

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO



ANDRESSA NÓE NUNES

Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fixo

Maceió
2015

ANDRESSA NÓE NUNES

**Produção de hidrogênio a partir do resíduo da manipueira em reator anaeróbio de leito
fixo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Pedro de O. Netto

Maceió
2015

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

N972p

Nunes, Andressa Nóe.

Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbico de leito fixo / Andressa Nóe Nunes. – 2015.

83 f. : il.

Orientador: Antonio Pedro de O. Netto.

Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 73-83.

1. Hidrogênio – Produção. 2. Manipueira. 3. Mandioca. 4. Reator anaeróbio anaeróbio de leito fixo. 5. Biorreator. I. Título.

CDU: 628.35:62-622



**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DO RESÍDUO DO
BENEFICIAMENTO DA MANDIOCA EM REATOR ANAERÓBIO DE
LEITO FIXO**

ANDRESSA NOÉ NUNES

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas e aprovada no dia 24 de julho do ano de 2015.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antonio Pedro de Oliveira Netto
(Orientador – PPGRHS / UFAL)

Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim
(PPGRHS / UFAL)

Prof. Dr. Rogers Ribeiro
(USP / FZAE)

Dedico este trabalho aos meus pais Roberto Luiz
Nunes e Nelita N6e Nunes

“If you wish to understand the fragrance of the rose, or the tenacity of the oak; If you are not satisfied until you know the secret paths by which the sunshine and the air achieve these wonders; if you wish to see the pattern which underlies one large field of human experience and human measurement, then take up the chemistry”

COULSON, C. A., 1973.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a um professor que tive contato enquanto estava terminando minha graduação em Química Bacharelado, Sérgio Vechi, que certa vez me disse: “Você já tem o ‘não’ na mão, tente!”, essa frase me motiva até os dias de hoje.

Dito isto, gostaria de agradecer aos meus pais, Roberto e Nelita, por muitas vezes se envolverem nesse tempo de mestrado, ajudando em meio às dificuldades com toda a compreensão.

Ao meu namorado, Marcell Marinho, que me acompanhou desde o início da pesquisa, abdicando quase sempre do seu tempo para me auxiliar, seja coletando manipueira ou me acompanhando na UFAL, que me aguentou, suportando comigo todas as minhas angústias e medos, mesmo não fazendo parte das suas obrigações. Obrigada por não me deixar desistir!

Aos meus familiares e amigos, pela paciência e compreensão em meio à minha ausência. Em especial à minha amiga Aída Domithilla pelas palavras otimistas e pela sua prontidão em me ajudar.

Ao meu orientador, Antonio Pedro de Oliveira Netto, pela paciência, compreensão e oportunidade em meio às dificuldades encontradas durante a pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, pelos conhecimentos transmitidos. Em especial aos Profs. Roberto Caffaro e Eduardo Lucena, pela confiança e oportunidade dada ao proporcionar, através do projeto de pesquisa Casadinho, a minha ida a USP-São Carlos para ter aulas e aprender novas técnicas laboratoriais.

À Dr^a. Isabel Sakamoto, técnica responsável pelo laboratório de biologia molecular da USP-São Carlos, pelos seus ensinamentos e ajuda.

À minha amiga Juliana Martins, que me ajudou durante toda a operação do reator, me guiando quando eu estava sozinha. Já passamos por muita coisa nesses dois anos, desde noites acordadas tentando terminar os trabalhos de hidrologia ao intercâmbio acadêmico na USP. Apesar das nossas diferenças, foi uma amizade inesperada que ganhei com o mestrado e que levarei para além da vida acadêmica. Só tenho a agradecer.

Aos amigos que ganhei com o mestrado, Ricardo, Ticiane e Angélica, compartilhamos muitas angústias, alegrias e conhecimentos nesses dois anos. Amizades que levarei para a vida.

Aos amigos que ganhei na USP, Danilo e Inaê. Tive que ir para São Carlos para poder conhecê-los! Foram muitas noites de estudo e sem o companheirismo de vocês, não teria conseguido. Obrigada pela amizade e acolhimento.

Aos meus colegas do mestrado.

Aos meus colegas de pesquisa da "casinha", por toda ajuda e apoio. Em especial à Verônica Menezes e Norma Amorim.

Às técnicas Eveline, Nadjane e Odete, do Laboratório de Saneamento Ambiental da UFAL, onde foram desenvolvidas quase todas as análises.

Ao Marcão, técnico do Laboratório de Solos, por disponibilizar os equipamentos e espaço físico onde foi reduzida a granulometria da argila.

À Cleide, nosso contato em Santa Luzia para coletar manipueira.

À FAPEAL, pelo financiamento do projeto e bolsa de estudo.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Sem vocês, nada disso seria possível.

RESUMO

As futuras necessidades de energia são o maior desafio para o nosso planeta e o hidrogênio surge como elemento-chave para uma solução de energia potencial para o século XXI, capaz de auxiliar questões de emissões ambientais, sustentabilidade e segurança energética. A utilização de resíduos agroindustriais para a produção de hidrogênio tem se mostrado uma tendência bastante promissora, pois o seu descarte indevido gera problemas ambientais. Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi avaliar a produção de hidrogênio a partir do resíduo do processamento da mandioca (manipueira), em reator anaeróbico de leito fixo (RALF) operado sob aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico (TCO) de $12 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ a $96 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. O material suporte para a aderência da biomassa foi argila expandida com diâmetro entre 2,8 – 3,35 mm e o reator foi inoculado com lodo anaeróbico suíno pré-tratado termicamente. O reator foi operado por 250 dias e o aumento progressivo da TCO foi realizado mantendo a DQO afluente em torno de 4000 mg. L^{-1} , durante toda a operação do reator e variando o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 horas até 1 hora. O rendimento máximo de hidrogênio foi obtido no TDH de 2h ($1,66 \text{ mol H}_2/\text{mol glicose}$). Os metabolitos solúveis presentes durante o funcionamento do reator foram o ácido acético (30,72% a 84,9%), ácido butírico (2,89% a 29,13%), o ácido propiônico (3,98% a 13,09%), o capróico (0,55% a 22,79%) e o etanol (3,64% a 10,46%). Apesar do pré-tratamento térmico do inóculo, foi observada a produção de metano juntamente com o hidrogênio em todas as fases operacionais. Dessa forma, foi possível obter produtos com valor agregado.

Palavras-chave: Mandioca. Acidogênese. Taxa de carregamento orgânico. Biorreator. Metabólitos.

ABSTRACT

Future energy needs are the greatest challenge facing our planet and hydrogen emerges as key element to a potential energy solution for the twenty-first century, able to assist environmental emissions issues, sustainability and energy security. The use of agro-industrial waste for the production of hydrogen has shown a very promising trend, because its improper disposal creates environmental problems. Thus, the objective of the research was to evaluate the production of hydrogen from cassava processing residue in anaerobic fixed bed reactor operated under progressively increasing organic loading rate of $12 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a $96 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. The support material for the adhesion of biomass was expanded clay with a diameter between 2.8 - 3.35 mm, and the reactor was inoculated with anaerobic sludge pre heat-treated. The reactor was operated for 250 days and the progressive increase of TCO was carried out keeping the COD affluent around 4000 mg. L^{-1} , throughout the operation of the reactor and varying the hydraulic retention time (HRT) of 8 hours to 1 hour. The maximum yield of hydrogen was obtained in HRT of 2h ($1.66 \text{ mol H}_2 / \text{mol glucose}$). The soluble metabolites present during operation of the reactor were acetic acid (30.72% to 84.9%), butyric acid (2.89% to 29.13%), propionic acid (3.98 to 13.09%), caproic acid (0.55% and 22.79%) and ethanol (3.64% to 10.46%). Methane production was observed along with hydrogen in all operating phases. Thus, it was possible to obtain value-added products.

Keywords: Cassava. Acidogenesis. Organic loading rate. Bioreactor. Metabolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Rotas metabólicas envolvidas na digestão anaeróbia.	21
Figura 2 - Produção de mandioca no estado de Alagoas.	25
Figura 3 - Realização da coleta da manipueira em uma casa de farinha no município de Santa Luzia do Norte, Alagoas.	34
Figura 4 - Tratamento térmico do lodo em chapa aquecedora a uma temperatura de 90°C durante 10 minutos.	37
Figura 5 - Argila expandida sendo triturada manualmente, com posterior peneiração, para obtenção da granulometria desejada.	38
Figura 6 - Esquema de instalação do reator anaeróbio de leito fixo.	39
Figura 7 - Disposição do Reator Anaeróbio de Leito Fixo.	40
Figura 8 - Variação de temperatura ao longo do tempo.	43
Figura 9 - Variação do pH do afluente e efluente ao longo do TDH.	48
Figura 10 - Variação da DQO afluente e efluente do substrato e a eficiência de conversão de carboidrato.	51
Figura 11 - Variação da TCO e eficiência em função do TDH.	53
Figura 12 - Eficiência de remoção de carboidrato em função do TDH.	54
Figura 13 - Comparação entre a concentração de carboidrato no afluente e a respectiva eficiência de remoção de carboidrato nos TDH's de 2h e 1h.	55
Figura 14 - Variação da alcalinidade do afluente e efluente ao longo do tempo.	57
Figura 15 - Ácidos voláteis ao longo do tempo.	58
Figura 16 - Comportamento em mg.L⁻¹ dos SSV.	61
Figura 17 - Biogás produzido em termos de quantidade de matéria (n).	62
Figura 18 - Composição média do biogás produzido em cada fase operacional.	62
Figura 19 - Concentrações dos metabólitos líquidos detectados durante a operação do reator.	66
Figura 20 - Participação dos metabólitos produzidos.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Hidrogênio esperado de carboidrato, proteína e gordura, baseado no modelo de unidades de monômeros contendo seis átomos de carbono.	23
Tabela 2. Comparação de produção de hidrogênio para diversos reatores.....	31
Tabela 3. Composição da água residuária suplementada para operação do reator.....	35
Tabela 4. Composição físico-química da manipueira bruta.....	36
Tabela 5. Características físicas da argila expandida (cinasita).....	38
Tabela 6. Tempo de operação de cada fase, bem como o TDH, a Vazão teórica, Vazão aplicada e a TCO aplicadas.....	41
Tabela 7. Variação de temperatura ao longo do TDH.....	42
Tabela 8. Frequência das análises para monitoramento do reator.....	44
Tabela 9. pH médio do afluente e efluente e suas variações.	49
Tabela 10.DQO média do afluente e efluente e a taxa média de conversão de carboidrato.....	50
Tabela 11. TCO afluente e TCO efluente em função do TDH.....	52
Tabela 12. Carboidrato médio do afluente e do efluente, com suas respectivas eficiências.	54
Tabela 13. Variação da alcalinidade no afluente e efluente.....	56
Tabela 14. Variação de ácidos voláteis no afluente e no efluente.	59
Tabela 15. Concentração em mg/L dos sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) nas amostras afluente e efluente ao longo do experimento.....	60
Tabela 16. Variação da taxa de produção de hidrogênio (HPR), rendimento de hidrogênio (HY) e eficiência de conversão de cada fase do reator.	64
Tabela 17. Concentrações médias dos metabólitos líquidos detectados durante a operação do reator.	65
Tabela 18. Balanço de massa em termos da DQO para os resultados obtidos durante a operação do reator.	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APHA	American Public Health Association
CSTR	Reator Contínuo de Tanque Agitado
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EtOH	Etanol
FAPEAL	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas
HAc	Ácido Acético
HBu	Ácido Butílico
HCa	Ácido Capróico
HCN	Ácido Cianídrico
HPr	Ácido Propiônico
HPR	Taxa de Produção de Hidrogênio
HY	Rendimento de Hidrogênio
PET	Politereftalato de etileno
pH	Potencial Hidrogeniônico
RALF	Reator Anaeróbico de Leito Fluidificado
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	Reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	O hidrogênio como alternativa energética	18
3.2	Produção biológica de hidrogênio	19
3.3	Produção de hidrogênio através da manípueira	24
3.4	Fatores que influenciam a produção de hidrogênio	26
3.4.1	Temperatura	26
3.4.2	Potencial hidrogeniônico (pH).....	28
3.4.3	Material suporte	28
3.4.4	Configuração do reator	29
3.4.5	Tempo de detenção hidráulica (TDH).....	32
3.4.6	Substrato e inóculo	32
4	METODOLOGIA	34
4.1	Água residuária	34
4.2	Caracterização da água residuária	35
4.3	Tratamento térmico do inóculo	37
4.4	Material suporte	38
4.5	Reator anaeróbio de leito fixo	39
4.6	Operação do reator	40
4.7	Análises físico-químicas	43
4.8	Cálculos utilizados nos principais parâmetros	46
5	RESULTADOS	48
5.1	pH afluente e efluente	48

5.2	Demanda química de oxigênio (DQO)	49
5.3	TCO aplicada e TCO removida	51
5.4	Determinação da concentração de carboidratos	53
5.5	Determinação da alcalinidade e ácidos voláteis	56
5.6	Determinação de sólidos	59
5.7	Composição do biogás	61
5.8	Avaliação da eficiência de conversão do substrato em hidrogênio	63
5.9	Ácidos orgânicos voláteis e álcoois produzidos (metabólitos)	65
5.10	Balço de massa	67
6	CONCLUSÃO	71
7	REFERÊNCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente é uma questão que tem recebido grande importância nos dias de hoje, pois a qualidade de vida do ser humano está diretamente ligada ao mundo em que vivemos. Diversas são as mudanças globais causadas no meio ambiente pelas atividades humanas, como o aumento nas concentrações e a dispersão global de gases do efeito estufa que são ocasionadas principalmente pela queima de combustíveis fósseis. Para amenizar este problema, a utilização de fontes alternativas de combustíveis que sejam limpas e sustentáveis oferece uma solução atraente para reduzir as emissões de gases do efeito estufa (MARTINS *et al*, 2003).

Desde as revoluções agrícola e industrial, ocorreram modificações significativas no modo de produção e consumo da sociedade. A geração e distribuição de energia se tornaram indispensáveis para a obtenção de resultados satisfatórios, pois o trabalho executado pelas máquinas só é conseguido através de energia. Portanto, a dependência da utilização de combustíveis no dia-a-dia se intensificou cada vez mais, em especial os de origem fóssil: petróleo, carvão mineral e gás natural. Apesar de vantajosos, a queima desses combustíveis libera gases poluentes, ocasionando o desequilíbrio dos processos físicos, químicos e biológicos no meio ambiente. As concentrações atmosféricas globais dos poluentes aumentaram bastante em consequência das atividades humanas desde 1750 e agora ultrapassam os níveis-industriais estabelecidos, determinados com base em testemunhos de gelo de milhares de anos, onde é possível identificar os constituintes químicos e reconstruir a história do clima através do acúmulo de amostras de gelo ao longo dos milhares de anos (IPCC, 2007). O aumento das concentrações destas substâncias tóxicas na atmosfera, solos (e consequentemente nos vegetais) e em diversos materiais (como agentes de corrosão e degradação) é responsável por danos à saúde, ao meio ambiente (originando desequilíbrios nos ecossistemas) e aos patrimônios (MARTINS *et al*, 2003).

Diante deste cenário, o gás hidrogênio tem despertado interesse na comunidade científica, surgindo como uma fonte alternativa de energia em substituição aos combustíveis fósseis. Isso porque, na sua combustão há geração principalmente de vapor de água e por seu conteúdo energético ser aproximadamente 2,5 vezes maior do que o poder de combustão de combustíveis fósseis (SANTOS *et al*, 2005). Além dessas vantagens, o hidrogênio pode ser produzido pela via fermentativa, a partir de fontes renováveis, o que o torna uma fonte

promissora de energia limpa, devido a sua alta taxa de rendimento e combustão limpa (ARREOLA-VARGAS *et al*, 2013).

A preparação desse novo cenário envolve o esforço de diversas instituições de ensino e pesquisa em âmbito nacional e internacional. A utilização de materiais residuais para a produção de hidrogênio tem se mostrado uma tendência bastante promissora, pois as indústrias geram quantidades cada vez maiores de resíduos no processo de obtenção do seu produto final e os órgãos ambientais estão cada vez mais exigentes em relação ao controle e geração desses resíduos. O reaproveitamento é a melhor forma de dar uma finalidade a esses resíduos e os resíduos agroindustriais demonstram ser uma fonte importante, pois além de possuírem elevado teor de matéria orgânica em sua composição, também são facilmente encontrados em todo o território brasileiro. Alagoas possui grande capacidade de produção de resíduos agroindustriais, visto que é a sua principal atividade econômica, tornando propício o desenvolvimento de pesquisas no estado.

O Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento (PPGRHS), através da linha de pesquisa de Tecnologias Aplicadas ao Meio Ambiente, contribuiu significativamente para desenvolver e aprimorar as técnicas voltadas para a produção de hidrogênio utilizando diversos substratos provenientes do processamento do coco, mandioca, leite, entre outros, utilizando reator anaeróbio de leito fluidificado (CARDOSO, 2013; VILELA, 2013; SILVA, 2015; MARTINS, 2015; SANTOS, 2014; AMORIM, 2012). Estes trabalhos recentes indicam que é possível produzir hidrogênio através de subprodutos de fácil obtenção gerados por indústrias do nosso estado, entretanto, nenhuma pesquisa utilizando um reator anaeróbio de leito Fixo foi realizada no PPGRHS para estudar a produção de hidrogênio. Os reatores anaeróbios de leito fixo apresentam uma vantagem em relação aos reatores anaeróbios de leito fluidificado, pois por apresentarem um leito maior para aderência dos microrganismos, apresentam melhores resultados.

Este projeto se insere no contexto de viabilizar a aplicação de um Reator Anaeróbio de Leito Fixo (RALF) destinado à produção de hidrogênio a partir dos resíduos de manipueira, objetivando a busca de um processo de recuperação de energia voltado para a sustentabilidade ambiental e econômica no estado de Alagoas, tendo em vista que o estado é considerado um grande consumidor desse produto e está presente em praticamente todo o seu território.

2 OBJETIVOS

Este projeto de pesquisa tem como objetivo principal avaliar a geração de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo a partir de águas residuárias geradas pelo processamento da mandioca para obtenção de subprodutos com valor agregado, como o próprio hidrogênio, e os álcoois e ácidos orgânicos provenientes da degradação anaeróbia (acético, butírico, propiônico, entre outros).

Como objetivos específicos têm-se:

1. Avaliar a influência da Taxa de Carregamento Orgânico (TCO) sobre a produção de hidrogênio;
2. Avaliar os metabólitos solúveis e gasosos produzidos (gás hidrogênio, gás metano, ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, entre outros);
3. Avaliar a produção de hidrogênio em comparação aos reatores anaeróbios de leito fluidificado, utilizando manipueira como substrato;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O hidrogênio como alternativa energética

O termo ‘alternativas energéticas’ refere-se ao conjunto de tecnologias de transformação, fontes e utilização da energia que se caracterizam por serem não convencionais no presente, além de serem potencialmente sustentáveis, o que significa ter baixo impacto ambiental, viabilidade econômica, inclusão social e aceitação da população. Em meio às opções de energias renováveis, o hidrogênio é considerado um carreador de energia altamente eficiente, com densidade energética de aproximadamente 122 kJ.g^{-1} , o que corresponde a cerca de 2,75 vezes mais que a energia obtida com a queima do petróleo (LAY *et al.*, 1999).

As fontes de energia são importantes para a atividade humana, sem elas o homem teria grande dificuldade em realizar tarefas rotineiras. Assim, o fluxo das águas, dos ventos, a energia do sol e os recursos fósseis estão entre os combustíveis da geração de eletricidade. Tal como a eletricidade, o hidrogênio também deve ser produzido a partir de alguma fonte de energia. Atualmente, a grande parte do hidrogênio é obtida a partir do processamento à alta temperatura do gás natural e do petróleo. As refinarias de petróleo utilizam o hidrogênio para purificar os combustíveis derivados do petróleo, e fabricantes de produtos químicos empregam o gás para a produção de amônia e outros compostos. Na indústria alimentícia o gás hidrogênio é utilizado para a fabricação de margarinas e gorduras, onde o gás hidrogênio é intimamente misturado com o óleo na presença de catalisador níquel finamente dividido. A produção de hidrogênio agora consome 2% da energia global, e sua participação está crescendo rapidamente. Entretanto, a sua produção a partir de combustíveis fósseis gera o CO_2 como produto secundário, que é um dos gases contribuintes para o efeito estufa. Uma alternativa é a eletrólise da água utilizando energia gerada por fontes de energia renováveis, como turbinas eólicas ou células solares. Apesar da eletrólise e a gaseificação de biomassa serem tecnologias bem estabelecidas, os custos atuais de produção de hidrogênio usando esses métodos são bastante elevados (OGDEN, 2006).

A energia nuclear também poderia fornecer a energia para a eletrólise, embora a produção de hidrogênio desta forma não seria significativamente mais barata do que o uso de fontes renováveis. Além disso, usinas nucleares poderiam gerar hidrogênio sem eletrólise: o intenso calor dos reatores pode quebrar a molécula de água em uma reação termoquímica. Esse processo pode produzir hidrogênio de forma mais barata. Mas, de qualquer forma, qualquer

opção que envolve a energia nuclear tem os mesmos inconvenientes que perseguiram o setor de energia elétrica nuclear há décadas: os problemas dos resíduos radioativos, a proliferação e aceitação do público (OGDEN, 2006).

Então, diante deste cenário, os processos anaeróbios apresentam uma forma alternativa de geração de hidrogênio além dos citados acima. O processo de digestão anaeróbia envolve dois grupos principais de consórcios de microrganismos: as bactérias acidogênicas, que decompõem os substratos principalmente em H_2 , ácido acético e CO_2 ; e as arqueias metanogênicas, que convertem o H_2 , ácido acético e CO_2 em gás metano (COONEY *et al.*, 2007).

A redução do impacto ambiental causado pelos resíduos industriais tem sido objeto de interesse atualmente, buscando métodos viáveis para alcançar os requisitos para o adequado descarte ambiental. No aspecto econômico, os efluentes domésticos e industriais constituem matérias-primas que não envolvem custos na sua produção e a sustentabilidade do processo biológico aplicado à geração de hidrogênio a partir de efluentes pode se tornar ainda maior por meio da combinação da fermentação com a produção de subprodutos de alto valor agregado (HAWKES *et al.*, 2002). No processo de produção biológica de hidrogênio, as águas residuárias tanto de origem doméstica quanto industrial passam a constituir uma potencial fonte energética prontamente encontrada em qualquer comunidade. Dessa forma, a geração de hidrogênio pode custar menos e ser conduzida usando matérias-primas locais, reduzindo os custos envolvidos no transporte e armazenamento.

3.2 Produção biológica de hidrogênio

A produção biológica de hidrogênio pode ocorrer por meio de dois processos: fotossíntese e processo fermentativo, sendo este último tecnicamente mais simples, pois o hidrogênio é obtido de carboidratos presentes em águas residuárias (HAN; SHIN, 2004), é mais eficiente e não precisa de luz.

A etapa fermentativa da digestão anaeróbia de resíduos orgânicos é o processo chave na produção de hidrogênio e representa um sistema ecologicamente equilibrado, envolvendo processos metabólicos complexos, que ocorrem em etapas sequenciais e dependem da atividade sintrófica de microrganismos. Os principais estágios de degradação são realizados por: i) bactérias fermentativas (ou acidogênicas); ii) bactérias sintróficas (ou acetogênicas); e iii) microrganismos metanogênicos; iv) bactérias homoacetogênicas. Os microrganismos acidogênicos convertem, por hidrólise e fermentação, os compostos orgânicos mais complexos (lipídeos, carboidratos e proteínas) em compostos mais simples, principalmente ácidos

orgânicos, H₂, CO₂ (CHERNICHARO, 1997). Os microrganismos sintróficos acetogênicos convertem compostos orgânicos intermediários, como propionato e butirato, em acetato, hidrogênio de dióxido de carbono. As bactérias homoacetogênicas convertem H₂/CO₂ em acetato. A acetogênese deve ser diferenciada da homoacetogênese. Acetogênese é a produção de acetato por microrganismos heterotróficos através da oxidação de ácidos orgânicos, tais como ácidos propiônico, butírico, valérico e álcoois. Homoacetogênese, por outro lado, é a formação de acetato por microrganismos autotróficos acetogênicos (homoacetogênicos) através da redução de CO₂ com H₂. Embora ambas produzam acetato, as acetogênicas produzem tanto H₂ quanto CO₂, enquanto as homoacetogênicas consomem H₂ e CO₂. As homoacetogênicas são acetogênicas que modificam seu metabolismo, sob condições de estresse ou após o esgotamento do substrato orgânico reduzido, para o crescimento autotrófico em H₂/CO₂. No entanto, deve ser notado que nem todas as acetogênicas são homoacetogênicas. As bactérias homoacetogênicas pertencendo aos gêneros *Acetobacterium*, *Butyribacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, e *Sporomusawere* são amplamente mencionadas (GUO *et al*, 2006). A diferença entre as acetogênicas e as homoacetogênicas é uma condição metabólica ou trófica, ao invés de filogenética. (SAADY, 2013)

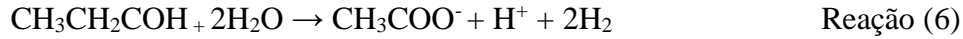
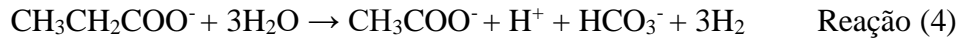
As reações (1), (2) (OSTREM, 2004) e (3) (BILITEWSKI *et al*, 1997) representam três reações típicas de acidogênese em que a glicose é convertida em etanol, ácido propiônico e ácido acético, respectivamente. Pode-se observar que a produção de ácido propiônico é desfavorável à produção de hidrogênio, pois há consumo de gás hidrogênio.



Os demais produtos acetogênicos (ácido propiônico, ácido butírico e álcoois, entre outros) são transformados pelas bactérias acetogênicas em hidrogênio, dióxido de carbono e ácido acético (CHERNICHARO, 1997).

O hidrogênio desempenha um importante papel como intermediário neste processo, pois a reação só ocorrerá se a pressão parcial do hidrogênio for baixa o suficiente para permitir termodinamicamente a conversão de todos os ácidos. Tal abaixamento da pressão parcial é realizado por bactérias consumidoras de hidrogênio, já que a concentração de hidrogênio de um digestor é um indicador do seu bom desempenho (MATA-ALAVREZ, 2003). A reação (4)

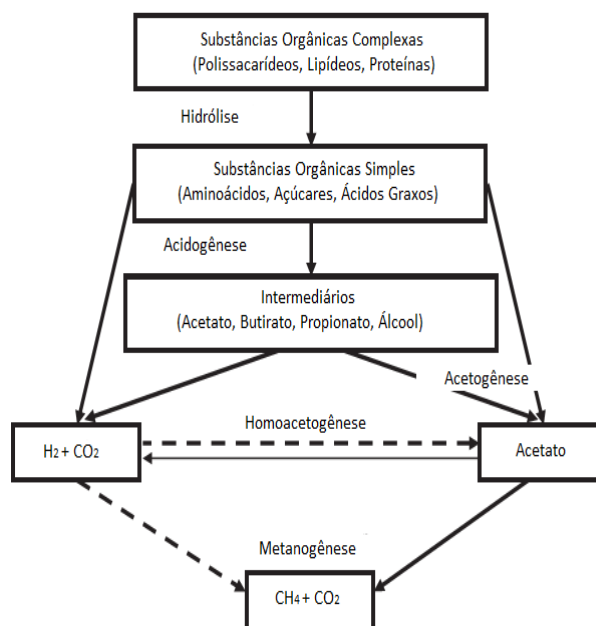
representa a conversão de propionato para acetato, alcançada apenas a baixa pressão de hidrogênio. Glicose (reação 5) e etanol (reação 6), dentre outros, também são convertidos para acetato durante o estágio da fermentação anaeróbia (OSTREM, 2004).



Por fim, o acetato e o hidrogênio produzidos nas etapas anteriores são convertidos em metano e dióxido de carbono, ver as reações (7), (8) e (9). Esta conversão é efetuada por um grupo especial de microrganismos procariotos estritamente anaeróbios, denominados arqueias metanogênicas. Embora a digestão anaeróbia seja simplificada em duas fases (acidogênica e metanogênica), este processo pode ser dividido em diversas rotas metabólicas, como mostrado na Figura 1 (CHERNICHARO, 1997).



Figura 1 - Rotas metabólicas envolvidas na digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado de (LYBERATOS *et al* (1999) e ANGENENT *et al* (2004).

A Reação (10) mostra a conversão da sacarose a ácido acético e hidrogênio:



Diversas pesquisas na literatura sobre produção de hidrogênio informam que a maior ênfase é dada na fermentação da fração do carboidrato dos resíduos. Isso ocorre pois geralmente há poucas quantidades de proteínas e gorduras viáveis para a produção de biogás comparada aos resíduos de carboidratos. No entanto, proteínas e gorduras são possíveis substratos para a produção de hidrogênio, pois estão sujeitos às mesmas condições que os carboidratos, ou seja, sua degradação depende da baixa pressão parcial de hidrogênio (MCINERNEY, 1988; ÖRLYGSSON, 1994; ÖRLYGSSON *et al* 1995).

Muitos dos aminoácidos formados devido à hidrólise das proteínas têm como etapa inicial a desaminação, que requer uma baixa pressão de hidrogênio (ÖRLYGSSON *et al* 1995). Tais condições também parecem aumentar a taxa de degradação dos aminoácidos, que são desaminados independentemente da concentração de hidrogênio. Isso é devido à descarboxilação oxidativa dos ácidos dicarboxílicos formados como um resultado da desaminação (ÖRLYGSSON, 1994). Aminoácidos encontrados em proteínas diferem no tamanho e estrutura, conseqüentemente, gerando quantidades diferentes de hidrogênio quando completamente degradados sob condições anóxicas. Por isso, é difícil fazer uma comparação com os rendimentos de hidrogênio baseados na fermentação da glicose. Ramsey e Pullammanappallil (2001) resumiram a composição do aminoácido da caseína para a média $\text{CN}_{0,23}\text{H}_{1,9}\text{O}_{0,51}$ e essa formulação é usada para a comparação de potenciais de hidrogênio na Tabela 1, devido à similaridade dos seus componentes, as gorduras e os carboidratos levam a uma comparação mais fácil dos rendimentos teóricos e observados. De forma a comparar a produção de hidrogênio sob condições anóxicas entre proteína, carboidrato e gordura, o teor em átomos de carbono foi igualado. Na caseína, a fórmula unitária foi multiplicada por seis, enquanto o ácido capróico foi usado como uma estimativa para gorduras. Os resultados são mostrados na Tabela 1, e revelam que há uma diferença mínima do hidrogênio esperado da proteína e do carboidrato. No entanto, o rendimento de hidrogênio proveniente da gordura é 50% maior que outros tipos de polímeros.

Tabela 1 - Hidrogênio esperado de carboidrato, proteína e gordura, baseado no modelo de unidades de monômeros contendo seis átomos de carbono.

Polímero	Monômero	Reação	Rendimento H ₂ /C
Carboidrato	Glicose	$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2$ [Reação 11]	2
Proteína	Aminoácido habitual*	$6[CN_{0,23}H_{1,9}O_{0,51}] + 8,9H_2O \rightarrow 6CO_2 + 1,4NH_3 + 12,5H_2$ [Reação 12]	2,1
Gordura	Ácido Caprónico	$C_6H_{12}O_2 + 10H_2O \rightarrow 6CO_2 + 16H_2$ [Reação 13]	2,7

*A fórmula molecular habitual dada por Ramsey e Pullammanappallil (2001)

Fonte: Adaptado de LENS, 2005.

Então, em vista dos rendimentos teóricos, substratos com resíduos contendo grande concentração de gordura devem ser almejados para fermentação anaeróbia de hidrogênio. Porém, devido à termodinâmica da degradação da gordura via a rota da β -oxidação, a produção de hidrogênio por esta rota necessita de um dissipador de hidrogênio eficiente. Isso também é válido para as proteínas, devido à baixa pressão de hidrogênio necessária para desaminação (LENS, 2005)

Portanto, a etapa fermentativa da digestão anaeróbia possibilita tanto a transformação da matéria orgânica em compostos facilmente degradáveis quanto à produção de hidrogênio, obtendo-se energia limpa a partir de resíduos orgânicos (SCHRÖDER; SCHOLZ, 2003). O enriquecimento do biogás com hidrogênio pode se dar através da seleção dos microrganismos atuantes no processo e das condições aplicadas ao reator, a fim de inibir a metanogênese e homoacetogênese, fases em que ocorre o consumo de hidrogênio.

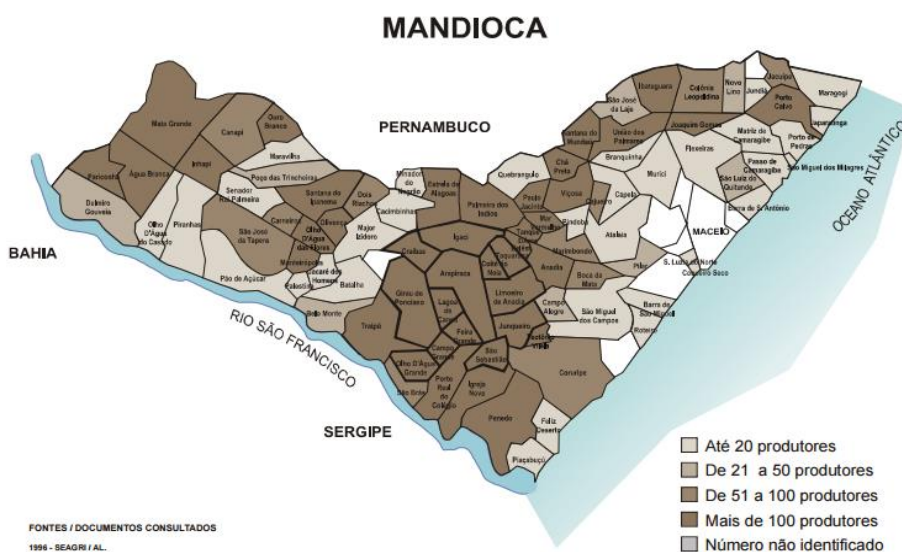
A produção de hidrogênio pelo processo fermentativo sofre influência da concentração de matéria orgânica, da concentração de microrganismos, do pH do reator, temperatura, tempo de detenção hidráulica (TDH), meio suporte, forma de inoculação e dos microrganismos presentes. Os resultados obtidos podem variar muito de acordo com o tipo de inóculo e meio nutricional empregado, microrganismos associados, rotas metabólicas, configuração de reator, entre outros. A análise desses fatores auxilia na quantificação da capacidade de produção de hidrogênio, além de detectar fatores que causem inibição nessa capacidade de produção.

3.3 Produção de hidrogênio através da manipueira

No Brasil, desde o período colonial, a produção de mandioca é realizada em pequenas roças como cultura subsidiária. Tem predominância nos municípios com estrutura fundiária mais fragmentada. A raiz é o produto mais valorizado, da qual se extrai a farinha. A maior parte da produção para consumo humano provém da massa e da goma da mandioca, para preparo de bolos, tapiocas e dos beijus preparados nas próprias casas de farinha (PAPL, 2009).

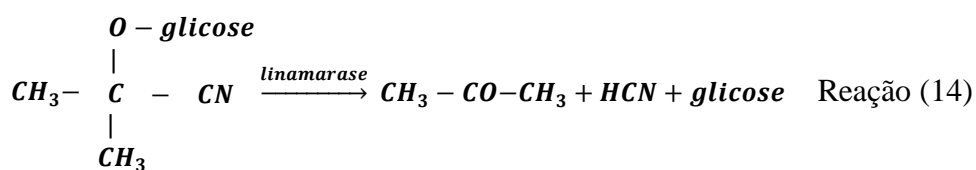
O processamento em farinha de mandioca é bastante tradicional, onde a casca escura da mandioca é retirada com uso de pequenas facas e a raiz branca depois de moída vai para a prensagem, a qual é efetivada de forma manual ou em recipientes de palha que são torcidos e apertados para a retirada da manipueira. No estado de Alagoas, assim como em boa parte do país, por causa da facilidade de processamento, existem desde pequenas casas de farinha até unidades industriais particulares e coletivas de pequeno e médio porte onde a mandioca processada é adquirida na localidade através da compra direta e ou em regime de parceria (PAPL, 2009), ver Figura 2, onde podemos observar que a maioria dos municípios de Alagoas produz mandioca, em maior ou menor escala.

Figura 2 - Produção de mandioca no estado de Alagoas.



Fonte: Retirado do Programa de Arranjos Produtivos Locais (PAPL, 2009).

A manipueira apresenta composição rica em nutrientes como carboidratos e minerais. Além dos nutrientes, a manipueira apresenta em sua composição glicosídeos cianogênicos, como a linamarina (95%) e lotaustralina (5%), que quando hidrolisados, liberam o gás cianídrico (HCN) (SREEJA, 2002), que é o mesmo gás utilizado em alguns locais do EUA para execução de condenados à morte, ver reação (14):



Já foi observada a associação entre dietas ricas em mandioca pouco processada e a ocorrência de alterações neurológicas causadas pela presença de glicosídeos cianogênicos de ocorrência natural (SREEJA, 2003), entretanto, para impedir sua ação, o aquecimento da mandioca causa a volatilização dos glicosídeos cianogênicos, permitindo o consumo do alimento sem dano (SREEJA, 2002). O consumo regular e frequente desses compostos culmina na ocorrência de bócio (SIRITUNGA e SAYRE, 2004) e em casos mais graves, de um tipo de neuropatia conhecida como Konzo, que causa paralisia e pode levar a óbito (SREEJA, 2003).

Apesar das propostas baseadas em pesquisas realizadas por diversos autores, com o objetivo de agregar valor à manipueira como subproduto e diminuir a poluição ambiental, a manipueira ainda continua sem uso comercial. No agreste de Alagoas, a massa da mandioca é bastante valorizada, sendo utilizada para diversos fins alimentícios, enquanto a manipueira é descartada. O seu descarte em solo, rios, lagos, pode causar a contaminação de diversos organismos ali presentes, por isso a sua utilização para a produção de hidrogênio, ao invés do seu descarte no ambiente, é uma forma eficaz de dar uma finalidade a esse resíduo. Para que a manipueira possa ser divulgada como forma de tecnologia de baixo custo, é primordial que se estabeleça a potencialidade do seu uso.

Amorim *et al* (2013) avaliou a produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado operado sob aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico (TCO). O material suporte para a aderência da biomassa foi argila expandida e o reator foi inoculado com lodo anaeróbio pré-tratado termicamente. O reator foi operado sob aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico, mantendo a DQO afluente constante (4000 mg/L) durante toda a operação do reator e variando o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 horas até 1 hora. Foi constatado que a produção volumétrica de hidrogênio aumentou de 0,20 até 2,04 L/h.L, quando foi reduzido o TDH de 8h para 1h. Lamaisona *et al* (2009) encontrou o rendimento de 1,21 mol H₂/mol de glicose. Sreethawong *et al* (2009) através de um processo sequencial de duas etapas utilizando fermentação anaeróbia e fermentação fotoheterotrófica para produzir hidrogênio a partir de mandioca e resíduos de alimentos encontrou um rendimento total de hidrogênio estimado em 810 ml de H₂/g de mandioca. Colin *et al* (2007), através de um reator anaeróbio horizontal de escala laboratorial com empacotamento de bambu utilizando manipueira como substrato, atingiu a produção de 3,7 L de H₂ /L.dia. Adreani *et al* (2015) utilizando um reator anaeróbio de leito fixo, tendo bambu como meio suporte, atingiu a maior taxa de produção de hidrogênio de 1,1 L/d.L . Diversos são os trabalhos que demonstram a potencialidade do uso da manipueira para a produção de biohidrogênio, o que justifica a sua utilização neste trabalho, pois o estado de Alagoas é um grande produtor de mandioca.

3.4 Fatores que influenciam a produção de hidrogênio

3.4.1 Temperatura

A temperatura é um dos fatores mais importantes e tem grande influência no crescimento de microrganismos anaeróbios e na solubilidade do hidrogênio.

O processo de crescimento está diretamente relacionado com as velocidades das reações bioquímicas que são alteradas pela temperatura. Os microrganismos sempre se desenvolvem em uma faixa de temperatura, que compreende desde uma temperatura mínima para início, uma temperatura ótima, que é a temperatura em que o microrganismo se reproduz melhor, e uma temperatura máxima, na qual o microrganismo ainda é capaz de crescer (HAANDEL e LETINGA, 1994). Os microrganismos são classificados em três grupos: psicrófilos, com temperatura ótima de crescimento de 10°C; mesófilos, com temperatura ótima entre 25°C e 40°C e termófilos, com a temperatura ótima variando de 50°C a 60°C (SMITH, 1973).

O hidrogênio apresenta baixa solubilidade em fase aquosa: 0,017 cm³ de hidrogênio por 1 cm³ de água a 1 bar e 37°C (GUWY et al., 1997), logo, temperaturas mais elevadas acabam diminuindo a solubilidade do gás no líquido e, conseqüentemente, a interação do gás com os microrganismos presentes no processo. Isso desfavorece o consumo do gás para geração de outros produtos do processo fermentativo e aumenta a eficiência de remoção do biogás.

O aumento da atividade dos microrganismos produtores de H₂ (acidogênicos) pode ser atingido com a elevação da temperatura (HUANG et al., 2004; MU et al., 2006). Mu et al. (2007) trabalharam com cultura mista e observaram que 34,6°C foi a temperatura ótima para a produção de hidrogênio. Diversas pesquisas mostram que as temperaturas ideais variam de 30°C a 36,8°C, que se encontram dentro da faixa dos microrganismos mesófilos, para sistemas anaeróbios fermentativos produtores de hidrogênio (FANG; LIU; ZHANG, 2002; LIN; CHANG 2004; MIZUNO et al., 2002).

A operação de sistemas em temperatura ambiente não tem sido explorada, devido às oscilações de temperatura de temperatura que ocorrem nos países que desenvolvem esse processo. O trabalho de Lin e Chang (2004) compara sistemas operados com diferentes faixas de temperatura variando de 25°C a 35°C, onde são observadas oscilações na produção de hidrogênio na ordem de 20%. No estado de Alagoas, as variações térmicas são pequenas e a média de temperatura anual é alta, logo, a utilização da temperatura ambiente é viável, pois a temperatura média observada durante a operação do reator esteve em torno de 30,28°C.

3.4.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogênionico pH é definido em termos de atividade de íons hidrogênio (1+) em solução (IUPAC, 2006), ver equação 1:

$$pH = -\log[\alpha(H^+)] \quad \text{Equação (1)}$$

O pH é um parâmetro fundamental em reatores anaeróbios, podendo influenciar na velocidade de produção de hidrogênio e inibir a ação de microrganismos hidrogenotróficos (ex. metanogênicos, redutores de sulfato). Há a possibilidade de inativação desses microrganismos; mesmo que o sistema apresente condições nutricionais para favorecimento desses microrganismos (CHEN et al., in press). Algumas pesquisas mostram que o melhor valor de pH para produção de hidrogênio está na faixa de 5,0 e 6,5 (FANG; LIU; ZHANG, 2002; LIN; CHANG 2004; MIZUNO et al., 2002). Entretanto, muitos apontam para um único valor de 5,5 (LIU; FANG, 2002; MU et al., 2007; SHIN et al. 2007), mesmo trabalhando com culturas diferentes. Neste trabalho optou-se por não manipular o pH, visto que o pH da manipeira coletada já possuía valores baixos, implicando em valores do pH do afluente em torno de 4,27 e o pH do efluente em torno de 5,08, dentro da faixa ideal para produção de hidrogênio. E isso é desejável do ponto de vista tecnológico, pois não há a necessidade de maiores custos com agentes alcalinizantes.

3.4.3 Material suporte

O material suporte utilizado em reatores para produzir H₂ pode selecionar microrganismos (LEITE et al., 2008). Muitos materiais diferentes já foram testados: carvão ativado (WU et al., 2002; CHANG et al., 2002), gel de alginato (WU et al., 2002), argila expandida (AMORIM, 2012; CHANG et al., 2002; LEITE et al., 2008), lascas de pedra (MOHAN et al., in press), esponja vegetal (CHANG et al., 2002), bambu (COLIN et al., 2007; ADREANI et al., 2015), pneu (SILVA, 2015). A superfície desses materiais é importante (MURREY E VAN DEN BERG, 1981; HENZE E HARREMOES, 1988; CORDOBA E SINERIZ, 1990) e neste trabalho foi utilizado como material suporte a argila, pois é um material que possui grande superfície de contato rugosa, que ativa o desenvolvimento do biofilme melhor do que materiais com superfície mais lisa. O tamanho do poro da argila e a geometria das partículas do meio são fatores mais importantes do que a área superficial específica do meio (YOUNG E DAHAB, 1983). O material suporte deve ter boa resistência mecânica, ser

quimicamente inerte e resistente a produtos ou solventes corrosivos que estejam presentes no efluente. O suporte também deve ser de baixo custo (GOURARI e ACHAKARI-BEGDOURI, 1997). Em particular, diversos estudos testaram diferentes tipos de argila sob diferentes formas como suporte e obtiveram sucesso para tratamento de efluentes (CARRONDO *et al*, 1983; TESCH *et al*, 1983; CORDOBA *et al*, 1984). Outros estudos comparando diferentes tipos de meio suporte concluíram que a argila é superior, devido a algumas características específicas na sua estrutura, como a sua porosidade e sua superfície heterogênea que favorece a manipulação da biomassa. A sua estrutura fornece uma grande área superficial específica. A sua polaridade positiva permite o desenvolvimento da atração eletrostática entre a superfície do material e as bactérias que tem polaridade negativa. Essa atração permite a adsorção inicial da bactéria no material. A presença de íons metálicos na sua estrutura também favorece o metabolismo bacteriano. (GOURARI e ACHAKARI-BEGDOURI, 1997). Outra questão relevante está associada à baixa solubilidade do hidrogênio. Desta forma, a associação de biofilmes e grânulos melhora a eficiência do processo (GUWY *et al*, 1997).

3.4.4 Configuração do reator

Diversas configurações de reatores foram testadas em sistemas projetados para a produção de hidrogênio através de processos fermentativos. A maioria deles é realizada em batelada, pois são simples e de fácil operação. Entretanto, a realidade demanda volumes menores no processo. Em escala de laboratório, o reator de tanque agitado contínuo (*continuous stirred tank reactor - CSTR*) tem sido normalmente utilizado, assim como o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*upflow anaerobic sludge blanket - UASB*); entretanto, outros tipos são utilizados, como o biorreator de leito empacotado, o reator de leito fixo, o biorreator de leito fixo e fluxo ascendente, o reator batelada anaeróbio em série e o reator de leito fluidizado anaeróbio, entre outros. Alguns exemplos desses estudos estão descritos na tabela 2, onde está disposto o rendimento máximo de hidrogênio.

O reator anaeróbio de leito fixo é basicamente um reator tubular contendo um material de enchimento formando um leito fixo. A estabilização da matéria orgânica nesses reatores consiste basicamente em um processo de contato, onde o afluente passa por uma massa de sólidos biologicamente ativos no interior desse reator, ocorrendo conversão da matéria orgânica em produtos finais (YOUNG, 1991). Esses reatores podem ter diversas configurações, formas e dimensões, de forma a obter a melhor distribuição do substrato no meio, melhorando o seu desempenho. A relação material/altura parece ser um fator crítico, pois reatores que tem menos

de 50% de seu volume ocupado com meio suporte geralmente têm apresentado grandes perdas de sólidos, com reduzida eficiência de remoção do resíduo (OLESZWICZ *et al*, 1986; STEINBRECHER, 1988). YOUNG (1991) recomendou que o material suporte deve ser preenchido até os dois terços superiores da altura do leito

Peixoto (2008) trabalhou com um reator anaeróbio de leito fixo com fluxo ascendente utilizando-se efluente de indústria de refrigerantes, atingindo uma produção de 0,52 L H₂/h.L; Camilli e Pedroni (2005) fizeram uma comparação para avaliar o desempenho dos reatores CSTR, UASB e reator de leito fixo e apontaram que reator de leito fixo apresentou melhor rendimento 0,23L H₂/g de carboidrato. A comparação na tabela 2 mostra que o reator de leito fixo apresenta melhor resultado de rendimento (mols de H₂/mol de substrato), pois, por apresentar suporte para aderência dos microrganismos, apresenta melhores resultados. Apesar do alto índice de produção de pesquisas, em todos os casos as produções de hidrogênio apresentaram-se inferiores a produção teórica. Essa baixa eficiência de conversão deve estar associada tanto ao consumo de hidrogênio pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (devido ao alto valor do pH), quanto à síntese de acetato via homoacetogênese e à síntese de etanol. De modo geral, podemos verificar que existem poucos trabalhos envolvendo reator de leito fixo para a produção de hidrogênio comparada aos trabalhos que utilizam outros tipos de reatores para a produção de hidrogênio. Essa constatação sugere que mais estudos devem ser realizados a fim de otimizar a produção de hidrogênio via reator anaeróbio de leito fixo.

Tabela 2 - Comparação de produção de hidrogênio para diversos reatores

Reator	Substrato	Rendimento Máximo	Referência
Reator anaeróbio de leito fluidificado	Glicose	2,49 mol H ₂ /mol de glicose	AMORIM <i>et al</i> (2009)
Reator de mistura completa (CSTR)	Glicose	1,95 mol H ₂ /mol glicose	ZHANG <i>et al</i> (2006)
Reator de mistura completa (CSTR)	Sacarose	1,09 mol H ₂ /mol hexose	KIM <i>et al</i> (2006)
Batelada	Glicerol	0,41 mol H ₂ /mol glicerol	SEIFERT <i>et al</i> (2009)
Batelada	Amido	0,51 mol H ₂ /mol glicose	AROOJ <i>et al</i> (2008)
Batelada (escala piloto)	Restos de comida	0,9 mol H ₂ /mol hexose	KIM <i>et al</i> (2010)
Leito Fluidificado	Sacarose	2,67 mol H ₂ / mol sacarose	WU <i>et al</i> (2003)
Leito fixo	Sacarose	3,1 mol H ₂ / mol sacarose	LEE <i>et al</i> (2003)
Leito Fluidificado	Manipueira	2,04 mol H ₂ /mol glicose	AMORIM (2012)
Batelada	Manipueira	1,21 mol H ₂ /mol de glicose	LAMAISONA <i>et al</i> (2009)

Fonte: Autora, 2015.

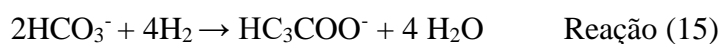
3.4.5 Tempo de detenção hidráulica (TDH)

O tempo de detenção hidráulica (TDH) é o tempo médio de permanência que o afluente líquido permanece no reator para a digestão. É um parâmetro muito importante, pois influencia na velocidade de produção de H_2 . Diversos autores observaram que baixos TDHs apresentam maiores velocidades de produção de hidrogênio, tais como: Chang et al. (2002) que variaram o TDH de 0,5 a 5 h e Lee et al. (2003), que obtiveram a velocidade máxima para TDH de 0,5 h, atuando com TDH entre 0,5 e 4 h. A digestão anaeróbia depende da atividade biológica das bactérias que estão ali presentes, sabe-se que as bactérias metanogênicas tem uma taxa de reprodução relativamente lenta, então elas precisam de tempo suficiente para se reproduzir e repor as células perdidas no lodo do efluente. Ao reduzir o tempo de detenção hidráulica, as bactérias metanogênicas não terão tempo suficiente para reproduzir e serão expelidas do sistema à medida que o TDH diminui, favorecendo assim a produção de hidrogênio pelas bactérias acidogênicas, que tem uma taxa de reprodução mais acelerada e se adaptam bem a baixos TDH's.

3.4.6 Substrato e inóculo

O processo de fermentação para geração hidrogênio pode ocorrer utilizando diversos substratos, com culturas mistas ou puras (HALLENBECK, 2004). Diversos substratos foram testados com essa finalidade e resultados positivos foram obtidos. Muitas pesquisas utilizaram glicose (LEITE et al., 2008; MU et al., 2007) e sacarose (KHANAL et al., 2004) como fonte de carbono e energia. Até mesmo efluentes mais complexos foram testados: a base de xilose (TAGUCHI et al., 1995); glicerol, resíduo do processo de fabricação do biodiesel (ITO et al., 2005); água residuária de laticínio (SILVA, 2015, MOHAN et al., 2008); refrigerantes (PEIXOTO, 2008); melão (LI et al., 2007); resíduos sólidos de alimentos (HAN; SHIN, 2004); efluente de indústria de papel (VAZQUEZ et al., 2005); esgoto doméstico (PEIXOTO, 2011); resíduo do processamento do coco (MARTINS, 2015) entre outros efluentes. Sem sombra de dúvidas, o substrato mais testado é a glicose, seguido da sacarose, o que favorece o entendimento do processo, por serem substratos facilmente degradáveis. Por outro lado, os efluentes reais, como resíduo do processamento da mandioca, apesar de terem sido menos testados, mostram uma realidade promissora de produção de hidrogênio, pois contém fonte de carbono e hidrogênio e são sistemas favoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos produtores de H_2 (AMORIM, 2013). Apesar dessa constatação, ainda é necessária a otimização desses processos. Existe uma variedade de microrganismos que podem produzir hidrogênio.

Esses organismos podem ser mesofílicos ou termofílicos, aeróbios, facultativos ou anaeróbios, desde que possuam enzimas hidrogenase ou nitrogenase. A aplicação de culturas mistas mostra ser o caminho mais viável, pensando na aplicação em larga escala. Apesar dessa praticidade aparente, o emprego destas culturas requer certos cuidados, a fim de evitar que microrganismos indesejáveis ao processo se desenvolvam e consumam o hidrogênio, como por exemplo: via reação de homoacetogênese (Reação 15) e via produção de etanol, a partir ácido acético e hidrogênio (Reação 16) (OH et al., 2003).



A partida do reator é uma das fases mais importantes da operação e é bastante comum inocular o reator com quantidades suficientes de lodo anaeróbio, como neste trabalho, a fim de que o reator tenha as bactérias produtoras de hidrogênio em quantidades suficientes, e fazendo com que o período de *start up* do sistema seja mais rápido. O principal problema durante a partida sem inoculação prévia é que enquanto não se desenvolvem satisfatoriamente as populações bacterianas, a fermentação ácida pode prevalecer sobre a fermentação metanogênica resultando numa acumulação excessiva de ácidos voláteis que, associado a uma baixa capacidade de tamponamento, leva a uma queda significativa do pH (BEZERRA, 1998). Por outro lado, a utilização de um lodo anaeróbio traz uma variedade de microrganismos, incluindo as bactérias metanogênicas que consomem o hidrogênio. Então, algumas técnicas podem ser aplicadas diretamente nos inóculos a fim de minimizar essas reações tanto antes como durante o processo. Entre as técnicas empregadas destacam-se: tratamento térmico, tratamento ácido, tratamento com clorofórmio, tratamento com ultrassom, tratamento alcalino, entre outros (MOHAN et al., 2008). É necessário recordar que a adição de reagentes químicos pode introduzir compostos, por exemplo, cloretos provenientes de ácido clorídrico (HCl) ou sulfatos provenientes do ácido sulfúrico (H_2SO_4), que podem ser considerados contaminantes quando presentes no biogás (SANTOS, 2013). Então, neste trabalho optou-se por utilizar o tratamento térmico, pois é um método de baixo custo, que não gera subprodutos indesejáveis e é relativamente simples, do ponto de vista tecnológico.

4 METODOLOGIA

4.1 Água residuária

A água residuária utilizada neste trabalho foi a manipueira (água residuária do processamento da mandioca). Foram realizadas 6 coletas de manipueira. As 5 primeiras coletas foram obtidas em uma pequena casa de farinha localizada no município de Santa Luzia do Norte (coordenadas geográficas de 9°36'12,0'' de latitude sul e 35°49'21,0'' de longitude oeste (CPRM, 2015) no estado de Alagoas e a última coleta foi realizada no município de Taquarana. O reator foi alimentado com a manipueira de Santa Luzia durante os TDH's de 8h, 6h, 4h, 2h e início do TDH de 1h. A manipueira coletada em Taquarana foi utilizada no final da operação do reator, no TDH de 1h. A manipueira é gerada através de um processo bem simples, em que as raízes de mandioca são lavadas, descascadas e imersas em água durante uma semana para a obtenção de uma massa. Após esse período, retira-se a massa de mandioca, separando o bagaço do líquido. Este líquido sobrenadante (manipueira) é coletado em recipientes para posterior armazenamento, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3 - Realização da coleta da manipueira em uma casa de farinha no município de Santa Luzia do Norte, Alagoas.



Fonte: Autora, 2014.

A manipueira foi armazenada em garrafas de Politereftalato de Etileno (PET) em freezer a -15°C até sua posterior utilização, onde é descongelada, diluída até a concentração de 4000 mg/L de DQO e suplementada com ureia, sulfato de níquel, sulfato ferroso, cloreto férrico, cloreto de cálcio, cloreto de cobalto, óxido de selênio, fosfato de potássio monobásico, fosfato de potássio dibásico e fosfato de sódio dibásico, conforme as concentrações dispostas na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição da água residuária suplementada para operação do reator.

Composto	Concentração (mg/L)
Manipueira	4000 (DQO)
Ureia	125,0
Sulfato de Níquel	1,0
Sulfato Ferroso	5,0
Cloreto Férrico	0,5
Cloreto de Cálcio	47,0
Cloreto de Cobalto	0,08
Óxido de Selênio	0,07
Fosfato de potássio monobásico	85,0
Fosfato de potássio dibásico	21,7
Fosfato de sódio dibásico	33,4

Fonte: Autora, 2015 – Adaptado de Del Nery, 1987.

4.2 Caracterização da água residuária

A composição físico-química da manipueira foi caracterizada de acordo com os seguintes parâmetros: pH, Nitrogênio Total, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Ácidos Voláteis, SSV, SST e SSF, mostrados na Tabela 4. Pode-se observar que as características do resíduo variaram bastante de uma coleta para a outra.

Tabela 4 - Composição físico-química da manipueira bruta.

<i>Análises</i>	<i>06/06/14</i>	<i>05/12/14</i>	<i>06/02/15</i>	<i>06/03/15</i>	<i>19/03/15</i>	<i>02/04/15</i>
Nitrogênio Total K (mg/L)	297,6	291,2	-	-	-	-
Carboidrato (mg/L)	1606,5	6221,7	4433,5	1408,7	1621,1	24075,1
DQO (mg/L)	20119,8	46445,9	20413,4	14043,2	35111,1	110081,2
pH	4,65	3,39	3,58	4,48	3,95	3,85
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	1,23	3,83			1,37	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)	890	347	-	-	990	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg/L)	340	360	-	-	380	-
Ácidos Voláteis (gHAc/L)	3113,5	4309,2	2268	-	5410,9	-
DBO (mg/L)	-	16078,4	1968	-	-	-

- Não foi possível realizar a análise desses parâmetros devido à quantidade limitada de amostra.

Fonte: Autora, 2015.

4.3 Tratamento térmico do inóculo

O lodo utilizado para o *start up* do reator como inóculo foi coletado em lagoa anaeróbia que trata resíduos de suinocultura localizada no bairro de Santa Amélia, Maceió/AL. Antes de ser utilizado, o lodo foi submetido a um pré-tratamento térmico a fim de impedir o crescimento de microrganismos metanogênicos consumidores de hidrogênio e a permanência dos microrganismos formadores de esporos, os quais são as principais bactérias produtoras de hidrogênio (MAINTINGUER et al., 2008). O referido pré-tratamento térmico foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Maintinguer et al. (2008). Essa metodologia é uma adaptação de Kim et al. (2006), e consiste no aquecimento prévio do lodo por 10 minutos a uma temperatura de 90°C e, posterior esfriamento em banho de gelo até que este atinja a temperatura de 25°C, a Figura 4 mostra o aquecimento do lodo. O inóculo foi desenvolvido em recipiente tampado (20L) contendo 15L de solução de água residuária e inóculo. A proporção da solução foi composta por 10% de lodo suíno e 90% de água residuária do processamento da mandioca e suplementos. Neste experimento adotou-se o sistema de recirculação durante 48 horas entre o recipiente e o reator, buscando adaptar o lodo no próprio reator. A vazão de recirculação utilizada foi de 32 cm³/s, correspondendo a uma velocidade de recirculação de 1,45 cm/s, a mesma velocidade adotada por Amorim (2012).

Figura 4 - Tratamento térmico do lodo em chapa aquecedora a uma temperatura de 90°C durante 10 minutos.



Fonte: Autora, 2015

4.4 Material suporte

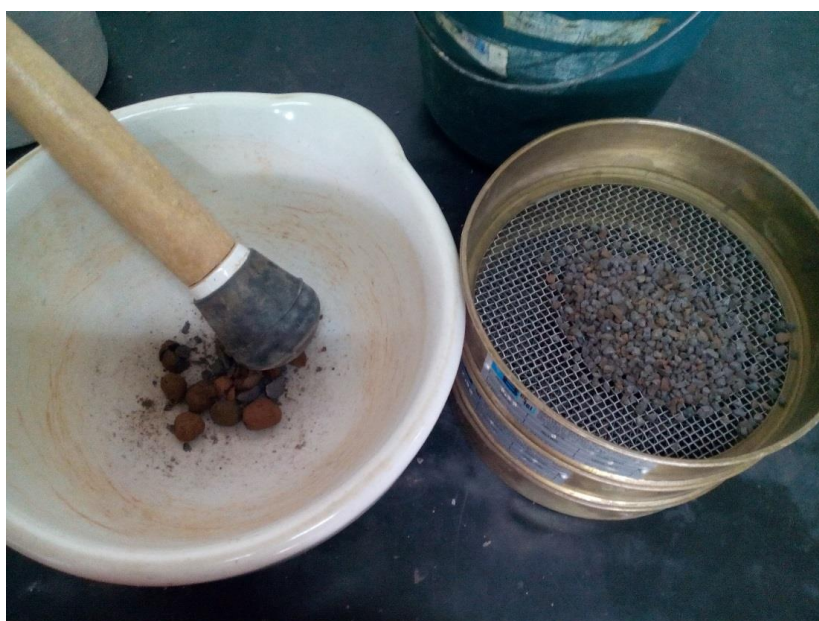
O material suporte escolhido para a adesão do biofilme foi argila expandida (cinasita), pois possui baixo custo, é de fácil obtenção e obteve bom desempenho assim como os estudos com o reator de leito fluidificado (AMORIM, 2012). Possui as características físicas observadas na Tabela 5. A argila foi triturada manualmente com auxílio de almofariz e pistilo e posteriormente foi peneirada para a obtenção da granulometria na faixa entre 2,8 e 3,35 mm, ver figura 5.

Tabela 5 - Características físicas da argila expandida (cinasita).

Características	Valor
Densidade real (g cm^{-3})	1,50
Densidade aparente (g cm^{-3})	1,06
Diâmetro médio do poro (μm)	0,19

Fonte: Autora – Adaptado de Ortega et al, 2001

Figura 5 - Argila expandida sendo triturada manualmente, com posterior peneiração, para obtenção da granulometria desejada.



Fonte: Autora, 2015.

4.5 Reator anaeróbio de leito fixo

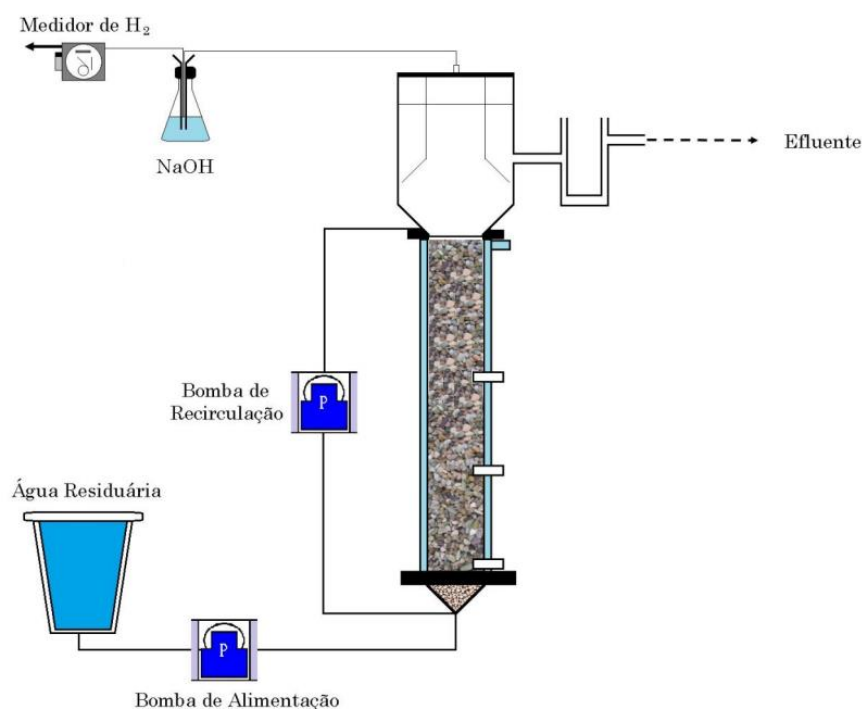
O reator anaeróbio de leito fixo tem as mesmas características do reator de leito fluidificado utilizado por (AMORIM, 2012), construído em acrílico transparente com uma espessura de 5 mm, possuindo uma altura de 190 centímetros e 5,3 cm de diâmetro interno. O volume total do reator é de 4192 cm³ e o volume útil é de 2200 cm³. O reator teve preenchimento total do leito com o material suporte, de acordo com procedimento utilizado por Amorim (2009), correspondendo a uma massa de aproximadamente 1,745 kg,

Para a alimentação do reator utilizou-se uma bomba DOSITEC, modelo DLX MA/A. Já a bomba responsável pela recirculação, para manter o volume ascensional, foi uma ECOSAN-Bomba dosadora.

O reator foi operado à temperatura ambiente e a variação da temperatura foi acompanhada por termômetro. A temperatura média de operação foi de 30,2°C, sendo a temperatura mínima de 26°C e a máxima de 34,8°C.

O esquema de instalação e operação do reator anaeróbio de leito fixo pode ser observado nas Figuras 6 e 7. Na Figura 7 observa-se que o leito não foi completamente preenchido, isso ocorreu devido aos ajustes dos vazios do leito ao receber a alimentação no início da operação.

Figura 6 - Esquema de instalação do reator anaeróbio de leito fixo.



Fonte: Autora, 2015 - Adaptado de AMORIM, 2009.

Figura 7 - Disposição do Reator Anaeróbio de Leito Fixo.



Fonte: Autora, 2015

4.6 Operação do reator

A operação do reator foi iniciada no dia 24 de julho de 2014 e teve seu término no dia 7 de abril de 2015. A produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo a partir da manieira foi acompanhada por 250 dias, sendo analisadas 5 fases experimentais, onde cada fase apresentou um TDH correspondente, são eles: 8 (106 dias), 6 (59 dias), 4 (35 dias), 2 (35 dias), e 1 hora (15 dias), respectivamente. O controle do TDH de cada fase foi feito através do acompanhamento da vazão correspondente a cada TDH. A vazão de cada fase foi determinada pela divisão entre o volume real do reator (2400 mL) e o TDH correspondente. A Tabela 6 mostra o tempo de operação de cada fase, bem como o TDH, a Vazão teórica, a Vazão aplicada

e a TCO aplicadas ao longo da operação. Observou-se que a vazão aplicada sofreu pouca variação em relação ao esperado.

Tabela 6 - Tempo de operação de cada fase, bem como o TDH, a Vazão teórica, Vazão aplicada e a TCO aplicadas

Fase Experimental	Tempo de Operação	TDH (h)	Vazão Teórica (L.h ⁻¹)	Vazão aplicada (L.h ⁻¹)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)
1	106	8	0,3	0,30 ± 0,03	12
2	59	6	0,4	0,41 ± 0,01	16
3	35	4	0,6	0,62 ± 0,05	24
4	35	2	1,2	1,19 ± 0,06	48
5	15	1	2,4	2,36 ± 0,11	96

Fonte: Autora, 2015.

Durante a operação contínua do reator, avaliou-se o efeito do tempo de detenção hidráulica e respectivamente a sua taxa de carregamento orgânico na produção de hidrogênio utilizando a manípua para fins de comparação com os resultados do reator de leito fluidificado (AMORIM, 2012). Sendo estabelecido que a DQO afluente a ser utilizada estivesse na faixa de 4000 mg/L (AMORIM, 2009) de DQO com variação do TDH ao longo do experimento.

O TDH foi alterado quando o reator adquiriu estabilidade na eficiência de conversão da glicose e a formação dos produtos, como os ácidos orgânicos e o hidrogênio. Zhang *et al.* (2007) consideraram que as condições do estado estacionário foram atingidas quando as variações dos produtos e da concentração da biomassa foram menores que 10%, que representa o desvio padrão expresso como porcentagem da média. Nesta pesquisa, foi admitida uma variação de até 15%, devido às particularidades da utilização de um substrato real. Somente os dados obtidos sobre as condições de estado estacionário serão relatados. O reator foi preenchido totalmente por partículas de argila expandida (cinasita) selecionadas na faixa granulométrica de 2,8 mm a 3,35 mm. A massa de argila utilizada foi de aproximadamente 1,745 kg. A adaptação da população microbiana foi feita no próprio reator, utilizando-se a argila expandida para a aderência microbiana de acordo com os estudos realizados por Amorim (2009).

O inóculo foi desenvolvido em recipiente tampado (20L) contendo 15L de solução de água residuária e inóculo. A proporção da solução foi composta por 10% de lodo de reator anaeróbio e 90% de água residuária do processamento da mandioca e suplementos. Neste experimento adotou-se o sistema de recirculação durante 48 horas entre o recipiente e o reator, buscando adaptar o lodo no próprio reator. Ao final de 48 horas, o reator passou a ser operado com alimentação contínua através de uma bomba dosador DOSITEC sob uma vazão de 524 mL.h⁻¹, que foi a vazão correspondente ao TDH de 8h. Posteriormente, a vazão foi sendo incrementada de acordo com a redução do TDH para 6h, 4h, 2h e 1h, de acordo com a Tabela 6.

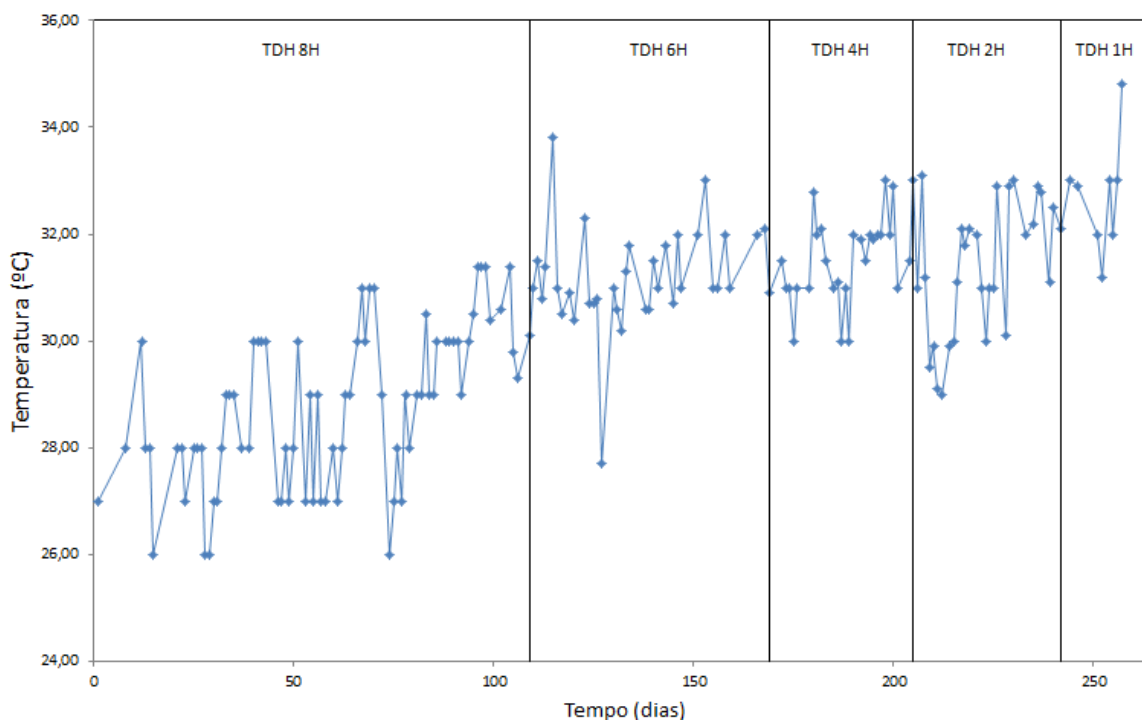
O pH durante a operação do reator não foi controlado, observando-se uma média do pH efluente próximo a $5,19 \pm 1,27$.

A temperatura média durante a operação do reator foi mantida em torno de 30,28°C, com um mínimo de 26°C no TDH de 8h e um máximo de 34,8°C no TDH de 1h, como observado na Tabela 7. Na Figura 8, tem-se a variação de temperatura ao longo da operação do reator, mostrando que houve aumento de temperatura com o passar do tempo, como consequência da chegada do verão. A reação da produção de hidrogênio torna-se mais favorável com o aumento da temperatura (HALLENBECK, 2004). A Tabela 8 nos mostra que a temperatura ambiente na cidade de Maceió, do ponto de vista ambiental, é um fator vantajoso para a produção de hidrogênio, uma vez que não é necessário utilizar uma fonte de energia para manter a temperatura na faixa ideal.

Tabela 7 - Variação de temperatura ao longo do TDH.

TDH (h)	Temperatura (°C)	Mín - Máx
8	28,73 ± 1,46	26,00 - 31,40
6	31,16 ± 0,97	27,70 - 33,80
4	31,49 ± 0,78	30,00 - 33,00
2	31,39 ± 1,26	29,00 - 33,10
1	32,67 ± 0,96	31,20 - 34,80

Fonte: Autora, 2015.

Figura 8 - Variação de temperatura ao longo do tempo.

Fonte: Autora, 2015.

4.7 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas periodicamente. As determinações de pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Totais (SST) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) foram realizadas de acordo com o APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998). Para os carboidratos foi utilizada a metodologia de Dubois *et al.* (1956). Além disso, a vazão, o pH e a temperatura eram medidos diariamente, conforme mostrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Frequência das análises para monitoramento do reator

Análises/parâmetro	Frequência	Metodologia
pH	5x semana	APHA: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998)
DQO	2x semana	
Sólidos (SSF, SST, SSV)	2x semana	
Ácidos voláteis totais	2x semana	Dillalo e Albertson (1961)
Alcalinidade	2x semana	Ripley <i>et al.</i> (1986)
Carboidrato	2x semana	Dubois <i>et al.</i> (1956)
Conteúdo do biogás	2x semana	MilliGascounter (Ritter); Cromatografia gasosa (SHIMADZU GC-2010 Plus)
Ácidos orgânicos voláteis e álcoois	1x semana	Adorno <i>et al.</i> (2014), por cromatografia gasosa (SHIMADZU GC-2010 Plus)

Fonte: Autora, 2015.

As medições de absorvância das amostras de DQO foram realizadas usando o espectrofotômetro da Hach – DR 2500.

A determinação do pH foi realizada eletronicamente, utilizando o medidor de pH da marca TECNAL, modelo TEC-2.

Para as determinações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV), empregaram-se membranas de fibra de vidro com porosidade de 1,2 µm.

A produção volumétrica de biogás foi medida através do medidor MilliGas-counter do fabricante Ritter (Type TG1; Ritter Inc., Germany). Ao medidor foi acoplado um recipiente contendo uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 5 mol.L⁻¹. Ao

realizar as medições, o biogás entra em contato com a solução de NaOH para que o gás carbônico (CO₂) formado fique retido na solução em forma de carbonato de sódio (NaCO₃) e apenas o gás hidrogênio (H₂) seja medido (AMORIM et al., 2009).

A composição do biogás foi monitorada em função do tempo por meio da técnica de cromatografia gasosa, em conformidade com o método aplicado por Maintinguer *et al.* (2008), utilizando um cromatógrafo Shimadzu modelo GC 2010 (software GC Solution), com um detector de condutividade térmica e como gás de arraste o argônio (Ar). As temperaturas do injetor, detector e coluna foram mantidas a 30 °C, 200 °C e 230 °C, respectivamente. Para coletar o gás, todas as saídas do reator foram vedadas e com o auxílio de uma seringa *gas tight* de 1000µL, com trava, o gás era coletado na saída superior do reator e então rapidamente procedia-se à injeção do gás no cromatógrafo.

As concentrações dos metabólitos solúveis foram monitoradas através do cromatógrafo Shimadzu (modelo GC 2010, software GC Solution) com detector de ionização de chama (FID) e coluna HP-INNOWAX de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, com hidrogênio como gás de arraste, através da metodologia validada por Adorno *et al.* (2014).

Os ácidos orgânicos voláteis (acético, propiônico, butírico e capróico) foram determinados pelo método de extração com éter etílico. As condições cromatográficas para a separação e quantificação dos ácidos foram:

- Rampa de temperatura: 100 °C (1') 8 °C/min, 150 °C (1') 35 °C/min, 200 °C (1');
- Temperatura do injetor: 250 °C;
- Temperatura do detector: 300 °C;
- Razão de Split: 10;
- Fluxo do gás de arraste (H₂): 30 mL/min;
- Fluxo do gás auxiliar (N₂): 30 mL/min;
- Fluxo do gás da chama (ar sintético): 300 mL/min;
- Tempo total de análise: 12 min (aproximadamente).

Condições de injeção das amostras:

- Armazenamento da amostra em freezer: 30 min;
- Volume injetado: 1 µL, seringa *gastight* de vidro, mantida em freezer por 15 min antes da injeção.

Os álcoois (etanol) foram determinados pelo método por headspace com injeção manual. As condições cromatográficas para a determinação do etanol foram:

- Rampa de temperatura: 35 °C (0') 2 °C/min, 38 °C (0') 10 °C/min, 75 °C (0') 35 °C/min, 120 °C (1') 10 °C/min, 170 °C (2');
- Temperatura do injetor: 250 °C;
- Temperatura do detector: 280 °C;
- Razão de Split: 1,0;
- Fluxo do gás de arraste (H₂): 30 mL/min;
- Fluxo do gás auxiliar (N₂): 30 mL/min;
- Fluxo do gás da chama (ar sintético): 300 mL/min;
- Tempo total de análise: 15min (aproximadamente).

Condições de injeção das amostras:

- Tempo de aquecimento da amostra: 13 min em uma placa aquecedora a 100 °C;
- Volume injetado: 400 µL, seringa mantida na estufa a ±90 °C por 15 min antes da injeção.

4.8 Cálculos utilizados nos principais parâmetros

A partir dos resultados obtidos neste trabalho foi possível obter os valores de alguns parâmetros:

- Rendimento do hidrogênio (HY – *Hydrogen Yield*), na Equação (2);
- Taxa de produção de H₂ (HPR – *Hydrogen Production*), na Equação (3);
- Conversão da glicose, na Equação (4);
- Taxa de carregamento orgânico real aplicada (TCO real), na Equação (5);
- Balanço de massa em termos da demanda química de oxigênio teórica total (dqo_{teórica total}), na Equação (6);
- Demanda química de oxigênio dos metabólitos, na Equação (7).

$$HY = \frac{n_{H_2 \text{ produzido}}(\text{mol})}{n_{\text{glicose consumida}}(\text{mol})} \quad \text{Equação (2)}$$

$$HPR = \frac{V_{H_2 \text{ produzido}}(L)}{TDH (h) \times V_{\text{útil do reator}}(L)} \quad \text{Equação (3)}$$

$$\text{Conversão da glicose (\%)} = 100 \times \frac{(m_{\text{glicose afluyente}} - m_{\text{glicose efluyente}})}{m_{\text{glicose afluyente}}} \quad \text{Equação (4)}$$

$$TCO_{\text{real}} = \frac{DQO_{\text{afluyente}}}{(V_{\text{útil do reator}}(L) \div \text{Vazão})} \quad \text{Equação (5)}$$

$$DQO_{\text{Teórica Total}} = DQO_{\text{Teórica da Glicose}} + DQO_{\text{Teórica da Biomassa}} + DQO_{\text{Teórica dos Metabólitos}} \quad \text{(Equação 6)}$$

$$DQO_{\text{Teórica dos Metabólitos}} = C_{\text{HAc}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times DQO_{\text{Teórica do HAc}} \left(\frac{\text{g O}_2}{\text{g HAc}} \right) +$$

$$C_{\text{HBu}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times DQO_{\text{Teórica do HBu}} \left(\frac{\text{g O}_2}{\text{g HBu}} \right) +$$

$$C_{\text{HCa}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times DQO_{\text{Teórica do HCa}} \left(\frac{\text{g O}_2}{\text{g HCa}} \right) + \quad \text{(Equação 7)}$$

$$C_{\text{HPr}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times DQO_{\text{Teórica do HPr}} \left(\frac{\text{g O}_2}{\text{g HPr}} \right) +$$

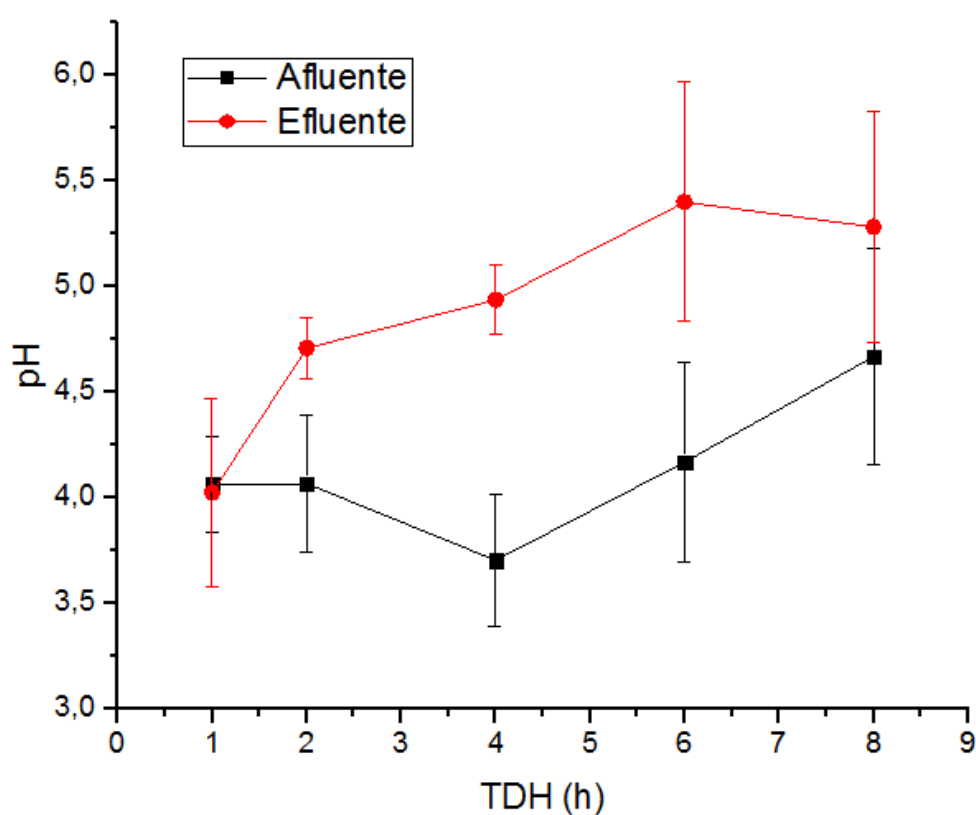
$$C_{\text{EtOH}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times DQO_{\text{Teórica do EtOH}} \left(\frac{\text{g O}_2}{\text{g EtOH}} \right) +$$

5. RESULTADOS

5.1 pH afluente e efluente

Não houve manipulação do pH durante o experimento. A variação do pH pode ser observada na Figura 9.

Figura 9 - Variação do pH do afluente e efluente ao longo do TDH.



Fonte: Autora, 2015.

O pH afluente médio foi de 4,27 e o do efluente foi de 5,08, ambos se encontram dentro da faixa ideal para a produção de hidrogênio (LIU *et al*, 2004, AMORIM, 2014). A Tabela 9 mostra que os valores do pH do efluente se mantiveram acima dos valores do afluente para os TDH's de 8h, 6h e 4h, enquanto que no TDH de 1h, o pH do efluente torna-se menor do que o pH do afluente, isso é justificado pelo fato de que a partir do dia 2 de abril de 2015 o reator foi alimentado com a manípueira da sexta coleta, obtida do município de Taquarana, que possuía quantidades de carboidrato muito superiores às coletas realizadas em Santa Luzia. A Figura 9

mostra que a diferença de pH entre o efluente e o afluente diminui consideravelmente com a redução do TDH. O pH da própria manipueira coletada em Taquarana diminuía com o tempo, o que era de se esperar devido à sua fermentação natural, mas o mesmo não era observado com as coletas realizadas em Santa Luzia, onde o pH aumentava rapidamente com o passar do tempo, interferindo no pH do efluente, que também aumentava consideravelmente.

Tabela 9 - pH médio do afluente e efluente e suas variações.

TDH (h)	Afluente		Efluente	
	pH	Mín - Máx	pH	Mín - Máx
8	4,67 ± 0,51	3,53 - 6,70	5,25 ± 0,62	4,26 - 7,40
6	4,17 ± 0,48	3,39 - 5,00	5,40 ± 0,57	3,92 - 6,70
4	3,70 ± 0,31	3,38 - 4,52	4,94 ± 0,17	4,66 - 5,49
2	4,07 ± 0,32	3,45 - 4,77	4,71 ± 0,14	4,35 - 4,95
1	4,06 ± 0,23	3,83 - 4,39	4,02 ± 0,45	3,56 - 4,81

Fonte: Autora, 2015.

5.2 Demanda química de oxigênio (DQO)

Nesta pesquisa foi adotada a concentração afluente da manipueira em torno de 4000 mg.L⁻¹, de acordo com AMORIM (2009). A Tabela 10 apresenta a variação da DQO afluente e efluente em cada fase, em que se observa que houve uma grande dificuldade em manter a DQO afluente em torno de 4000 mg.L⁻¹. Isso se deve ao fato da utilização de um substrato real, com características difíceis de controlar e de difícil armazenamento, e também devido às peculiaridades da própria manipueira, que apresentou um aumento rápido do pH, dificultando a manutenção da DQO.

A DQO afluyente média foi 3386,3 mg/L e a DQO efluente média global foi de 2765,8 mg/L. A DQO afluyente variou de 1765,7 mg/L (TDH 8h) a 5238,6 (TDH 4h), sendo o baixo valor da DQO no TDH de 8h foi devido à dificuldade de armazenamento aliada à própria característica da manipueira, sendo difícil manter o valor desejado da DQO em torno de 4000 mg/L.

Tabela 10 - DQO média do afluyente e efluente e a taxa média de conversão de carboidrato.

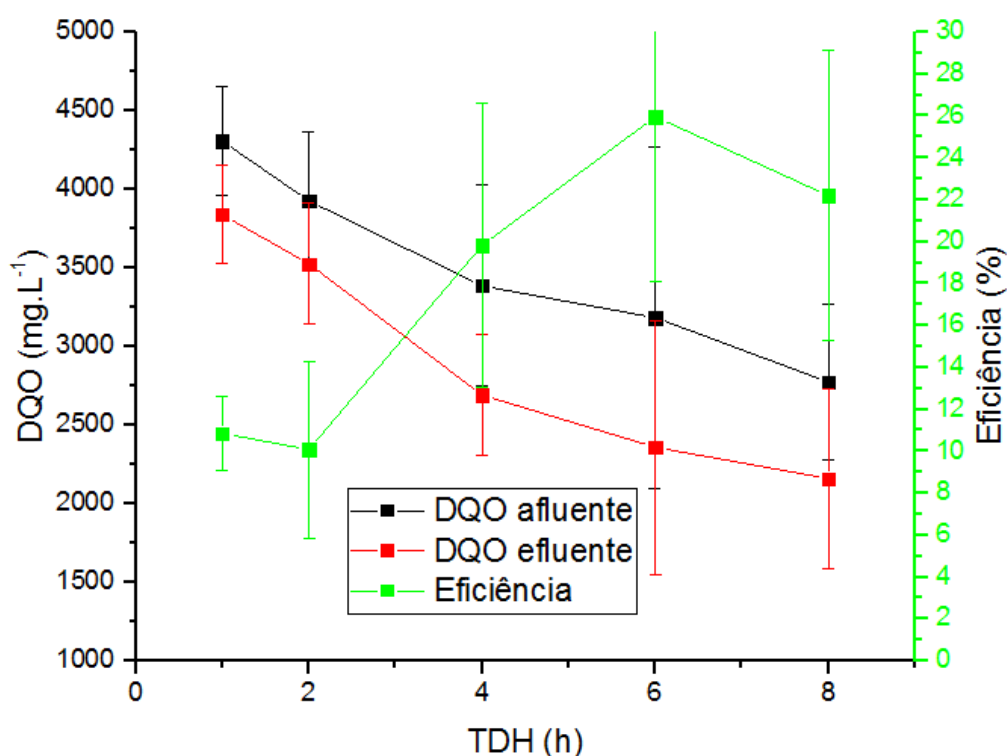
TDH (h) Nº de amostras	DQO _{afluente} (mg.L ⁻¹)	DQO _{efluente} (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
8 (17)	2773,68 ± 499,18	2159,08 ± 570,35	22,20 ± 6,94
6 (15)	3182,92 ± 1087,5	2359,12 ± 808,20	25,96 ± 7,89
4 (13)	3386,16 ± 640,28	2690,88 ± 384,19	19,83 ± 6,79
2 (13)	3926,7 ± 437,59	3525,633 ± 386,18	10,08 ± 4,22
1 (7)	4306,9 ± 350,24	3838,314 ± 311,30	10,85 ± 1,79

Fonte: Autora, 2015.

A Figura 10 mostra a variação da DQO afluyente, DQO efluente e a Eficiência de remoção, em função do TDH. A maior eficiência observada (25,96%) foi no TDH de 6h, o mesmo foi observado em AMORIM (2012). E a menor eficiência foi observada no TDH de 2h, pois a partir do dia 7 de março de 2015 o reator foi alimentado com as coletas realizadas nos dias 7 e 19 de março de 2015, que possuíam uma quantidade relativamente baixa de carboidratos, reduzindo a sua eficiência. Sabe-se que a matéria orgânica presente na manipueira, representada pelos valores de DQO, é constituída principalmente de amido e, conseqüentemente, glicose. Portanto, baixos valores de carboidrato afetam a eficiência de remoção de DQO. Na digestão anaeróbia completa a DQO é consumida para formar metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). Mas, para a produção de hidrogênio, a DQO é pouco consumida, pois o hidrogênio é formado junto com os ácidos orgânicos, especialmente o ácido acético (CH₃COOH) que ainda representa

uma elevada DQO, então valores altos de eficiência de remoção de DQO não significam necessariamente um bom indicador para a produção de hidrogênio. Desta forma, imagina-se que a baixa remoção de DQO deve-se justamente a produção de outros gases, especialmente o hidrogênio, sendo assim, a menor eficiência de remoção de DQO para a produção de hidrogênio, para este trabalho, foi encontrada no TDH de 2h, com 10,08%. LAMAISONA (2009) encontrou maior produção de hidrogênio com uma diminuição da DQO em torno de 20%.

Figura 10 - Variação da DQO afluyente e efluente do substrato e a eficiência de conversão de carboidrato.



Fonte: Autora, 2015.

5.3 TCO aplicada e TCO removida

Através da Tabela 11 e da Figura 11 observa-se que a maior eficiência de remoção de TCO foi apresentada no TDH de 6h, assim como a maior remoção de DQO também foi observada no TDH de 6h. O reator foi submetido às altas taxas de carga orgânica no TDH de 2h e 1h, prejudicando o desempenho dos microrganismos em utilizar o substrato e,

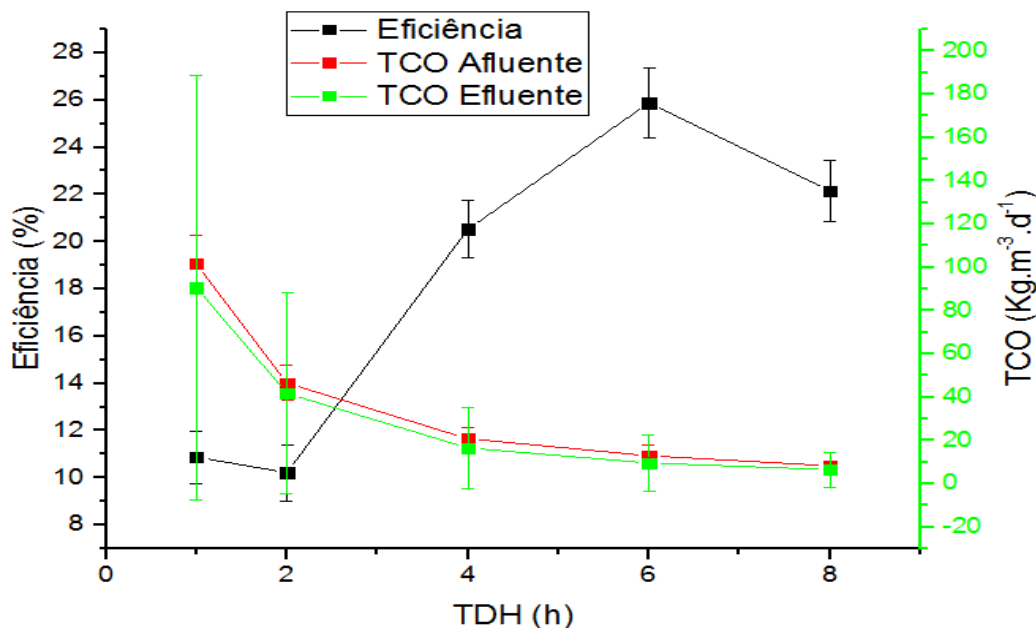
consequentemente, ocorreu uma redução da eficiência de remoção de DQO. Os reatores tipo UASB são limitados pela aplicação de matéria orgânica, em geral na faixa de 5 a 10 kg DQO/m³.dia, embora tenham sido registradas taxas de até 20 kg/m³.dia com bons resultados para o tratamento de resíduos.

Tabela 11 - TCO afluente e TCO efluente em função do TDH

TDH (h) (Nº de amostras)	TCO teórica aplicada (Kg.m⁻³.d⁻¹)	TCO real aplicada afluente (Kg.m⁻³.d⁻¹)	TCO real aplicada efluente (Kg.m⁻³.d⁻¹)	Eficiência (%)
8 (17)	12	8,25 ± 2,22	6,42 ± 8,12	22,16 ± 1,31
6 (15)	16	12,92 ± 4,80	9,58 ± 12,86	25,88 ± 1,46
4 (13)	24	20,76 ± 5,32	16,49 ± 18,85	20,53 ± 1,22
2 (13)	48	46,47 ± 8,15	41,72 ± 46,29	10,215 ± 1,19
1 (7)	96	101,62 ± 13,41	90,57 ± 97,91	10,88 ± 1,11

Fonte: Autora, 2015.

Figura 11 - Variação da TCO e eficiência em função do TDH.



Fonte: Autora, 2015.

5.4 Determinação da concentração de carboidratos

A concentração média de carboidratos do afluente durante toda a operação foi de 560 mg/L, com variação de 71,7 mg/L no TDH de 8h a 2472 mg/L no TDH de 1h. O valor baixo no TDH de 8h foi devido às dificuldades de armazenamento da manipeira e às suas próprias características, e o alto valor no TDH de 1h foi relativo à manipeira coletada em Taquarana que possuía alta concentração de carboidratos. O valor médio do efluente foi de 127 mg/L, com variação de 33,2 mg/L no TDH de 8h a 839 mg/L no TDH de 1h.

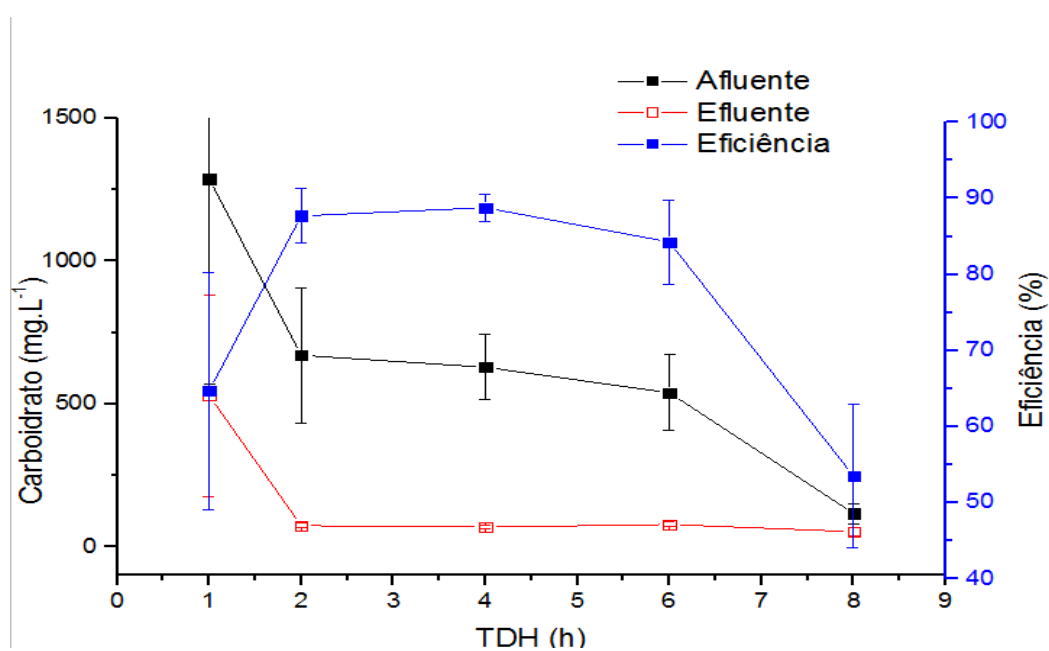
A Tabela 12 e a Figura 12 apresentam a variação da eficiência dos carboidratos totais em função do TDH.

Tabela 12 - Carboidrato médio do afluente e do efluente, com suas respectivas eficiências.

TDH (h) Nº de amostras	Carboidrato _{afluente} (mg.L ⁻¹)	Carboidrato _{efluente} (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
8 (18)	116,42 ± 35,28	53,06 ± 15,91	53,50 ± 9,40
6 (6)	539,60 ± 132,66	78,42 ± 9,02	84,25 ± 5,52
4 (13)	628,91 ± 114,25	68,83 ± 4,95	88,77 ± 1,79
2 (13)	671,03 ± 237,30	74,45 ± 8,97	87,69 ± 3,61
1 (8)	1.288,75 ± 717,09	530,03 ± 353,44	64,69 ± 15,55

Fonte: Autora, 2015.

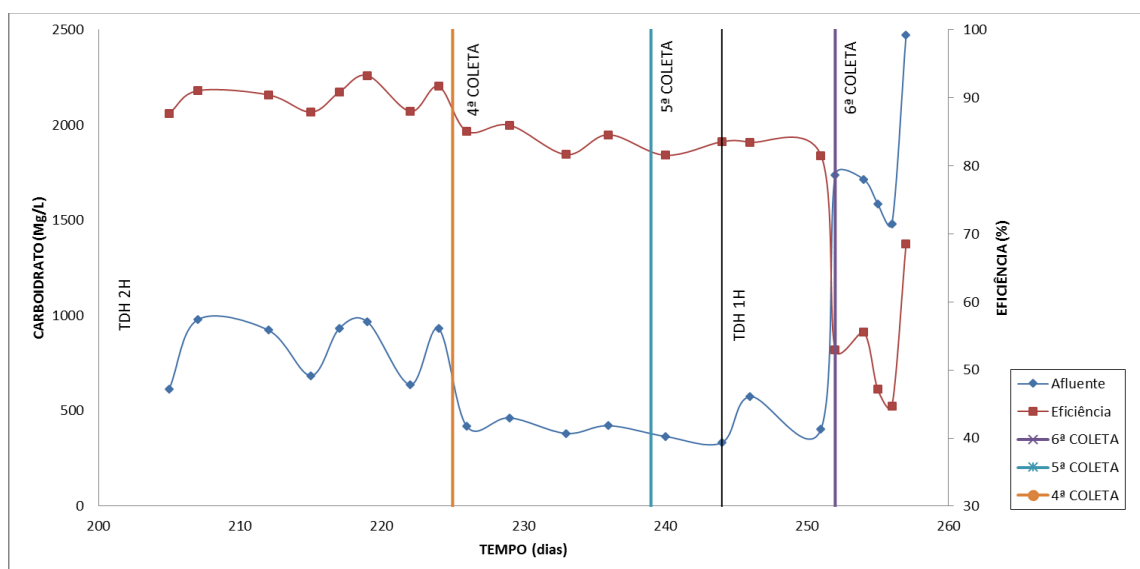
Figura 12 - Eficiência de remoção de carboidrato em função do TDH



Fonte: Autora, 2015.

Podemos observar as eficiências mais elevadas nos TDH's de 2h e 4h. As eficiências de remoção de carboidratos para o TDH de 4h e o TDH de 2h estão bem próximas. Analisando o gráfico da Figura 13, podemos analisar mais de perto a transição do TDH de 2h para o TDH de 1h e o efeito que as diferentes coletas de manipueira ocasionaram na eficiência de remoção de carboidratos. O declínio da eficiência de remoção de carboidrato no TDH de 2h ocorre devido à utilização da manipueira com baixo teor de carboidrato da 4ª coleta, acredita-se que se não houvesse esse declínio, a melhor eficiência seria encontrada no TDH de 2h, assim como AMORIM (2012) obteve a melhor eficiência (65%) de remoção de carboidrato no TDH de 2h. Observou-se uma redução ainda mais drástica da eficiência no TDH de 1h quando foi utilizada a 6ª coleta de manipueira (Taquarana) com altíssimo teor de carboidrato, ocasionando um choque no reator e diminuindo a sua eficiência, pois a carga orgânica é elevada para a capacidade dos microrganismos converterem o substrato, causando a diminuição do tempo de retenção celular, aumentando os sólidos solúveis voláteis e ocasionando o acúmulo de ácidos graxos voláteis com subsequente queda de pH e diminuição da produção de metano (CH₄) (LEITÃO *et al*, 2006b). De modo geral, a eficiência de remoção de carboidrato, neste trabalho, foi superior àquelas obtidas por AMORIM (2012), pois o leito fixo, possui maior quantidade de argila expandida, se comparado ao de leito fluidificado em sistemas idênticos, possibilitando uma maior aderência de microrganismos aumentando a capacidade de utilização do substrato e, conseqüentemente, aumentando a sua eficiência.

Figura 13 - Comparação entre a concentração de carboidrato no afluente e a respectiva eficiência de remoção de carboidrato nos TDH's de 2h e 1h.



5.5 Determinação da alcalinidade e ácidos voláteis

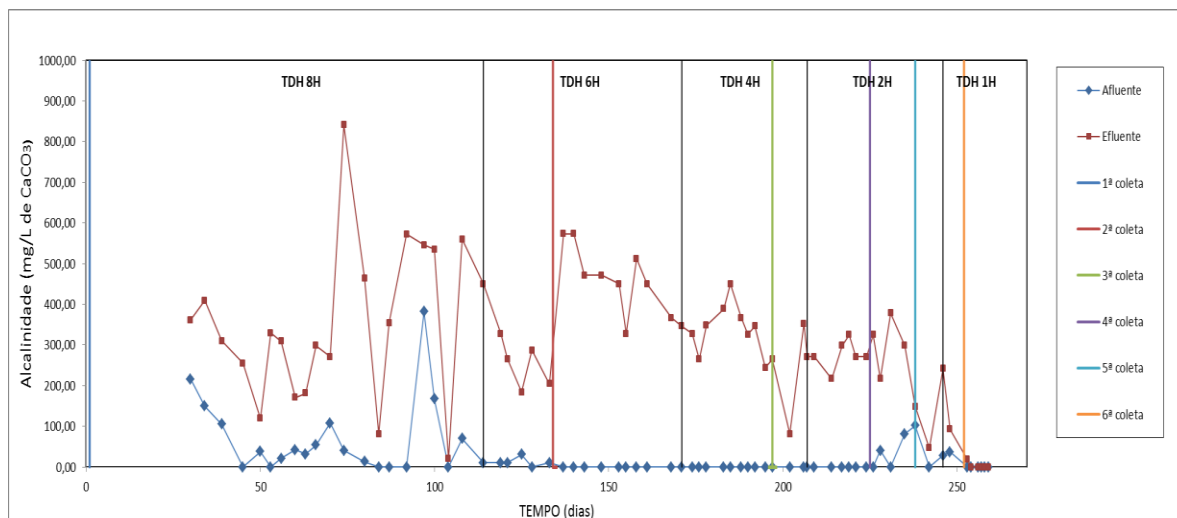
A Tabela 13 apresenta a variação dos valores de alcalinidade afluente e efluente para cada fase de operação. A Figura 14 mostra a variação dos valores da alcalinidade afluente e efluente ao longo do tempo. Os valores de alcalinidade afluente apresentaram variação de 0 a 381,2 mg/L de carbonato de cálcio (CaCO₃) enquanto os valores médios de alcalinidade efluente exibiram variação de 0 a 840,72 mg/L.

Tabela 13 - Variação da alcalinidade no afluente e efluente

TDH	Afluente (mg/L)		Efluente (mg/L)	
	Alcalinidade	Mín - Máx	Alcalinidade	Mín - Máx
8	72,12 ± 93,92	0,00 - 381,92	349,58 ± 192,32	20,00 - 840,72
6	4,78 ± 8,25	0,00 - 30,72	394,49 ± 120,25	184,32 - 573,44
4	0,00 ± 0,00	0,00 - 0,00	316,30 ± 85,88	81,36 - 450,56
2	0,00 ± 33,82	0,00 - 102,30	256,89 ± 82,02	46,50 - 378,00
1	0,00 ± 8,14	0,00 - 37,20	44,18 ± 44,18	0,00 - 241,80

Fonte: Autora, 2015.

Figura 14 - Variação da alcalinidade do afluente e efluente ao longo do tempo.



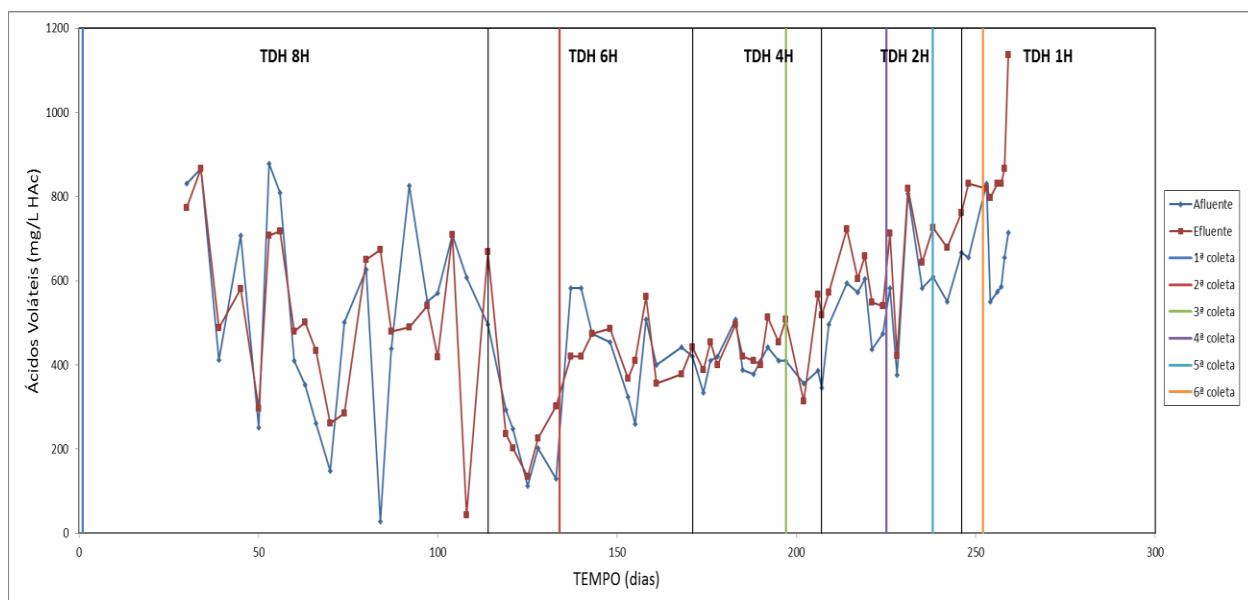
Fonte: Autora, 2015.

A Tabela 13 mostra que os maiores valores de alcalinidade estão no TDH de 8h, isso ocorreu devido à rapidez do aumento do pH da manipueira, então, para tentar amenizar a elevada alcalinidade no afluente, foi realizada a troca diária da alimentação do reator. O gráfico da Figura 14 mostra que os valores da alcalinidade do efluente se mantiveram superiores aos valores do afluente, e no TDH de 1h, a partir do dia 2 de abril de 2015, observou-se a ausência de alcalinidade, e isso é devido às características da manipueira coletada em Taquarana. As espécies do sistema carbônico: dióxido de carbono, bicarbonato e carbonato (CO_2 , HCO_3^- e CO_3) apresentam-se em equilíbrio com as formas precipitadas, em função do pH. O sistema carbônico além de garantir o pH adequado e estável, influi também sobre a composição do biogás gerado, sobre o equilíbrio sólido-líquido com respeito à precipitação ou dissolução de carbonato de cálcio e nos fenômenos associados à formação de incrustação e corrosão. A diminuição da alcalinidade do efluente implica em um acréscimo da concentração de ácidos voláteis, pois a quantidade de alcalinidade presente não é suficiente para neutralizar os ácidos voláteis formados, e assim notamos uma redução de pH. A diminuição do TDH também influencia, pois assim, os microrganismos não utilizam a alcalinidade com tanta eficiência, e as bactérias metanogênicas que formam metano a partir dos ácidos voláteis e do hidrogênio, podem ser facilmente inibidas pelo baixo pH como resultado do acúmulo dos ácidos voláteis no reator (NASCIMENTO, 1996). Assim, observou-se que a diminuição da alcalinidade do efluente com a diminuição do TDH e com a utilização da sexta coleta a alcalinidade do efluente tornou-se inexistente, propiciando condições mais favoráveis para a produção de gás hidrogênio.

A amonificação também pode justificar a presença de alcalinidade no efluente tendo função de elevar o pH do meio. O processo de amonificação depende da parcela de N-orgânico presente nas águas residuárias. Nesse caso, a ureia utilizada na composição da água residuária é a principal fonte de N-orgânico, e sua transformação para N-amoniacal é facilmente efetuada pela presença da enzima urease.

Os valores de ácidos voláteis afluente variaram de 27,90 mg/L a 878,17 mg/L, ao passo que os valores do efluente oscilaram de 43,20 mg/L a 1136,06 mg/L. As médias de ácidos voláteis efluente aumentaram com a diminuição do TDH, exceto quando o TDH passou 8 para 6h, situação em que houve decréscimo. Entretanto, o valor médio do efluente nesse TDH é menor do que o valor médio do afluente, como se pode observar na Tabela 14. Na Figura 15, vemos que os ácidos voláteis do efluente aumentam com a diminuição do TDH e fica fácil observar que os valores do efluente são superiores aos valores do afluente, especialmente após a sexta coleta. A produção de ácidos voláteis indica que há a possibilidade de geração de gás hidrogênio. A diminuição do TDH torna mais difícil a utilização da alcalinidade e assim, os ácidos voláteis não são neutralizados, tornando o sistema mais ácido e favorável para a produção de gás hidrogênio.

Figura 15 - Ácidos voláteis ao longo do tempo.



Fonte: Autora, 2015.

Tabela 14 - Variação de ácidos voláteis no afluente e no efluente.

TDH	Afluente (mg/L)		Efluente (mg/L)	
	Ácidos voláteis	Mín - Máx	Ácidos voláteis	Mín - Máx
8	539,59 ± 243,58	27,90 - 878,17	519,88 ± 195,19	43,20 - 866,76
6	367,47 ± 149,89	112,80 - 583,20	376,67 ± 137,48	135,36 - 669,60
4	406,08 ± 40,38	334,80 - 507,60	443,63 ± 63,64	313,20 - 567,00
2	541,34 ± 114,21	345,60 - 808,13	628,47 ± 103,27	422,35 - 819,84
1	654,41 ± 654,41	550,46 - 831,55	859,37 ± 859,37	761,28 - 1136,06

Fonte: Autora, 2015.

5.6 Determinação de sólidos

A Tabela 15 apresenta a concentração dos sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) nas amostras afluente e efluente ao longo do experimento.

O SST afluente variou de 28,0 mg/L (TDH de 8h) a 1884 mg/L (TDH de 2h). Já no efluente, essa variação foi de 28,0 mg/L (TDH de 8h) a 1854,0 mg/L (TDH de 8h). No caso dos SSF afluente, foi obtido o valor mínimo no TDH de 1h e 6h (2,0 mg/L) e máximo no TDH de 8h (352,0 mg/L). Já no efluente a concentração esteve entre 0 (TDH de 6 h) e 1730,0 mg/L (TDH de 8h). A concentração dos SSV esteve entre 8,0 mg/L, no TDH de 8h, e 1716,0 mg/L,

no TDH de 2h. Enquanto que no efluente a variação foi de 8,0 mg/L, no TDH de 8h, a 388,3 mg/L, no TDH de 1h.

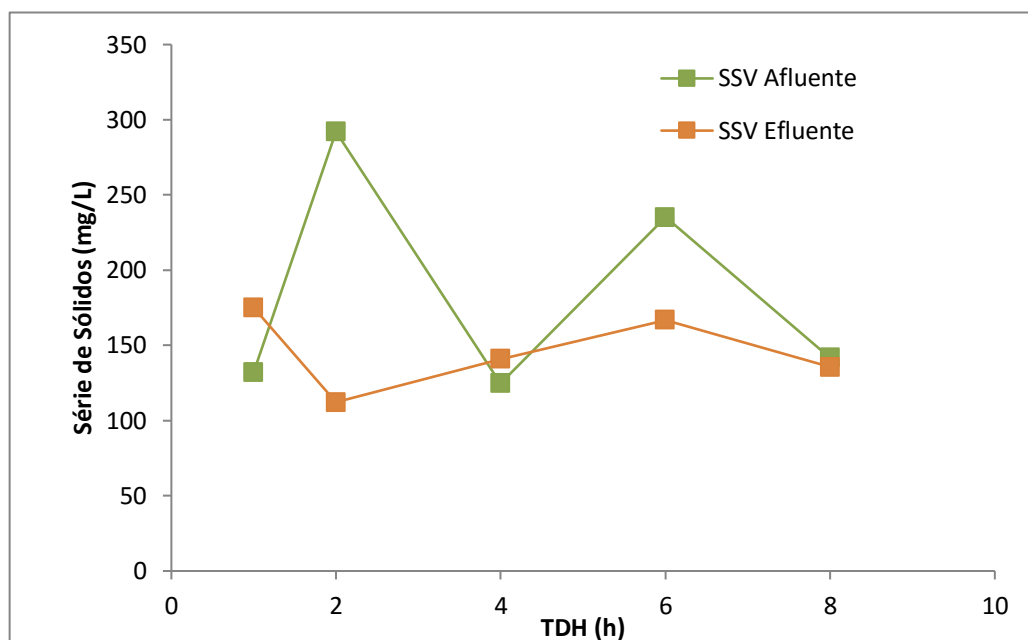
A Figura 16 mostra o comportamento dos SSV no afluente e no efluente. Observa-se um aumento da concentração dos SSV no TDH de 1h do efluente, o que já era esperado, já que com a diminuição do TDH ocorre o desprendimento da biomassa aderida às partículas de argila devido aos efeitos hidrodinâmicos e com a redução dos microrganismos no sistema, a eficiência de remoção de carboidratos também diminui, o que implica em uma diminuição do rendimento na produção de hidrogênio.

Tabela 15 - Concentração em mg/L dos sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) nas amostras afluente e efluente ao longo do experimento

<i>TDH (h)</i>	8	6	4	2	1
SST Afluente	221,13 ± 143,84	266,91 ± 208,11	150,0 ± 101,41	180 ± 476,43	150 ± 85,18
SST Efluente	341,88 ± 424,71	185,82 ± 50,6	218,5 ± 137,57	128,35 ± 39,17	197,50 ± 11,08
SSF Afluente	79,50 ± 86,23	31,82 ± 32,84	55,33 ± 88,27	30,18 ± 42,27	18 ± 13,64
SSF Efluente	206,25 ± 410,84	18,91 ± 22,48	77,67 ± 113,22	16,14 ± 12,50	22,50 ± 12,26
SSV Afluente	141,63 ± 99,83	235,09 ± 199,51	124,67 ± 37,23	292,05 ± 434,54	132,25 ± 85,35
SSV Efluente	135,63 ± 74,81	166,91 ± 61,51	140,83 ± 45,47	112,21 ± 34,94	175,00 ± 113,61

Fonte: Autora, 2015.

Figura 16 - Comportamento em mg.L^{-1} dos SSV.



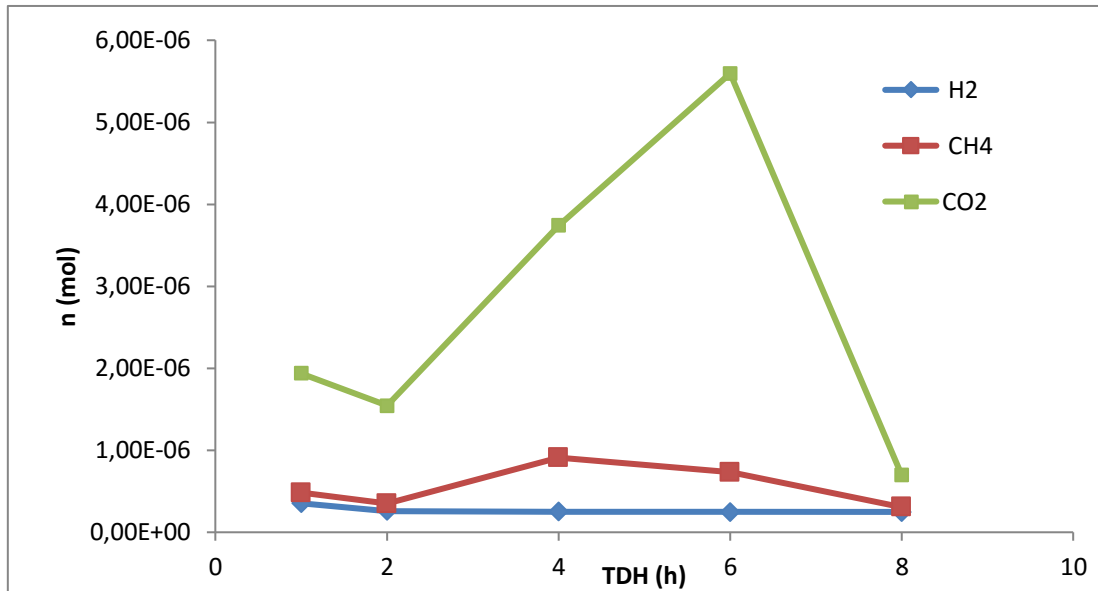
Fonte: Autora, 2015.

5.7 Composição do biogás

As Figuras 17 e 18 apresentam os resultados médios obtidos na avaliação do biogás produzido durante cada TDH. Observou-se que há uma relação entre a composição do biogás e a diminuição do TDH. Na Figura 17 podemos observar que a quantidade de matéria do gás hidrogênio vai aumentando gradativamente com a diminuição do TDH. O mesmo ocorre com quantidade de mols do gás metano que também aumenta com a diminuição do TDH de 8h a 4h, entretanto, ocorre uma queda quando o TDH é diminuído para 2h, e novamente volta a subir no TDH de 1h. Essa queda na produção de metano no TDH de 2h indica que grande parte das bactérias metanogênicas foi expelida do sistema, favorecendo as bactérias acidogênicas. Entretanto, com a diminuição do TDH para 1h a produção volumétrica aumenta, logo, a quantidade de matéria produzida de todo o biogás também aumenta, mas a eficiência de conversão de carboidrato diminui, pois a quantidade de substrato que entra pelo afluente não é completamente assimilada pelas bactérias implicando em um baixo rendimento de hidrogênio. Isso é observado mais claramente através da figura 18, em que observamos a menor participação do metano e hidrogênio na composição do biogás. Observa-se também que há maior participação do gás hidrogênio e menor participação do gás carbônico no TDH de 2h, em comparação aos TDH's de 6h, 4h e 1h, o que implica em um maior rendimento de hidrogênio para este TDH. De modo geral, não foi possível a eliminação completa das bactérias

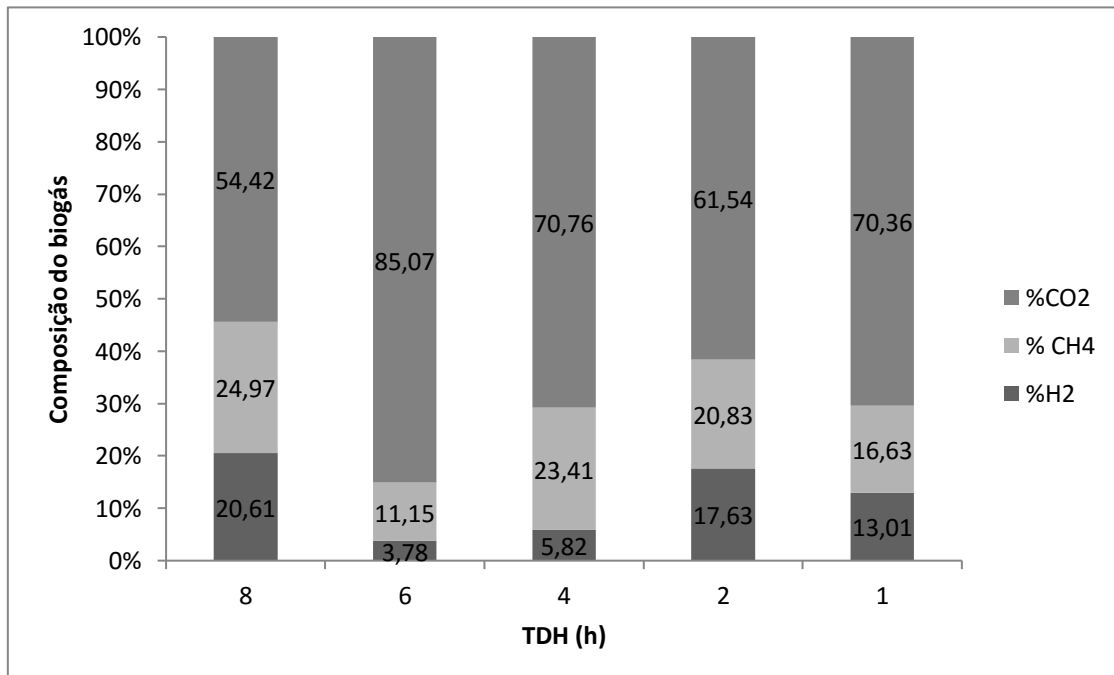
metanogênicas, entretanto, pode-se observar a produção tanto de hidrogênio quanto de metano em proporções semelhantes.

Figura 17 - Biogás produzido em termos de quantidade de matéria (n).



Fonte: Autora, 2015.

Figura 18 - Composição média do biogás produzido em cada fase operacional.



Fonte: Autora, 2015.

5.8 Avaliação da eficiência de conversão do substrato em hidrogênio

A eficiência de conversão do hidrogênio é um parâmetro fundamental para avaliar o potencial do substrato utilizado. A partir da reação (5) $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$, em que há a formação de acetato, pode-se observar que a produção teórica máxima de hidrogênio é de 4 mols H_2 /mol glicose, portanto este foi o valor máximo considerado para o cálculo da eficiência. A quantidade de hidrogênio produzido foi inferida a partir do volume do biogás medido através do MilliGas. A produção de metano foi observada em todas as fases do reator, sendo importante destacar que o volume do biogás gerado, refere-se aos volumes de hidrogênio (H_2) e metano (CH_4) produzidos, pois o CO_2 , que também é produto da biodigestão, fica retido na solução de NaOH na forma de Na_2CO_3 . Portanto, é necessário saber a quantidade real de hidrogênio (H_2) contido no biogás. Sendo assim, no dia 4 de abril de 2015, através da análise qualitativa por cromatografia gasosa do biogás produzido, foi encontrado 57,3% de metano e 42,7% de hidrogênio, que representam os volumes de 0,111 L H_2 h/L e 0,149 L CH_4 h/L (produção total 0,261 L h/L), logo podemos calcular o número de mols de H_2 e assim obter o rendimento (de acordo com a massa de carboidrato consumida), que para esse dia foi de 0,08 mol H_2 /mol de glicose. A mesma analogia foi feita para os outros dias de operação. Os rendimentos para cada fase são mostrados na Tabela 16. O maior rendimento obtido foi no TDH de 2h, com valor de 1,66 mol de H_2 /mol de glicose. Deve-se levar em conta que ao final da operação, no TDH de 1h, foi utilizada a sexta coleta de manipueira, ocasionando uma redução do rendimento de hidrogênio, pois as bactérias atingiram o seu limite cinético de utilização do substrato. AMORIM (2012) e ZHANG *et al* (2007), operando reator anaeróbio de leito fluidizado verificaram rendimento máximo de produção de biohidrogênio de 2,04 H_2 /mol de glicose e 1,19 mol de H_2 /mol de glicose, respectivamente.

Tabela 16 - Variação da taxa de produção de hidrogênio (HPR), rendimento de hidrogênio (HY) e eficiência de conversão de cada fase do reator.

TCO teórica aplicada (Kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	TCO real aplicada (Kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	TDH (h)	Hidrogênio produzido HY* (mol H ₂ .mol de glicose ⁻¹)	HPR (L H ₂ h/L)	Eficiência (%)
12	8,25 ± 2,22	8	-	-	-
16	12,92 ± 4,80	6	0,12	0,0002 ± 0,0003	3
24	20,76 ± 5,32	4	0,79 ± 0,16	0,0013 ± 0,0051	19,75
48	46,47 ± 8,15	2	1,66 ± 1,41	0,0072 ± 0,00004	41,5
96	101,62 ± 13,41	1	0,95 ± 0,11	0,0111 ± 0,00003	23,75

- Não foi possível a obtenção dos valores.

Fonte: Autora, 2015.

A Tabela 16 mostra que a melhor produção de hidrogênio média (HPR) ocorreu na fase correspondente ao TDH de 1 h (0,0111 L/h/L) e que o menor valor de HPR está associado aos valores de TDH de 6 h (0,00002 L/h/L). Os baixos valores da produção volumétrica de hidrogênio estão associados ao grande percentual de produção de gás carbônico em todos os TDH's.

5.9 Ácidos orgânicos voláteis e álcoois produzidos (metabólitos)

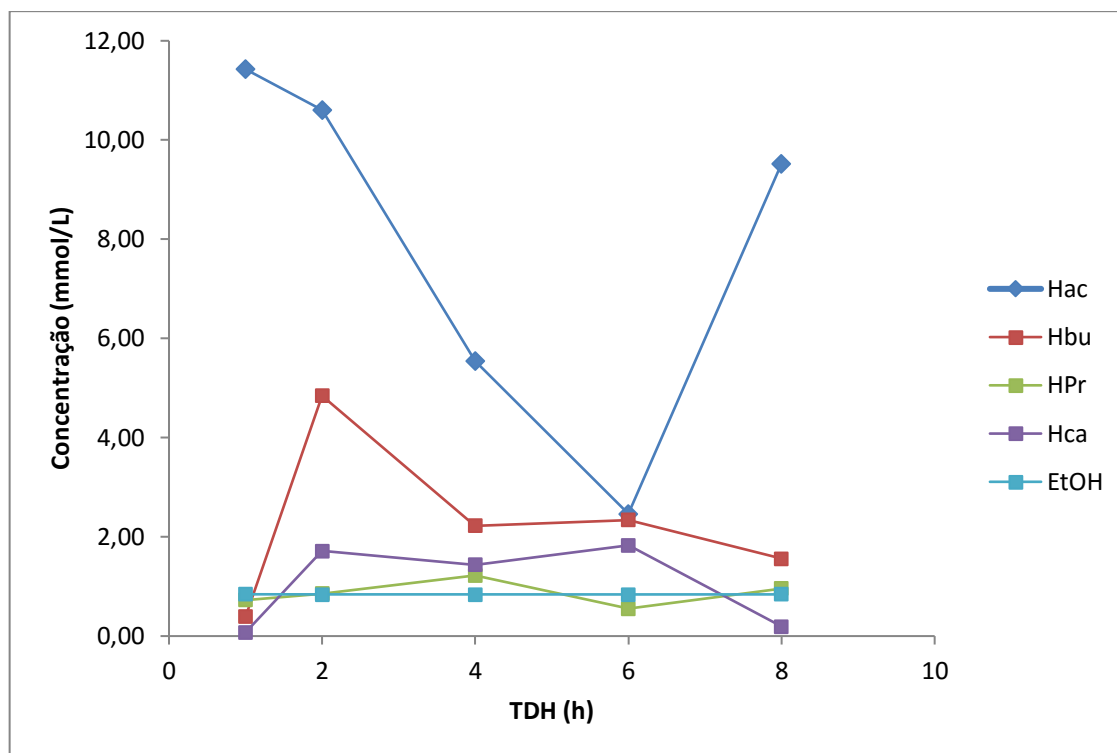
Na Figura 19 é apresentado o gráfico das concentrações dos metabólitos líquidos detectados durante a operação do reator. Nota-se a presença de ácido acético (HAc), ácido butírico (HBu), ácido propiônico (HPr), ácido capróico (HCa) e etanol (EtOH) em todas as fases operacionais do reator. O ácido acético foi encontrado em maiores concentrações em todas as fases, seguido do ácido butírico. As concentrações dos diversos metabólitos são mostradas na Tabela 17.

Tabela 17 - Concentrações médias dos metabólitos líquidos detectados durante a operação do reator.

TDH	Ácido Acético		Ácido Butírico		Ácido Propiônico		Ácido Capróico		Etanol	
	mg/L	mM/L	mg/L	mM/L	mg/L	mM/L	mg/L	mM/L	mg/L	mM/L
8	571,81	9,52	137,63	1,56	70,96	0,96	22,23	0,19	38,75	0,84
6	148,05	2,47	206,03	2,34	41,04	0,55	212,52	1,83	38,67	0,84
4	352,20	5,87	195,33	2,22	114,44	1,54	154,96	1,33	38,69	0,84
2	875,79	14,58	412,36	4,68	68,03	0,92	235,37	2,03	38,70	0,84
1	686,16	11,43	34,31	0,39	53,97	0,73	8,67	0,07	38,81	0,84

Fonte: Autora, 2015.

Figura 19 - Concentrações dos metabólitos líquidos detectados durante a operação do reator.



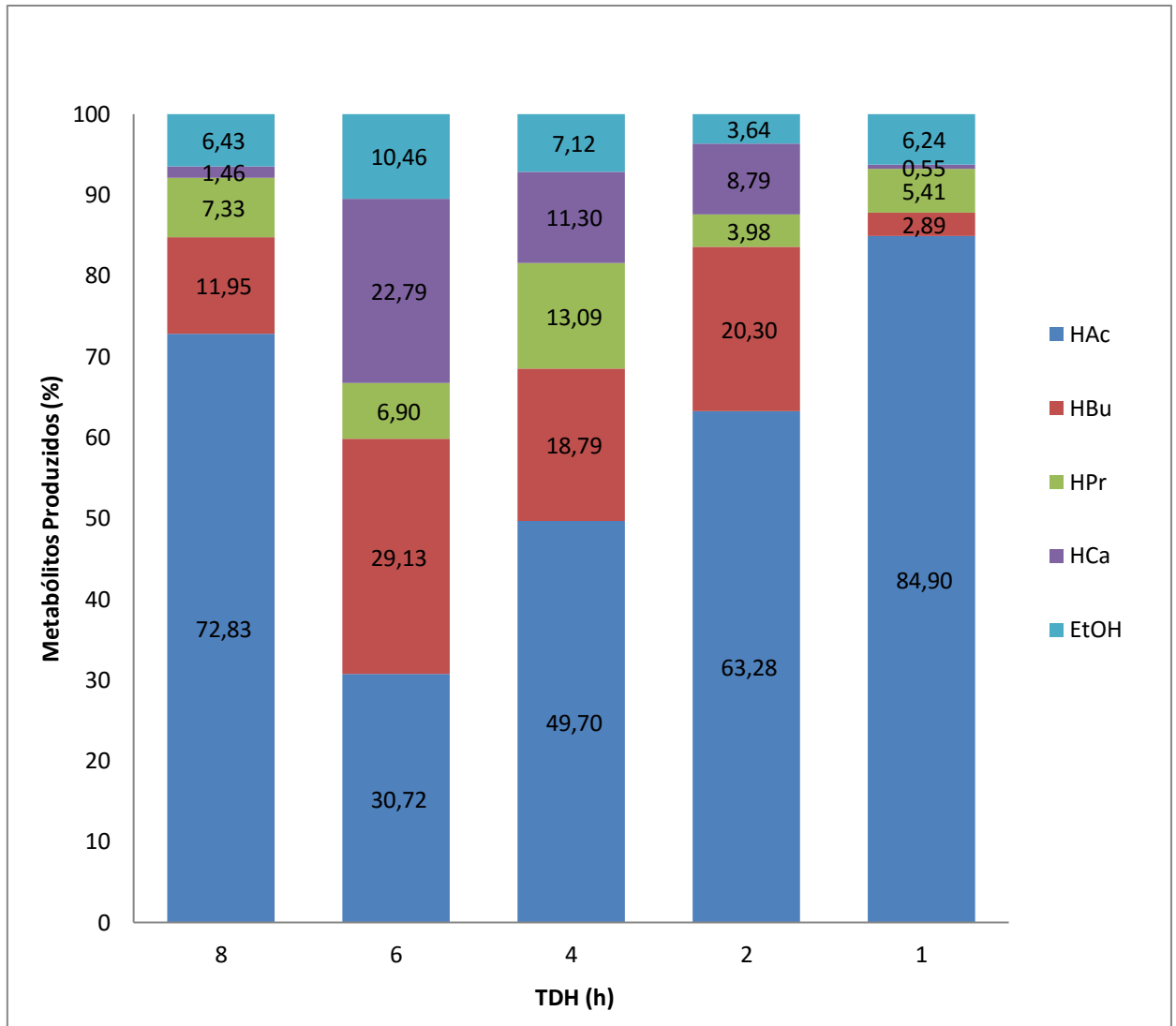
Fonte: Autora, 2015.

Os ácidos acético e butírico são considerados indicadores da produção de hidrogênio, pois a rota metabólica desses produtos leva à formação de hidrogênio. Os ácidos acético e butírico apresentaram as maiores concentrações nos valores de TDH de 2h (1351,99 mg/L e 434,18 mg/L, respectivamente), entretanto o menor valor para o ácido acético foi encontrado no TDH de 6h (148,05 mg/L) e o menor valor para o ácido butírico foi encontrado no TDH 1 h (11,55 mg/L), isso significa que devido ao baixo TDH, esses metabólitos não permaneciam no sistema tempo suficiente para serem degradados em moléculas menores pelos microrganismos, pois eram varridos do sistema, ocasionando a diminuição do rendimento de hidrogênio. Observa-se que a concentração de ácido acético aumenta enquanto que as concentrações dos outros metabólitos diminuem consideravelmente no TDH de 1h. Além disso, observou-se que a produção de ácido capríico foi mais elevada no TDH de 2h (198,91 mg/L) do que no TDH de 1h (22,23mg/L), os ácidos graxos também contribuem para a produção de hidrogênio, contribuindo com o rendimento mais elevado.

O TDH de 2h exibiu o mais elevado rendimento de hidrogênio e através da Figura 20, pode-se observar que o ácido propiônico tem a menor participação do TDH de 2h (3,98%), o que corrobora para o melhor rendimento na produção de hidrogênio. Entretanto, no TDH de 1h, a

participação do ácido propiônico aumenta, fazendo com que o rendimento de hidrogênio decaia. A rota do ácido propiônico é desfavorável, pois há o consumo de 2 mols de hidrogênio.

Figura 20 - Participação dos metabólitos produzidos.



Fonte: Autora, 2015.

5.10 Balanço de massa

O balanço de massa serve para entendermos as variáveis atuantes em um sistema e é baseado na Lei da Conservação da Matéria: “a matéria não é criada nem destruída” (LAVOISIER, 1875)

Para avaliar a eficiência de transformação do substrato em biogás, foi realizado um balanço de massa, levando-se em consideração as relações estequiométricas de oxidação da glicose, da

biomassa descarregada do reator, do ácido acético, do ácido butírico, do ácido propiônico, do ácido capróico e do etanol. As reações estão descritas em seguida.

❖ *Glicose:*



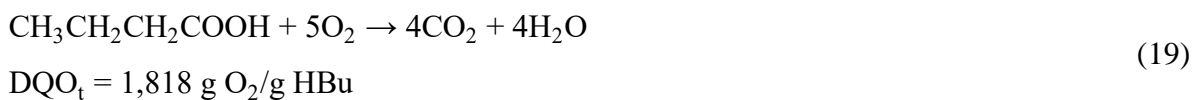
❖ *Biomassa:*



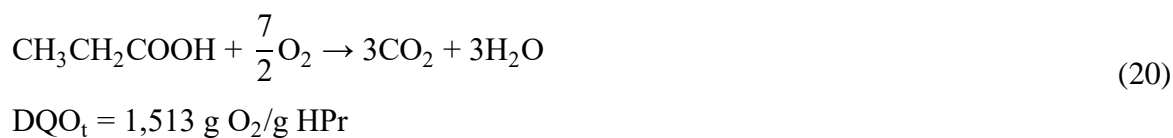
❖ *Ácido acético:*



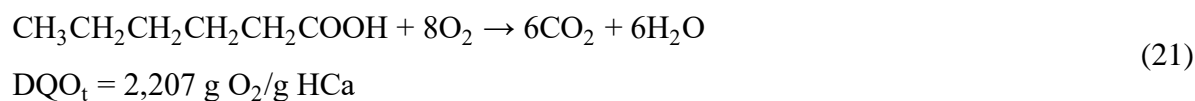
❖ *Ácido butírico:*



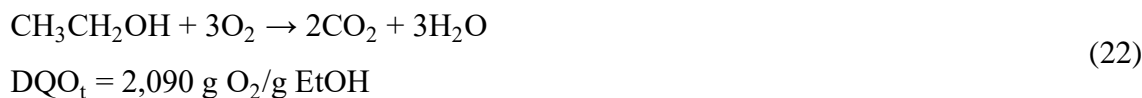
❖ *Ácido propiônico:*



❖ *Ácido capróico:*



❖ *Etanol:*



Analisando os dados da Tabela 18, observa-se que a diferença entre a DQO efluente medida e a DQO teórica total variou de 764,25 (TDH = 2h) a 2004,1 mg/L (TDH = 1h), ou seja, houve uma grande variação. O balanço de massa é importante para identificar os componentes que entram e saem de um sistema, ou seja, também infere sobre a confiabilidade dos resultados. Visto que nada se perde ou se cria, tudo se transforma, a relação de DQO teórica total estar abaixo da DQO efluente medida, no informa que alguns compostos podem não ter sido monitorados. A DQO efluente medida esteve acima do teoricamente recomendável. Sabe-se que a digestão anaeróbia é um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio molecular livre e que devido à interação de diversas espécies de microrganismos entre si, de forma simbiótica convertem compostos orgânicos complexos em CH₄ e outros compostos como CO₂, N₂, NH₃, H₂S, traços de outros gases e ácidos orgânicos de baixo peso molecular, que não foram quantificados através dos métodos utilizados neste trabalho. A equivalência também é afetada pelo método de quantificação da DQO, pois o baixo teor de carboidratos leva a uma menor quantidade de DQO detectada no espectrofotômetro, ocorrendo um erro na linearidade da Lei de Beer-Lambert, com consequente aumento do erro relativo.

Tabela 18 - Balanço de massa em termos da DQO para os resultados obtidos durante a operação do reator.

Fase	TDH(h)	DQO _t HAc (mg/L)	DQO _t HBu (mg/L)	DQO _t HPr. (mg/L)	DQO _t HCa (mg/L)	DQO _t EtOH (mg/L)	DQO _t Glicose (mg/L)	DQO _t Biomassa (mg/L)	DQO _t Soma (mg/L)	DQO _{efl} (mg/L)	DQO _{efl} - DQO _{t soma} (mg/L)	Equivalência (%)
1	8	609,55	250,22	107,40	49,06	80,98	71,57	76,55	1.245,32	2.074,66	829,33	57,29
2	6	157,82	374,57	62,12	469,01	80,82	69,63	145,04	1.359,02	2.798,32	1.439,30	60,68
3	4	375,44	355,10	173,20	341,98	80,86	75,86	185,33	1.587,78	2.469,20	881,42	43,86
4	2	933,59	749,67	102,97	519,42	80,89	79,57	133,40	2.599,51	3.363,76	764,25	32,13
5	1	731,44	62,37	81,68	19,13	80,84	852,46	342,47	2.170,39	4.174,49	2.004,10	53,55

DQO_t: Demanda química de oxigênio teórica;

HAc: acetato; HBu: butirato; HPr: propionato; HCa: hexanoato (ácido capríco) EtOH: etanol;

DQO_t Soma: soma de todas as DQO_t;

DQO_{efl}: DQO do efluente medida;

Equivalência = $1 - (DQO_{efl} - DQO_{t\ soma}) / DQO_{efl}$

Fonte: Autora, 2015

6. CONCLUSÃO

O reator anaeróbio de leito fixo apresentou rendimento máximo da produção de hidrogênio de 41,5%, a produção volumétrica de hidrogênio aumentou com o incremento da taxa de carregamento orgânico (TCO), tendo produção máxima no TDH de 1h, atingindo o valor de 0,01 L H₂ h/L, isso foi constatado pela diminuição da produção de gás carbônico. O rendimento máximo observado em relação ao incremento da TCO foi de 1,66 mol H₂/mol de glicose quando aplicada uma TCO de 46,37 Kg.m⁻³.d⁻¹.

Obteve-se uma grande oscilação na concentração de carboidrato no afluente que variou de 71,69 mg/L no TDH de 8h a 2471,8 mg/L no TDH de 1h respectivamente, sendo constatado que esta diferença de valores esteve relacionada às diferentes coletas de manipueira utilizadas para posterior alimentação do reator, essa variação teve influência em diversos parâmetros analisados neste trabalho, desde o pH à produção de hidrogênio. Entretanto as eficiências de remoção de carboidrato foram relativamente altas (88,77%) comparadas às encontradas em trabalhos utilizando leito fluidificado. Amorim (2015) obteve máxima eficiência de remoção em torno de 65%. O leito fixo possui maior quantidade de argila expandida, se comparado ao de leito fluidificado em sistemas idênticos, possibilitando uma maior aderência de microrganismos, aumentando a capacidade de utilização do substrato, que, conseqüentemente, aumenta a sua eficiência.

Os metabólitos solúveis detectados no efluente ao longo da operação do reator foram: Ácido Acético (30,72% a 84,9%), Ácido Butírico (2,89% a 29,13%), o Ácido Propiônico (3,98% a 13,09%), o capróico (0,55% a 22,79%) e o Etanol (3,64% a 10,46%). As rotas metabólicas levaram a produção de ácido propiônico na qual ocorre o consumo de hidrogênio, diminuindo os rendimentos do mesmo. No TDH de 2h o ácido butírico e o ácido acético tiveram concentrações relativamente altas e o ácido propiônico foi encontrado em menor concentração, o que corrobora com o melhor rendimento de hidrogênio encontrado.

Apesar do pré-tratamento térmico do inóculo, as arqueias metanogênicas podem não ter sido eliminadas, visto que foi observada a produção de metano juntamente com o hidrogênio em todas as fases operacionais. Dessa forma, pode-se concluir que, nas condições em que foi operado o biorreator foi possível produzir os biocombustíveis metano e hidrogênio a partir de manipueira em níveis comparáveis com a literatura utilizando um substrato real. O gás metano é um produto com alto valor energético utilizado em diversas aplicações. Portanto, a capacidade

de produção do metano juntamente com o hidrogênio em tdh's baixos, indica que os dois produtos podem ser gerados em um mesmo biorreator, diminuindo os custos operacionais e gerando produtos de valor agregado.

7. REFERÊNCIAS

ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v.5, p.406-414, 2014.

ANDREANI, C. L., TORRES, D. G. B., SCHULTZ, L., CARVALHO, K. Q. DE, & GOMES, S. D. Hydrogen production from cassava processing wastewater in an anaerobic fixed bed reactor with bamboo as a support material. *Engenharia Agrícola*, 35(3), 578-587, 2015.

AMORIM, ELC. Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidificado. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

AMORIM, E.L.C.; BARROS, A.R.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SILVA, E.L. Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.34, p.783 - 790, 2009.

AMORIM, N. C. S., ALVES, I., MARTINS, J. S., AMORIM, E. L. C. Biohydrogen production from cassava wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering (Online)**, 2013.

AMORIM, NCS. Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbico de leito fluidificado. **Dissertação de Mestrado**, 2012;

ANGENENT LT, KARIM K, AL-DAHAN MH, WRENN BA, DOMI'GUEZ-ESPINOSA R. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. **Trends Biotechnol** 2004;22:477e85.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th. **American Public Health Association. Washington, DC: American Public He Association/American Water Works Association/Water Environmental Federation; 1998.**

AROOJ, M. F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. (2008). Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 22, p. 6509-6514, Nov 2008.

ARREOLA-VARGAS, J.; CELIS, L. B.; BUITRÓN, G.; RAZO-FLORES, E.; ALATRISTE-MONDRAGÓN, F.; “Hydrogen production from acid and enzymatic oat straw hydrolysates in an anaerobic sequencing batch reactor: Performance and microbial population analysis”, **International Journal of Hydrogen Energy**, v.38, 13884–13894, 2013;

BEZERRA, S. M. C. Influência do tempo de detenção hidráulica sobre a auto-inoculação na partida de um reator UASB tratando Esgoto Sanitário. 143 f. 1998. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande.**

BILITEWSKI, BERND, HÄRDTLE, GEORG, MAREK. Waste Management. **Springer, Berlin.** ISBN: 3-540-59210-5;

BOXMA B, DE GRAAF RM, VAN DER STAAAY GWM, VAN ALEN TA, RICARD G, GABALDON T, VAN HOEK AHAM, MOON-VAN DER STAAAY SY, KOOPMAN WJH, VAN HELLEMOND JJ, TIELENS AGM, FRIEDRICH T, VEENHUIS M, HUYNEN MA, HACKSTEIN JHP. An anaerobic mitochondrion that produces hydrogen. *Nature*. 2005; 434 (7029): 74 - 79.

CAMILLI M, PEDRONI PM. Comparison of the performance of three different reactors for BioHydrogen production via dark anaerobic fermentations **Proceedings International Hydrogen Energy Congress and Exhibition IHEC 2005 Istanbul, Turkey, 13-15 July 2005.**

CARDOSO, P. H. G. Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leite fluidificado: Efeito do pH. **Dissertação de Mestrado, 2013;**

CARRONDO, M. J. T.; SILVA, J. M. C.; FIGUEIRA, M. I. I.; GANHO, R. M. B.; OLIVEIRA, J. F. S. Anaerobic filter treatment of molasses fermentation Wastewater. **Water Sci. Tech.** v. 15, p. 117 – 126, 1983;

CHANG JS, LEE KS, LIN PJ. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactor, **Intern. Journ. Hydrogen Energy.** 2002: 27: 1167-1174.

CHEN CC, CHEN HP, WU JH, LIN CY. Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration. *International Journal of Hydrogen Energy.* **in press.**

CHENG, J.; SU, H.; ZHOU, J.; SONG, W.; CEN, K.; Hydrogen production by mixed bacteria through dark and photo fermentation **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 470 - 457, 2011;

CHERNICHARO, C. A. De L., Reatores Anaeróbios, 2 ed., Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 1997;

COLIN, X.; FARINET, J.-L.; ROJAS, O.; ALAZARD, D.; Anaerobic treatment of cassava starch extraction wastewater using a horizontal flow filter with bamboo as support. . **Bioresource Technology**, v.98, p. 1602 - 1607, 2007;

COONEY, M.; MAYNARD, N.; CANIZZARO, C.; BENEMANN, J. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures. **Bioresource Technology**, v.98, p. 2641 – 2651, 2007;

CORDOBA, P. R.; SINERIZ, F. Characteristics of packings for use in anaerobic filters. **Environ. Technol. Lett.** V.11, p. 213 – 218, 1990;

CORDOBA, P. R.; SANCHEZ RIERA, F.; SINERIZ, F. Treatment of industry wastewater with anaerobic filter. **Biotechnol. Lett.** V.11, p. 753 – 758, 1984;

DEL NERY, V. Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo de partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo. **Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento)**, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 1987

DILALLO, R; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids by Direct Titration. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 357-365, 1961;

DUBOIS, S. M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, FRED. Colorimetric Methods for determination of sugar and related substance. **Analytical Chemistry**, v. 228, p. 13-21. 1956;

FANG HHP, LIU H, ZHANG T. Characterization of a hydrogen-producing granular sludge **Biotechnol Bioeng**, 78: 44–52, 2002;

GOURARI, S.; ACHAKARI-BEGDOURI,A. Use of baked clay media as biomass supports for anaerobic filters. **Applied Clay Science**, v. 12, p. 365-375, 1997.

GUO W, LIU C, ZOU S, ZHANG M. Progress in research and application of homoacetogen. **Chin J Appl Environ Bio** 2006;12:874e7;

GUWY AJ, HAWKES FR, HAWKES DL, ROZZI AG. Hydrogen Production In A High Rate Fluidised Bed Anaerobic Digester. **Wat. Res.** 31(6): 1291-1298, 1997;

HACKSTEIN JHP. Eukaryotic Fe-hydrogenases – old eukaryotic heritage or adaptive acquisitions? **International Hydrogenases Conference.** 2004; 47.

HALLENBECK PC. Fundamental of the fermentative production of hydrogen, Anaerobic Digestion, 10th World Congress Moreal, Canada. 2004; 1: 249-252.

HAN SK, SHIN HS. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste, Int. Journal of Hydrogen Energy. 29: 569-577, 2004;

HAANDEL, A. V.; LETTINGA, G. Tratamento anaeróbico de esgotos – um manual para regiões de clima quente. **Campina Grande: Guerreiro e Catunda, 1994**

HAWKES, F.R.; DINSDALE, R.; HAWKES, D.L.; HUSSY, I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1339–47, 2002;

HENZE, M.; HARREMOES, P.; Anaerobic treatment of wastewaters in fixed film reactors, A literature review. **Water Sci. Tech.** v. 15, p. 1 – 101, 1983;

HUANG GH, HSU SF, LIANG TM, HUANG YH. Study on hydrogen production with hysteresis in UASB, **Chemosphere.** 54: 815-821, 2004;

HISTÓRICO: Serviço Geológico do Brasil, CPRM. Diagnóstico do município de Santa Luzia do Norte. <<http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/alagoas/relatorios/SLDN087.pdf>>. Acesso em 16 de maio de 2015;

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisa>>. Acesso em: 11 de março de 2014;

INCROPERA, P. F. & DEWITT, D. P. Fundamentos de transferência de calor e de massa. **LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A. Rio de Janeiro, 1992, p. 455.**

IPCC – Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima – Quarto relatório de avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima: **Paris, 2007;**

ITO T, NAKASHIMADA Y, SENBA K, MATSUI T, NISHIO N. Hydrogen and Ethanol Production from Glycerol-Containing Wastes Discharged after Biodiesel Manufacturing Process. **Journal of bioscience and bioengineering.** 2005; **100 (3): 260–265.**

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). **Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.**

KHANAL SK, CHEN WH, LI L, SUNG S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy.** 2004; **29: 1123 – 1131.**

KIM, S.; HAN, S.; SHIN, H. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process. Biochem., v. 41, p. 199-207, 2006;**

KIM, D. H.; KIM, S.H.; KIM, K.Y.; SHIN, H.S. (2010). Experience of a pilot-scale hydrogenproducing anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) treating food waste. **International Journal of Hydrogen Energy, v. 35, n. 4, p. 1590-1594, Feb 2010.**

LAMAISONA, F., REGINATTOB, V., AMANTEC, E. R., ANTÔNIO R. V., Produção de Biocombustíveis a Partir da Água Residuária do Processamento da Mandioca. **2nd International Workshop: Advances in Cleaner Production. São Paulo, Brasil. 22 a 23 de maio, 2009;**

LAY, J.J.; LEE, Y.J.; NOIKE, T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. **Water Research, v. 33 (11), p. 2579-2586,1999;**

LEE, K.S.; LO, Y.S.; LO, Y.C.; LIN, P.J.; CHANG, J.S. H₂ Production With Anaerobic Sludge Using Activated-Carbon Supported Packed-Bed Bioreactor. **Biotechn. Letter.** 2003; **25: 133-138.**

LEITÃO, R. C., et al, 2006b. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: a review. **Bioresource Technology, Londres, v. 97, n.9, p. 1105-1118, 2006b**

LEITE JAC, FERNANDES BS, POZZI E, BARBOZA M, ZAIAT M. Application of anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. **International Journal of Hydrogen Energy. 2008; 33: 579-586;**

LENS, P.; WESTERMANN, PETER; HABERBAUER, M.; MORENO, A. **Biofuels for Fuel Cells: Renewable energy from biomass fermentation.** IWA Publishing, 2005;

LEVIN DB, ISLAM R, CICEK N, SPARLING R. Hydrogen production by *Clostridium thermocellum* 27405 from cellulosic biomass substrates. **International Journal of Hydrogen Energy. (31) 1496 – 1503, 2006;**

LYBERATOS G, SKIADAS IV. Modelling of anaerobic digestion a review. **Global NEST The Int J 1999;1(2):63e76/**

LIN CY, CHANG RC. Fermentative hydrogen production at ambient temperature. **International Journal of Hydrogen Energy. 29: 715 – 720, 2004;**

LIU H, FANG HHP. Hydrogen production from wastewater by acidogenic granular sludge, **Water Science and Technol. 47(1): 153-158, 2002;**

LIU, G.; SHEN, J. Effects of culture and medium condition on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 98, p. 251–256, 2004

LIU X, ZHU Y, YANG ST. Butyric acid and hydrogen production by *Clostridium tyrobutyricum* ATCC 25755 and mutants. **Enzyme and Microbial Technology. 2006; 38: 521–528.**

MAINTINGUER, S. I. et al. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 33, p. 4309-4317, 2008.

MARTINS, C. R.; PEREIRA, P. A. DE P.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. DE; Ciclos Globais de Carbono, Nitrogênio e Enxofre: A importância da Química na Atmosfera, **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, v. 5, p. 28-41, 2003;**

MARTINS, J. S. Produção de hidrogênio e metano em reatores anaeróbios a partir do efluente do processamento do coco. **Dissertação de Mestrado, 2015;**

MATA-ALVAREZ, J. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes, **2003;**

MCINERNEY, M.J., Anaerobic hydrolysis and fermentations of fats and proteins. **Biology of Anaerobic microorganisms (ed. A.J.B. Zehnder) . John Wiley and Sons. New York. P. 373 – 415, 1988;**

MIZUNO O, DINSDALE R, HAWKES FR, HAWKES DL, NOIKE T. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Bioresource Technology 73: 59-65, 2002;**

MOHAN SV, BABU VL, SARMA PN. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate. **Bioresource Technology. 2008; 99: 59–67.**

MOHAN SV, MOHANAKRISHNA G, RAMANAIAH SV, SARMA PN. Simultaneous biohydrogen production and wastewater treatment in biofilm configured anaerobic periodic discontinuous batch reactor using distiller y wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy, in press.**

MURRAY, W. D.; VAN DEN BERG, L. Effect of support material on the development of microbial fixed films converting acetic acid to methane. **J. Appl. Bacter. V. 51, p. 257 – 265, 1981;**

MU Y, YU HQ. Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules I: physicochemical characteristics of hydrogen-producing granules. **Biotechnol Bioeng, 94(5):980–7, 2006;;**

MU Y, YU HQ, WANG G. A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process. **Water Research . 41: 1152 – 1160, 2007;**

NAKSAKUL, N., TANTRAKARNAPA, K., SILAPANUNTAKUL, S., Biogas Production from Treatment of Coconut Milk Wastewater Using Anaerobic Process, **Thai Environmental Engineering Journal, 2006, v. 20, p. 1 – 10**

NASCIMENTO, R. A. Desempenho de reator anaeróbio de manta de lodo utilizando efluentes líquidos de indústria alimentícia. **Campinas, 1996. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas.**

OGDEN, J. High hopes for hydrogen. **Scientific America**, v. **295**, p. **94-101**, **2006**;

OH SE, VAN GINKEL S, LOGAN BE. The relation effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environ. Sci. Technol.** **2003**; **37**: **5186-5190**;

OLESZKIEWICZ, J., et al. (1986). Performance of laboratory anaerobic hybrid reactors with varying depths of media. **Environ. Technol. Lett.**, **7**, **445**.

ÖRLYGSSON, J; The role of Interspecies Hydrogen Transfer on Thermophilic Protein and Amino Acid Metabolism. **Dissertação. Departamento de Microbiologia, Swedish University Agricultural Science Report N° 59, Uppsala, ;1994**;

ÖRLYGSSON, J; HOUWEN, F.; SVENSSON, B.H.; Thermophilic Anaerobic Amino Acid Degradation: deamination rates and end product formation. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** **43**. **P. 235 – 241. 1995**

OSTREM, K. Greening waste: Anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes. **Earth Engineering Center Columbia University, 2004**;

PEIXOTO, G. Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária de indústria de refrigerantes. **Dissertação de Mestrado, 2008**;

PEIXOTO G. Sistema fermentativo de duas fases para produção de hidrogênio e metano a partir de esgoto sanitário combinado com águas residuárias industriais. **Tese de Doutorado, 2011**.

PAPL. Mandioca agreste (versão preliminar): programa de mobilização para o desenvolvimento dos arranjos e territórios produtivos locais do estado de alagoas, **2009**;

RAMSEY, I.R.; PULLAMMANAPPALLIL, P.C., Protein degradation during anaerobic wastewater treatment: derivation os stoichiometry. **Biodegradation** **12**, p **247 – 257, 2001**.

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

SAADY , N.M.C, Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge, **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 13172 – 13191, 2013;

SANTOS , F. M. S. M. DOS; SANTOS, F. A. C. M. DOS; O Combustível “Hidrogênio”, **Millenium**, v. 31, p. 252-270, 2005;

SANTOS, E. C. L. Produção biológica de hidrogênio utilizando resíduo da suinocultura suplementado com sacarose. **Dissertação de Mestrado, 2014;**

SANTOS, J. D. N. Efeito de Pré-tratamentos Térmicos, à Pressão Atmosférica, na Digestão Anaeróbia Mesófila e Termófila de Resíduos de Casca de Batata. **Dissertação De Mestrado, 2013;**

SEIFERT, K.; WALIGORSKA, M.; WOJITOWSKI, M.; LANIECKI, M. Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 9, p. 3671-3678, May 2009;

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R.. Engineering cyanogen synthesis and turnover in cassava (*Manihot esculenta*). **Plant Molecular Biology, Columbus**, v.56, n.4, p.661-669, 2004

SIRIWONGRUNGSON V, ZENG RJ, ANGELIDAKI I. Homoacetogenesis as the alternative pathway for H₂ sink during thermophilic anaerobic degradation of butyrate under suppressed methanogenesis. **Water Research.** 2007; 41: 4204 – 4210.

SCHRÖDER U, SCHOLZ F. Bacterial batteries. **Nature Biotechnology.** 21(10): 1151-1152, 2003;

SHIN JH, YOON JH, AHN EK, KIM MS, SIM SJ, PARK TH. Fermentative hydrogen production by the newly isolated *EnterobacterasburiaenSNU-1*. **International Journal of Hydrogen Energy.** 32: 192 – 199, 2007;

SILVA, A. N. da S. Produção de biohidrogênio a partir de efluentes de laticínios. **Dissertação de Mestrado, 2015;**

SMITH, R.J. The Anaerobic Digestion of Livestock Wastes and the Prospects for Methane Production. **Engineering Department Agricultural, Iowa State, nov., 1973. p. 1 – 30;**

SREEJA, V.G.; LEELAMMA, S.. Cassava diet — A cause for mucopolysaccharidosis. *Plant Foods for Human Nutrition, Trivandrum, v.57, n.2, p.141-150, 2002;*

SREEJA VG, NAGAHARA N, LI Q, MINAMI M. New aspects in pathogenesis of konzo: neural cell damage directly caused by linamarin contained in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **British Journal of Nutrition. United Kingdom, v.90, n.2, p.467-472, 2003**

STEINBRECHER, P. (1988). Effect of reactor height on anaerobic filter performance. **M.S. Thesis, Univ. of Arkansas, Fayetteville;**

SREETHAWONG,T.; CHATSIRIWATANA, S.; RANGSUNVIGIT, P.; CHAVADEJ, S.. Biological hydrogen production from cassava wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor: effects os operational parameters, COD: N ratio and organic acid composition. **Int. J. Hydrogen Energy 35 (9), 4092 – 4102, 2009;**

STOJIC, D. L.; MARC ETA, M. P.; SOVILJ, S. P., MILJANIC´, S. S. Hydrogen generation from water electrolysis – possibilities of energy saving. **Journal of Power Sources , v. 118, p. 315–319, 2003;**

TAGUCHI F, MIKUKAMI N, SAITO-TAKI T, HASEGAWA K. Hydrogen production from continuous fermentation of xylose during growth of *Clostridium* sp. Strain No. 2. **Can. J. Microbiol.1995; 41: 536–540.**

TESCH, W.; SCHNEIDER, K.; BACHOFEN, R.; Effect of support material on the development of microbial fixed film converting acetic acid to methane. **Process. Biochem. Janeiro/Fevereiro, p. 34 – 37. 1983;**

VAZQUEZ IV, SPARLING R, RISBEY D, SEIJAS NR, VARALDO HMP. Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes. **Bioresource Technology. 2005; 96: 1907–1913.**

VILELA, L. M. B. Produção biológica de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbico de leito fluidificado: Efeito da adição de esgoto sanitário para redução da carga orgânica. **Dissertação de Mestrado, 2013;**

WANG, J.; WAN, W. Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v 33, n 6, p 5392-5397, Sep 2008.

WU SY, LIN CN, CHANG JS, LEE KS, LIN PJ. Microbial hydrogen production with immobilized sewage sludge, **Biotechnol. Prog.** 2002; 18: 921-926.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S.; Hydrogen Production with Immobilized Sewage Sludge in Three-Phase Fluidized-Bed Bioreactors. **Biotechnology. Prog.**, 19: 828-832, 2003;

YOKOYAMA H, WAKI M, OGINO A, OHMORI H, TANAKA Y. Hydrogen Fermentation Properties of Undiluted Cow Dung. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 104(1): 82–85, 2007;

YOUNG, J. C. Factors affecting the design and performance of upflow anaerobic filters. **Water Sci. Tech.** v. 24. P.133 – 155, 1991;

YOUNG, J. C.; DAHAB, M. F. Effect of media design on the performance of fixed-bed anaerobic filters. **Water Sci. Tech.** v. 15. P.368 – 383, 1983;

ZHANG, Z. P.; SHOW, K. Y.; TAY, J.H.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIANG, W.J. (2006) .Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 10, p. 2118-2123, Oct 2006.