

VALORIZAÇÃO ENERGÉTICA DE GLICEROL BRUTO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA, PRÉ TRATAMENTO POR ULTRASSONS

Larissa PAULISTA¹, Rui BOAVENTURA¹, Vitor VILAR¹, Alexei PINHEIRO², Ramiro MARTINS^{1,3}

¹ LSRE-LCM, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Brasil

³ Escola Superior de Tecnologia e Gestão - Instituto Politécnico de Bragança

larissa@fe.up.pt, bventura@fe.up.pt, vilar@fe.up.pt, alexeiinp@utfpr.edu.br, rmartins@ipb.pt.

Resumo

A digestão anaeróbia do glicerol bruto proveniente da produção de biodiesel é uma alternativa que vem sendo estudada para sua valorização mediante a produção de metano. A elevada carga orgânica (1800 g CQO.L⁻¹) do glicerol bruto pode provocar stress cinético, o que se traduz numa inibição dos microrganismos metanogénicos. Para contornar o problema, uma alternativa é o uso prévio da energia ultrassónica, que promove o rompimento da parede celular e da membrana, libertando material intracelular que favorece a biodigestão. Contemplando esta alternativa, este trabalho teve como objetivo principal testar um pré-tratamento utilizando ultrassons para facilitar a posterior digestão anaeróbia do glicerol bruto.

Introdução

A produção de biodiesel gera como subproduto glicerol bruto, que pode ser utilizado num conjunto alargado de processos industriais. Possui pureza que varia de 23% a 87%^[1,2], por isso, dependendo da sua utilização é necessário remover impurezas, o que encarece o preço de venda, podendo tornar-se inviável economicamente^[3,4]. Além disso, o aumento da produção de biodiesel, conduziu a que atualmente haja uma produção excedentária de glicerol, o que ocasiona uma desvalorização comercial e ainda impacto no preço do biodiesel. Neste contexto, torna-se interessante avaliar outras formas de valorização do glicerol^[4].

Um meio de valorização do glicerol bruto é a sua biotransformação, recorrendo a microrganismos, em compostos com maior valor económico agregado. Dessa forma, sistemas de digestão anaeróbia vêm sendo estudados, em que se utiliza o glicerol bruto como substrato para a produção de metano e hidrogénio^[5,6].

Os ultrassons são utilizados como pré-tratamento físico para melhorar a eficiência do processo de digestão^[7,8]. A exposição de células microbianas à energia dos ultrassons rompe a parede celular e a membrana liberta material intracelular, o que favorece a biodigestão. Além disso, o ultrassom também ajuda a desaglomerar os flocos biológicos e transforma partículas orgânicas de grandes dimensões em partículas de menor tamanho^[9]. O objetivo deste trabalho foi estudar a valorização energética do glicerol bruto recorrendo ao processo de digestão anaeróbia e, melhorar a eficiência adicionando um tratamento prévio por ultrassons.

Materiais e Métodos

Digestor batch de mistura completa

Num digestor batch de mistura completa (500 mL), foram adicionados 300 mL de inóculo e glicerol bruto nas concentrações de 0,2, 1,7 e 3,2%. De acordo com as características do glicerol foram adicionados: nitrato de potássio (C:N de 25:1), fosfato dissódico (C:P de 120:1) e bicarbonato de sódio (2 g L⁻¹). Foi avaliado o tratamento anaeróbio, sem e com pré tratamento por ultrassons. O pré-tratamento físico, seguiu a metodologia em que, cada amostra é colocada no equipamento de ultrassons (Selecta, 9 L) (Figura 1) durante uma hora por dia, até totalizar o tempo total de 3, 9 e 15 horas. Foi avaliado o biogás produzido diariamente (% CH₄ e volume); a CQO (inicial, após 15 dias e final - 30 dias); os ST, SF e SV (15 dias e final - 30 dias)^[10] através de *design fatorial 2²* e ainda os ácidos carboxílicos no material digerido^[11]. A experiência foi realizada com controle de temperatura na fase mesófila, 35°C a 40°C.

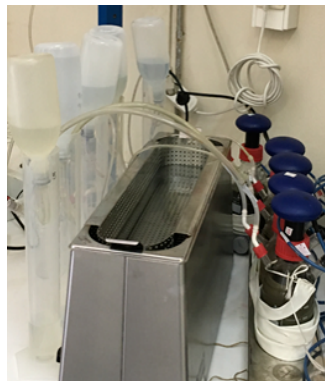


Figura 1: Equipamento de ultrassons.

Ensaio em contínuo usando um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket Digestion)

Após os ensaios preliminares no reator batch de mistura completa, as condições experimentais mais favoráveis foram avaliadas num reator tipo UASB em “Y” de 16,5 L de volume útil (Figura 2). O reator UASB foi operado com um Tempo de Retenção

Hidráulico (TRH) de 11,5 d. O reator foi alimentado em contínuo e com carga orgânica equivalente a 0,2% de glicerol v/v; 0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹ (A - semanas 1-3); 0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹ + 15 h de ultrassons (B - semanas 4 e 5). A alimentação do reator (Figura 2 – 1 a 3) foi realizada por recurso a bomba peristáltica controlada por um temporizador, que ficava ligado por um período de 15 min a um caudal de 2 mL.min⁻¹, em seguida, desligava por 15 min e assim sucessivamente. Tal procedimento corresponde a um caudal diário de 1440 mL.d⁻¹ e um TRH de 11,5 d. A temperatura interna no reator foi de 40 a 45°C. O decantado (volume decantador 7 L) era bombeado (Figura 2 - 12) e recirculado (16 mL.min⁻¹) voltando ao reator UASB (Figura 2 - 13), e controlado para funcionar quatro vezes por dia, pelo período de 15 min. No reator foram controlados pH e temperatura. Além disso, foi avaliado o volume gás, % metano, série de sólidos, fósforo, CQO^[10] e também os ácidos carboxílicos no material residual após a digestão anaeróbia^[11].

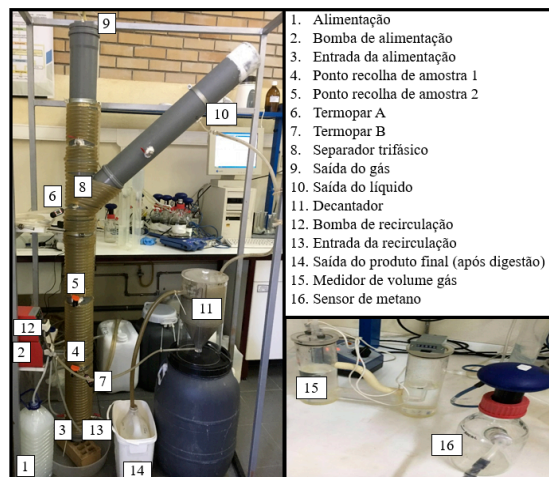


Figura 2: Ilustração experimental do reator UASB.

Resultados e Discussão

Digestor batch de mistura completa

Com os valores do tempo de exposição do glicerol aos ultrassons e a concentração de substrato foi possível obter a % CH₄ (qualidade do gás). Através da análise estatística pelo *design fatorial 2²* obteve-se a Equação 1, com um R² de 99,88% e *valor-P* de 0,003, que representa a rejeição da hipótese nula.

$$\text{CH}_4 (\%) = 27,943 + 0,01 (T_0) - 3,11 (T_3) + 3,03 (T_9) + 0,07 (T_{15}) + 47,16 (S_{0,2\%}) - 22,85 (S_{1,7\%}) - 24,32 (S_{3,2\%}) \quad \text{Equação 1}$$

onde: CH₄ (%), Percentagem de metano; T, tempo de exposição aos ultrassons (h); S_{0,2%}, substrato de 0,2% de glicerol; S_{1,7%}, substrato de 1,7% de glicerol; S_{3,2%}, substrato de 3,2% de glicerol.

De acordo com a

Figura 3, quanto menor a concentração do glicerol na alimentação e maior a energia específica (E_{esp}), melhor é a qualidade do gás gerado (C) e maior a produção de metano, quer por massa de glicerol (A), quer relativamente aos SV (B). Bougrier et al.^[12] referem que o aumento da E_{esp} origina uma tendência decrescente no d_{50} (50% das partículas com diâmetro igual ou inferior ao original). Quando as partículas diminuem o tamanho há um aumento da área de contato com os microrganismos. A razão SV/ST (Figura 3 - D) é menor com o aumento da E_{esp} e para menor carga de glicerol, o que resulta numa lama menos estabilizada, na fase de crescimento dos microrganismos^[13,14].

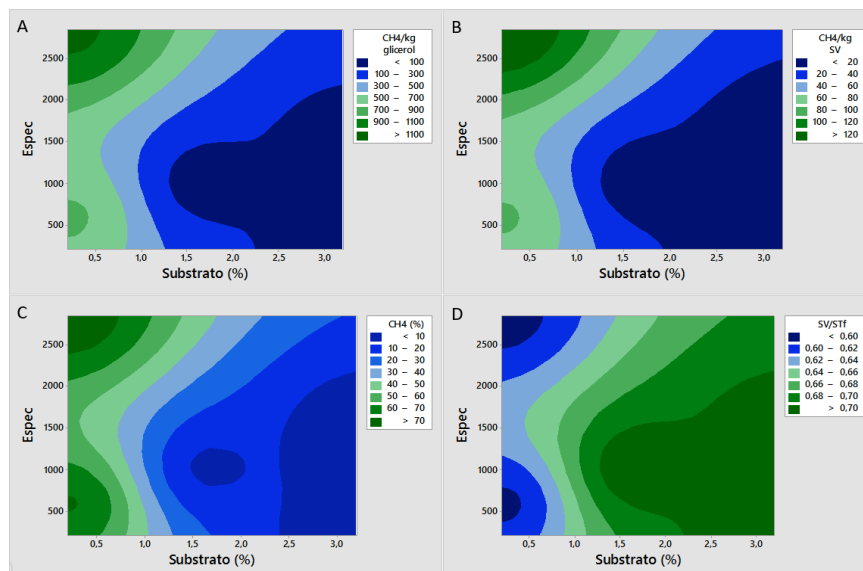


Figura 3: Relação da E_{esp} e da concentração de substrato com os parâmetros analisados.

Segundo Weemaes e Verstraete^[9] a exposição de células microbianas a energia ultrassónica liberta material intracelular. Para a concentração de 0,2% de glicerol, o volume de metano aumentou de 575 mL para 707 mL, após 15 h de exposição do substrato a ultrassons, um acréscimo de 23%. Ao passo que para a concentração de glicerol de 1,7% e 9 h de ultrassons o volume de metano obtido foi de 55 mL. Para a concentração de glicerol de 3,2%, o volume de metano foi de 23,5 mL para o período de 3 h.

Os ensaios experimentais em que o glicerol foi previamente tratado com ultrassons, apresenta remoções significativas da CQO, no intervalo 30% a 80%, como

representado na Figura 4. Estes valores de remoção são similares aos obtidos por Ma et al.^[15], remoção de 75% da CQO na co-digestão anaeróbia do glicerol e água residual do processamento de batata (2 mL de glicerol/ L de água residual) com alimentação contínua em reator UASB e Silvestre et al.^[16] com remoção de 57% da CQO na co-digestão de glicerol (1,25% v/v) e lama de esgoto em um reator de mistura completa em contínuo. No entanto são valores baixos quando comparados com os registados por Athanasoulia et al.^[17], 88% a 96,4%, na co-digestão de glicerol bruto de biodiesel e lama de efluente doméstico.

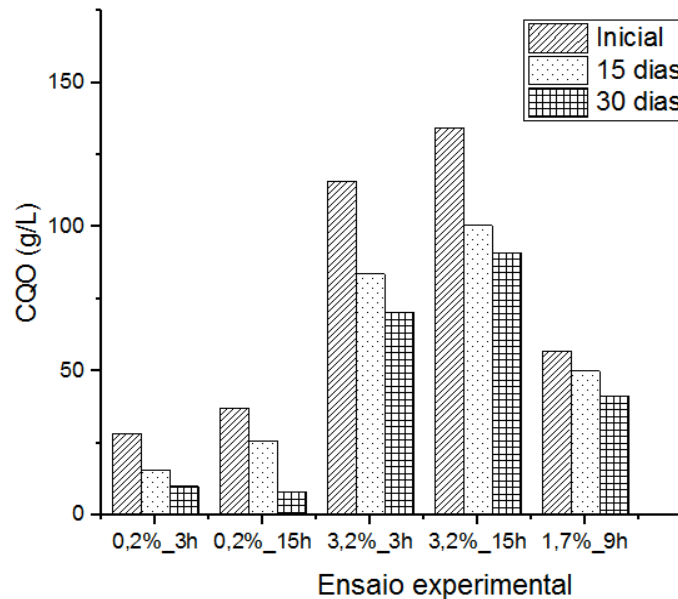


Figura 4: Remoção da CQO: pré-tratamento do glicerol por ultrassons.

A produção dos três ácidos encontrados foi maior para a concentração de glicerol de 1,7% e 9 h de ultrassons. Para a concentração de 0,2% de glicerol apenas foi detectado o ácido oxálico, sendo que para 3,2% de glicerol se produziram ácido oxálico e glutárico (Figura 5). O glicerol é transformado em ácido propiónico através da digestão anaeróbia; caso esse ácido não seja processado pelos microrganismos acetogénicos e metanogénicos, há uma acumulação desse material no produto final da digestão. Além disso, a concentração de ácido propiónico segue o aumento da adição de glicerol, pois o aumento de sobrecarga orgânica compromete as etapas seguintes à acidogénese^[17,18]. A formação de ácido glutárico está relacionada diretamente com a atividade da lipase libertada pelos microrganismos^[19]. Não ocorreu detecção deste ácido para baixa concentração de glicerol (0,2%), entretanto foi registada produção para 1,7% e 3,2% de glicerol.

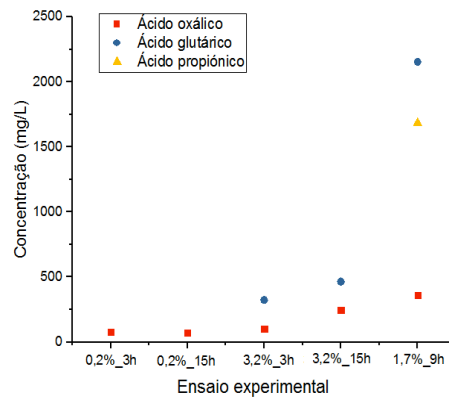


Figura 5: Concentração de ácidos carboxílicos no digerido final, com pré-tratamento do substrato por ultrassons.

Para a concentração de glicerol de 0,2% obtiveram-se resultados mais satisfatórios, quer no volume de biogás gerado, quer na sua qualidade, alcançando-se 78% de metano. A um incremento na exposição aos ultrassons de 3 para 15 h, a produção de metano registou um acréscimo de: 70% quando o referencial foi a concentração de SV, de 60% por massa de CQO alimentada e de 60% por massa de glicerol. Para o presente estudo a produção de biogás, sem e com 15 h de pré tratamento por ultrassons, na concentração de 0,2% de glicerol registou um aumento em 23% quando referida à concentração de SV, de 40% por massa de CQO alimentada e de 23% por massa de glicerol (Tabela 1).

Segundo Wang et al.^[20], a digestão anaeróbia acoplada a um pré-tratamento por ultrassons - potência de 200 W e frequência de 9 kHz - por períodos de 10, 20, 30 e 40 minutos aumentou a produção de metano em 15%, 38%, 68% e 75%, respetivamente. A produção de metano num reator anaeróbio batch, com lamas de esgoto, utilizando ultrassons registou um aumento de 14% na produção de metano, conforme Martínez et al.^[8]. Os ultrassons provocam a desaglomeração de flocos e a quebra oxidativa dos compostos recalcitrantes^[9] (Tabela 1).

Para alimentação com glicerol a 3,2% e 1,7% a produção de metano foi bastante baixa, pelo que o efeito do pré-tratamento por ultrassons não se sentiu. O fator limitante terá sido a produção de ácidos gordos voláteis na etapa intermédia, face à elevada concentração de CQO da alimentação, e que vieram a condicionar o rendimento do processo de digestão (Tabela 1). Na literatura, Athanasoulia et al.^[17] apontam inibição do processo de digestão anaeróbia com a utilização de 4% de glicerol pelos mesmos motivos.

Tabela 1: Produção de biogás e metano nos ensaios experimentais com pré-tratamento do glicerol por ultrassons.

Tempo ultrassons (h)	Subs. (%)	E_{esp}	CH ₄ (%)	CQO (g.L ⁻¹)	L biogás s.kg ⁻¹ CQO	L CH ₄ .kg ⁻¹ CQO	SV (g.L ⁻¹)	L biogás s.kg ⁻¹ SV	L CH ₄ .kg ⁻¹ SV	L biogás.kg ⁻¹ glicerol	L CH ₄ .kg ⁻¹ glicerol
-	0,2	-	75,15	1,1	705	530	5,9	129	97	1248	938
3	0,2	586	70,33	1,1	581	409	5,4	116	82	1028	723
15	0,2	2846	76,80	1,1	848	652	5,1	181	139	1501	1153
-	3,2	-	3,60	17,4	35,4	1,3	13,5	45,7	1,7	62,7	2,3
3	3,2	215	2,18	17,4	62	1,4	12	89	1,9	110	2,4
15	3,2	1387	2,07	17,4	7,5	0,16	9,1	14	0,3	13	0,3
-	1,7	-	5,11	9,2	34,7	1,8	14,4	22,3	1,1	61,4	3,1
9	1,7	1029	8,12	9,2	73	5,9	6,4	105	8,5	129	11

Ensaio em contínuo usando um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)

Para o ensaio experimental com alimentação de 0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹, a remoção da CQO alcançou um valor máximo de 20% (A). Foi significativo o aumento registado na remoção da CQO, quando o glicerol foi submetido a pré-tratamento com ultrassons, tendo a eficiência de remoção variado no intervalo 60 a 69% (B) (Figura 6 – [1]). O consumo médio de fósforo foi de 2 e 0,8 mg.L⁻¹ para A e B, respetivamente (Figura 6 – [2]). O pré-tratamento proporcionou maior remoção da CQO e menores valores para a remoção de fósforo, isto ocorre, pois, a quebra inicial das moléculas (hidrólise e acidogénese) inicia-se com o pré-tratamento. Consequentemente, a quantidade de fósforo requerido para a digestão anaeróbia é menor.

A razão SV/ST está diretamente correlacionada com o valor da concentração da biomassa no reator, sendo que, para um bom funcionamento do reator UASB, o valor ideal deve situar-se em torno de 0,67^[13,14]. No presente estudo, o valor obtido foi ligeiramente inferior ao referido na literatura (0,44 a 0,61), contudo, não foi possível encontrar um efeito direto entre este valor e a produção de metano. A remoção média de ST foi de 30% e 45% para A e B, respetivamente. Lin et al.^[21] utilizaram a co-digestão de lixiviado de aterro e esgoto com uma redução de 45% de ST. Os ST da alimentação são constituídos principalmente por SDT representando uma parcela de 64% e 74% para os tratamentos A e B. Conforme anteriormente discutido, os ultrassons provocaram a diminuição do tamanho das partículas.

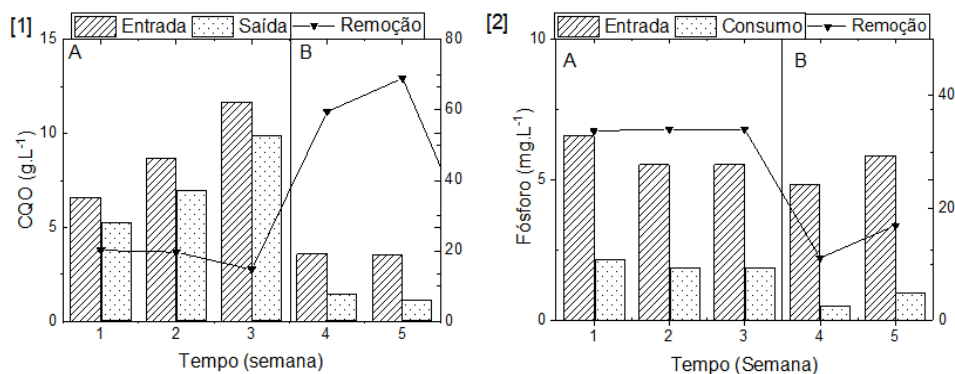


Figura 6: Concentração na entrada, saída e remoção da [1] CQO e do [2] fósforo no reator UASB.

Também no caso do reator UASB operado em contínuo, se verificou a formação dos mesmos três ácidos carboxílicos, como observado para os ensaios de digestão em batch. O ácido oxálico ocorreu durante todo o período experimental, variando entre 9 a 18 mg.L⁻¹ (0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹ em A), 11 a 13 mg.L⁻¹ (0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹ + 15 h ultrassons em B). Para o ácido glutárico, relacionado com a atividade lipásica dos microrganismos^[19], foi observada a sua formação com a carga de 0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹. A formação de ácido propiónico em A e B resulta da via metabólica descrita por Biebl et al.^[22] e Silva et al.^[23]. A formação de ácido em A é maior do que em B, assim como o consumo de P.

O reator UASB alimentado em contínuo, 0,34 kg CQO.m⁻³.d⁻¹, registou uma variação no volume de metano gerado por digestão anaeróbia, entre 1,3 e 3,6 m³ CH₄ kg⁻¹ glicerol.d⁻¹ (A). Quando alimentação idêntica foi submetida a um pré-tratamento com ultrassons durante 15 h, a produção diária para um período de 15 dias, variou de 3,2 a 4,0 m³ CH₄.kg⁻¹ glicerol (B) (produção média diária de 3,6 m³ CH₄.kg⁻¹ glicerol). O pré-tratamento com ultrassons aumentou em cerca de 43% a produção de metano relativamente ao ensaio branco, resultado superior ao encontrado no sistema em batch que proporcionou um aumento de 23%.

A maior produção de metano (B) está diretamente relacionada com os maiores valores da remoção de CQO (60 a 69%) e ST (74%) e a menor concentração de ácidos carboxílicos no material digerido - 88 g.L⁻¹. A produção média de 3,7 m³ CH₄.L⁻¹ glicerol e 560 L CH₄.kg CQO_{remov}.m³ em (B), são superiores aos encontrados na literatura. Nghiem et al.^[24] obtiveram uma produção de 1,3 m³ CH₄.L⁻¹ glicerol num digestor de mistura completa (50 L), na co-digestão de 0,63% (v/v) de glicerol com lama de esgoto.

A qualidade do biogás, expressa em % de metano, descreve as variações verificadas no digestor com o decurso do processo. Para alimentação de $0,34 \text{ kg CQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, a percentagem de CH_4 variou no intervalo 62%-79% (A) e 79%-81% (B), para experiência sem e com pré-tratamento por ultrassons, respetivamente. Athanasoulia et al.^[17] estudaram a co-digestão de lama de esgoto com diferentes concentrações de glicerol, num digestor anaeróbio contínuo de mistura completa, e obtiveram 78% de metano no biogás. Ao utilizar um reator UASB em contínuo, Ma et al.^[15] obtiveram concentração de metano de 59%, na co-digestão de água residual do processamento de batata e glicerol.

Para a qualidade do gás produzido, foram estimados os ganhos energéticos de acordo com Eriksson^[25], tendo em consideração o valor do preço atual da energia elétrica, $0,1652 \text{ €} \cdot \text{kWh}^{-1}$. Os cálculos relacionaram a produção de biogás por massa de glicerol e concentração de SV. Ao comparar o ganho de energia em euros por quantidade de substrato adicionado, a menor concentração de glicerol obteve melhores resultados, sendo que o pré-tratamento com ultrassons aumentou o ganho em 42%, variando entre $4,7$ e $6,4 \text{ €} \cdot \text{kg}^{-1}$ glicerol (média de $5,8 \text{ €} \cdot \text{kg}^{-1}$ glicerol). A produção em relação à concentração de SV obteve um aumento em 87% de A para B, a que correspondem valores entre 157 e $357 \text{ €} \text{ SV}^{-1}$ (A) (média de $306 \text{ €} \cdot \text{kg}^{-1}$ SV).

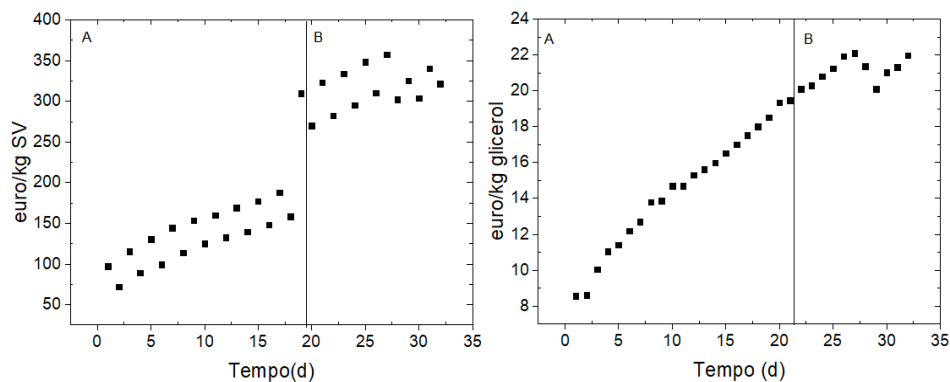


Figura 7: Valor económico do biogás gerado no reator UASB.

Conclusão

Para os ensaios em reator batch, os resultados mais satisfatórios foram registados com concentração de 0,2% de glicerol e pré-tratamento deste por ultrassons durante um período de 15 h; a composição do biogás correspondia a 77% de metano, e o volume atingiu os $1153 \text{ L CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ glicerol. Para o reator UASB e alimentação de $0,34 \text{ kg CQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ com pré-tratamento por ultrassons, foi obtido um volume de metano de $4000 \text{ L CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ glicerol. Relativamente ao valor económico do biogás gerado quando se usou pré-tratamento por ultrassons, foi obtido um acréscimo de 43% no valor agregado, quando comparado com a mesma carga aplicada sem o pré-

tratamento (5,8 €·kg⁻¹ glicerol). Este valor é superior ao correspondente ao ensaio experimental em batch, que proporcionou um aumento na valorização energética de 23%. Foi neste ensaio experimental que se registou a maior produção em volume, bem como o biogás de qualidade superior (79% - 81% CH₄) do biogás. Este ensaio experimental está ainda associado ao valor mais elevado de remoção da CQO (60 a 69%) e de ST (74%), sendo que no digerido foi registada a menor concentração de ácidos carboxílicos (88 g·L⁻¹).

Referências

1. S. Hu, X. Luo, C. Wan, Y. Li, "Characterization of crude glycerol from biodiesel plants", *Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5915-5921, (2012).
2. A. Dobrowolski, P. Mitula, W. Rymowicz, A.M Mironczuk, "Efficient conversion of crude glycerol from various industrial wastes into single cell oil by yeast *Yarrowia lipolytica*", *Bioresource Technology*, v. 207, 237-243, (2016).
3. M. Pagliaro, R. Ciriminna, H. Kimura, M. Rossi, C.D. Pina, "From glycerol to value-added products", *Angewandte Chemie*, ed. 2007, 46, 4434-4440, (2007).
4. A.B. Leoneti, V. Aragão-Leoneti, S.V.W.B Oliveira, "Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil", *Alternatives for the use of unrefined glycerol*, *Renewable Energy*, 45, 138-145, (2012).
5. V. Razaviarani, I.D. Buchanan, "Anaerobic co-digestion of biodiesel waste glycerol with municipal wastewater sludge: Microbial community structure dynamics and reactor performance", *Bioresource Technology*, 182, 8-17, (2015).
6. V.L. Pachapur, P. Kutty, S.K. Brar, A.A Ramirez, "Enrichment of Secondary Wastewater Sludge for Production of Hydrogen from Crude Glycerol and Comparative Evaluation of Mono-, Co- and Mixed-Culture Systems", *International Journal of Molecular Sciences*, 17-92, (2016).
7. S.K. Khanal, D. Grewell, S. Sung, JH.V. Leeuwen, "Ultrasound Applications in Wastewater Sludge Pretreatment: A Review". *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 37, 277-313, (2007).
8. E.J. Martínez, J.G. Rosas, A. Morán, X. Gómez, "Effect of Ultrasound Pretreatment on Sludge Digestion and Dewatering Characteristics: Application of Particle Size Analysis", *Water*, 7, 6483-6495, (2015).
9. M.P.J. Weemaes, W.H Verstraete, "Evaluation of current wet sludge disintegration techniques", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 73, 83-92, (1998).
10. APHA, *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 20th Edition Washington, (1998).
11. M. Li, Y. Li, S. Peng, G. Lu, S. Li, "Photocatalytic hydrogen generation using glycerol wastewater over Pt/TiO₂", *Frontiers in Chemistry*, 4, 1, 32-38, (2009).
12. C. Bougrier, H. Carrere, J.P. Delgenes, "Solubilization of waste-activated sludge by ultrasound treatment" *Chemical Engineering Journal*, 106, 163-169, (2005).
13. W. Al-Jamal, N. Mahmoud, "Community onsite treatment of cold strong sewage in a UASB-septic tank", *Bioresource Technology*, 100, 1061-1068, (2009).
14. A. Tawfik, A. Klapwijk, "Polyurethane rotating disc system for posttreatment of anaerobically pre-treated sewage". *Journal of Environmental Management*, 91, 1183-1192, (2010).
15. J. Ma, M. Van Wambeke, M. Carballa, W. Verstraete, "Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB reactor by co-digestion with glycerol". *Biotechnology Letters*, 30, 861-867, (2008).

16. G. Silvestre, B. Fernández, A. Bonmatí, "Addition of crude glycerin as strategy to balance the C:N ratio on sewage sludge thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion", *Bioresource Technology*, 193, 377-385, (2015).
17. E. Athanasoulia, P. Melidis, A. Aivasidis, "Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol from biodiesel production", *Renew Energy*, 8, 62-73, (2014).
18. S.S. Yazdani and R. Gonzalez, "Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry", *Current Opinion in Biotechnology*, 213-219, (2007).
19. D. Gilham and R. Lehner, "Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro", 36, 139-147, (2005).
20. Q. Wang, M. Kuninobu, K. Kakimoto, H.I. Ogawa, Y. Kato, "Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by ultrasonic pretreatment", *Bioresource Technology* 68, 309-313, (1999).
21. C. Lin, F. Chang, C. Chang, "Co-digestion of leachate with septage using a UASB reactor", *Bioresource Technology*, 73, 175-178, (2000).
22. H. Biebl, K. Menzel, A.P. Zeng, W.D. Deckwer, "Microbial production of 1,3-propanediol", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52, 289-297, (1999).
23. G.P. Silva, M. Mack, J. Contiero, "Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology" *Biotechnology Advances*, 27, 30-39, (2009).
24. L.D. Nghiem, T.T. Nguyen, P. Manassa, S.K. Fitzgerald, M. Dawson, S. Vierboom, "Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol for on-demand biogas production", *Int Biodeterior Biodegrad*, v. 95(A), 160-6, (2014).
25. O. Eriksson, "Environmental technology assessment of natural gas compared to biogas", (2010). Disponível em: <<http://www.intechopen.com/>> Acesso em: 2 jun. 2017.