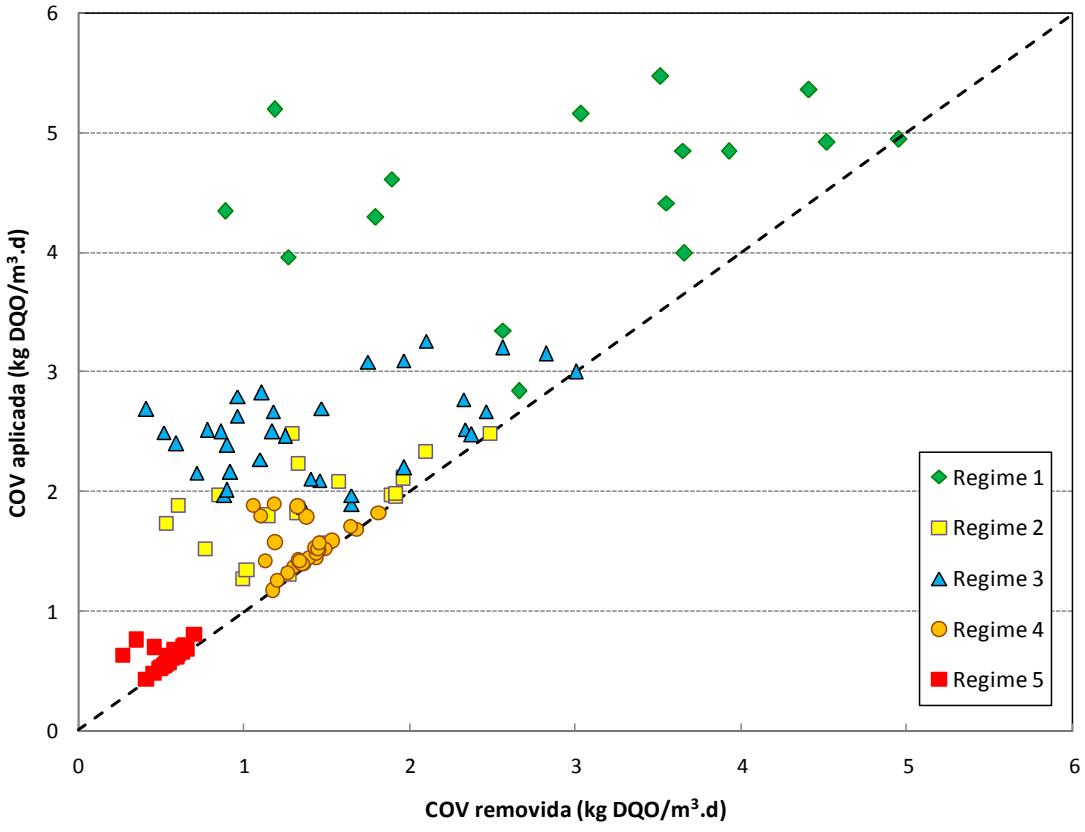


Figura 4.23. Correlação entre COV aplicada e COV removida durante toda a operação do reator.

.

Capítulo 5: Conclusões e Sugestões

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- a caracterização do efluente bruto e após tratamento físico-químico e biológico:

- contribuiu para melhor conhecimento do efluente objeto do estudo, suas carências nutricionais e constituintes que poderiam ser possíveis agentes inibitórios no tratamento biológico anaeróbio;
- comprovou que o efluente bruto apresenta elevado potencial poluidor, contendo constituintes passíveis de remoção por tratamento físico-químico e biológico;
- permitiu observar que houve uma diminuição progressiva de diversos constituintes a cada tratamento aplicado, o que corrobora a eficiência e importância de processos integrados para o tratamento do efluente em questão.

- na avaliação da melhor condição de suplementação para o tratamento biológico anaeróbio:

- verificou-se melhores resultados de suplementação de nitrogênio com NH_4Cl em comparação com a mesma concentração na forma de uréia;
- a adição de NH_4Cl e KH_2PO_4 para uma relação DQO:N:P de 350:5:1 e solução de micronutrientes (1 mL/L) resultou em maiores PEM com lodo novo e adaptado (268,8 e 278,9 mL CH_4/g.$DQO_{removida}$), sendo esta condição selecionada para a partida de um reator UASB de bancada.

- na avaliação da inibição do tratamento biológico anaeróbio por metanol verificou-se que:

- a adição de metanol até 4000 mg/L não reduziu a produção de metano em comparação à condição Controle em ensaios conduzidos em batelada e no primeiro contato do lodo com o composto;
- o fornecimento contínuo de altas concentrações de metanol pode levar a alguma inibição da produção de metano por metanol.

- na avaliação de inibição por salinidade, glicerol e metanol no tratamento biológico anaeróbio verificou-se que:

  - concentrações de sódio até 2000 mg/L em meio à base de sacarose não apresentaram efeito inibitório, que apareceu somente na concentração de 5000 mg/L (concentração no efluente sem diluição);
  - sódio na concentração de 5000 mg/L, em meio composto por metanol e glicerol, não apresentou efeito sobre a produção de metano comparado à concentração de 200 mg/L, mas a maior concentração foi responsável por um maior tempo de adaptação do lodo;
- a produção de metano foi inibida sob maior concentração de glicerol (2957 mg/L) em meio contendo metanol e glicerol;
- porcentagens de inibição calculadas com base na PEM obtida na condição Controle, revelaram inibição somente com 5000 mg/L de sódio (em meio com sacarose) e com 2957 mg/L de glicerol (em meio com 200 mg/L de sódio e 267 mg/L de metanol), ou seja, com maior concentração de sódio e glicerol, respectivamente, sendo a inibição por sódio mais acentuada.

- na operação do reator UASB por 291 dias, a 30ºC, com TRH de 3d e diferentes COV constatou-se que:

- a alimentação contínua do reator com COV de 1,5 a 4,5 kg DQO/m^3.d resultou em curtos períodos de estabilidade e boa remoção de DQO, seguidos de perda de eficiência de remoção de DQO;
- a operação nestas COV levou a um acúmulo dos ácidos voláteis, decréscimo do pH e inibição das metanogênicas;
- o melhor desempenho do reator ocorreu após períodos de operação em batelada e com menor relação AGV/Alk. Enquanto os períodos de instabilidade e baixa eficiência coincidiram com o acúmulo de AGV, inibição da atividade das metanogênicas e menor produção de biogás;
- a operação do reator deve ser monitorada com mais cuidado em termos de pH e concentração de bicarbonato na alimentação;
- a alimentação com menor COV (0,6 kg DQO/m^3.d) permitiu a manutenção do pH do reator em uma faixa mais adequada (entre 6,6 e

7,1 no período de estabilidade) e boas eficiências de remoção de DQO total e solúvel (93% e 95%, em média).

Como sugestão para trabalhos futuros propõe-se:

- Um estudo mais detalhado da inibição por salinidade (incluindo o estudo de outros cátions) e glicerol, já que neste trabalho foi realizado um estudo preliminar que necessita de mais dados para construção de uma faixa de concentrações toleráveis, moderadamente inibitórias e inibitórias para estes compostos, facilitando o melhor entendimento da influência destes compostos que, em meio sintético simularam o que ocorre com o efluente da produção de biodiesel em reator UASB;
- Avaliar a alimentação do reator anaeróbio com amostra de efluente contendo elevada DQO e baixa concentração de metanol, a fim de verificar o efeito da descarga da corrente oriunda da regeneração das torres de refrigeração, contendo vários cátions em elevada concentração;
- Adotar a recirculação do efluente tratado anaerobiamente para obter a composição da alimentação do reator com valores de COV aceitáveis;
- A avaliação de um pós-tratamento aeróbio.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **Determinação de metanol por cromatografia gasosa**. 4ª edição. ABNT NBR 15343:2012, 2012.

ALPHENAAR, P. A.; SLEYSTER, R.; DE REUVER, P.; LIGTHART, G. J.; LETTINGA, G. **Phosphorus requirement in high-rate anaerobic wastewater treatment.** Water Research, v. 27, n. 5, p. 749-756, 1993.

ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K. **Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia.** Applied Microbiology Biotechnology, v. 38, n. 4, p. 560-564, 1993.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Biocombustíveis**. Disponível em: <http:// http://www.anp.gov.br/?pg=74914&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&1430748609349. Acessado em: 04/05/2015.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater** (Eds: L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, A.D. Eaton, E.W. Rice), American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, Washington DC, 2005.

ARAÚJO, A.B.L. **Tratamento do efluente da produção de biodiesel a partir do rejeito de óleo de fritura**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 89 p., 2011.

BARRAQUE, C. H. y otros. Manual Técnico del Agua – Coagulación y Floculación del Agua. Ed. Degremont, Salamanca-Espanha. 1979.

BHATTI, Z. I., FURUKAWA, K., FUJITA, A. M. **Treatment performance and microbial structure of a granular consortium handling methanolic waste**. Journal of Fermentation and Bioengineering, v. 76, n. 3, p. 218-223, 1993.

BHATTI, Z. I., FURUKAWA, K., FUJITA, M. **Feasibility of methanolic waste treatment in UASB reactors**. Water Research, v. 30, n. 11, p. 2559-2568, 1996.

BIODIESELBR. **Revista Biodieselbr**. Ano 7, n^0 39, fevereiro/março, 2014.

BRITISH STANDARD. **Fat and oil derivatives, fatty acid methyl esters (FAME). Determination of sodium by atomic absorption spectrometry',** BS EN 14109:2003, p.1-12, 2003.

CALLI, B.; MERTOGLU, B.; INAN, B.; YENIGUN, O. **Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors**. Process Biochemistry, v. 40, p. 1285-1292, 2005.

CETESB - COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Primeiro Inventário Brasileiro de Emissões Antrópicas de Gases de Efeito Estufa – Relatórios de Referência**. Ministério da Ciência e Tecnologia. 86 p., 2006.

CHAVALPARIT, O.; ONGWANDEE, M. **Optimizing electrocoagulation process for the treatment of biodiesel wastewater using response surface methodology**. Journal of Environmental Sciences, v. 21, n. 11, p. 1491-1496, 2009.

CHEN, J. L.; ORTIZ, R.; STEELE, T. W. J. STUCKEY, D. C. **Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review**. Biotechnology Advances, n. 32, p. 1523-1534, 2014.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios**- Edição Revisada e Ampliada. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, 379 p., 2007.

CHISTI, Y. **Biodiesel from microalgae**. Biotechnology Advances. v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CNPE - CONSELHO NACIONAL DE POLÍTICA ENERGÉTICA (BRASIL). **Resolução CNPE: Resolução vigente publicada em 23 de outubro de 2009**. Ministério de Minas e Energia. 16 p., 2009.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (BRASIL). **Resoluções Conama: Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012**. Ministério do Meio Ambiente. 1126 p., 2012.

DABDOUB, M.J.; BRONZEL, J.I.; RAMPIN, M.A. **Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria.** Química Nova, v. 32, n. 3, p. 776-792, 2009.

DAMASCENO, F. R. C. **Aplicação de preparado enzimático e biossurfactante no tratamento anaeróbio de efluente com alto teor de gordura**. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 178 p., 2013.

DE BONI, L.A.B.; GOLDANI, E.; MILCHAREK, C.D.; SANTOS, F.A. **Tratamento físico-químico da água de lavagem proveniente da purificação do biodiesel**. Periódico Tchê Química, v. 4, n. 7, p. 41-51, 2007.

DEUBLEIN, D., STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources**. 2nd Ed., Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2011.

DEZOTTI, M., **Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos**. 1ª ed. Rio de Janeiro, E-papers Serviços Editoriais Ltda., 360 p., 2008.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. R. **Volatile acids by direct titration**. Journal Water Pollution Control Federation, v. 23, n. 4, p. 356-365, 1961.

FANGRUI, M.; MILFORD, A. H. **Biodiesel production: a review**. Bioresource Technology, v.70, p. 1-15, 1999.

FLORENCIO, L.; JENICEK, P.; FIELD, J. A.; LETTINGA, G. **Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol.** Journal of Fermentation and Bioengineering. v. 75, n. 5, p. 368-374, 1993.

FLORIDO, P. L. Comunicação pessoal, 2015.

GRANGEIRO, R. V. T. **Caracterização da água de lavagem proveniente da purificação do biodiesel.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 40 p., 2009.

HUTNAN, M.; KOLESAROVA, N.; BODIK, I.; CZOLDEROVA, M. **Long-term monodigestion of crude glycerol in a UASB reactor**. Bioresource Technology, v.130, p. 88-96, 2013.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. OACS Press, 2nd edition, 2010.

KOSTER, I. W.; LETTINGA, G. **Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations.** Biological Wastes, v. 25, n. 1, p.51-59, 1988.

LETTINGA, G.; VAN DER GEEST, A. TH.; HOBMA, S.; LAAN, V. D. J. **Anaerobic treatment of methanolic wastes**. Water Research, v. 13, n. 8, p 725-737, 1979.

MA, J.; MUNGONI, L. J.; VERSTRAETE, W., CARBALLA, M. **Maximum removal rate of propionic acid as a sole carbon source in UASB reactors and the importance of the macro- and micro-nutrients stimulation**. Bioresource Technology, v. 100, n. 14, p. 3477-3482, 2009.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. **Microalgae for biodiesel production and other applications: A review**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

McCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public Works* – Parts 1, 2, 3 and 4, v. 95, n. 9, p. 107-112; n. 10, p. 123-126; n. 11, p. 91-94; n. 12, p. 95-99, 1964.

MENESES, J.M.; VASCONCELOS, R.F.; FERNANDES, T.F.; ARAÚJO, G.T. **Tratamento do efluente do biodiesel utilizando a eletrocoagulação/flotação: investigação dos parâmetros operacionais**. Química Nova, v. 35, n. 2, p. 235-240, 2012.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse.** 4th ed. New York: McGraw Hill, p. 10-20, 2003.

OLIVEIRA, H. B. **Tratamento de efluente da indústria de biodiesel visando o aproveitamento energético**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 75 p., 2013.

PALOMINO-ROMERO, J. A.; LEITE, O. M.; EGUILUZ, K. I. B.; SALAZAR-BANDA, G. R.; SILVA, D. P.; CAVALCANTI, E. B. **Tratamento dos efluentes gerados na produção de biodiesel.** Química Nova, v. 35, n. 2, p. 367-378, 2012.

PAULO, P. L.; VALLERO, M. V. G.; TREVIÑO, R. H. M.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. **Thermophilic (55^{0}C) conversion of methanol in methanogenic-UASB reactors: influence of sulphate on methanol degradation and competition**. Journal of Biotechnology, v. 111, n. 1, p. 79-88, 2004.

PAULO, P. L.; VILLA, G.; VAN LIER, J. B.; LETTINGA, G. **The anaerobic bicarbonate dependence.** Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 96, n. 3, p. 213-218, 2003.

RATTANAPAN, C.; SAIWAN, A.; SUKSAROJ, T.; SUKSAROJ, C. **Enhanced efficiency of dissolved air flotation for biodiesel wastewater treatment by acidification and coagulation processes.** Desalination, v. 280, n. 1 – 3, p. 370-377, 2011.

RFA - RENEWABLE FUEL AGENCY. **The Gallagher review of the indirect effects of biofuels production**, 2008. Disponível em: https://www.unido.org/fileadmin/user_media/UNIDO_Header_Site/Subsites/Green_Industry_Asia_Conference__Maanila_/GC13/Gallagher_Report.pdf . Acessado em: 24/02/2015.

RINZEMA, A.; BOONE, M.; VAN KNIPPENBERG, K.; LETTINGA, G. **Bactericidal effect of long chain fatty acids in anaerobic digestion**. Water Environmental Research. v. 66, n.1, p. 40-49, 1994.

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

SANT'ANNA JR., G. L. **Tratamento Biológico de Efluentes: Fundamentos e Aplicações**, Ed. Interciência, Rio de Janeiro, Brasil. 424 p., 2010.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Cartilha de Biodiesel**. Brasília, Distrito Federal, 65 p., 2007.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. **A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors.** Bioresource Technology, v. 65, n. 3, p.175-190, 1998.

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 Biotechnology, v. 162, n. 8, p.2365-2380, 2010.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. **Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable**. Biotechnology Advances, v. 27, n.4, p. 409-416, 2009.

SILES, J. A.; GUTIÉRREZ, M. C.; MARTÍN, M. A.; MARTÍN, A. **Physical–chemical and biomethanization treatments of wastewater from biodiesel manufacturing** .Bioresource Technology, v. 102, n. 10, p. 6348-6351, 2011.

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

SILES, J. A.; MARTÍN, M. A.; CHICA, A. F.; MARTÍN, A. **Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing**. Bioresource Technology, v. 100, n. 23, p. 5609-5615, 2009.

SILVA, F. A. N. G.; FRANÇA, S. C. A. **Utilização da Flotação por Ar Dissolvido na Recuperação de Água da Indústria Mineral.** XI Jornada de Iniciação Científica do CETEM, 2003.

SOUZA, M. E. **Fatores que influenciam a digestão anaeróbia.** Revista DAE, v. 44, n. 137, p. 88-94, 1984.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Archae Press, USA, p. 566-588, 1996.

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, n. 4, p. 437-442, 2005.

VALENTE, A. M. **Aplicação de enzimas hidrolíticas no tratamento biológico anaeróbio de efluente de indústria de pescado.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 125 p., 2009.

VAN VELSEN, A. F. M. **Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations**. Water Research, v. 13, n. 10, p. 995-999, 1979.

VELJKOVIC, B. V.; STAMENKOVIC, S. O.; TASIC, B. M. **The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, n. 32, p. 40-60, 2014.

VOET, D.; VOET, J. G. **Bioquímica**. Ed. Artmed, 1596 p., 2007.

ZANDVOORT, M. H.; GEERTS, R.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. **Methanol degradation in granular sludge reactors at sub-optimal metal concentrations: role of iron, nickel and cobalt.** Enzyme and Microbial Technology, v. 33.n. 2-3. p.190-198, 2003.

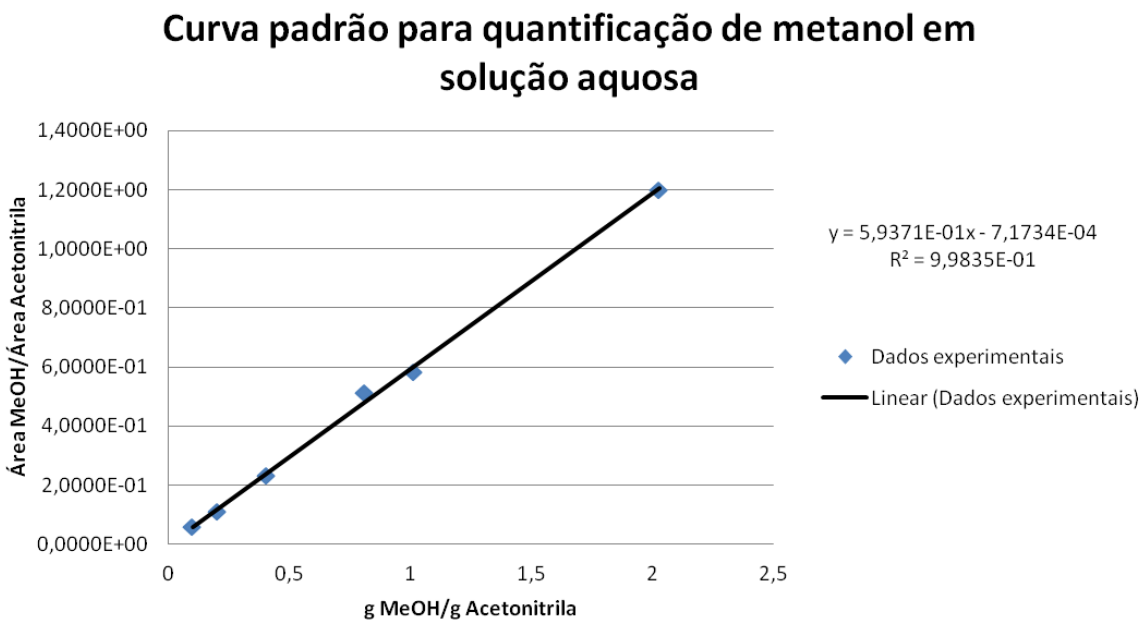
Anexos

ANEXO A1

Curva padrão para quantificação de metanol em solução aquosa por CG

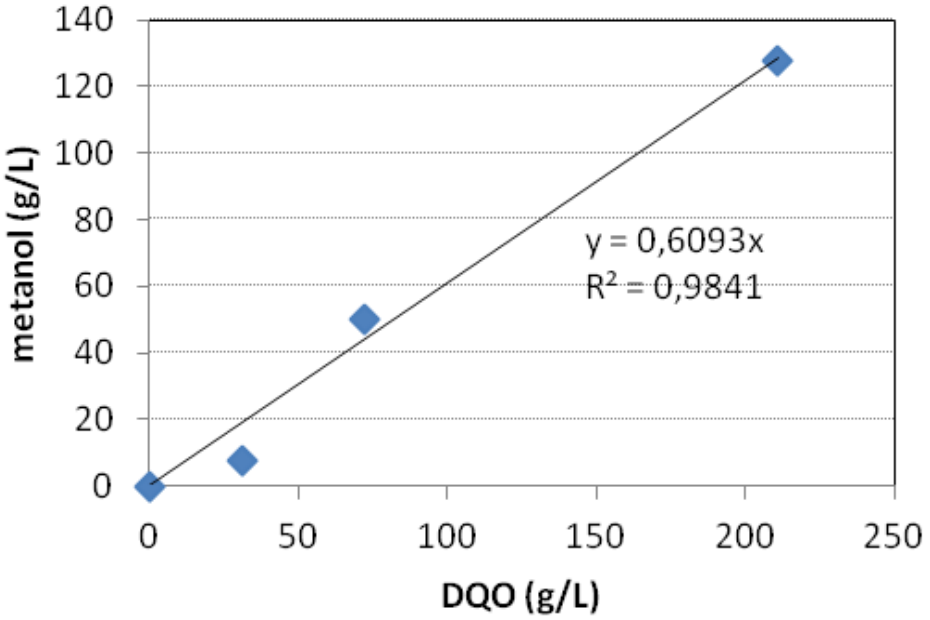
Foi utilizado acetonitrila p.a. como padrão interno e soluções de metanol p.a. foram preparadas e analisadas quanto à concentração de metanol (por CG). A correlação obtida é mostrada na Figura abaixo.

Curva padrão de quantificação do metanol		
Concentração (%v/v)	g MeOH/g Acetonitrila	A MeOH/A Acetonitrila
0,06%	0,101124045	5,8784E-02
0,13%	0,202564103	1,1214E-01
0,26%	0,40449618	2,3339E-01
0,51%	0,81025641	5,1379E-01
0,64%	1,012820513	5,8448E-01
1,28%	2,02880609	1,2005E+00



ANEXO A2

Correlação entre as concentrações de metanol e DQO no efluente

Soluções de metanol p.a. foram preparadas e analisadas quanto à concentração de metanol (por CG) e DQO (método padrão). A correlação obtida entre DQO e concentração de metanol, medidas em diferentes amostras de efluente, é mostrada na Figura abaixo.

Conc. Metanol (g/L)	DQO (g/L)
7,82	31,50
50,08	72,52
128,04	210,67