



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

CENTRO DE TECNOLOGIA

GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA



FERNANDA KAROLINA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE RESÍDUOS DE
INDÚSTRIAS DE PROCESSAMENTO DE LEITE E FRUTAS**

Maceió

2019

FERNANDA KAROLINA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE RESÍDUOS DE
INDÚSTRIAS DE PROCESSAMENTO DE LEITE E FRUTAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Ambiental e Sanitarista.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Dayana de Gusmão Coêlho

Maceió

2019



Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Centro de Tecnologia – CTEC
Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária
Cidade Universitária – Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins – CEP 57072-970 – Maceió – Alagoas
Tel: (0**82) 3214-1281 – Fax: (0**82)3214-1625



Ata de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso

Ao(s) 20 dia(s) do mês de agosto de 2019 realizou-se às 13:30 horas, na sala de aula do PPGRHS do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, a defesa do **Trabalho de Conclusão** de Curso do(a) discente **Fernanda Karolina Oliveira de Araújo** intitulado "Produção de hidrogênio a partir da co-digestão de resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas ". A Banca Examinadora foi constituída por Eduardo Lucena C. de Amorim (Orientador), Dayana de Gusmão Coelho (coorientadora), Daniele Vital Vich e Christiano Cantarelli Rodrigues. Após a apresentação do(a) discente pelo(a) orientador(a), o(a) mesmo(a) expôs seu trabalho, sendo, logo a seguir, arguido(a) pelos componentes da Banca Examinadora. O Trabalho de Conclusão de Curso obteve as seguintes notas de cada um dos avaliadores: Daniele Vital Vich (9,0) e Christiano Cantarelli Rodrigues (9,0), resultando numa média (9,0). Os registros de notas e de solicitação de correções estão documentados nos formulários de notas e de correções, respectivamente, preenchidos pelos avaliadores.

E, para constar, foi lavrada a presente ata que vai assinada pelos componentes da Banca Examinadora.

Maceió, 20 de agosto de 2019.

Eduardo Lucena C. de Amorim (Orientador - CTEC/UFAL)

Daniele Vital Vich (CTEC/UFAL)

Christiano Cantarelli Rodrigues (CTEC/UFAL)

Como primeira engenheira da família, a eles dedico esta vitória.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Eduardo Lucena, pelas oportunidades e conselhos a mim prestados desde o primeiro período de curso – como orientador do PROA, coordenador do curso, orientador de pesquisa – até aqui, como orientador de TCC. Além de todo o aprendizado em sala de aula, agradeço por ser sempre tão humano e compreensivo, professor. Esse é seu diferencial.

À minha família, pela confiança e por todas as orações, que sem dúvidas foi o que me permitiu chegar até aqui ilesa, morando sozinha em uma capital que me era totalmente desconhecida. Agradeço em especial ao apoio imensurável dos meus pais, Elielza Oliveira e Fábio Araújo, que acreditaram e investiram tudo o que tinham em mim. Aos meus avós, Dilce Lobato e Nelín Araújo, obrigada por existirem. Apesar da saudade diária, essa jornada se tornou mais fácil com o sorriso e o abraço de vocês, mesmo que do outro lado do telefone.

Às amigas mais preciosas que pude construir ao longo da graduação, Nathacha Cavalcante, Heloize Nascimento e Heloisa Vital, vocês são o maior exemplo de cumplicidade, felicidade e cuidado que eu poderia ter tido. Agradeço igualmente aos que ajudaram diretamente com o desenvolvimento desse trabalho, Ingrid Jesus, Alexandre Barbosa, Gabryel Lima, Rodrigo Medeiros e Lorena Jucá.

Aos grupos discentes Centro Acadêmico de Engenharia Ambiental e Sanitária – CAEAMB e Programa de Educação Tutorial – PET Engenharia Ambiental, por me terem dado a oportunidade de crescimento e amadurecimento dentro da graduação, e por terem sido os primeiros a me mostrar o quanto eu poderia ser feliz aqui. Por tudo que vivi e aprendi com vocês, durante nossos cinco anos de convivência, muito obrigada. Continuem transformando vidas.

Aos professores do curso que interferiram diretamente não somente na minha formação profissional, como também pessoal, Christopher Souza e Marllus Neves, vocês foram além de professores, incríveis amigos. Professoras Nélia Callado e Daniele Vich, obrigada por todos os esforços não-medidos para me ajudar nesta última etapa da graduação. Como diz meu pai, sendo ele também professor, “professor é aquele que acima de tudo, quer ver o sucesso dos seus alunos”. A execução do trabalho de todos vocês aliada à vontade de ver o meu sucesso, me emociona profundamente. Professora Dayana Coêlho, agradeço por ter aceitado o convite em me co-orientar, mesmo sendo de outro curso. Sua disposição e contribuições para com esse trabalho foram fundamentais para meu crescimento científico.

A profissional que serei da porta da UFAL para fora, é resultado dos nossos esforços em conjunto. Minha mais sincera e eterna gratidão a todos vocês, professores.

Por fim, querida Maceió, obrigada por ter me recebido. Você não é minha cidade-natal, mas é a de coração. Você é uma cidade linda, com pessoas acolhedoras e alto potencial de desenvolvimento. Espero que todos cuidem muito bem de você daqui para frente, exercendo seus deveres como políticos-cidadãos. Se cada um fizer sua parte, por menor que seja, podemos garantir um futuro melhor para todos. Ninguém solta a mão de ninguém.

Gratidão por tudo, universo!

“O vitorioso não é aquele que simplesmente consegue chegar ao final. O vitorioso é aquele que não desiste em meio às dificuldades até chegar ao final.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

A co-digestão de resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas para produção de hidrogênio a partir da fermentação anaeróbia e em temperatura mesofílica foi investigada pela primeira vez neste trabalho. As bactérias produtoras de hidrogênio derivadas de lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) da Estação de Tratamento de Efluentes domésticos (ETE) de um residencial foram utilizadas para produzir hidrogênio a partir de uma solução em mistura de efluentes de indústrias de processamento de leite e frutas, através de um planejamento experimental fatorial segundo a metodologia do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). O pré-tratamento térmico do inóculo associado ao controle de pH foi aplicado para selecionar bactérias produtoras de hidrogênio e bactérias formadoras de endósporos. Os ensaios foram realizados em onze reatores em batelada para verificar as eficiências de conversão de carboidratos e proteínas em H₂ pelas bactérias produtoras de hidrogênio. Diante dos reatores estudados, o reator R8 com substrato composto em 100% de efluente de indústria de processamento de frutas e inoculado com lodo a 12,5% em volume de substrato, apresentou a melhor eficiência de produção de hidrogênio, com uma produção máxima específica de 0,82 mL H₂/gSV durante dezoito dias de operação em batelada. Concluindo que em caso de impossibilidade de aprimoramento do experimento, voltado para diluição e inibição de compostos surfactantes presentes no resíduo da indústria de processamento de leite, se torna mais vantajoso trabalhar com a digestão isolada de resíduos da indústria de processamento de frutas.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia, efluente de frutas, efluente de leite, indústrias, produção de hidrogênio.

ABSTRACT

The co-digestion of waste from milk and fruit processing industries for hydrogen production from anaerobic fermentation at mesophilic temperature was first investigated in this paper. The hydrogen-producing bacteria derived from an upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) from a household wastewater treatment plant (WTP) were used to produce hydrogen from a wastewater solution from milk and fruit processing industries, through a factorial experimental design according to the methodology of the Central Composite Rotatable Design (CCRD). Inoculum heat pretreatment associated with pH control was applied to select hydrogen producing bacteria and endospore-forming bacteria. The assays were performed in eleven batch reactors to verify the efficiency of carbohydrate and protein conversion in H₂ by the hydrogen producing bacteria. Given the studied reactors, the R8 reactor with substrate composed of 100% fruit processing industry effluent and inoculated with 12.5% substrate volume sludge presented the best hydrogen production efficiency, with a specific maximum yield of 0.82 mL H₂/gSV for eighteen days of batch operation. Concluding that in case of impossibility of improvement of the experiment, aimed at dilution and inhibition of surfactant compounds present in the residue of the milk processing industry, it is more advantageous to work with the isolated digestion of residues of the fruit processing industry.

Keywords: Anaerobic digestion, fruit effluent, milk effluent, industries, hydrogen production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Emissões de CO ₂ per capita (2016), em t CO ₂ /hab.....	11
Figura 2 - Participação de renováveis na matriz energética	12
Figura 3 - Participação das renováveis na Oferta Interna de Energia	12
Figura 4 - Fluxograma do processo de digestão anaeróbia.	14
Figura 5 - Fluxograma das etapas de execução do projeto.....	19
Figura 6 - Efluentes das indústrias de sorvetes e polpas, à esquerda e à direita, respectivamente.	20
Figura 7 - Pré-tratamento do inóculo.....	20
Figura 8 – DCCR realizado.	21
Figura 9 – Disposição dos reatores na incubadora shaker.....	22
Figura 10 - Representação gráfica de um ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz através do software OriginPro 8 [®]	23
Figura 11 - Fases do crescimento microbiano.	26
Figura 12 – Ajuste sigmoidal não linear para o volume de hidrogênio acumulado no headspace do reator anaeróbio R8 durante o tempo de operação da batelada.	26
Figura 13 - Produção máxima específica de hidrogênio gasoso por reator.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos anteriores que avaliam a produção de biogás utilizando resíduos de leite e/ou de frutas.	15
Tabela 2 – Planejamento experimental fatorial.	21
Tabela 3 - Composição dos reatores anaeróbios em batelada.	22
Tabela 4 - Caracterização físico-química inicial dos resíduos.	24
Tabela 5 - Caracterização físico-química dos reatores no início da batelada.....	24
Tabela 6 - Caracterização físico-química dos reatores no final da batelada.....	25
Tabela 7 - Referências que justificam a hipótese de inibição da digestão anaeróbia.	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV Ácidos graxos voláteis

CTEC Centro de Tecnologia

DCCR Delineamento Composto Central Rotacional

DQO Demanda química de oxigênio

DQOS Demanda química de oxigênio solúvel

ETE Estação de tratamento de efluentes

LCA Laboratório de Controle Ambiental

ODS Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

ONU Organização das Nações Unidas

SSV Sólidos suspensos voláteis

SV Sólidos voláteis

SVT Sólidos voláteis totais

TCD *Thermal conductivity detector*

UASB *Upflow anaerobic sludge blanket*

UFAL Universidade Federal de Alagoas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos	10
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
3.1 Cenário mundial e brasileiro	11
3.2 Resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas	12
3.3 Digestão anaeróbia.....	13
3.4 Produção de hidrogênio a partir de resíduos de leite e frutas	14
3.5 Reator anaeróbio em batelada em escala de bancada	16
3.6 Variáveis de processo	16
3.6.1. pH	16
3.6.2. Temperatura.....	16
3.6.3. Inóculo	17
3.7 Análise estatística de processos	17
4. METODOLOGIA	19
4.1 Esquema operacional	19
4.1.1. Coleta dos substratos	19
4.1.2. Inóculo	20
4.1.3. Operação nos reatores em batelada	21
4.1.4. Análises físico-químicas e cromatográficas	23
4.2 Análise cinética estatística e ajuste experimental dos dados	23
5. RESULTADOS	24
5.1 Caracterização físico-química dos resíduos.....	24
5.2 Produção de hidrogênio	26
6. CONCLUSÕES.....	30

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	32
8. CRONOGRAMA	33
REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

Fontes de energia limpa vêm sendo aplicadas de forma a satisfazer a demanda global de energia. O gás hidrogênio gerado no tratamento de efluentes por processos biológicos pode ser usado como fonte alternativa de energia (MAINTINGUER et al., 2008). É um gás portador ideal de energia secundária com alta densidade de energia, cujo valor de aquecimento por unidade de massa é muito maior do que os álcoois e outros combustíveis hidrocarbonetos, além de ser um combustível limpo e livre de carbono que tem apenas vapor de água como produto de sua combustão.

A produção de hidrogênio por fermentação anaeróbia é uma tecnologia muito promissora devido ao seu baixo custo – quando comparado a outras tecnologias de produção de biocombustíveis – rápido crescimento de bactérias, alta capacidade de produção e matéria-prima abundante (YOKOI et al., 2002; LOGAN et al., 2002; YU et al., 2002 *apud* SONG et al., 2010). Embora a produção de hidrogênio a partir de efluentes ricos em sacarídeos tenha sido amplamente estudada na literatura, a biomassa sólida e os resíduos orgânicos ricos em proteínas foram raramente investigados até agora. Como muitos resíduos alimentares como leite, ovo, carne e peixe são ricos em proteínas, é importante estudar a produção potencial de hidrogênio a partir de proteína e sua eficiência na conversão de energia. Isso não significa apenas lidar com os resíduos orgânicos de proteínas-mistas derivados de indústrias, restaurantes e residências, mas também em recuperar suas entalpias térmicas para produzir energia renovável limpa (SONG et al., 2010).

Lay et al. (2003 *apud* SONG et al., 2010) descobriram que a produção de hidrogênio a partir de resíduos orgânicos ricos em carboidratos era vinte vezes maior do que a produção a partir de resíduos orgânicos ricos em proteínas e lipídios. Okamoto et al. (2000) relataram que resíduos orgânicos ricos em proteínas eram dificilmente digeridos por bactérias produtoras de hidrogênio, resultando em rendimentos muito baixos de 2,5 a 7,7 mL H₂/gSV. O aumento do rendimento de hidrogênio a partir de proteínas e a promoção da eficiência de conversão em energia são temas desafiadores (SONG et al., 2010).

A eficiência teórica de conversão de energia na produção de apenas hidrogênio a partir da glicose pela fermentação é baixa (33,5%), porque muitas entalpias térmicas são perdidas em subprodutos de ácidos graxos voláteis (AGV), que resultam em poluições ambientais (AGENENT et al., 2004; BLACK, 1999 *apud* SONG et al., 2010). Neste trabalho, a produção de hidrogênio a partir da co-digestão de resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas

pela fermentação anaeróbia foi investigada pela primeira vez. Efluente de sorvete rico em lactoproteína e lactose foi utilizado para simular resíduos de leite, uma vez que muitas indústrias descarregam uma grande quantidade de resíduos de leite e queijo no ambiente. O efluente de sorvete, juntamente com o efluente de frutas, foi inoculado com bactérias produtoras de hidrogênio para produzir hidrogênio gasoso.

Diferentes fontes de inóculo foram testadas com eficiência confirmada para produção biológica de hidrogênio, como solo natural, lodo de digestão anaeróbia, estações de tratamento de efluentes, sedimentos lacustres, e outros. Contudo, estes inóculos provêm de países de clima temperado, em sua maioria. Existem poucos estudos de produção de hidrogênio com inóculos de países tropicais como o Brasil (MAINTINGUER et al., 2008). No presente trabalho foi utilizado o inóculo obtido a partir de lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) da Estação de Tratamento de Efluentes domésticos (ETE) do residencial Cidade Jardins (Maceió – Brasil). Os reatores anaeróbios em batelada foram usados para determinar a produção de hidrogênio.

O principal objetivo deste trabalho consiste em analisar o rendimento da co-digestão de resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas com alto teor de matéria orgânica, para produção de hidrogênio, em reatores anaeróbios em batelada em escala de bancada. Este trabalho aplicou metodologias anaeróbias clássicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar a digestão isolada com a co-digestão em reatores anaeróbios em batelada na produção de hidrogênio, utilizando como substrato resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização físico-química dos resíduos estudados;
- Realizar planejamento experimental através de estudo estatístico;
- Avaliar a melhor proporção de mistura entre os resíduos da indústria de processamento de leite e os da indústria de processamento de frutas para produção de hidrogênio.

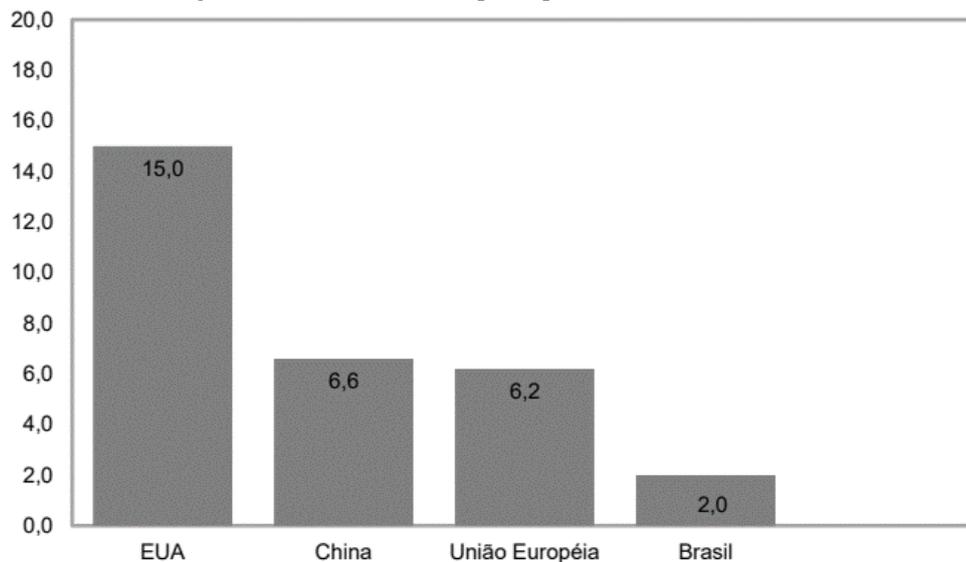
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Cenário mundial e brasileiro

Um dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), é o ODS 7 – Energia Acessível e Limpa que pretende garantir até 2030 o acesso universal à energia a um preço justo.

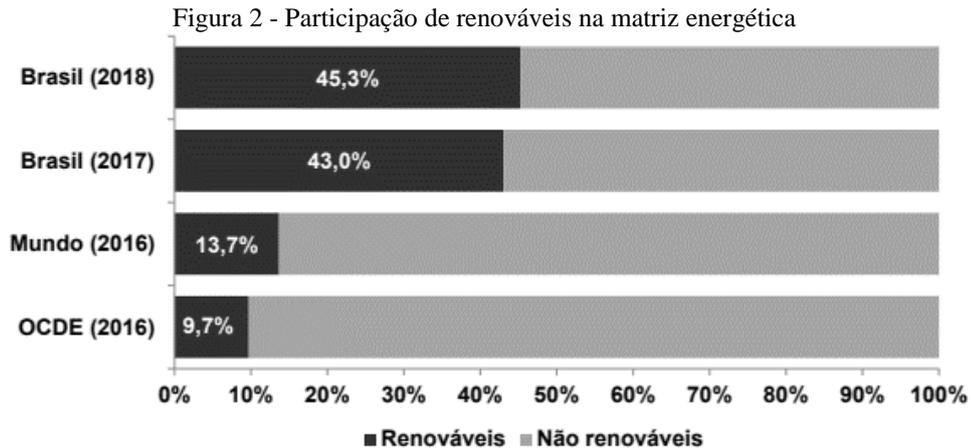
Mais de 50% da população mundial vive em áreas urbanas e é responsável por 70% das emissões globais de dióxido de carbono, conforme Figura 1. Enquanto isso, 2,9 bilhões de pessoas ainda dependem de combustíveis como madeira, esterco animal e carvão para cozinhar e aquecer. Isso leva a altos níveis de poluição interna, problemas graves de saúde e degradação ambiental (PNUD, 2019).

Figura 1 - Emissões de CO₂ per capita (2016), em t CO₂/hab



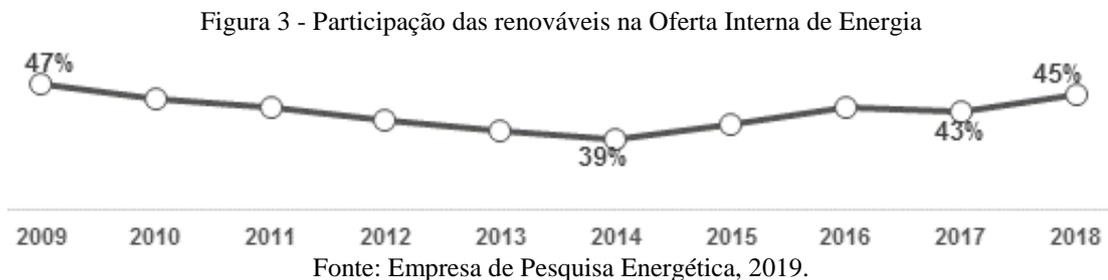
Fonte: Empresa de Pesquisa Energética, 2019.

A bioenergia é uma fonte de energia renovável derivada de fontes biológicas. Uma importante fonte de energia, que pode ser usada para transporte, geração de eletricidade, cozimento e aquecimento. Uma vantagem da energia da biomassa é que o combustível é muitas vezes um subproduto, resíduo ou um produto residual. Significativamente, isso não cria uma competição entre terra por comida e terra por combustível (URBAN et al., 2011 *apud* OWUSU et al., 2016). Atualmente, a produção global de biocombustíveis é comparativamente baixa, mas continuamente crescente (AJANOVIC et al., 2011 *apud* OWUSU, 2016), conforme Figura 2.



Fonte: Empresa de Pesquisa Energética, 2019.

O papel da energia renovável na mitigação da mudança climática é comprovado. A forte dependência de combustíveis fósseis e de usinas a carvão ineficientes e obsoletas é uma das principais razões para a alta contribuição do setor de energia para as emissões globais de gases de efeito estufa. Isso não apenas eleva as temperaturas globais, mas também afeta seriamente a qualidade do ar e a saúde humana. A transição para energias renováveis apoia, por conseguinte, progressos significativos no Acordo de Paris sobre as alterações climáticas, bem como os ODS (PNUD, 2019), conforme Figura 3.



Lutar contra as alterações climáticas é fundamental para um futuro sustentável. Não há país que não esteja experimentando os efeitos das mudanças climáticas. O ODS 13 – Ação contra a Mudança Global no Clima visa limitar o aumento da temperatura média global para 2 °C, o que exigirá uma ação coletiva urgente e ambiciosa, juntamente com uma forte vontade política, tecnologia e aumento do investimento (PNUD, 2019).

3.2 Resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas

Os resíduos de frutas e verduras são produzidos em grandes quantidades em mercados, e constituem uma fonte de perturbação nos aterros municipais devido à sua elevada biodegradabilidade.

Efluentes de indústrias de laticínios são ricos em gorduras, proteínas e carboidratos e são geralmente gerados de forma intermitente, tendo seu fluxo e as características dos efluentes diferentes de uma fábrica para outra, dependendo do tipo de sistema e dos métodos de operação (GUTIÉRREZ et al., 1991 *apud* CHEN et al., 2008), conforme Figura 4.

Uma maneira possível de eliminar ambos resíduos é utilizando o processo de digestão anaeróbia. Com complexa composição, a eficiência de digestão destes resíduos pode ser melhorada a partir da co-digestão anaeróbia, que pode ser vantajosa devido a uma melhor relação C/N e diluição dos compostos inibitórios (TRITT et al., 1992 *apud* CHEN et al., 2008).

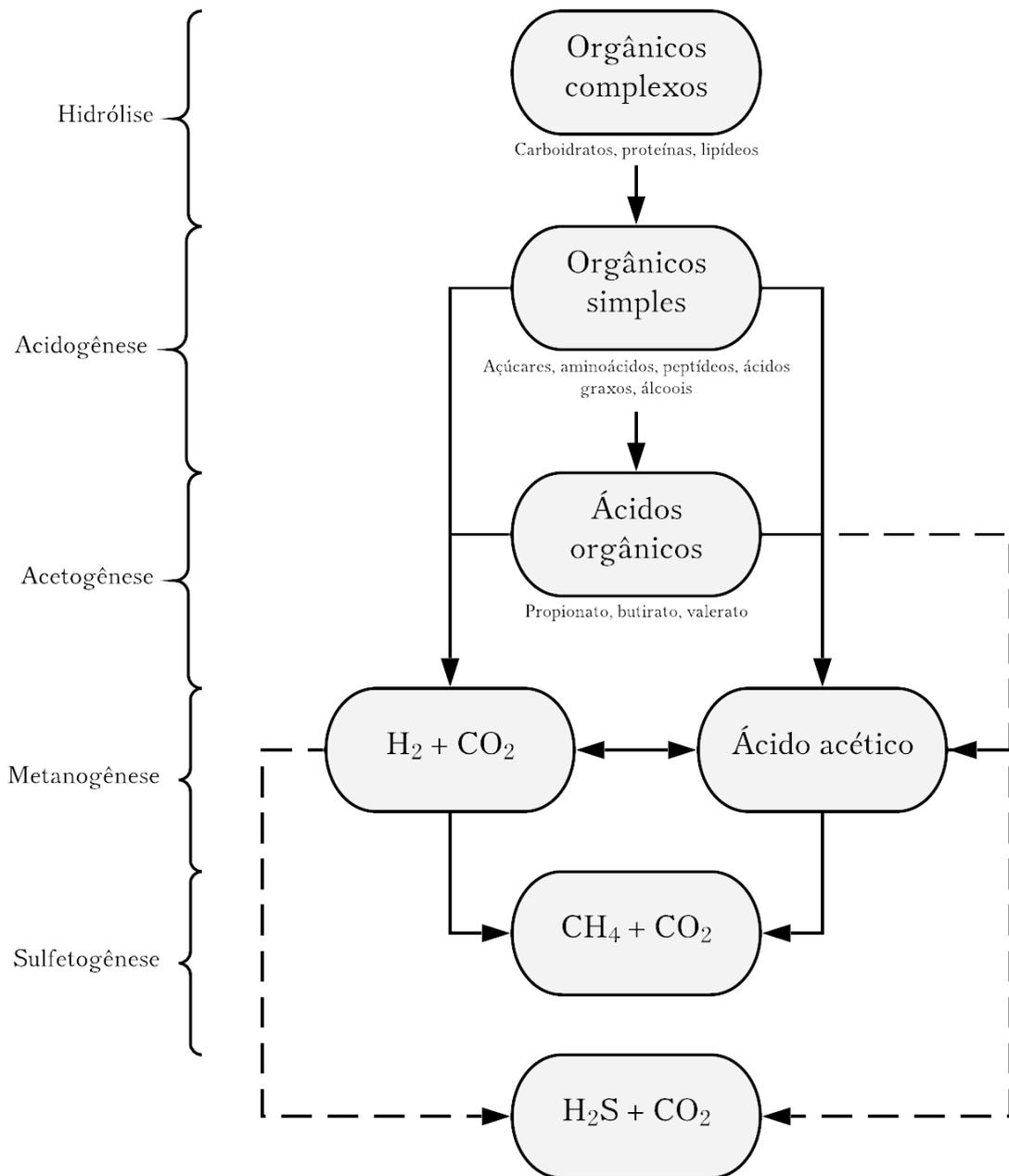
3.3 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia envolve a degradação e estabilização de matéria orgânica em condições anaeróbias através de microrganismos que levam à formação de biogás – que é uma fonte de energia renovável, constituído de uma mistura de dióxido de carbono e hidrogênio ou metano – e biomassa microbiana (KELLEHER et al., 2002 *apud* CHEN et al., 2008).

O tratamento anaeróbio oferece numerosas vantagens, como baixa produção de lodo, baixa necessidade de energia e possível recuperação de energia, além de se apresentar como um método de redução da poluição das operações agrícolas e industriais, ao mesmo tempo em que compensa o uso de combustíveis fósseis pelas operações. Como uma das tecnologias mais eficientes de tratamento de efluentes, a digestão anaeróbia tem sido amplamente utilizada para o tratamento de lodo, mas com limitada aplicação no tratamento de resíduos industriais orgânicos, incluindo resíduos de processamento de frutas.

Por sua vez, a produção fermentativa de hidrogênio pode ser facilitada com a inibição da metanogênese uma vez que as arqueas metanogênicas utilizam hidrogênio nos processos anaeróbios. O tratamento térmico do lodo associado ao controle do pH tem sido aplicado para a seleção de bactérias produtoras de hidrogênio como as *Clostridium sp.* Essas bactérias, formadoras de esporos, são tolerantes a altas temperaturas e condições ambientais adversas e têm potencial de metabolizar substratos orgânicos produzindo energia mais limpa e renovável em seu processo (KAWAGOSHI et al., 2005 e SALERMO et al., 2006 *apud* MAINTINGUER et al., 2008).

Figura 4 - Fluxograma do processo de digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado de Chernicharo, 1997.

3.4 Produção de hidrogênio a partir de resíduos de leite e frutas

Produções de hidrogênio estão sendo verificadas para concentrações mais altas de açúcar, embora essas concentrações possam ser um fator inibidor do crescimento celular. No entanto, existem poucos estudos sobre produção de hidrogênio com concentrações reduzidas de substratos, o que seria compatível com as concentrações de resíduos de indústrias de processamento de frutas diluídos, que poderiam ser reutilizados para a geração de energia (MAINTINGUER et al., 2008).

A busca por biotecnologia para produção de hidrogênio a partir de resíduos industriais pode ser vantajosa como alternativa energética. Desta forma, pesquisas são desenvolvidas com o objetivo de obter a estabilidade dos processos biológicos para a produção do gás hidrogênio (MAINTINGUER et al., 2008). Na Tabela 1, estão apresentados os estudos para produção de biogás com base na literatura.

Tabela 1 - Estudos anteriores que avaliam a produção de biogás utilizando resíduos de leite e/ou de frutas.

Autor	Substrato	Inóculo	Reator	Produção
Chu et al., 2008	Fração orgânica de resíduos sólidos urbanos	Lodo de reator anaeróbio	Tanque de mistura-reator acidogênico termofílico-reator metanogênico mesofílico-tanque de armazenamento de digestato	205 mL H ₂ /gSV
			Reatores anaeróbios em batelada	464 mL CH ₄ /gSV
Keskin et al., 2018	Resíduos de frutas e verduras	Lodo de tanque de fermentação	Reatores anaeróbios em batelada	76 mL H ₂ /gSV
Okamoto et al., 2000	Fração orgânica de resíduos sólidos urbanos	Lodo de reator anaeróbio com pré-tratamento térmico	Reatores anaeróbios em batelada	Arroz: 96 mL H ₂ /gSV
			Reatores anaeróbios em batelada	Cenoura: 70,7 mL H ₂ /gSV Repoulho: 61,7 mL H ₂ /gSV
Demirel et al., 2013	Efluente de indústria de sorvete	Lodo de reator anaeróbio	Reatores anaeróbios em batelada única	338 mL CH ₄ /gDQO _{removida}
			Reator de mistura completa	450 mL CH ₄ /gSV
Ganesh et al., 2014	Resíduos de frutas e verduras	Lodo de reator UASB	Reatores acidificante metanogênico, com recirculação de sólidos e líquidos	300 mL CH ₄ /gDQO _{alimentada}
Maintinguer et al., 2008	Sacarose, ureia, peptona e solução de vitaminas	Lodo de reator UASB	Reatores anaeróbios em batelada	255,89 mL H ₂ /gSSV
Song et al., 2010	Leite em pó desnatado e lactose pura	Lodo de usina de biogás, com e sem pré-tratamento térmico	Reator anaeróbio em bateladas sequenciais	136,5 mL H ₂ /gSVT
			ASBR, uma para hidrólise e outra para metanogênese	157,8 mL CH ₄ /gSVT
Bouallagui et al., 2004	Resíduos de frutas e verduras	Lodo de reator anaeróbio de leito fixo	ASBR, uma para hidrólise e outra para metanogênese	320 mL CH ₄ /gDQO _{alimentada}

Fonte: Autora, 2019.

3.5 Reator anaeróbio em batelada em escala de bancada

Reatores anaeróbios em batelada em escala de bancada são usados para investigar as necessidades nutricionais e obter as produtividades de hidrogênio a partir dos substratos orgânicos.

As produções de hidrogênio a partir de carboidratos complexos estão sendo avaliadas em reatores em batelada pois a matéria orgânica particulada presente nesses compostos pode dificultar a operação em outras configurações. Além disso, velocidades mais altas de produção de hidrogênio são verificadas nas configurações de reatores em batelada em que a biomassa permanece retida em todos os períodos operacionais quando comparada com reatores de fluxo contínuo (MAINTINGUER et al., 2008).

3.6 Variáveis de processo

3.6.1. pH

O pH operacional afeta diretamente o progresso da digestão anaeróbia e seus produtos, uma vez que a taxa de crescimento de microrganismos é significativamente afetada pela mudança de pH. A faixa ideal de pH para digestão anaeróbia tem sido relatada entre 6,8-7,4 (MAO et al., 2015).

Em pH 6, a população bacteriana dominante é *Clostridium butyricum*, enquanto que em pH 8, a espécie *Propionibacterium* prevalece durante a acidogênese anaeróbia (HORIUCHI et al., 1999 *apud* MAO et al., 2015). O controle do nível de pH para atingir o crescimento ideal de microrganismos representa um método possível para reduzir a toxicidade da amônia devido ao aumento da concentração de amônia livre.

Em estudos anteriores, quando o nível de pH foi fixado em 6, a atividade da enzima hidrolítica foi a mais alta, resultando na maior concentração de AGV, demanda química de oxigênio solúvel (DQOS) e razão AGV/DQOS e os menores níveis de SV (JIANG et al., 2013 *apud* MAO et al., 2015). Portanto, a taxa de hidrólise constante é considerada dependente do pH (KIM et al., 2003 *apud* MAO et al., 2015).

3.6.2. Temperatura

Os microrganismos de digestão anaeróbia são muito sensíveis a mudanças de temperatura, o que afeta a produção de hidrogênio, e a decomposição de matéria orgânica.

Diminuições na temperatura resultam em aumento na concentração de amônia, em redução na produção de ácidos graxos voláteis, taxa de utilização do substrato e taxa metabólica dos microrganismos, aumentando a duração da fase *lag*, diminuindo assim os rendimentos.

A digestão anaeróbia a temperatura mesofílica (20-45 °C) tem sido usada para tratar resíduos orgânicos (MAO et al., 2015). Apesar de a digestão anaeróbia termofílica (55-70 °C) apresentar vantagens com relação à digestão mesofílica, como resultado de taxas de reação mais rápidas e maior capacidade de carga, apresentando conseqüentemente, maior produtividade em comparação com a digestão anaeróbia mesofílica, no entanto, apresenta desvantagens como diminuição da estabilidade, efluentes de baixa qualidade, aumento da toxicidade e suscetibilidade a condições ambientais, maiores investimentos, baixa metanogênese e maior consumo de energia líquida. O processo termofílico se torna desvantajoso pois, além de requerer um suprimento extra de calor, e exibir menor produção de metano se torna mais sensível às mudanças ambientais do que o processo mesofílico.

3.6.3. Inóculo

Na digestão anaeróbia, os microrganismos formadores de gases ácidos e de metano diferem amplamente em termos de fisiologia, necessidades nutricionais, cinética de crescimento e sensibilidade às condições ambientais. A comunidade microbiana é sensível a variações nas condições operacionais aplicadas. Assim sendo, o processo de digestão anaeróbia, se realizado de forma inadequada, se torna instável e resulta na redução da produção de biogás (MAO et al., 2015).

3.7 Análise estatística de processos

A metodologia do planejamento fatorial é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro.

Na nomenclatura de Bruns et al. (2010), a propriedade de interesse, é chamada de resposta. As variáveis que em princípio influenciam a resposta são os fatores, e a função que descreve essa influência é chamada de superfície de resposta. O objetivo do pesquisador é descobrir quais os valores – os níveis – dos fatores que produzem a maior resposta possível. Usando planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, os pesquisadores

podem extrair do sistema em estudo o máximo de informação útil, fazendo um número mínimo de experimentos.

Além disso, quantificar o efeito das variáveis do processo através das técnicas do planejamento experimental, com o objetivo de obter informações sobre a robustez ou não das respostas desejadas, é de fundamental importância para a área de implementação de controle de processos (COSTA et al., 2011).

Em diversas situações, é muito imediato estabelecer conclusões a partir de um experimento bem planejado, empregando apenas técnicas de análise bastante elementares. Por outro lado, mesmo a análise estatística mais sofisticada não pode salvar um experimento que tenha sido mal planejado (BOX et al., 1978 *apud* COSTA et al., 2011).

4. METODOLOGIA

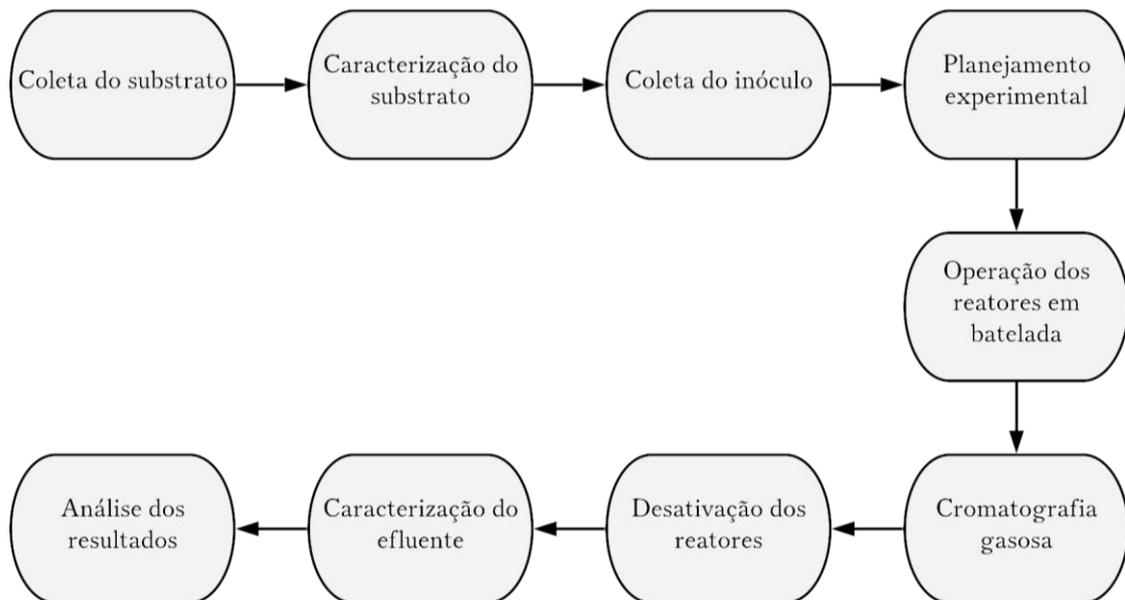
O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle Ambiental (LCA), localizado no Centro de Tecnologia (CTEC) do Campus A. C. Simões da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

A produção de hidrogênio se deu por fermentação anaeróbia em reatores em batelada utilizando como inóculo lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) e como substrato, resíduos de indústrias de processamento de leite e frutas. Foram utilizados reatores anaeróbios de 100 mL, com volume reacional de 50 mL, operados em batelada.

4.1 Esquema operacional

Para o estudo da produção de hidrogênio foi realizada a etapa de preparação do inóculo e execução dos ensaios experimentais em reatores em batelada. Após a produção foi realizada a caracterização físico-química dos produtos e avaliada as proporções de resíduos industriais que maximizam a produção de hidrogênio, conforme Figura 5.

Figura 5 - Fluxograma das etapas de execução do projeto.



Fonte: Autora, 2019.

4.1.1. Coleta dos substratos

Os substratos foram coletados em duas indústrias de sorvetes e polpas, localizadas em Maceió – Brasil. Foram feitas duas coletas: a do efluente de frutas no local onde ocorre o

despolpamento, e do efluente de lavagem das máquinas de sorvetes gerados na fábrica, conforme Figura 6.

Figura 6 - Efluentes das indústrias de sorvetes e polpas, à esquerda e à direita, respectivamente.



Fonte: Autora, 2019.

4.1.2. Inóculo

O inóculo utilizado foi obtido a partir de lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) da Estação de Tratamento de Efluentes domésticos (ETE) do Residencial Cidade Jardins (Maceió – Brasil). Essa suspensão celular foi pré-aquecida a 90°C por 15 min a fim de inativar os consumidores de hidrogênio e selecionar as bactérias anaeróbias formadoras de endósporos como as *Clostridium sp* (KIM et al., 2006 *apud* MAINTINGUER et al., 2008), conforme Figura 7. Em seguida, foi resfriado submetido a choque térmico em contato com mantas térmicas por 10 min até atingirem a temperatura ambiente.

Figura 7 - Pré-tratamento do inóculo.



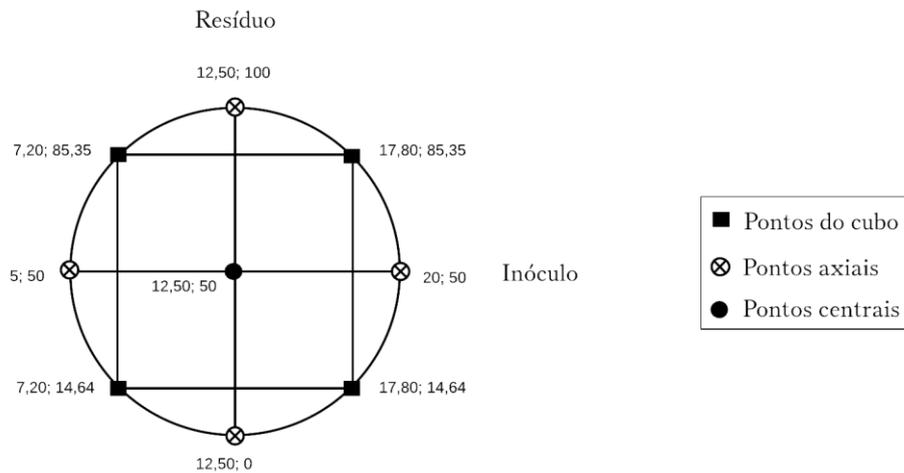
Fonte: Autora, 2019.

O inóculo pré-tratado (10% da massa do substrato) foi transferido para reatores de 100 mL autoclavados sob condições assépticas. Esses reatores anaeróbios foram mantidos com volume reacional de 50 mL e *headspace* de 50 mL.

4.1.3. Operação nos reatores em batelada

A preparação dos reatores foi realizada conforme planejamento experimental fatorial 2^2 com três pontos centrais e quatro pontos axiais, seguindo a metodologia do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), elaborado por meio do *software* de análises estatísticas Statistica Enterprise 10[®], conforme Figura 8.

Figura 8 – DCCR realizado.



Fonte: Autora, 2019.

O inóculo foi ressuspensionado em um meio de cultura com a seguinte composição: resíduos de indústria de processamento de leite e resíduos de indústria de processamento de frutas, sob onze condições conforme apresentado nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Planejamento experimental fatorial.

Ponto	Inóculo (% em volume de substrato)	Efluente de indústria de processamento de fruta (% em volume de substrato)	Efluente de indústria de processamento de leite (% em volume de substrato)
$-\sqrt{2}$	5	0	100
-1	7,2	14,64	85,35
0	12,5	50	50
1	17,8	85,35	14,64
$\sqrt{2}$	20	100	0

Fonte: Autora, 2019.

O pH foi ajustado para 6 com adições de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio.

Tabela 3 - Composição dos reatores anaeróbios em batelada.

Reator	Inóculo (% em volume de substrato)	Efluente de indústria de processamento de frutas (% em volume de substrato)	Efluente de indústria de processamento de leite (% em volume de substrato)
R8	12,5	100	0
R10 (C)	12,5	50	50
R2	7,2	85,35	14,64
R4	17,8	85,35	14,64
R9 (C)	12,5	50	50
R5	5	50	50
R6	20	50	50
R11 (C)	12,5	50	50
R3	17,8	14,64	85,35
R7	12,5	0	100
R1	7,2	14,64	85,35

Fonte: Autora, 2019.

Para garantir a anaerobiose, os reatores foram submetidos a uma atmosfera de nitrogênio gasoso (99,99%) por 5 min após a distribuição das soluções. Em seguida, foram tampados com rolhas de borracha de butila, incubados e mantidos a $35\pm 1^\circ\text{C}$, com agitação de 120 rpm, conforme Figura 9.

Figura 9 – Disposição dos reatores na incubadora *shaker*.

Fonte: Autora, 2019.

Neste estudo, reatores anaeróbios em batelada com volume total de 100 mL foram utilizados em onze diferentes condições de resíduos. O inóculo corresponde a 10% do volume reacional, que foi composto pelo lodo termicamente tratado e 90% por resíduos de indústria de processamento de leite e frutas.

4.1.4. Análises físico-químicas e cromatográficas

A quantidade de hidrogênio no biogás foi determinada por cromatografia gasosa (GC-2010 *Plus* Shimadzu) usando um detector de condutividade térmica (TCD), uma coluna SUPELCO Carboxen 1010 PLOT (30m de comprimento e diâmetro interno de 0,53mm), e argônio como gás de arraste. As temperaturas do injetor, detector e coluna foram mantidas a 30°C, 200°C e 230°C, respectivamente.

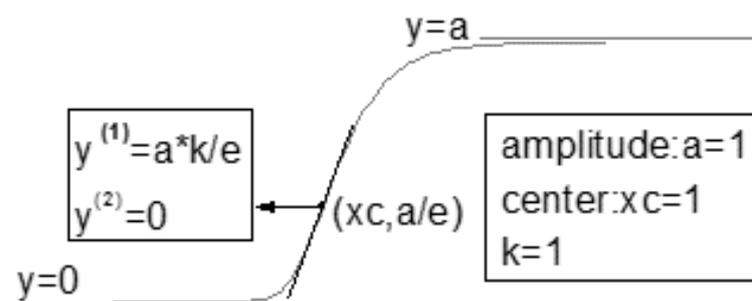
Tanto para a caracterização dos resíduos quanto para o monitoramento dos reatores, antes e após a digestão anaeróbia, foram quantificadas as concentrações de carboidratos pelo método colorimétrico (DUBOIS et al., 1956; HEBERT et al., 1971) e, sólidos totais, demanda química de oxigênio (DQO) e valores de pH de acordo com o *Standards Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

4.2 Análise cinética estatística e ajuste experimental dos dados

Os dados experimentais foram ajustados através do volume de hidrogênio gasoso acumulado no *headspace*, obtido a partir da área sob o cromatograma de cada reator, utilizando o *software* OriginPro 8®, conforme Figura 10. As atividades específicas máximas da produção de hidrogênio gasoso foram obtidas por ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz (1).

$$y = ae^{-e^{-k(x-x_c)}} \quad (1)$$

Figura 10 - Representação gráfica de um ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz através do *software* OriginPro 8®.



Fonte: Autora, 2019.

A velocidade máxima de consumo de carboidrato foi verificada pelo maior coeficiente angular gerado (2) a partir das linhas rastreadas entre os pontos representando as concentrações experimentais de hidrogênio gasoso com relação ao tempo.

$$y = \frac{ak}{e} \quad (2)$$

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização físico-química dos resíduos

Foi realizada a caracterização físico-química dos resíduos das indústrias de processamento de leite e frutas, cujos resultados se encontram na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização físico-química inicial dos resíduos.

Parâmetros físico-químicos	Efluente de indústria de processamento de leite	Efluente de indústria de processamento de frutas
pH	7,10	4,37
DQO (g/L)	202,72	7,69
Sólidos totais (g/L)	110,83	6,41
Sólidos fixos (g/L)	1,94	0,14
Sólidos voláteis (g/L)	108,89	6,27
Carboidratos (g/L)	36,88	7,14

Fonte: Autora, 2019.

A partir da caracterização físico-química inicial dos resíduos obtivemos a caracterização físico-química dos reatores no início da batelada, em conformidade com a proporção de resíduos disposta em cada reator anaeróbio, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização físico-química dos reatores no início da batelada.

Parâmetros físico-químicos	R8	R10 (C)	R2	R4	R9 (C)	R5	R6	R11 (C)	R3	R7	R1
pH	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
DQO (g/L)	7,69	105,21	36,95	36,95	105,21	105,21	105,21	105,21	174,16	202,72	174,16
Sólidos totais (g/L)	9,42	55,11	22,66	23,57	55,11	57,22	53,00	55,11	83,96	100,79	90,99
Sólidos fixos (g/L)	0,89	1,68	0,81	1,43	1,68	1,30	2,06	1,68	2,47	2,46	1,99
Sólidos voláteis (g/L)	8,53	53,43	21,85	22,14	53,43	55,92	50,94	53,43	81,49	98,33	89,00
Carboidratos (g/L)	7,14	22,01	11,60	11,60	22,01	22,01	22,01	22,01	32,53	36,88	32,53

Fonte: Autora, 2019.

Após a operação em batelada dos reatores e sua desativação, foi feita a caracterização físico-química final dos reatores, de forma a avaliar a quantidade de matéria orgânica que foi oxidada assim como identificar fatores determinantes para a produção de hidrogênio, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Caracterização físico-química dos reatores no final da batelada.

Parâmetros físico-químicos	R8	R10 (C)	R2	R4	R9 (C)	R5	R6	R11 (C)	R3	R7	R1
pH	3,79	3,11	3,20	3,33	3,16	3,10	3,28	3,13	3,09	3,08	3,00
DQO (g/L)	1,59	56,21	25,13	24,21	59,54	49,31	51,30	58,89	57,65	86,07	43,22
Sólidos totais (g/L)	4,59	24,16	11,98	13,97	24,67	21,38	21,92	23,21	34,31	36,21	28,64
Sólidos fixos (g/L)	0,69	1,42	0,85	1,30	1,44	1,16	1,75	1,35	1,99	1,81	1,59
Sólidos voláteis (g/L)	3,90	22,74	11,12	12,67	23,24	20,22	20,18	21,86	32,33	34,40	27,06
Carboidratos (g/L)	0,57	3,14	1,58	1,61	3,29	3,49	3,05	3,32	7,93	8,13	7,53

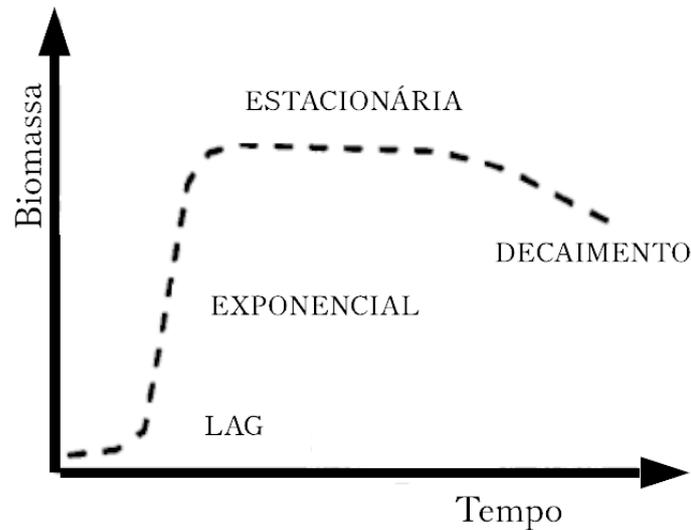
Fonte: Autora, 2019.

Em vista da redução nos valores de pH em todos os reatores, conforme apresentado nas Tabelas 5 e 6, pode-se inferir que o meio sofreu atuação de microrganismos acidogênicos presentes no inóculo, uma vez que houve acidificação do meio. O que pode significar que o pré-tratamento térmico do lodo se mostrou eficiente na inibição das arqueas metanogênicas consumidoras de hidrogênio, conforme avaliado por Maintinguer et al. (2008).

Analisando os resultados de DQO e carboidratos, todos os reatores apresentaram uma diminuição nesses parâmetros do início ao final da batelada, com eficiências máximas de remoção de DQO de 79% e 75%, nos reatores R8 e R1, respectivamente. E eficiências de conversão de carboidratos de 92% no reator R8 e 86% nos reatores R2, R4, R6, e R10. O que demonstra que mesmo nos reatores co-digeridos a oxidação da matéria orgânica e a conversão dos carboidratos presentes nos reatores, foi efetiva através da digestão anaeróbia.

Concomitantemente, a concentração de sólidos totais sofreu variação durante a operação dos reatores. O que pode ser explicado não somente pela oxidação da matéria orgânica, mas também pela queda na concentração dos carboidratos presentes no meio e a lise dos microrganismos anaeróbios. Segundo Loosdrecht et al. (1999), sendo os carboidratos a fonte de alimento mais acessível presente nos reatores, com a queda da disponibilidade desse alimento, os microrganismos entram na fase de decaimento, onde a quantidade de microrganismos que morre torna-se progressivamente superior àquela dos que surgem, conforme Figura 11.

Figura 11 - Fases do crescimento microbiano.

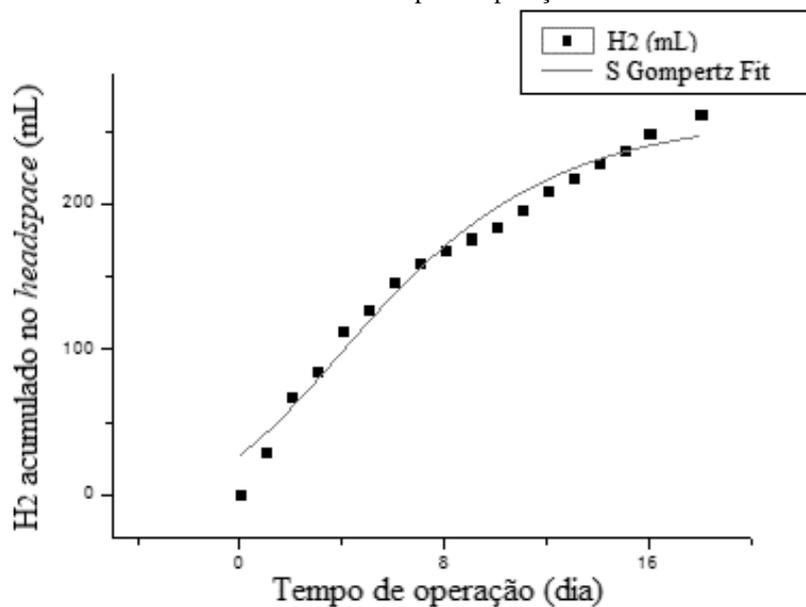


Fonte: Adaptado de Loosdrecht, 1999.

5.2 Produção de hidrogênio

Segundo Mao et al. (2015), um tempo de retenção médio de 15 a 30 dias é necessário para digerir resíduos sob condições mesofílicas. Neste trabalho, a operação dos reatores anaeróbios em batelada ocorreu durante dezoito dias. O único reator a apresentar eficiência na produção de hidrogênio durante a operação, foi o reator R8.

Figura 12 – Ajuste sigmoidal não linear para o volume de hidrogênio acumulado no *headspace* do reator anaeróbio R8 durante o tempo de operação da batelada.



Fonte: Autora, 2019.

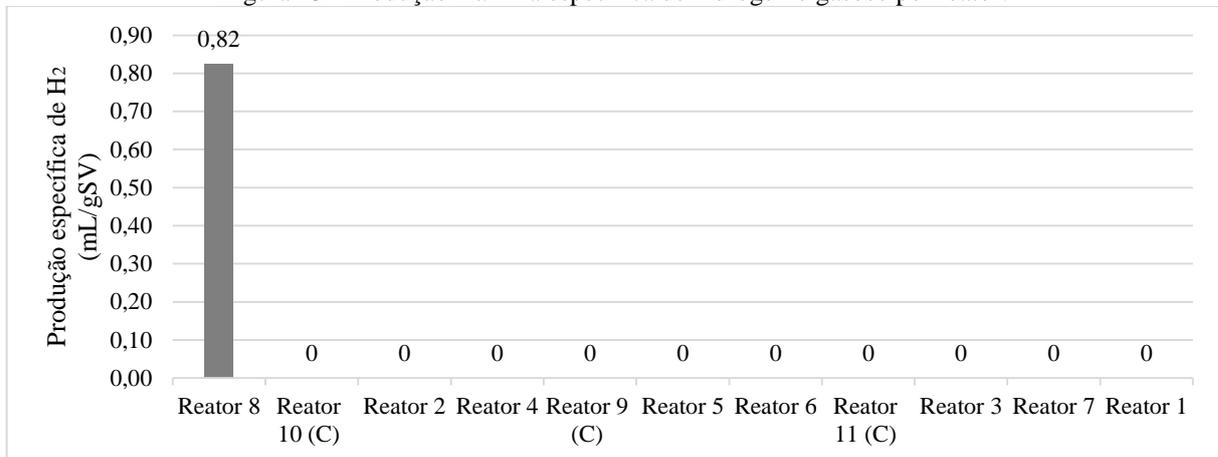
Durante a operação dos reatores e quantificação diária da produção de hidrogênio, os reatores R4, R3 e R7, apresentaram capacidade de produção de hidrogênio desde o primeiro dia

de operação e os reatores R10, R9, R11 e R6, apresentaram capacidade de produção de hidrogênio somente após aproximadamente sete dias de operação, conforme Figura 12. No entanto, as produções diárias desses reatores eram inferiores ao coeficiente linear da equação de hidrogênio – que converte a área lida sob o cromatograma em volume de H₂ – resultando em valores negativos e não quantificáveis para identificação do volume de hidrogênio acumulado no *headspace* (3).

$$y = 9,85 \cdot 10^{-10} \cdot x - 1,3 \cdot 10^{-5} \quad (3)$$

Portanto, com exceção do reator R8, a produção específica de hidrogênio dos demais reatores foi igual a 0 mL, conforme Figura 13.

Figura 13 - Produção máxima específica de hidrogênio gasoso por reator.



Fonte: Autora, 2019.

A baixa produção de hidrogênio pelos reatores co-digeridos, e isolado, com resíduos da indústria de processamento de leite, pode ser atribuída à inibição do processo de digestão anaeróbia. Essa inibição pode ter sido causada por diversos fatores, dentre os mais encontrados na literatura e que apresentam compatibilidade com o efluente estudado, estão os compostos surfactantes, proteicos e lipídicos segundo Chen et al., (2008) e Hilton et al., (1988), conforme apresentado na Tabela 7.

Durante o processo de higienização das máquinas de produção de sorvetes da indústria de processamento de leite, são utilizados compostos surfactantes, como o sabão, para aumentar a eficiência de limpeza dessas máquinas. Não obstante, o efluente coletado além de ser naturalmente rico em lipídios e proteínas do leite, apresenta o sulfato do sabão em sua composição; fatores de inibição da digestão anaeróbia e que justificam a baixa produção de hidrogênio nesses reatores. Todavia, o sulfato não pôde ser analisado como um parâmetro durante a etapa de caracterização físico-química dos reatores, uma vez que o Laboratório de Controle Ambiental não apresenta estrutura que possibilite essa análise.

Tabela 7 - Referências que justificam a hipótese de inibição da digestão anaeróbia.

Autor	Trabalho
Chen et al., 2008	Inibição do processo de digestão anaeróbia: uma revisão.
Salminen et al., 1999	Digestão anaeróbia de resíduos de abate de aves.
Vidal et al., 2000	Influência do conteúdo de gorduras e proteínas na biodegradabilidade anaeróbia de efluentes de laticínios.
Koster et al., 1987	Inibição da metanogênese a partir de acetato em lodo granular por ácidos graxos de cadeia longa.
Madsen et al., 1996	Um método para rastrear a toxicidade potencial de produtos químicos orgânicos para a produção de gás metano.
Gavala et al., 2002	Inibição do processo de digestão anaeróbia por sulfonatos alquilbenzeno lineares.
O'Flaherty et al., 1998	Efeito do pH na cinética de crescimento e limiares de toxicidade do sulfeto de uma gama de bactérias metanogênicas, sintróficas e redutoras de sulfato.
Koster et al., 1986	Inibição de sulfeto na atividade metanogênica de lodo granular em vários níveis de pH.
Hilton et al., 1988	Inibição da digestão anaeróbia induzida por sulfeto.
Hansen et al., 1993	Metabolismo de carbono de bactérias redutoras de sulfato.
Elferink et al., 1994	Redução de sulfato em biorreatores metanogênicos.
Laanbroek et al., 1984	Competição por sulfato e etanol entre espécies de <i>Desulfobacter</i> , <i>Desulfobulbus</i> e <i>Desulfovibrio</i> isoladas de sedimentos entre-marés.

Fonte: Autora, 2019.

As substâncias inibitórias são frequentemente encontradas como a principal causa de insucesso e falha do reator anaeróbio, uma vez que estão presentes em efluentes e lodos (CHEN et al., 2008). Durante a digestão anaeróbia, a degradação de proteínas e lipídios leva ao acúmulo de amônia e ácidos graxos de cadeia longa, que são importantes inibidores de microrganismos anaeróbios (SALMINEN et al., 1999). Na literatura, tem sido relatado que os intermediários da degradação de gordura, glicerol e ácidos graxos de cadeia longa, ficam abaixo das concentrações inibitórias. No entanto, a amônia produzida a partir da degradação da proteína do leite, na faixa de 62,2 mg/L, é muito próxima ao nível de inibição do processo de digestão anaeróbia (VIDAL et al., 2000).

Além disso, alguns ácidos graxos de cadeia longa (KOSTER et al., 1987), surfactantes e detergentes também foram relatados por impactar negativamente a digestão anaeróbia (MADSEN et al., 1996; GAVALA et al., 2002). O sulfato é um constituinte comum de muitas efluentes industriais (O'FLAHERTY et al., 1998). Em reatores anaeróbios, o sulfato é reduzido a sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (KOSTER et al., 1986; HILTON et al., 1988). As bactérias redutoras de sulfato não degradam biopolímeros naturais, como o amido, glicogênio, proteínas ou lipídios e, portanto, dependem da atividade de outros microrganismos para fornecer-lhes produtos de degradação (HANSEN et al., 1993). Os compostos que podem ser

completamente ou parcialmente degradados pelas bactérias redutoras de sulfato incluem ácidos graxos de cadeia ramificada e de cadeia longa, etanol e outros álcoois, ácidos orgânicos e compostos aromáticos (ELFERINK et al., 1994). Laanbroek et al. (1984) classificaram a afinidade das bactérias redutoras de sulfato por substratos reduzidos na ordem de H_2 > propionato > outros doadores de elétrons orgânicos.

6. CONCLUSÕES

A digestão anaeróbia é um processo de tratamento de resíduos eficiente que aproveita a decomposição anaeróbia natural para reduzir o volume de resíduos e gerar biogás ao mesmo tempo. Dependendo da origem, o efluente pode conter substâncias inibitórias ou mesmo tóxicas, como amônia, sulfeto e compostos orgânicos. O acúmulo dessas substâncias pode causar problemas no reator, conforme indicado pelo volume de hidrogênio produzido, e falha em dez dos onze reatores estudados.

A caracterização físico-química dos resíduos estudados possibilitou o entendimento sobre a resposta dada pelos reatores através do planejamento experimental. Todos os reatores sofreram acidificação, com pH inicial 6 a um pH final de, 3 em média. Foi possível observar que os reatores co-digeridos com efluentes da indústria de leite foram os que sofreram a maior acidificação, o que não significou em maior eficiência para esses reatores, mas que processos como amonificação e/ou sulfetogênese podem ter reduzido o pH. Todos os reatores apresentaram eficiência na remoção de matéria oxidável, no entanto, ao comparar a eficiência de remoção entre os reatores de digestão isolada de leite e frutas, R7 e R8 respectivamente, R8 apresentou eficiência de 79% e R7 de 58%. O que infere que resíduos ricos em proteínas apresentam naturalmente maior resistência de degradação quando comparados à resíduos de carboidratos. O que pode ser confirmado através da análise de carboidratos igualmente, mesmo R8 apresentando a menor quantidade de carboidratos dentre os demais reatores, foi o que apresentou a maior eficiência de conversão para produção de hidrogênio, de 92%. A análise de sólidos totais nos permitiu observar que o resíduo da indústria de processamento de leite é o que contém o maior teor de sólidos, de 110,83 g/L quando comparado a 6,41 g/L no resíduo da indústria de processamento de frutas. O que sugere diluição do resíduo rico em sólidos, sendo este um parâmetro que facilita a aderência de substâncias surfactantes inibitórias da produção de hidrogênio.

O planejamento experimental fatorial 2^2 com três pontos centrais e quatro pontos axiais, seguindo a metodologia do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), otimizou a realização do experimento com base nos limites superiores e inferiores de volume de resíduos e inóculo a serem utilizados em cada reator. O que resulta em maior confiabilidade dos resultados obtidos, uma vez que o *software* explorou as possibilidades de melhores resultados com base nos dados de entrada. Assim sendo, a melhor proporção de mistura entre os resíduos

estudados para a produção de hidrogênio é de 100% de resíduos de frutas e 12,5% de inóculo, em volume de substrato, com produção máxima específica de hidrogênio de 0,82 mL H₂/gSV.

Devido à diferença de microrganismos anaeróbios, composição dos efluentes e métodos e condições experimentais, os resultados de investigações anteriores sobre a inibição de processos anaeróbios variam substancialmente. Assim sendo, o conhecimento dos possíveis contaminantes presentes nos efluentes, suas origens e seu grau de toxicidade é essencial para o sucesso da digestão anaeróbia. Encontra-se na literatura que a co-digestão com outros resíduos, a adaptação dos microrganismos a substâncias inibitórias e a incorporação de métodos para remover ou neutralizar substâncias tóxicas antes da digestão anaeróbia podem melhorar significativamente a eficiência dos reatores para a produção de hidrogênio. Diante do exposto, em caso de impossibilidade de aprimoramento do experimento voltado para inibição dos compostos surfactantes e diluição do resíduo, se torna mais vantajoso trabalhar com a digestão isolada de carboidratos.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com a finalidade de dar sequência a esse trabalho e aumentar a eficiência para a produção de hidrogênio, sugere-se:

- ✓ Adicionar carvão ativado com o objetivo de inibir a amônia através da remoção de sulfato e sulfeto na solução;
- ✓ Realizar diluição do efluente de indústrias de processamento de leite de forma a diminuir a toxicidade do sulfeto;
- ✓ Avaliar a composição dos metabólitos líquidos e gasosos produzidos durante o processo;
- ✓ Construir e avaliar a superfície de resposta dos resultados, através de estudo estatístico.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. New York, 1998.
- BOUALLAGUI, H. et al. Two-phases anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Bioreactors performance. **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.193-197, out. 2004. Elsevier BV.
- BRUNS, Roy Edward et al. **Como fazer experimentos**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 401 p.
- CHEN, Ye et al. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 99, n. 10, p.4044-4064, jul. 2008. Elsevier BV.
- CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 1997. 246 p. 5 v.
- CHU, Chun-Feng et al. A pH - and temperature - phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 33, n. 18, p.4739-4746, set. 2008. Elsevier BV.
- COSTA, Maria Carolina Burgos et al. A importância do ensino da ferramenta de planejamento fatorial para estudantes de engenharia. **Abenge**, Blumenau, out. 2011.
- DEMIREL, Burak et al. Recovery of biogas as a source of renewable energy from ice-cream production residues and wastewater. **Environmental Technology**, [s.l.], v. 34, n. 13-14, p.2099-2104, jul. 2013. Informa UK Limited.
- DUBOIS, Michel et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.350-356, mar. 1956. American Chemical Society (ACS).
- ELFERINK, Stefanie J.W.H. Oude et al. Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. **Fems Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 15, n. 2-3, p.119-136, out. 1994. Oxford University Press (OUP).

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Disponível em <<http://www.epe.gov.br>>. Acesso em: 05 ago. 2019.

GANESH, Rangaraj et al. Single-phase and two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: Comparison of start-up, reactor stability and process performance. **Waste Management**, [s.l.], v. 34, n. 5, p.875-885, maio 2014. Elsevier BV.

GAVALA, Hariklia N. et al. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates. **Biodegradation** 13, [s.l.], v. 13, n. 3, p.201-209, jul. 2002.

HANSEN, Theo A. et al. Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria. **Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience**, [s.l.], p.21-40, 1993. Springer New York.

HEBERT D. et al. Carbohydrate analysis. **Methods in Enzymology**, [s.l.], 1971.

HILTON, Barry L. et al. Sulfide-induced inhibition of anaerobic digestion. **Journal of Environmental Engineering**, [s.l.], v. 114, n. 6, p.1377-1391, dez. 1988. American Society of Civil Engineers (ASCE).

KESKIN, Tugba et al. Determining the effect of trace elements on biohydrogen production from fruit and vegetable wastes. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 43, n. 23, p.10666-10677, jun. 2018. Elsevier BV.

KOSTER, Iman W. et al. Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long-chain fatty acids. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 53, n. 2, p.403-409, fev. 1987. American Society for Microbiology.

KOSTER, Iman W. et al. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels. **Water Research**, [s.l.], v. 20, n. 12, p.1561-1567, dez. 1986. Elsevier BV.

LAANBROEK, Hendrikus J. et al. Competition for sulfate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. **Applied and Environmental Microbiology**: American Society for Microbiology, [s.l.], v. 47, n. 2, p.329-334, fev. 1984.

- LOOSDRECHT, Mark C.m.van; MOGENSHENZE. Maintenance, endogeneous respiration, lysis, decay and predation. **Water Science And Technology**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.107-117, 1999. IWA Publishing.
- MADSEN, Torben et al. A method for screening the potential toxicity of organic chemicals to methanogenic gas production. **Water Science And Technology**, [s.l.], v. 33, n. 6, p.213-220, 1996. IWA Publishing.
- MAINTINGUER, Sandra I. et al. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 33, n. 16, p.4309-4317, ago. 2008. Elsevier BV.
- MAO, Chunlan et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 45, p.540-555, maio 2015. Elsevier BV.
- O'FLAHERTY, Vincent et al. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 33, n. 5, p.555-569, jun. 1998. Elsevier BV.
- OKAMOTO, M. et al. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solid wastes. **Water Science and Technology**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.25-32, fev. 2000. IWA Publishing.
- OWUSU, Phebe Asantewaa et al. A review of renewable energy sources, sustainability issues and climate change mitigation. **Cogent Engineering**, [s.l.], v. 3, n. 1, 4 abr. 2016. Informa UK Limited.
- PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO. Disponível em: <<http://www.br.undp.org>>. Acesso em: 05 ago. 2019.
- SALMINEN, E. A. et al. Anaerobic digestion of poultry slaughtering wastes. **Environmental Technology**, [s.l.], v. 20, n. 1, p.21-28, jan. 1999. Informa UK Limited.
- SONG, Wenlu et al. Cogeneration of hydrogen and methane from protein-mixed food waste by two-phase anaerobic process. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 35, n. 7, p.3141-3146, abr. 2010. Elsevier BV.

VIDAL, G et al. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 74, n. 3, p.231-239, set. 2000. Elsevier BV.