

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROFISSIONAL EM ENERGIA DA
BIOMASSA

NADJANE LEITE DOS SANTOS TELLES

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE-
AÇÚCAR EM REATOR ANAERÓBIO EM BATELADA**

RIO LARGO
2015

NADJANE LEITE DOS SANTOS TELLES

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE-
AÇÚCAR EM REATOR ANAERÓBIO EM BATELADA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação Profissional em Energia da Biomassa da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Energia da Biomassa.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

RIO LARGO
2015

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

T274p

Telles, Nadjane Leite dos Santos.

Produção de hidrogênio a partir da vinhaça de cana-de-açúcar em reator anaeróbico em batelada / Nadjane Leite dos Santos Telles.– 2015.

83 f. : il.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Dissertação (Mestrado Profissional em Energia da Biomassa) – Universidade Federal de Alagoas. Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

Bibliografia: f. 76-83.

1. Hidrogênio - Produção. 2. Biogás. 3. Ácidos orgânicos. I. Título.

CDU: 662.769.2

TERMO DE APROVAÇÃO

NADJANE LEITE DOS SANTOS TELLES

PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE- AÇÚCAR EM REATOR ANAERÓBIO EM BATELADA

Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre Profissional em Energia da Biomassa, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Aprovado em 10/09/2015



Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

Orientador (CTEC-UFAL)



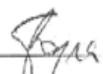
Prof. Dr. Antonio Pedro de Oliveira Netto

Membro (CAMPUS/SERTÃO/UFAL)



Prof. Dr. Karina Ribeiro Salomon

Membro (CTEC-UFAL)



Prof. Dr. Guilherme Bastos Lyra

Membro (CECA-UFAL)

Rio Largo – AL

2015

Dedico este trabalho a minha filha Julia. Que transformou minha vida, me mostrou um AMOR incondicional e me transformou numa pessoa melhor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me conceder a oportunidade de crescimento pessoal e profissional. Obrigada Senhor, por cada dia de vida, pela minha saúde, força e iluminação para que eu possa vencer todos os obstáculos.

Aos meus pais, por terem me ensinado a ser uma pessoa honesta e lutar pelos meus objetivos com humildade. Sou imensamente grata pelo investimento em educação, por ter me ensinado a valorizar a família e tratar as pessoas com humanidade.

As minhas irmãs pelo estímulo, apoio e carinho que sempre me deram. Por apesar de sermos tão diferentes, sempre seguimos unidas.

Ao meu esposo, pela compreensão e carinho. Por várias vezes me acompanhar nas análises para eu não ficar sozinha quando já estava com nove meses de gestação. Pelo apoio e paciência nos momentos que eu estava mais estressada. Obrigada pelo amor que dedica a nossa família.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Lucena, pelo aceite de orientação, pela paciência, dedicação e competência na orientação deste trabalho.

Aos docentes e pesquisadores do Programa de Pós-graduação Profissional em Energia da Biomassa e do Programa de Pós-graduação de Recursos Hídricos e Saneamento que proporcionaram momentos de ampla aprendizagem.

A querida amiga Eveline e as bolsistas do LSA, pela contribuição e apoio nos experimentos.

Ao meu amigo Elvan, pelo imenso apoio nos meus experimentos quando sai de licença gestação. Por ter colaborado em várias etapas nesse processo de formação.

Ao professor Christopher, pelo apoio e contribuição na parte estatística do trabalho.

A colega Norma pelo apoio e grande ajuda nos momentos de correria.

Aos bolsistas de graduação que participaram da pesquisa e contribuíram para a finalização do trabalho.

Aos colegas de turma, que tive o prazer de conhecer nessa trajetória e com quem compartilhei muitos momentos.

A Indústria de Açúcar e Alcool pela disponibilidade de coleta de material e pela atenção prestada.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação Profissional em Energia da Biomassa e do Programa de Pós-graduação de Recursos Hídricos e Saneamento que se dispôs a ajudar sempre que precisei.

A todos aqueles que mesmo não citados, fizeram e fazem parte desta etapa de crescimento.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A demanda global por energia vem crescendo e tem sido uma preocupação da sociedade moderna. A busca pelo desenvolvimento de energia limpa e renovável é uma questão importante a fim de evitar uma crise energética e minimizar os impactos ambientais ocorridos em virtude da utilização dos combustíveis fósseis durante muitos anos. Diante desse cenário, o hidrogênio surge como fonte alternativa de energia, já que sua combustão gera apenas oxigênio e água, sendo assim, considerado como combustível limpo e renovável. A produção biológica de hidrogênio, por meio da digestão anaeróbia aparece como alternativa para o processamento da vinhaça (resíduo do processamento da cana-de-açúcar), pois é possível aliar a geração de energia (biogás) ao enquadramento ambiental deste resíduo sem interferir em sua qualidade como biofertilizante. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar como fonte de carbono em diferentes concentrações. Os ensaios de produção de hidrogênio foram realizados em réplicas em reatores anaeróbios em batelada utilizando inóculo proveniente da fermentação natural da vinhaça. As concentrações utilizadas foram aproximadamente 10, 20, 35 e 43 g DQO. L⁻¹, denominados como R1, R2, R3 e R4 respectivamente e o pH inicial ajustado próximo a 5,5. A produção de hidrogênio foi maior para concentrações crescentes de vinhaça (0,015 – 0,022 mmol de H₂). Em relação ao rendimento de hidrogênio, observou-se a redução com o aumento da concentração de vinhaça (1,31 a 0,77 mmol H₂. mmol⁻¹ carboidrato). Tal comportamento foi idêntico à eficiência de consumo de carboidratos que reduziu de 75 a 65% e também com a eficiência de remoção de DQO que variou de 55 a 22% com o aumento da concentração do substrato. Os metabólitos gerados foram ácido acético, ácido butírico em maiores concentrações e ácido propiônico em menor concentração em todos os reatores. O ácido acético apresentou maior concentração (9,536 mmol HAc. L⁻¹) no R2 (20 g DQO. L⁻¹); o ácido butírico (4,054 mmol HBU. L⁻¹) no R3 (35 g DQO. L⁻¹). Enquanto o ácido propiônico apresentou maior concentração (0,696 mmol HPr. L⁻¹) no R4 (43 g DQO. L⁻¹). O conteúdo de hidrogênio no biogás foi em média de 30%, sendo R1 o que apresentou maior conteúdo de H₂.

Palavras-chave: Biogás. Gompertz. Ácidos orgânicos.

ABSTRACT

Global demand for energy is growing and has been a concern of modern society. The search for clean and renewable energy development is an important issue in order to avoid an energy crisis and minimize environmental impacts occurring due to the use of fossil fuels for many years. In this scenario, hydrogen rises as an alternative source of energy, since its combustion produces only oxygen and water, thus, considered as clean and renewable fuel. Biological hydrogen production through anaerobic digestion appears as an alternative for the processing of vinasse (waste processing of sugarcane), it is possible to combine energy generation (biogas) to the environmental framework of this waste without interfering with its quality as biofertilizers. In this sense, the objective of this study was to evaluate the production of hydrogen from vinasse from sugarcane as a carbon source in different concentrations. The hydrogen production assays were performed in replicates in anaerobic batch reactors using inoculum from the natural fermentation of vinasse. Used concentrations were about 10, 20, 35 and 43 g COD. L⁻¹, referred to as R1, R2, R3 and R4 respectively and the initial pH adjusted around 5.5. Hydrogen's yield was higher for increasing concentrations of vinasse (0.015 to 0.022 mmol of H₂). Regarding the yield of hydrogen was observed the reduction with the concentration increasing of vinasse (0.77mmol the H₂ 1.31 mmol⁻¹ carbohydrate). Such behavior was identical to the carbohydrate consumption efficiency that decreased from 75 to 65% and also the COD removal efficiency which varied from 55 to 22% with increasing substrate concentration. Generated metabolites were acetic acid, butyric acid in greater concentration and propionic acid in lower concentration in all reactors. Acetic acid showed the highest concentration (9.536 mmol L⁻¹ HAc.) In R2 (20 g COD L⁻¹.); butyric acid (HBU 4.054 mmol. L⁻¹) in R3 (35 g COD. L⁻¹). While propionic acid showed the highest concentration (0.696 mmol HPr. L⁻¹) to R4 (43 g COD. L⁻¹). The hydrogen content in the biogas was averaged 30%, being R1 with the highest content of H₂.

Keywords: Biogas. Gompertz. Ácids organic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplos de Biomassa.....	19
Figura 2 - Matriz Elétrica no Brasil.....	20
Figura 3 - Fluxograma do processo de fabricação de álcool hidratado a partir do caldo.....	25
Figura 4 - Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia.....	30
Figura 5 - Fluxograma experimental.....	44
Figura 6 - Locais de coleta da vinhaça: (A) Saída da coluna de destilação e (B) Lagoa de Sedimentação.....	45
Figura 7 - Reatores anaeróbios em batelada utilizados nos ensaios de produção de hidrogênio.....	48
Figura 8 - Representação do ponto de inflexão da função sigmoideal de Gompertz.....	54
Figura 9 - (A) Variação temporal da DQO e (B) Variação temporal de Carboidratos. (■) R1, (▲) R2, (●)R3 e (◆) R4.....	60
Figura 10 - (■) Remoção de DQO e (▲) Consumo de carboidratos.....	62
Figura 11 - Variação temporal da composição de H ₂ e CO ₂ no biogás. (A) R1, (B) R2, (C) R3 e (D) R4. (■) % H ₂ e (▲) % CO ₂	62
Figura 12 - Composição média do Biogás por reator. (■) % H ₂ e (■) % CO ₂	63
Figura 13 - Produção temporal de hidrogênio por reator, ajustado ao modelo de Gompertz. (□) Produção acumulada de H ₂ ; (○); (-) sigmóide ajustado ao modelo de Gompertz; (■) Ponto de inflexão e (●) Produção máxima de H ₂	65
Figura 14 - Relação entre produção máxima de hidrogênio e o tempo. (■) Tempo da máxima produção de H ₂ ; (▲) Máxima produção de H ₂ e (-) Reta da equação do tempo.....	67
Figura 15 - Relação entre rendimento de hidrogênio, consumo de carboidratos totais e eficiência de conversão por reator.....	68
Figura 16 - Comportamento dos metabólitos solúveis produzidos (SMP) para cada reator. (A) Ácido Acético; (B) Ácido Butírico; (C) Ácido Propiônico e (D) Etanol. (▪) concentração inicial, (Δ) concentração final.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características quali-quantitativa da vinhaça procedente de mosto de melação, caldo e mosto.....	24
Tabela 2 - Evolução da regulamentação da disposição da vinhaça.....	27
Tabela 3 - Vantagens e desvantagens dos processos biológicos de produção de hidrogênio.....	38
Tabela 4 - Comparação do rendimento na produção de hidrogênio a partir de várias fontes de substrato, inóculo a diferentes condições operacionais.....	42
Tabela 5 - Caracterização de amostra de vinhaça no 1 ° lote.....	47
Tabela 6 - Caracterização de amostra de vinhaça no 2 ° lote (vinhaça usada na montagem dos reatores).....	47
Tabela 7 - Sigla adotada para cada ensaio realizado.....	49
Tabela 8 - Variáveis analisadas, frequência e metodologia de análise.....	50
Tabela 9 - Comparativo dos modelos de regressão não-linear.....	53
Tabela 10 - Caracterização da vinhaça usada na montagem dos reatores.....	58
Tabela 11 - pH inicial e final dos reatores.....	59
Tabela 12 - Concentrações iniciais e finais de DQO e carboidratos totais, eficiência de remoção de DQO e eficiência de consumo de carboidratos totais.....	61
Tabela 13 - Produção acumulada de H ₂ , media da produção acumulada, desvio padrão e coeficiente de variação dos reatores.....	64
Tabela 14 - Composição dos metabólitos solúveis produzidos em cada reator.....	69
Tabela 15 - Resumo dos principais dados obtidos nos ensaios de produção de hidrogênio.....	71
Tabela 16 - Balanço de carbono: DQO inicial e final dos metabólitos, dos carboidratos totais, DQO _{teórica} e DQO _{medida} inicial e final e a relação DQO _t /DQO _m	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔG	variação de energia livre de Gibbs
ΔH	variação de entalpia
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
ANEEL	Agência Nacional de Energia Elétrica
APBR	<i>Anaerobic packed bed reactor</i>
Art.	artigo
BAP	Bacia do alto Paraguai
BC	reator branco
BEM	Balanço Energético Nacional
CECA	Centro de Ciências Agrárias
CO ₂	gás carbônico
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COD	<i>Chemical Oxygen demand</i>
CSTR	<i>continuous stirred tank reactor</i>
CTEC	Centro de Tecnologia
CV	Coefficiente de variação
<i>dark fermentation</i>	fermentação no escuro
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EtOH	Etanol
EUA	Estados Unidos da América
GC	Cromatografia gasosa
H ₂	gás hidrogênio
HAc	Ácido acético
HBu	Ácido butírico

HCl	Ácido clorídrico
HPr	Ácido propiônico
HY	Rendimento de hidrogênio
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MINTER	Ministério do Interior
N.D	Não detectado
N ₂	gás nitrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
NTK	Nitrogênio de Kjeldahl Total
O.D.	Oxigênio Dissolvido
O ₂	gás oxigênio
PIB	Produto Interno Bruto
PROÁLCOOL	Programa Nacional do Alcool
R1	Reator 1 (ensaio da produção de hidrogênio com 10 gDQO.L ⁻¹)
R2	Reator 2 (ensaio da produção de hidrogênio com 20 gDQO.L ⁻¹)
R3	Reator 3 (ensaio da produção de hidrogênio com 35 gDQO.L ⁻¹)
R4	Reator 4 (ensaio da produção de hidrogênio com 43 gDQO.L ⁻¹)
RALF	Reator Anaeróbico de Leito Fluidificado
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SMP	Metabólitos solúveis produzidos
Subst.	Substância
SVT	Sólidos Voláteis Totais
UDOP	União dos Produtores de Bioenergia
ÚNICA	União das Indústrias de Cana-de-açúcar de São Paulo
XIX	dezenove
XX	vinte
ZAEcana	Programa de Zoneamento Agroecológico da Cana

LISTA DE SÍMBOLOS

C	carbono
Ca	cálcio
cm	centímetro
g	gramas
h	hora
K	potássio
KJ	QuiloJoule
L	litros
m	metro
Mg	magnésio
mg	miligrama
min.	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
mmol	milimol
mol	mol
MWh	MegaWatts-hora
N	nitrogênio
°C	grau Celsius
°GL	fração em volume de Gay Lussac
P	fósforo
pH	potencial hidrogeniônico
SO ₄ ⁻²	Sulfato (íon)
TWh	TeraWatts-hora
>	maior
μ	microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Energia da Biomassa	19
3.2 Cana-de-açúcar: Aspectos gerais.....	21
3.3 Vinhaça: Subproduto do processamento da cana-de-açúcar	23
3.3.1 Destinação e Legislação	26
3.4 Digestão Anaeróbia	28
3.4.1 Hidrólise	31
3.4.2 Acidogênese	31
3.4.3 Acetogênese.....	31
3.4.4 Metanogênese	32
3.4.5 Sulfetogênese.....	32
3.5 Rotas fermentativas	32
3.6 O Hidrogênio como fonte de energia	34
3.7 Produção de hidrogênio.....	35
3.8 Parâmetros que influenciam a produção de hidrogênio.....	38
3.8.1 pH	39
3.8.2 Substrato	39

3.8.3 Temperatura.....	40
3.8.4 Tratamento do inóculo.....	41
3.9 Considerações Finais	43
4 MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 Esquema Operacional	44
4.2 Vinhaça: Fonte de carbono	45
4.3 Caracterização da vinhaça	46
4.4 Inóculo	48
4.5 Reatores Anaeróbios em Batelada: Ensaio de produção de hidrogênio.	48
4.6 Métodos Analíticos.....	50
4.6.1 Análises Físico-químicas.....	51
4.6.1.1 Carboidratos	51
4.6.2 Análises Cromatográficas.....	51
4.6.2.1 Determinação de Hidrogênio.....	51
4.6.2.2 Determinação dos ácidos orgânicos e álcool.....	52
4.7 Ajuste dos dados experimentais	52
4.8 Balanço de carbono	55
4.9 Cálculos dos principais parâmetros	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
5.1 Caracterização da vinhaça da Cana-de-açúcar	58
5.2 Produção de Hidrogênio	59
5.2.1 DQO e carboidrato do substrato (vinhaça).....	60
5.2.2 Composição do Biogás	62

5.2.3 Produção acumulada de hidrogênio (H ₂).....	64
5.3 Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos (SMP).....	68
5.4 Balanço de Carbono.....	72
6 CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

A demanda global por energia tem crescido vertiginosamente, e cerca de 88% dessa carência é atendida até o presente momento por combustíveis fósseis (WEILAND, 2010). O petróleo e seus derivados são as principais fontes de energia usadas atualmente. A combustão desses combustíveis fósseis produz dióxido de carbono e outros gases residuais que decorrentes de seu uso excessivo causam impactos ambientais, contribuindo não só para as alterações climáticas e o aquecimento global, mas também pode promover um rápido esgotamento das fontes de energia natural (GUO et al., 2010). Outras fontes de combustíveis, como a biomassa tem sido estudada e desenvolvida em busca de energia limpa e renovável.

No contexto energético, a biomassa pode ser designada como qualquer matéria orgânica proveniente de organismos vivos que pode ser convertida em energia. É uma fonte de energia renovável e potencialmente sustentável, pois o dióxido de carbono gerado pela biomassa é absorvido no processo de fotossíntese das plantas, tornando-o menos ofensivo ao meio ambiente. Entre essas fontes de biomassa estão os resíduos sólidos urbanos (RSU), resíduos agroindustriais, biomassa florestal, entre outras. Exemplos de biomassa utilizados para conversão de energia são: casca de arroz, cana-de-açúcar, milho, algas, estrume, e muitos outros resíduos. Apesar do carvão e do petróleo ser igualmente provenientes de seres vivos não são considerados biomassa já que resultam de processos geológicos.

Em virtude da diversidade de fontes de biomassa, a utilização desses resíduos como matéria-prima para geração de energia torna-se uma atraente alternativa, pois além de preservar águas subterrâneas e superficiais, podem utilizar do biogás gerado como fonte energética. E ainda, contribuir para diminuição do descarte inadequado desses resíduos ao meio ambiente. Embora o uso de biogás no Brasil ainda esteja limitado, a avaliação do potencial de produção de biogás e geração de energia a partir de grandes fontes de resíduos orgânicos é importante para subsidiar novas discussões e políticas públicas (SALOMON, 2007).

Um setor que vem ganhando importância no tratamento de seus resíduos e na co-geração de energia é o Sucroalcooleiro. É um dos setores que mais cresce e se desenvolve no Brasil, sendo responsável por 3,5% do PIB nacional (LAIME et al., 2011). De acordo com

CONAB (2015) o volume de cana-de-açúcar processada totalizou aproximadamente 658,80 milhões de toneladas na safra de 2013/2014, volume superior a 10,70%, em relação à safra 2012/2013, que foi de 588,92 milhões de toneladas. Segundo a NOVA CANA (2015), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de álcool.

O principal efluente gerado do processamento da cana-de-açúcar é a vinhaça, resíduo final da fabricação de álcool etílico por via fermentativa. A vinhaça se apresenta como resíduo de baixo pH, coloração marrom, podendo conter material particulado e alta presença de matéria de compostos orgânicos e inorgânicos, além de possuir três importantes componentes: nitrogênio, fósforo e o potássio (CABELLO, 2009). É caracterizado pelo alto poder poluente, cerca de cem vezes maior que os esgotos domésticos e alto valor fertilizante (SEARMSIRIMONGKOL et al., 2011).

No Brasil, o destino mais comum da vinhaça é a aplicação direta no solo, como fertilizante da própria cana-de-açúcar, o que representa uma solução mais barata e simples do ponto de vista econômico, porém para cada litro de etanol produzido cerca de 10 – 18L de vinhaça são gerados (SILVA, 2007). Em virtude do alto teor de matéria orgânica e nutrientes, o lançamento desse grande volume de efluente de forma contínua no ambiente destaca-se pela potencialidade de danos ambientais.

Diante da questão ambiental e da necessidade energética, fontes alternativas de energia, que sejam renováveis e menos poluentes, começaram a ganhar destaque. O hidrogênio (H_2) surge como possível substituto para os combustíveis derivados do petróleo, já que possui fonte renovável e é considerado um combustível limpo. A utilização de H_2 é equivalente a 3% do consumo de energia e deverá crescer significativamente nos próximos anos, por conter maior conteúdo energético e gerar apenas água na sua combustão.

Atualmente o H_2 é produzido principalmente a partir de combustíveis fósseis, biomassa e água. Cerca de 90% de H_2 é produzido pelas reações de gás natural ou frações de óleo leve com vapor a altas temperaturas. Estes métodos principalmente consomem combustíveis fósseis como fonte de energia e são considerados de energia intensiva e nem sempre favoráveis ao ambiente. A produção biológica de hidrogênio utilizando microrganismos está atraindo a atenção de defensores do ambiente e do processo de economia de energia.

Os processos biológicos apresentam como vantagem o baixo custo e a utilização de recursos energéticos renováveis, que são inesgotáveis. Além disso, eles também podem utilizar diversos resíduos industriais e domésticos ricos em carboidratos como substrato, minimizando os problemas causados decorrente do descarte inadequado desse material (DAS; VERZIROGLU, 2001).

O processo de digestão anaeróbia apresenta-se como uma interessante opção de tratamento de efluentes, tanto no controle da poluição, quanto na possibilidade de recuperação de energia (SILES et al., 2010). Atualmente, pesquisadores de todo mundo tem dado atenção especial aos processos anaeróbios, bem como ao desenvolvimento de reatores para o tratamento de resíduos e principalmente a conversão de orgânicos em biogás (hidrogênio e metano).

Alguns estudos utilizando a vinhaça como substrato já foram desenvolvidos e seus resultados indicam a viabilidade desse resíduo na produção de hidrogênio. Estudos recentes como de LAZARO (2012) e FERRAZ (2013), avaliaram a influência da concentração e temperatura respectivamente na produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar.

Neste contexto, a pesquisa pretende contribuir no estudo da digestão anaeróbia da vinhaça, visando no tratamento e utilização desse efluente em condições ambientais favoráveis, ou seja, visando a sustentabilidade (econômica, ambiental e social) na produção de açúcar e álcool.

Dessa forma, o presente estudo avaliou a produção de hidrogênio pela fermentação natural em reatores anaeróbio em batelada a partir da vinhaça da cana-de-açúcar como fonte alternativa de energia. O mesmo faz parte do Programa de Pós-graduação profissional em Energia da Biomassa do Centro de Ciências Agrárias (CECA), apoiada e desenvolvida no Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a produção de hidrogênio em reator anaeróbio em batelada a partir da vinhaça do processamento da cana-de-açúcar como fonte de carbono.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar amostras de vinhaça em dois diferentes pontos do processamento de cana-de-açúcar;
- Avaliar a fermentação natural como inóculo para produção de hidrogênio;
- Avaliar a influência da demanda química de oxigênio na produção de hidrogênio;
- Identificar compostos intermediários da degradação anaeróbia da vinhaça, tais como os metabólitos solúveis (ácidos e álcoois) e gasosos (biogás);
- Avaliar o desempenho da vinhaça como substrato na produção de hidrogênio.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Energia da Biomassa

No contexto energético, biomassa refere-se a qualquer matéria orgânica provenientes de seres vivos que possa ser convertida em energia. De acordo com sua origem, pode ser: florestal (exemplo da madeira); agrícolas (soja, arroz, cana-de-açúcar, milho e outros) e resíduos urbanos e industriais (sólidos ou líquidos, como exemplo, o lixo).

Figura 1: Exemplos de Biomassa.



Palha de arroz



Cana-de-açúcar



Lixo

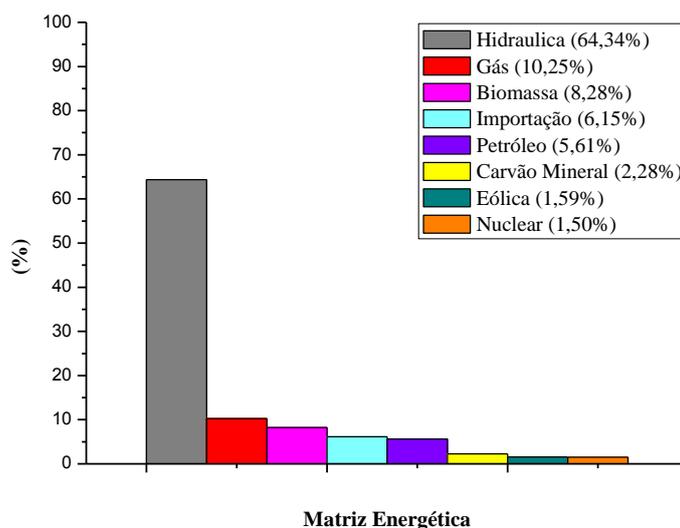
Fonte: mfrural.com. br (2015).

A biomassa é uma das fontes renováveis com maior potencial de crescimento para produção de energia elétrica nos próximos anos. Considerada uma das principais alternativas para diversificar a matriz energética e consequentemente, reduzir a dependência dos combustíveis fósseis. No Brasil, a utilização mais comum de biomassa é a combustão de madeira. Mas o uso da biomassa como fonte de energia vem crescendo consideravelmente, principalmente em sistemas de co-geração (obtenção de energia térmica e elétrica) dos setores industrial e serviços.

Estima-se que a terra possua aproximadamente 1,8 trilhões de toneladas de biomassa, cuja capacidade para geração seja de 11 mil TWh por ano, levando em consideração o grau de eficiência das usinas no ano de 2005 (ANEEL, 2010). Segundo o Balanço Energético Nacional (BEN), a biomassa foi responsável por 8,2% da oferta total de energia no Brasil

(BEN, 2013). Esse volume foi 65% superior à oferta de 2007. A Figura 2 apresenta a matriz elétrica brasileira.

A Figura 2: Matriz Elétrica no Brasil.



Fonte: ANEEL (2013).

A cana-de-açúcar é um recurso (biomassa) com grande potencial para geração de eletricidade no país, através da utilização do bagaço, da palha e da vinhaça (efluente). Vários fatores contribuem para o cenário de expansão, um deles é o aumento no volume produzido e o potencial de aumento da produção. De acordo com ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica) em 2020, a eletricidade produzida pelo setor sucroalcooleiro representará 15%, da matriz elétrica brasileira com aproximadamente 14.400 MWh ao longo do ano.

Existem diversos processos de conversão de biomassa em energia e, como já foi mencionado o mais popular é a queima direta de biomassa sólida destinada para produção de energia elétrica e térmica. Outra forma de conversão é em biocombustíveis, como biodiesel, etanol e biogás. Cada processo está associado a um determinado derivado e um nível tecnológico diferente. Dentre eles, destaca-se: a pirólise, processos bioquímicos e químicos.

- Pirólise ou carbonização – é o mais antigo e mais simples dos processos, consiste na conversão térmica (aquecimento entre 300 e 500 °C) na ausência de oxigênio, de

um combustível sólido (normalmente a madeira) em outro de melhor qualidade e maior conteúdo energético (carvão) (ANEEL, 2013);

- Gaseificação – ocorre através de reações termoquímicas, envolvendo vapor quente e oxigênio e transforma combustível sólido em gás (mistura de monóxido e carbono, dióxido de carbono, hidrogênio, metano e nitrogênio) (ANEEL, 2013);

- Os processos bioquímicos envolvem a decomposição de resíduos orgânicos. A digestão anaeróbia é muito usada e consiste na decomposição da matéria orgânica pela ação das bactérias, ocorre na ausência de oxigênio e seu produto final é o biogás (geralmente composto por metano e gás carbônico). Existe também a fermentação, comum principalmente na agroindústria, onde os carboidratos são convertidos em álcool pela ação dos microrganismos e seu produto final é o etanol. E ainda, o resíduo sólido da fermentação pode ser utilizado nas termoeletricas para produzir eletricidade (ANEEL, 2013).

- Por último, nos processos químicos tem a transesterificação que consiste na reação de óleos vegetais com um produto intermediário (obtido pela reação do metanol ou etanol com uma base – hidróxido de sódio ou de potássio) e seu produto final é biodiesel ou glicerina. Atualmente o biodiesel é produzido no Brasil a partir da mamona, soja, amendoim, palma, entre outras origens vegetais (ANEEL, 2013).

3.2 Cana-de-açúcar: Aspectos gerais

O Sistema Agroindustrial da Cana-de-açúcar é um dos mais antigos, vem desde o período colonial, se tornando de grande importância no Brasil. A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil em 1532, e se transformou em umas das principais culturas da economia do país. O primeiro engenho brasileiro foi instalado em São Vicente, litoral de São Paulo (UDOP, 2008).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, conquistando cada vez mais o mercado externo com o uso do biocombustível como alternativa energética. Atualmente, se apresenta como segundo maior produtor mundial de etanol, sendo os EUA os maiores produtores (NOVA CANA, 2015). No entanto, os EUA produzem etanol através do milho,

uma matéria-prima menos eficiente, enquanto no Brasil a produção de etanol é através da cana-de-açúcar, estando entre as matérias-primas renováveis que possui maior produtividade por hectare. Além de possuir clima, solo e topografia favoráveis, dando-lhes vantagens competitivas a outros países.

A produção de cana-de-açúcar tem crescido a uma taxa média de 11% ao ano nos últimos cinco anos e a produção de álcool teve incremento de quase 20% na safra de 2008, motivada pela venda dos carros flex fuel, segundo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2008. O principal estímulo para produção de álcool foi iniciado pelo Programa Nacional do Álcool – PROÁLCOOL em 1975, criado pelo governo federal, onde substituiu parte do consumo de gasolina por etanol, consolidando sua importância como combustível.

O aumento na produção evidenciou um problema antigo e que hoje tem mobilizado esforços na tentativa de minimizar ou solucionar os impactos ambientais decorrentes do descarte da vinhaça, subproduto do processamento da cana-de-açúcar, na fabricação do etanol. Estudos estão sendo desenvolvidos na possibilidade de soluções tecnológicas para utilização e disposição da vinhaça (LAIME, 2011).

Existe uma política para produção da cana-de-açúcar, onde orienta a expansão sustentável da cultura baseada em critérios econômicos, ambientais e sociais. Como exemplo o Programa de Zoneamento Agroecológico da Cana-de-açúcar (ZAEcana) que regula o plantio da cana, levando em consideração o meio ambiente e a economia de cada região. Também há estimativa para redução gradual até 2017, da queimada da cana em áreas onde a colheita é mecanizada, proibindo o plantio na Amazônia, Pantanal, Bacia do alto Paraguai (BAP) e em áreas com cobertura de vegetação nativa. (MAPA, 2012).

De acordo como o MAPA (2012), o país deve alcançar taxa média de aumento da produção de 3,25%, até 2018/19, e colher aproximadamente mais de 47,34 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. O Brasil produziu 634,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra de 2014/15, pouco mais de 9 milhões de hectares. A produção sofreu queda de 3,7% em relação à safra anterior, que produziu cerca de 658,8 milhões de toneladas. Essa queda está relacionada com a restrição hídrica que reduziu a produtividade dos canaviais na região Centro-Sul (CONAB, 2015).

A safra 2014/2015, foi iniciada oficialmente em 1º de abril de 2014 e finalizada em março de 2015 (NOVA CANA, 2015), esse período compreende a moagem de cana, onde há produção de açúcar e álcool. Porém, esse período de moagem pode variar entre as regiões, no Centro-Sul, a colheita e moagem aconteceu entre os meses de abril a novembro. Já na região Norte-Nordeste, elas aconteceram entre novembro e abril. O período que não há colheita e moagem é chamada de “entressafra”, corresponde ao período de plantio e reforma do canavial.

A produção de açúcar em 2013/14, chegou a 37,88 milhões de toneladas, enquanto na safra 2014/15, a produção teve leve queda de 6,1%, chegando a 35,56 milhões de toneladas. Já a produção de álcool total consolidou em 27,96 bilhões de litros na safra de 2013/14 e em 28,66 bilhões de litros em 2014/15, um incremento de 703,2 milhões de litros, cerca de 2,5%. Deste total, foram 11,73 bilhões de etanol anidro e 16,93 bilhões de etanol hidratado, significando uma redução de 0,8% de etanol anidro e um aumento de 5% de hidratado (CONAB, 2015).

3.3 Vinhaça: Subproduto do processamento da cana-de-açúcar

A vinhaça é um subproduto da fabricação do álcool, resultante da destilação do mosto por via fermentativa (caldo de cana, melaço ou xarope diluído), gerada em grandes quantidades. Sua composição básica é de 93% de água e 7% de outras substâncias sólidas que correspondem a matéria orgânica e mineral, possui alto teor de potássio (K) e nitrogênio total (N), além de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) em menores concentrações. Em geral, se apresenta como resíduo de baixo pH (entre 3 - 5), coloração marrom, turbidez elevada, temperatura de saída do aparelho de destilaria em torno 85 – 90 °C, podendo conter material particulado e alta presença de matéria de compostos orgânicos e inorgânicos (PANT, 2007).

Pela grande quantidade de sólidos em suspensão, em torno de 7% já mencionados, dos quais 75% são orgânicos e biodegradáveis, a vinhaça apresenta elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Biológica de Oxigênio (DBO), daí seu potencial poluidor quando jogada em rios, causando a proliferação de microorganismos diminuindo o

Oxigênio Dissolvido (O.D), que é a quantidade de oxigênio que se encontra disponível nas águas e que provem do ar, fotossíntese e da vegetação aquática (LAIME, 2011).

Entre os resíduos provenientes da fabricação do álcool, a vinhaça é o mais importante, por ser um resíduo de alta carga orgânica, podendo atingir cerca de 150 g. L⁻¹ de demanda química de oxigênio (DQO), como pela grande quantidade gerada. Para cada litro de etanol produzido são gerados entre 10 - 18L de vinhaça. Entretanto, as características e a quantidade de vinhaça são variáveis em função da matéria-prima e processo produtivos.

Na indústria sucroalcooleira existem três tipos de vinhaça: a proveniente do mosto de caldo de cana, do mosto do melão e o resultante da mistura dos dois (KIEHL, 1985). A Tabela 1 apresenta as características qualitativa e quantitativa da vinhaça.

Levando em consideração a quantidade de etanol produzido na safra 2104/15, acredita-se que cerca de 290 – 522 bilhões de litros de vinhaça tenham sido produzidos na indústria sucroalcooleira.

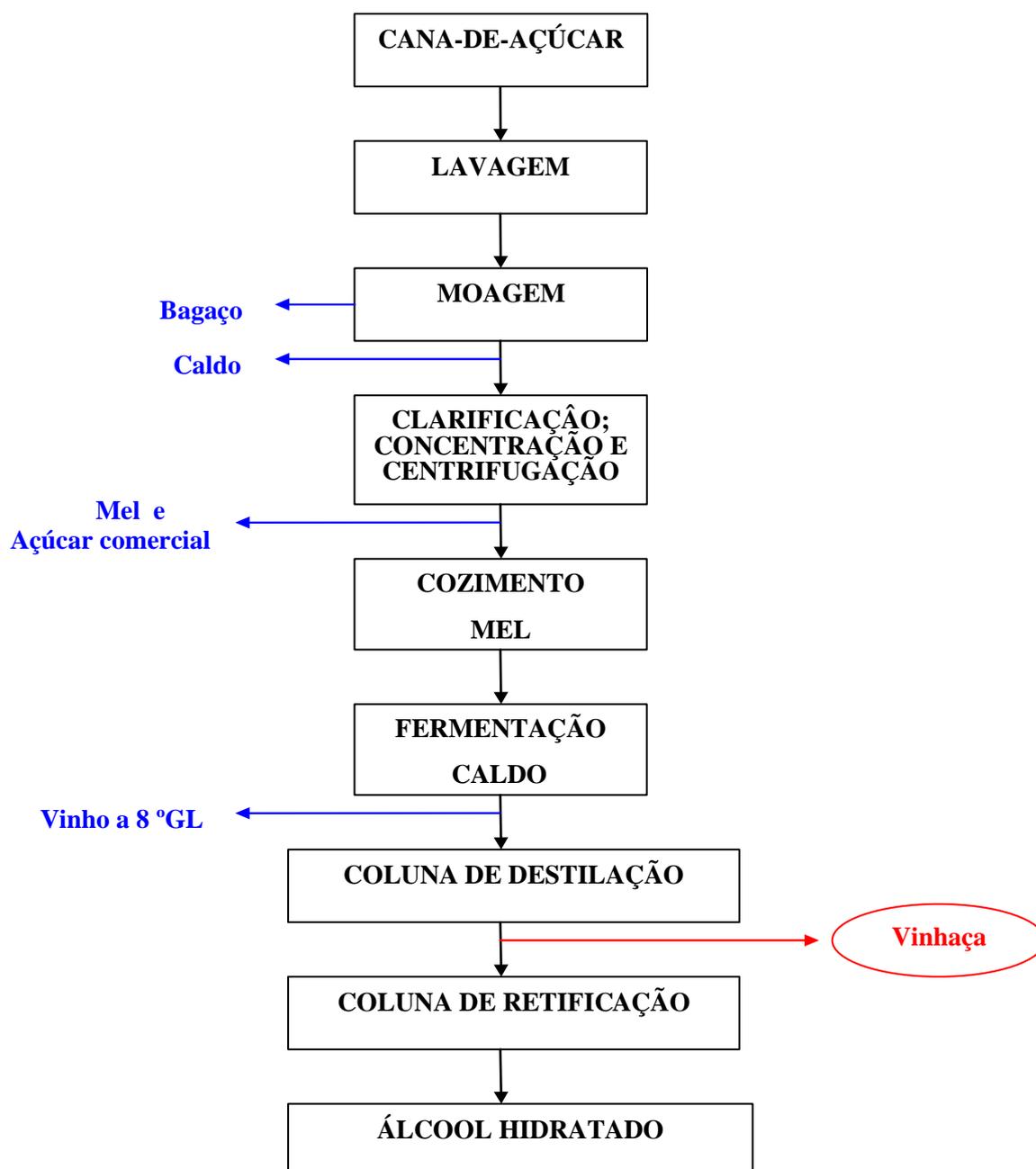
Tabela 1: Características quali-quantitativa da vinhaça procedente de mosto de melão, caldo e mosto.

Parâmetros	Melão	Caldo	Mosto
Temperatura (°C)	80 – 100	80 – 100	80 – 100
DBO (mg/L O ₂)	25.000	6.000 – 16.500	19.800
DQO (mg/L O ₂)	65.000	15.000 – 33.000	45.000
Sólidos totais (mg/L)	81.500	23.700	52.700
Sólidos voláteis (mg/L)	60.000	20.000	40.000
Sólidos fixos (mg/L)	21.500	3.700	12.700
Nitrogênio (mg/L N)	450 – 1.610	150 – 700	480 – 710
Fósforo (mg/L P)	100 – 290	10 – 210	9 - 200
Potássio (mg/L K)	3.740 – 7.830	1.200 – 2.100	3.340 – 4.600
Cálcio (mg/L Ca)	450 – 5.180	130 – 1.540	1.330 – 4.570
Magnésio (mg/L Mg)	420 – 1.520	200 – 490	580.700
Sulfato (mg/L SO ₄ ⁻²)	6.400	600 – 760	3.700 – 3.730
Carbono (mg/L C)	11.200 – 22.900	5.700 – 13.400	8.700 – 12.100
Relação C/N	16 – 16,27	19,7 – 21,07	16,4 – 16,43
Matéria orgânica	63.400	19.500	3.800
Subst. Redutoras	9.500	7.900	8.300

Fonte: Matos (2004).

A tecnologia de produção de açúcar e álcool é muito semelhante do ponto de vista de processos, em todas as usinas brasileiras. Há variações nos tipos e qualidade dos equipamentos, controles operacionais e nos níveis gerenciais. A Figura 3 apresenta um fluxograma simplificado da fabricação de álcool hidratado a partir do caldo.

Figura 3: Fluxograma do processo de fabricação de álcool hidratado a partir do caldo.



Fonte: Adaptado de SALOMON (2007).

3.3.1 Destinação e Legislação

O derramamento da vinhaça nos rios é uma prática que vem desde o surgimento da indústria açucareira, embora sempre soubesse da sua ação poluidora. A instalação de usinas, a partir da segunda metade do século XIX, alavancou o desenvolvimento sucroalcooleiro, atrelado a isso, surgiu a preocupação com o desequilíbrio das funções hidrobiológicas dos rios e riachos (LAIME, 2011). Todavia, esse desequilíbrio aumenta com o aumento da produção anual de álcool.

Muitos estudos sobre a disposição da vinhaça no solo e rios enfocam os efeitos nocivos à flora, microfauna e microflora das águas doces, além de atingir a fauna marinha que vem as costas marinhas para procriação (FREIRE; CORTEZ, 2000), (LAIME, 2011), (SILVA, 2007).

Desta forma a expansão do setor causa grande preocupação e volta a ser um ponto discutido. Contudo, recentemente a vinhaça passou a ser utilizada como fertilizante para adubação do solo e outras alternativas de aproveitamento racional foram propostas para minimizar os impactos ambientais, como: processos e tratamento químico com adição de calcário e sais de alumínio e ferro.

Sua utilização *in natura* para fertirrigação em quantidades adequadas, apresenta efeitos positivos sobre as produções agrícolas, associadas à economia dos adubos minerais. Segundo Senna (1998), a vinhaça por ter quantidade significativa de sais minerais e de matéria orgânica, assim poderia ser utilizada como fertilizante, ou como fonte de matéria prima para ração animal e até mesmo como material para construção civil.

Embora, o Brasil ainda não tenha uma política nacional específica para o uso desse resíduo, já existem algumas leis e decretos que devem ser obedecidos para utilização de resíduos agroindustriais, visando minimização dos problemas de contaminação ambiental. No início do século XX, a preocupação do poder público começa a surgir, quando foram elaboradas as primeiras leis que proibiam crimes ecológicos e autorizavam assim punições aos responsáveis pela poluição (ALMEIDA, 1952). São apresentadas na Tabela 2, algumas legislações e sua descrição no decorrer dos anos.

Tabela 2: Evolução da regulamentação da disposição da vinhaça.

Legislação	Descrição
Decreto 24.653 de 10 de julho de 1934.	Resguarda os corpos d'água contra disposição de poluentes.
Portaria MINTER nº. 323, de 29 de novembro de 1978.	Proíbe o lançamento direto ou indireto de vinhaça nos mananciais superficiais pelas destilarias de álcool instaladas ou que venham se instalar no país.
Resolução CONAMA nº. 0002, de 05 de junho de 1984.	Determina a realização de estudos e apresentação de projeto contendo normas para controle da poluição causada pelos efluentes das destilarias de álcool e pelas águas de lavagem da cana.
Resolução CONAMA nº. 0001, de 23 de janeiro de 1986.	Obriga a Avaliação de Impacto Ambiental (AIA) e o Relatório de Impacto Ambiental (RIMA) para novas indústrias instaladas ou qualquer ampliação efetuada nas já existentes.
Lei nº. 6.134, de 02 de junho de 1988, art. 5, do estado de São Paulo.	“Os resíduos líquidos, sólidos ou gasosos, provenientes de atividades agropecuárias, industriais, comerciais ou de qualquer outra natureza, só poderão ser conduzidos ou lançados de forma a não poluírem as águas subterrâneas”.
Lei nº. 7.960, de 21 de dezembro de 1989.	Dispõe sobre a prisão temporária para crime de envenenamento de água potável, dentre outros.
Resolução CONAMA nº. 357, de 17 de março de 2005.	Classifica os corpos d'água e as diretrizes ambientais para seu enquadramento. E também estabelece condições e padrões de lançamento de efluentes.
Resolução CONAMA nº. 430, de 13 de maio de 2011.	Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes, complementa e altera a resolução do CONAMA nº. 357.

Fonte: Adaptado em SILVA (2007).

Tendo em vista a preservação dos padrões de qualidade ambiental, novas legislações que estabelecem o procedimento de conduta das usinas em relação à disposição final da vinhaça devem ser homologadas após intensas pesquisas a respeito das características físico-químicas e sua interação com o meio ambiente. Atualmente, os órgãos públicos tentam impedir a saturação do solo agrícola, restringindo a aplicação de vinhaça, especialmente em áreas de recarga aquífero ou áreas próximas a cursos de água.

A biodigestão anaeróbia tem como objetivo reduzir o potencial poluidor da vinhaça e ao mesmo tempo produzir biogás e fertilizante como resíduo. A partir desta perspectiva estuda as possibilidades de utilização do biogás provenientes da biodigestão anaeróbia das vinhaças no Brasil visando à geração de eletricidade. A viabilidade técnica e econômica da digestão anaeróbia é de grande importância, levando em consideração o volume gerado pelas usinas.

3.4 Digestão Anaeróbia

O aumento do número de pesquisas relacionadas ao processo de digestão anaeróbia vem provocando mudanças na concepção dos sistemas de tratamento de águas residuárias e na produção de combustível. Resultando em sistemas simplificados e mais eficientes, aliados ao baixo custo.

A Digestão Anaeróbia é um processo fermentativo microbiano de flora mista onde a matéria orgânica, na ausência de oxigênio livre, é convertida a gases compostos, predominantemente de metano, dióxido de carbono (MASSEY; POHLAND, 1978). Ocorre naturalmente em diversos ecossistemas, como, por exemplo, nos pântanos, sedimentos de lagos e rios, aparelho digestivo dos animais superiores e em regiões profundas do subsolo, onde leva a formação de grandes quantidades de biogás.

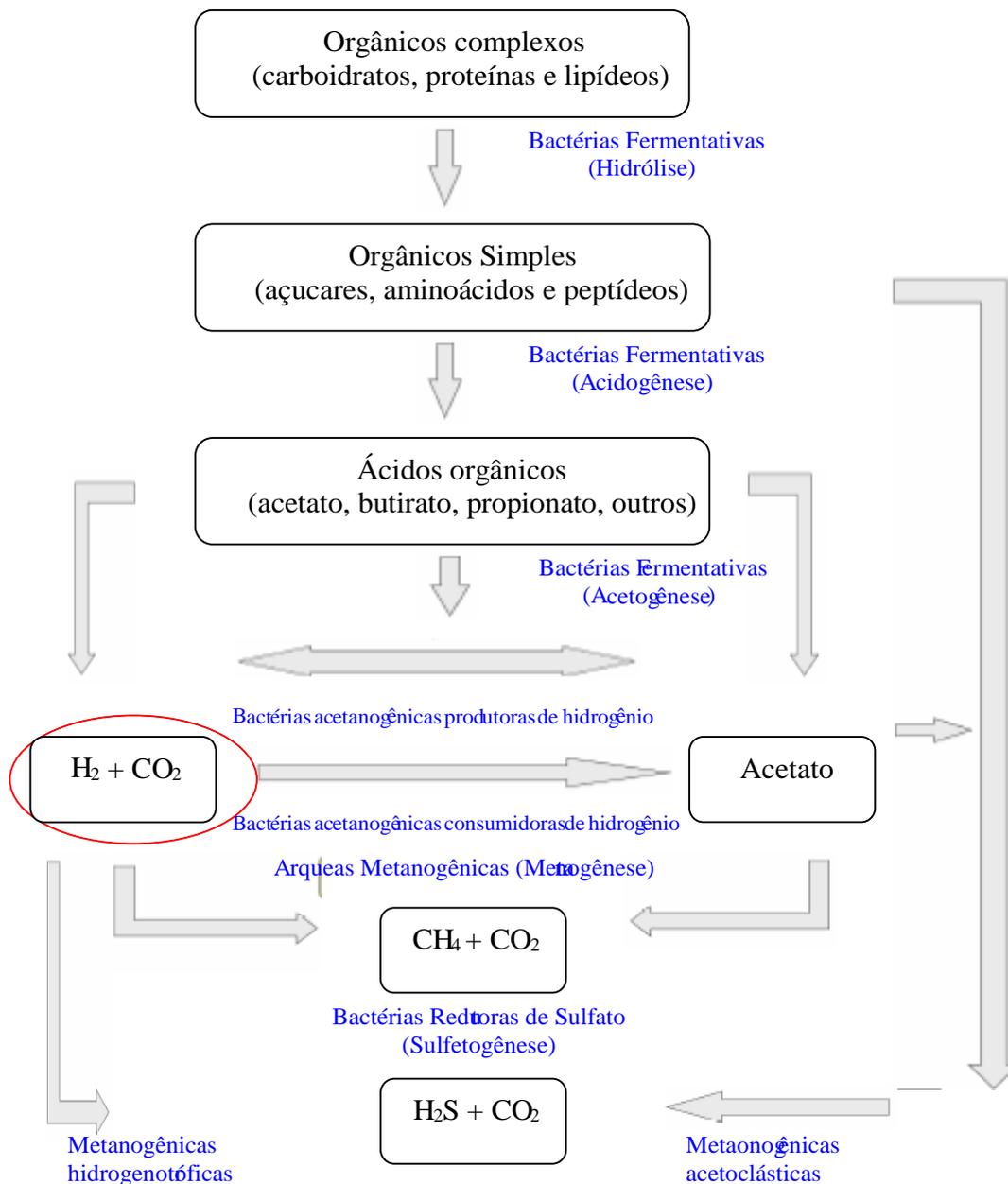
A digestão é utilizada no tratamento de efluentes para estabilização de grande parte da matéria orgânica. Originalmente, esse processo foi utilizado para diminuir a poluição causada pela disposição descontrolada dos efluentes no meio ambiente. Depois, com a crise do petróleo na década de 70, aumentou-se a procura como alternativa de fonte de energia

renovável. Atualmente, o grande interesse está em torno da necessidade de preservar o meio ambiente.

Segundo WEBER (2006) o processo de digestão anaeróbia apresenta várias vantagens em relação à digestão aeróbia, salientando a baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixa demanda de área, baixos custos de implantação e o uso do biogás produzido como combustível.

Os digestores anaeróbios têm sido bastante utilizados para tratamento de resíduos sólidos, além de efluentes de indústrias agrícolas, alimentícias e de bebidas. Segundo CHERNICHARRO (1997), a digestão anaeróbia pode ser considerada como um ecossistema onde diversos grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia, além de novas células bacterianas e podem-se distinguir quatro etapas diferentes no processo global da conversão como mostra a Figura 4.

Figura 4: Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado LETTINGA et al., 1996.

3.4.1 Hidrólise

Nesse processo, o material orgânico particulado é convertido em compostos dissolvidos de menor peso molecular, já que os microorganismos não são capazes de assimilar a matéria orgânica complexa. O processo requer a interferência das exo enzimas que são excretadas pelas bactérias fermentativas hidrolíticas. As proteínas são degradadas para formar aminoácidos. Os carboidratos se transformam em açúcares solúveis (mono e dissacarídeos) e os lipídeos são convertidos em ácidos graxos de cadeia longa de carbono e glicerina.

3.4.2 Acidogênese

Os compostos dissolvidos gerados na hidrólise são absorvidos pelas bactérias fermentativas e, após acidogênese, excretadas como substâncias orgânicas simples como os ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois, cetonas, dióxido de carbono e hidrogênio. Microrganismos fermentativos são os primeiros a atuar na etapa sequencial de degradação do substrato, e são os que mais se beneficiam energeticamente (CHERNICHARRO, 1997).

3.4.3 Acetogênese

É a conversão dos produtos da acidogênese em compostos que formam os substratos para produção de metano: acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Aproximadamente 70% da DQO digerida é convertida em ácido acético, enquanto o restante é concentrado no hidrogênio formado.

3.4.4 Metanogênese

A etapa final do processo global de conversão de compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono é efetuada pelos microrganismos metanogênicos, atualmente classificados dentro do domínio Archea. O metano é produzido pelas bactérias acetotróficas, a partir da redução de ácido acético, ou pelas bactérias hidrogenotróficas, a partir da redução de dióxido de carbono.



As bactérias que produzem metano a partir do hidrogênio crescem mais rapidamente que aquelas que usam ácido acético, de modo que as metanogênicas acetotróficas geralmente limitam a velocidade de transformação de material orgânico complexo.

3.4.5 Sulfetogênese

Ocorre na presença de enxofre por bactérias redutoras de sulfato (formação de sulfeto). A redução biológica de sulfato é considerada indesejável em digestores anaeróbios por duas razões: o sulfato oxida material orgânico que deixa de se transformar em metano e no processo forma-se gás sulfídrico, que é corrosivo e confere odor desagradável. A presença de sulfato promove competição entre as bactérias redutoras de sulfato e as acetogênicas e metanogênicas.

3.5 Rotas fermentativas

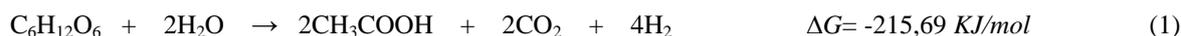
A acidogênese e a metanogênese podem ser consideradas como as etapas básicas do processo biológico anaeróbio, porém a produção de hidrogênio só é observada na

acidogênese, pois na metanogênese ocorre a conversão do hidrogênio formado em metano e dióxido de carbono (CHERNICHARRO, 1997).

A etapa fermentativa da digestão anaeróbia é crucial para a produção de hidrogênio. Isto porque é nesta etapa que os microrganismos acidogênicos decompõem os carboidratos, tais como glicose, sacarose em hidrogênio, gás carbônico e ácidos orgânicos voláteis.

A conversão da glicose em hidrogênio e ácido acético pode ser observada na Reação 1 e a conversão de glicose em hidrogênio e ácido butírico pode ser observada na Reação 2. O ácido acético e o ácido butírico são os principais metabólitos gerados no tratamento de efluentes, sendo considerados indicadores da produção de hidrogênio, já que a produção desses ácidos leva a formação de hidrogênio (REIS, 2010).

Produção de hidrogênio e ácido acético a partir da glicose



Produção de hidrogênio e ácido butírico a partir da glicose:



A razão entre a produção de ácido acético e ácido butírico é considerado um parâmetro na indicação da produção de hidrogênio. Como a formação do ácido acético produz mais hidrogênio do que a formação do ácido butírico, pode-se concluir que quanto maior for a razão entre as quantidades desses dois ácidos produzidos, maior será a quantidade de hidrogênio obtida (REIS, 2010).

A produção de outros metabólitos, tais como o etanol e o ácido propiônico, devem ser evitadas, pois são consideradas substâncias inibidoras da produção de hidrogênio. O ácido propiônico (Reação 3) reage com a glicose consumindo hidrogênio, já a formação do etanol (Reação 4) a partir da glicose não consome hidrogênio, porém consome o substrato que poderia ser utilizado na formação de hidrogênio (REIS, 2010).

Produção de ácido propiônico a partir da glicose:



Produção do etanol a partir da glicose:



3.6 O Hidrogênio como fonte de energia

O hidrogênio é o elemento químico mais abundante no universo, corresponde a 75% da matéria em massa e o terceiro mais abundante da superfície da terra. Em virtude de sua alta reatividade, este elemento é geralmente encontrado em combinação com outros elementos, sendo a água o principal composto (DAS; VERZIROGLU, 2001). Além da água, podemos encontrar o hidrogênio na composição de todos os componentes da matéria viva e de muitos minerais. Em estado livre, o hidrogênio só é encontrado em pequenas quantidades na atmosfera (ROJAS, 2010).

É um gás invisível, leve, atóxico e altamente inflamável, possui elevado calor de combustão (122 KJ g^{-1}) comparando com outros combustíveis, como metano ($50,1 \text{ KJ g}^{-1}$), etanol ($26,5 \text{ KJ g}^{-1}$), gasolina ($44,5 \text{ KJ g}^{-1}$) e butano ($49,6 \text{ KJ g}^{-1}$) (ARMAROLI; BALZANI, 2011). O hidrogênio pode ser utilizado diretamente em motores de combustão ou células combustíveis para produção de eletricidade. Além disso, sua combustão libera apenas vapor de água, assim considerado uma fonte renovável de energia ideal e limpa (GUO et al., 2010).

Este gás também pode ser utilizado como reagente em processo de hidrogenação, na indústria química e petroquímica. Entre seus principais usos, calcula-se que cerca de 50% seja destinado à produção de amônia, 37% para processamento de petróleo e 8 % na produção de metanol (REMAHANDRAN ; MENON, 1998).

Para a utilização do hidrogênio como fonte de energia, ele deve ser separado e extraído em sua forma molecular, hidrogênio gasoso, dos outros elementos com os quais ele se encontra combinado (ANDRADE, 2007). Os processos para a obtenção de hidrogênio

incluem a eletrólise da água, a reforma catalítica de compostos orgânicos ricos em hidrogênio e processos biológicos.

3.7 Produção de hidrogênio

A demanda energética vem crescendo significativamente e grande parte dessa demanda é suprida por combustíveis fósseis que possuem fonte esgotável e são responsáveis pelas emissões da maior parte dos gases poluidores (DAS; VERZIROGLU, 2001). Diante da preocupação ambiental que vem sendo disseminada cada vez mais em todo mundo, o desenvolvimento de tecnologias visando fontes alternativas de energia que sejam menos poluentes e renováveis se faz cada vez mais necessário.

O hidrogênio (H₂) tem como vantagem a geração de apenas vapor de água na sua combustão (Reação 5), não agredindo o meio ambiente nem contribuindo para o efeito estufa (DAS; VERZIROGLU, 2001), além de possuir maior eficiência (cerca de 50% em relação à gasolina) de sua combustão nos veículos (CHEONG; HANSEN, 2007), já que possui conteúdo energético aproximadamente 2,5 vezes maior do que qualquer combustível baseado em hidrocarbonetos (ARGUN, et al., 2008).



O hidrogênio pode ser produzido além de combustíveis fósseis, através da biomassa, da água e de processos biológicos. A produção de hidrogênio a partir de combustíveis fósseis pode ser feita pelo craqueamento térmico do gás natural, pela oxidação parcial de hidrocarbonetos pesados, pela gaseificação do carvão e pela reforma catalítica de gás natural. Apesar da obtenção do hidrogênio a partir do gás natural ser a forma mais eficiente e barata, o gás natural possui fonte esgotável e a metodologia de obtenção de hidrogênio contribui com as emissões de gases provocadores do efeito estufa (DAS; VERZIROGLU, 2001).

Já a produção de hidrogênio a partir da água pode ser obtida utilizando eletricidade (eletrolise da água ou do vapor), calor (fotólise da água) ou agentes químicos (decomposição termoquímica da água). Entretanto, esses métodos industriais consomem combustíveis fósseis como fonte de energia e, às vezes também hidroeletricidade para quebra de ligações da água. Dessa maneira, a produção de hidrogênio por via termoquímica e eletroquímica não é ambientalmente favorável (DAS; VERZIROGLU, 2001).

Por outro lado, a produção de hidrogênio a partir de processos biológicos vem sendo cada vez mais utilizada por ser a metodologia mais eficiente para obtenção de um combustível limpo e sem geração de gases poluentes que contribuam para o efeito estufa (BARROS, 2009).

Os processos de produção biológica de hidrogênio são mais vantajosos, já que na sua maioria operados à temperatura e pressão ambiente, assim, requerendo menos energia. Além da utilização de recursos energéticos renováveis, que são inesgotáveis e podem utilizar diversos resíduos, que facilita a reciclagem desses resíduos (DAS; VERZIROGLU, 2001).

A produção biológica de hidrogênio pode ser obtida por duas vias principais: através do processo de fermentação utilizando compostos orgânicos, conduzidos por microrganismos anaeróbios estritos, facultativos ou aeróbios, como *Clostridium*, *Escherichian* e *Bacillus*, respectivamente (VARDARSCHARA et al., 2008). Já o processo de fotossíntese (biofotólise direta e indireta ou fotodecomposição) ou por processos híbridos usando bactérias fotossintéticas e fermentativas, que são dependentes de energia luminosa.

A biofotólise da água consiste na conversão da energia solar em energia química armazenada. Neste caso, a água sofre decomposição através da ação da luz resultando na produção de hidrogênio (BARROS, 2009). Esse processo pode ser considerado econômico e sustentável uma vez que a água é um recurso renovável. A biofotólise direta as algas verdes são as responsáveis pela produção do hidrogênio, enquanto que na biofotólise indireta, o hidrogênio é produzido por cianobactérias unicelulares (MANISH; BANERJEE, 2008).

Segundo DAS; VERZIROGLU (2001), na fotodecomposição a produção de hidrogênio é feita na presença constante de iluminação, através de bactérias fotossintetizantes que tem capacidade de converter completamente a glicose presente nos resíduos a gás carbônico e hidrogênio, na presença de luz e ausência de oxigênio.

O gás hidrogênio também pode ser produzido através do processo fermentativo que utiliza bactérias anaeróbias, cultivadas na ausência de fonte de luz (no escuro), também conhecida como *dark fermentation*, a partir de substrato rico em carboidratos (AMORIM, 2009). Este processo apresenta grande vantagem comparada a fotofermentação, por ser um processo que não depende da luz. Além, da ampla variedade de compostos orgânicos que podem ser utilizados como substrato, pela alta velocidade de reação e pela facilidade da reprodução das bactérias fermentativas para suprir o meio de produção (NICODEMOS et al., 2008).

Apesar do gás hidrogênio no processo fermentativo ser obtido em conjunto com o gás carbônico, necessitando fazer a separação desses dois gases, e do rendimento de H₂ ser inferior quando comparados aos demais processos, o processo fermentativo é considerado vantajoso na produção de hidrogênio, além de ser mais estável e simples de ser controlado (AMORIM, 2009).

A Tabela 3 apresenta as vantagens e desvantagens dos processos biológicos de produção de hidrogênio. Neste estudo será utilizado o processo fermentativo natural de hidrogênio por ser considerado o mais atrativo pela sua tecnologia simples e de baixo custo quando comparada aos demais processos biológicos (MIZUNO et al., 2000).

Em virtude do alto potencial poluidor da vinhaça, para maior eficiência na remoção da matéria orgânica, a digestão anaeróbia no estágio de produção de hidrogênio não é suficiente, necessitando da fase metanogênica para concluir o tratamento. Porém, LAZARO (2012), obteve remoção de 79% de degradação do substrato orgânico nos ensaios em batelada a temperatura de 37 °C.

Tabela 3: Vantagens e desvantagens dos processos biológicos de produção de hidrogênio.

Classificação	Vantagens	Desvantagens
Cianobactérias	Substrato: Água; A nitrogenase produz principalmente H ₂ ; Possui habilidade de fixar N ₂ .	Necessita de iluminação natural; Inibição da nitrogenase por O ₂ ; A hidrogenase deve ser cancelada para não degradar o H ₂ formado; CO ₂ presente no produto.
Algas verdes	Substrato: Água.	Necessita de iluminação e Necessita de atmosferas pobres em O ₂ (inibição de O ₂).
Bactérias fotossintetizadoras	Substratos: diferentes resíduos e efluentes; Habilidade de usar amplo espectro de luz.	Necessita de iluminação constante; CO ₂ presente no produto; O resíduo de fermentação necessita de tratamento para não causar problemas de poluição.
Bactérias fermentativas	Substrato: ampla variedade de fontes de carbono, como amido, sacarose, xilose etc; Pode produzir H ₂ o dia todo (não necessita de iluminação); Produz metabólicos secundários de grande valor agregado; Processo anaeróbico, não há problemas de inibição por O ₂ .	O resíduo da fermentação necessita de tratamento para não criar problemas de poluição; CO ₂ presente no produto.

Fonte: DAS;VERZIROGLU (2001).

3.8 Parâmetros que influenciam a produção de hidrogênio

Na produção biológica de hidrogênio alguns parâmetros devem ser observados, são eles: pH, substrato, temperatura e método de tratamento do inóculo. Não existe um consenso de qual a melhor concentração do substrato, temperatura ideal para aumentar o rendimento de produção de hidrogênio.

3.8.1 pH

O pH tem grande importância na produção fermentativa de hidrogênio já que ele pode influenciar a ação da hidrogenase, bem como a rota metabólica (WANG; WAN, 2009). Estudos indicam que aumentando o pH em uma faixa adequada, há aumento da capacidade das bactérias em produzir hidrogênio, porém o pH em níveis mais elevados pode reduzir a produção (AMORIM, 2009). VAN GINKEL et al., (2001) observaram que baixos valores de pH limitam o crescimento de microrganismos metanogênicos que poderão vir a consumir o hidrogênio. Para eles, o controle do pH é um fator limitante na produção de hidrogênio em sistemas anaeróbios e o pH ótimo estaria entre 5,5 e 6,0 para produção biológica de hidrogênio.

OH et al., (2003) analisaram o efeito do pH e do tratamento térmico do inóculo na produção de hidrogênio e concluíram que baixos valores de pH são suficientes para inibir o crescimento de microrganismos metanogênicos. Os autores, quando não utilizaram tratamento térmico do inóculo, encontraram no pH de 6,2 o melhor desempenho na produção de hidrogênio (94,7 mL) e uma eficiência de conversão de glicose de 14,9%.

SANTOS (2014) observou que a manutenção do pH abaixo de 5,0 favoreceu a produção de hidrogênio em condições termófilas utilizando glicose e vinhaça como fonte de substrato, alcançando valores médios de produção volumétrica de H₂ de 0,39 L. h⁻¹.L⁻¹.

3.8.2 Substrato

Para que a produção do hidrogênio a partir do processo fermentativo seja considerada sustentável, é necessário que o substrato utilizado obedeça alguns critérios, são eles: o substrato deve ser rico em carboidratos, ser produzido a partir de recursos renováveis, está em concentração suficiente para que a fermentação e a recuperação da energia sejam energeticamente favoráveis e que, no caso de algum tratamento prévio ser necessário, este seja de baixo custo (LAMAISON, 2009).

A glicose, a sacarose e a lactose são os substratos preferidos para a produção fermentativa de hidrogênio, porém essas são fontes puras de carboidratos que podem tornar o processo inviável economicamente. Considerando esse ponto de vista, necessita-se desenvolver mais estudos utilizando resíduos que contenham o mesmo potencial (KAPDAN; KARGI, 2006), como os resíduos e efluentes ricos em carboidratos gerados por alguns processos industriais, tais como os efluentes da indústria de laticínios (BERGAMASCO; TAVARES, 1997), a manipueira (COLIN et al., 2007; FERRAZ et al., 2009; LAMAISON, 2009; CAMPPELLETTI, 2009), as águas residuárias da indústria de refrigerantes (WEBER, 2006; PEIXOTO, 2008), vinhaça (LAZARO, 2012; RIBAS, 2006), etc.

LAZARO (2012) utilizou diferentes concentrações de vinhaça (2, 5, 7 e 12 g DQO. L⁻¹) como substrato para produção de hidrogênio em condições mesófilas e termófilas e observou que a produção de hidrogênio foi maior para concentrações crescentes de vinhaça nas duas condições, ou seja, produção máxima de 28,4 mmol H₂ (12 g DQO L⁻¹) nos ensaios mesófilos e 6,7 mmol H₂ nos ensaios termófilos. Em relação ao rendimento da produção de hidrogênio, observou que não ocorreu variação com aumento da concentração de substrato para os ensaios mesófilos (10 mmol H₂ g⁻¹ carboidratos totais), todavia, para os ensaios termófilos o rendimento diminuiu com o aumento da concentração de substrato, de 21,7 mmol H₂ g⁻¹ (2 g DQO L⁻¹) para 3,2 mmol H₂ g⁻¹ carboidratos totais (12 g DQO L⁻¹).

3.8.3 Temperatura

De acordo com SANCHEZ et al., (2001), pesquisas têm registrado a aplicação do processo anaeróbio em diferentes faixas de temperatura. Segundo REIS (2010), estas faixas de temperaturas associadas com o crescimento microbiano podem ser classificadas como:

- Faixa psicrófila: entre 0 e aproximadamente 20 °C;
- Faixa mesófila: entre 20 e aproximadamente 45 °C e
- Faixa termófila: entre 45 e aproximadamente 70 °C.

A temperatura age na produção de hidrogênio por estar associada com a atividade microbiana e com a solubilidade do hidrogênio na fase aquosa (FERNANDES, 2008). A

maior parte dos estudos sobre a influência da temperatura na produção de hidrogênio indicam a faixa mesófila (de 30 a 40 °C) como a melhor faixa (REIS, 2010).

WANG e WAN (2009) relataram que o aumento da temperatura em uma faixa adequada resultaria no incremento da capacidade dos microrganismos produtores de hidrogênio, porém temperaturas a níveis muito elevados poderiam reduzir a atividade das produtoras de hidrogênio. Além disso, em altas temperaturas pode ocorrer à desnaturação das enzimas, cessando a produção de hidrogênio (REIS, 2010).

3.8.4 Tratamento do inóculo

O tratamento do inóculo se faz necessário para impedir o crescimento de microrganismo metanogênicos consumidores de hidrogênio. O tratamento ácido e térmico do inóculo são formas de impedir o crescimento de bactérias não formadoras de esporos, que são o caso das metanogênicas. Comparando-se o tratamento térmico com o ácido para a produção de hidrogênio, observou-se maior eficiência no primeiro em relação ao segundo (OH et al., 2003).

LOGAN et al., (2002), obtiveram uma produção de 60% de hidrogênio no biogás utilizando glicose como fonte de carbono quando utilizaram o tratamento térmico. Os autores aqueceram o inóculo a 104 °C por 2 horas e, assim, conseguiram remover as metanogênicas consumidoras de hidrogênio e permitiu a formação de esporos das bactérias produtoras de hidrogênio.

A Tabela 4 apresenta um comparativo de rendimento na produção de hidrogênio a partir de várias fontes de substrato, inóculo e diferentes temperaturas.

Tabela 4: Comparação do rendimento na produção de hidrogênio a partir de várias fontes de substrato, inóculo a diferentes condições operacionais.

Reator	Substrato	Inoculo	pH	Temperatura (°C)	Rendimento de H ₂	Referências
Batelada	Vinhaça de mandioca, 0,6 g DQO. g ⁻¹ SSV	Lodo anaeróbio	4 – 6	37	53 mL H ₂ . g ⁻¹ SVT	LUO et al., (2010)
RALF	Vinhaça de cana-de-açúcar	Lodo anaeróbio	5,6	55	4,62 mmol H ₂ . g DQO _{adicionada}	SANTOS (2014)
Batelada	Amido de mandioca, 16 g DQO. L ⁻¹	Lodo anaeróbio	5,5	37	31 mmol H ₂ . g ⁻¹ amido	
				55	1,4 mol H ₂ . Kg ⁻¹ DQO _{removida}	LEE et al., (2008)
Batelada	Vinhaça de cana-de-açúcar, 2, 5, 7 e 12 g DQO. L ⁻¹	Lodo anaeróbio	5,5	37	10 mmol H ₂ . g ⁻¹ carboidrato	
				55	10,9 mmol H ₂ . g ⁻¹ carboidrato	LAZARO (2012)
CSTR	Melaço, 3,1 – 68,2	Lodo anaeróbio	5 – 6,5	35	26,1 mol H ₂ . Kg ⁻¹ DQO _{removida}	REN et al., (2006)
CSTR	Sacarose, 2,2 – 33,6 Kg DQO. L ⁻¹	Lodo anaeróbio	6,5	37	1,7 mol H ₂ . g ⁻¹ hexose	MARIAKAKIS et al., (2011)
APBR	Glicose, 15,7 – 116,6	Lodo anaeróbio	5,5	30	2,5 mol H ₂ . g ⁻¹ glicose	AMORIM et al., (2009)
CIGSB	Sacarose, 4 – 35,2	Lodo anaeróbio	6,7	30 – 45	3,9 mol H ₂ . mol ⁻¹ sacarose	LEE et al., (2006)

Fonte: Autora (2015).

3.9 Considerações Finais

O processo de digestão anaeróbia não resolve o problema atual da vinhaça obtida pelo processo convencional, mas pode ser utilizada para reduzir o potencial poluidor e ao mesmo tempo produzir o biogás como fonte energética e fertilizante como resíduo. O objetivo da revisão bibliográfica foi buscar em estudos anteriores, a forma mais eficiente e ao mesmo tempo sustentável de produzir hidrogênio como uma fonte alternativa de energia.

O processo fermentativo é o mais atrativo dentre os processos biológicos pela sua tecnologia simples e de baixo custo, além da possibilidade de produção durante o dia inteiro, já que não necessita da presença de luz, da alta velocidade de reação e da facilidade de reprodução das bactérias fermentativas para suprir o meio de produção (NICODEMOS et al., 2008).

É importante que novos estudos experimentais sobre a biodigestão anaeróbia da vinhaça sejam realizados com o objetivo de fortalecer os benefícios existentes com a fertirrigação da vinhaça e seu uso como alternativa de produção de energia renovável.

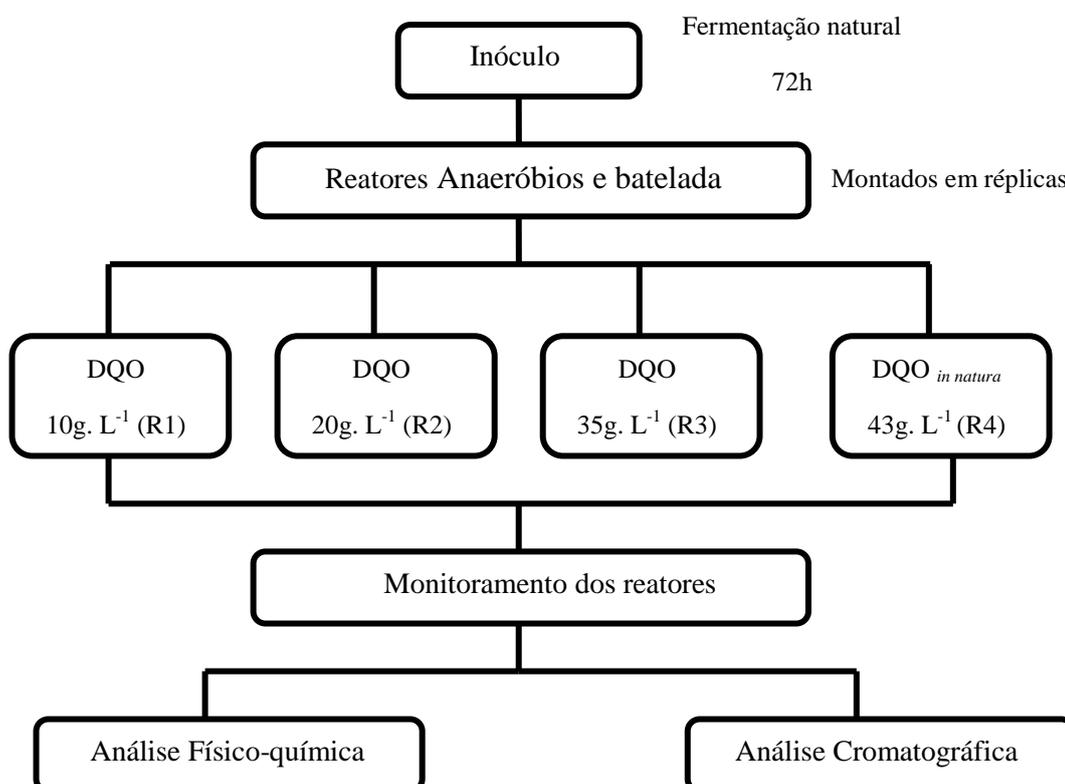
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Esquema Operacional

O experimento foi realizado no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA), no Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), durante um período de 69 dias, totalizando aproximadamente 1656 horas, iniciado no dia 26 de maio com término no dia 04 de agosto de 2014.

Os reatores anaeróbios em batelada foram montados separadamente com diferentes demanda química de oxigênio (DQO) e com inóculo proveniente da fermentação natural da vinhaça. A proporção da solução foi composta por 10% de inóculo e 90% de substrato, a Figura 5 apresenta o fluxograma experimental.

Figura 5: Fluxograma experimental.



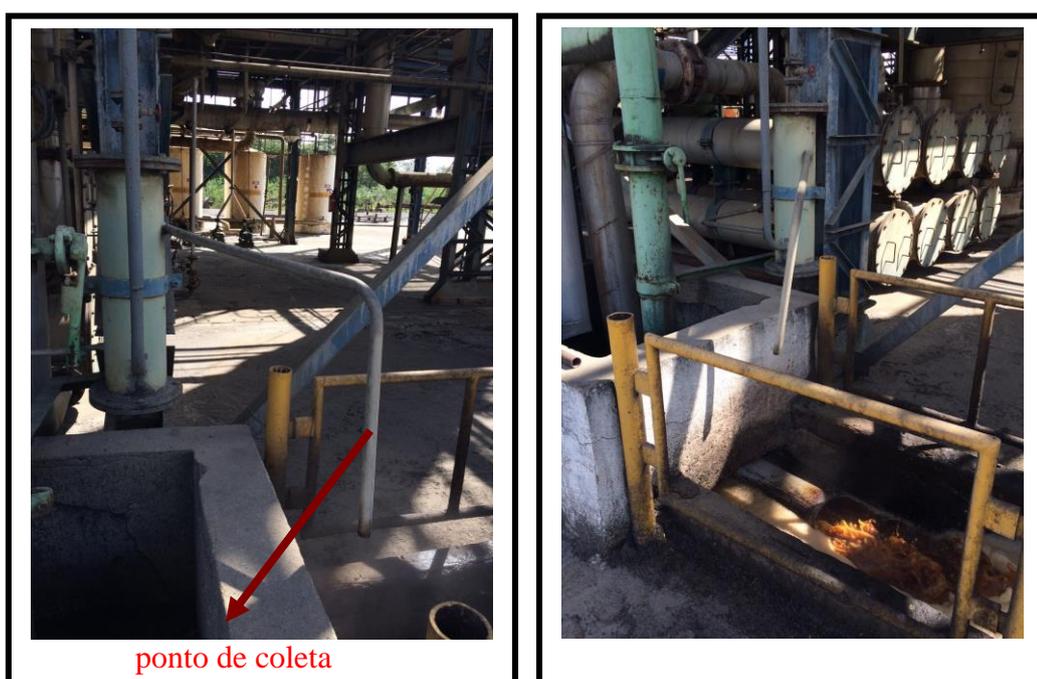
4.2 Vinhaça: Fonte de carbono

O substrato utilizado como fonte de carbono foi vinhaça resultante do processamento da cana-de-açúcar na produção de etanol, coletada em uma Indústria Sucroalcooleira (Usina de Açúcar e Álcool na cidade de Rio Largo/Alagoas – Brasil). A vinhaça foi coletada em galões de 20L e levada ao laboratório. Os galões foram armazenados em freezers e mantidos a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ até seu uso. Amostras foram homogeneizadas e transferidas para frascos de 1L para caracterização analítica.

Foi realizada no mês de dezembro de 2013, a primeira coleta vinhaça em 2 (dois) pontos diferentes dentro da usina para avaliar se existia diferença significativa em sua composição. No primeiro ponto, a vinhaça foi coleta na saída da coluna de destilação e o segundo ponto de coleta foi em uma lagoa de sedimentação, onde a mesma é destinada no final do processo de produção. Ressalta-se que a temperatura da vinhaça no primeiro ponto variava de $85 - 90\text{ }^{\circ}\text{C}$, enquanto na lagoa de sedimentação variava entre $50 - 60\text{ }^{\circ}\text{C}$. A Figura 6 apresenta os locais de coleta da vinhaça.

Figura 6: Locais de coleta da vinhaça: (A) Saída da coluna de destilação e (B) Lagoa de Sedimentação.

A



B



Fonte: Autora (2015).

4.3 Caracterização da vinhaça

A caracterização analítica da vinhaça foi realizada com amostras frescas por meio de análises físico-químicas.

Inicialmente foram realizadas análises prévias de caracterização da vinhaça em 2 (dois) pontos diferentes (1º lote), como citado no *item 4.2*, e após os resultados que são apresentados na Tabela 5, ficou definido que a montagem dos reatores seriam realizados com a amostra proveniente do primeiro ponto de coleta (saída da coluna de destilação). A escolha do primeiro ponto foi em virtude do mesmo apresentar maior quantidade de carboidrato, o que favorece o processo de digestão anaeróbia. A vinhaça proveniente da lagoa de sedimentação é misturada a várias águas de lavagem ao longo do processamento industrial, embora represente um efluente real que se destina ao meio ambiente, não foi utilizado nesta pesquisa, pois pode conter interferentes para o processo de produção de hidrogênio. Porém, uma alternativa seria utilizar esse efluente para a produção de metano ou em processo combinado onde se utilizasse a vinhaça da coluna de destilação na produção de hidrogênio e a vinhaça da lagoa de sedimentação para a produção de metano, assim o processo de digestão anaeróbia seria completo.

Tabela 5: Caracterização de amostra de vinhaça no 1º lote.

Parâmetros	1º Ponto de coleta	2º Ponto de coleta
pH	4,5	4,5
Temperatura (°C)	80	60
Ácidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	5,982	1,795
Alcalinidade (g. L ⁻¹)	ND	ND
DQO (g. L ⁻¹)	46,247	42,489
Fósforo (g. L ⁻¹)	0,183	0,156
Carboidratos (g. L ⁻¹)	11,245	6,146
Nitrogênio (NTK) (g. L ⁻¹)	0,136	0,111
Sólidos Totais (g. L ⁻¹)	42,678	25,876
Sólidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	27,216	17,956
Sólidos Fixos (g. L ⁻¹)	15,462	7,920
Sulfato (g. L ⁻¹)	2,995	1,926

*ND: Não detectado

Fonte: Autora (2015).

Definido o ponto (1º ponto), a segunda coleta foi realizada no mês de março de 2014 (2º lote), onde este corresponde ao efluente utilizado na montagem dos reatores. A caracterização analítica foi apresentada na Tabela 6.

Tabela 6: Caracterização de amostra de vinhaça no 2º lote (vinhaça usada na montagem dos reatores).

Parâmetros	2º lote (1º ponto)
pH	4,36
Temperatura (°C)	85
Ácidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	4,245
Alcalinidade (g. L ⁻¹)	ND
DQO (g. L ⁻¹)	43,341
Fósforo (g. L ⁻¹)	0,078
Carboidratos (g. L ⁻¹)	14,504
Nitrogênio (NTK) (g. L ⁻¹)	0,235
Sólidos Totais (g. L ⁻¹)	34,090
Sólidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	26,350
Sólidos Fixos (g. L ⁻¹)	7,740
Sulfato (g. L ⁻¹)	2,405

*ND: Não detectado

Fonte: Autora (2015)

4.4 Inóculo

O inóculo foi obtido pelo processo de fermentação natural (auto-fermentação) da vinhaça, adaptado de acordo com PENTEADO (2012). A vinhaça foi colocada em recipiente aberto, tipo balde plástico de 5L por um período de 72h em local ventilado. Após o período de repouso, o inóculo fermentado foi utilizado nos ensaios dos reatores anaeróbios em batelada.

4.5 Reatores Anaeróbios em Batelada: Ensaio de produção de hidrogênio.

Os ensaios foram realizados em tubos de vidro, tipo Duran com volume total de 2L, volume reacional correspondente a 1L e 1L de "headspace". O Volume reacional correspondeu a uma solução composta de 10% de inóculo e 90% de substrato na DQO desejada. Os frascos foram mantidos em caixa térmica na ausência de luz e sob temperatura controlada de $22,4 \pm 0,7$ °C, durante todo período experimental.

Figura 7: Reatores anaeróbios em batelada utilizados nos ensaios de produção de hidrogênio.



Para garantir a anaerobiose foi substituído todo ar atmosférico dos frascos através do borbulhamento de nitrogênio (N_2) no meio líquido e no headspace, por 10 min. em cada reator. Todos os ensaios foram realizados em réplicas, inclusive o ensaio do branco, que tem a finalidade de mostrar a presença de interferentes que possivelmente possa existir no ensaio.

Assim, foram montados um total de 10 reatores, sendo 2 deles contendo apenas o inóculo e água destilada, o que corresponde ao branco e os demais contendo inóculo, substrato (vinhaça) e água destilada, correspondendo a 4 DQO distintas (aproximadamente 10, 20, 35 e 43g DQO. L⁻¹). Essas concentrações foram escolhidas de acordo com os resultados apresentados na caracterização da amostra inicial em escala crescente de DQO. L⁻¹ até a DQO da vinhaça *in natura*. Após a preparação do volume reacional, o pH foi ajustado para valores próximos de 5,5 com adição de HCl ou NaOH 1M, sendo este um valor adequado para produção de hidrogênio (LIN e LAY, 2004). Este ajuste de pH visa selecionar bactérias produtores de hidrogênio por meio do controle de pH.

Para facilitar a identificação de cada ensaio, a Tabela 7, mostra como foi montado cada reator e as siglas adotadas para sua apresentação. Quando se observou, por meio da cromatografia gasosa a estabilização da produção de hidrogênio encerrou-se o ensaio.

Tabela 7: Sigla adotada para cada ensaio realizado.

Sigla adotada		DQO _{teórica} (g. L ⁻¹)	DQO _{medida} (g. L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)
Média ¹	Réplica ²				
Bc	Bc 1	5	5,535	5,52	23,5
	Bc 2	5	5,343	5,50	22,8
R1	R 1.1	10	10,610	5,48	22,9
	R 1.2	10	10,533	5,48	23,0
R2	R 2.1	20	20,426	5,48	23,4
	R 2.2	20	23,571	5,49	23,3
R3	R 3.1	35	33,336	5,54	22,9
	R 3.2	35	33,330	5,40	21,9
R4	R 4.1	43	43,767	5,49	22,9
	R 4.2	43	-	5,49	21,2

Fonte: Autora (2014)

¹ Quando se referir a média das réplicas.

² Quando se referir o cada reator individualmente.

4.6 Métodos Analíticos

Para fins de monitoramento, as análises das variáveis operacionais, o método utilizado para cada parâmetro e a frequência é apresentado na Tabela 8.

Tabela 8: Variáveis analisadas, frequência e metodologia de análise.

Variáveis	Parâmetros	Frequência	Metodologia
Físico-química	Carboidratos (g.L ⁻¹)	2 vezes por semana	Dubois et al (1956)
	DQO (g.L ⁻¹)	2 vezes por semana	Standard Methods (1998)
	pH	Inicial e final	Standard Methods (1998)
	Temperatura (°C)	3 vezes por semana	Standard Methods (1998)
	Ácidos Voláteis Totais (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Alcalinidade (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Fósforo (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Nitrogênio (NTK) (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Sólidos Totais (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Sólidos Voláteis Totais (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Sólidos Fixos (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Sulfato (g.L ⁻¹)	Caracterização	Standard Methods (1998)
Cromatográfica Gasosa	Composição do Biogás	3 vezes por semana	
	Ácidos Orgânicos Voláteis	Inicial e final	MAINTINGUER (2008).
	Álcoois	Inicial e final	

Fonte: Autora (2015)

4.6.1 Análises Físico-químicas

As análises de ácidos voláteis, alcalinidade, fósforo, nitrogênio, sulfato e sólidos foram realizadas apenas na caracterização, pois é necessário um volume maior da amostra e para não alterar o volume reacional do reator não foram possíveis coletas periódicas com volume superior a 3 mL.

4.6.1.1 Carboidratos

Foi utilizada a metodologia de Dubois et al. (1956) para a determinação de carboidratos. Esse método é baseado no fato de que açúcares simples e complexos e seus derivados, incluindo metil ésteres com grupos redutores livres ou potencialmente livres, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado dão coloração amarelo-alaranjado, com uma reação sensível e coloração estável (DUBOIS et al. 1956). Essa metodologia fornece a concentração de carboidratos em mg. L⁻¹ de glicose.

4.6.2 Análises Cromatográficas

As determinações dos ácidos orgânicos e álcool foram realizados por cromatografia gasosa de acordo com a metodologia proposta por MAINTINGUER (2008).

4.6.2.1 Determinação de Hidrogênio

A determinação do gás hidrogênio foi efetuada com injeção manual por meio da retirada de 100 µL de amostra da fase gasosa (headspace), utilizando seringa “gastight” com trava. Foi utilizado cromatógrafo a gás, Shimadzu GC-2010-Plus, equipado com detector de condutividade térmica. A coluna utilizada será a Supelco Carboxen 1010 Plot (30 m de

comprimento e diâmetro interno de 0,53 mm) e detector de condutividade térmica. As condições cromatográficas foram:

- Gás de arraste: Argônio sob fluxo de 21,9 cm. s⁻¹;
- Temperaturas do forno: 30 °C;
- Temperatura da coluna: 200 °C e
- Temperatura do detector: 230 °C.

4.6.2.2 Determinação dos ácidos orgânicos e álcool

A determinação de ácidos orgânicos foi realizada pela extração com éter com injeção manual por meio da retirada de 1 µL de amostra da fase estérea e a determinação dos álcoois pela extração por headspace com injeção manual por meio da retirada de 400 µL de amostra da fase gasosa, ambas utilizando seringa “gastight” com trava. Foi utilizado cromatógrafo a gás, Shimadzu GC-2010-Plus, equipado com detector de ionização de chama. A coluna utilizada foi a HP – INNOWAX (30m de comprimento, diâmetro interno de 0,25mm e 0,25 de espessura de filme). As condições cromatográficas foram:

- Temperatura de injetor: 250 °C, razão do split=1.
- Temperatura do forno: 35 °C (0') 10 °C/min. 75 °C (0') 35 °C/min. 120 °C (1') 10 °C/min. 170 (2'). Gás de arraste: hidrogênio
- Temperatura do detector: 280 °C, gás auxiliar (N₂): 30 mL. min⁻¹; ar sintético: 300 mL. min.⁻¹ e hidrogênio: 30 mL. min.⁻¹.

4.7 Ajuste dos dados experimentais

Para resumir dados quantitativos aproximadamente simétricos, calculou-se a média aritmética das réplicas dos reatores como uma medida de locação. E para mostrar o quanto de

variação ou dispersão existe em relação a média foi utilizado desvio padrão (σ) e o coeficiente de variação (CV) como critério para composição dessas médias. Geralmente, os pesquisadores utilizam o coeficiente de variação, definido como desvio padrão em porcentagem da média, como dado estatístico na avaliação da precisão dos experimentos. De acordo com PIMENTEL GOMES (2000) nos experimentos realizados em campo, se o $CV \leq 10\%$ é considerado como baixo, ou seja experimento de alta precisão, já de 10 a 20%, médio e de boa precisão; 20 a 30% considerado alto e baixa precisão e acima de 30%, muito alto.

Após a composição da média, os valores de produção de hidrogênio (H_2) foram ajustados a dois modelos de regressão não-linear, que neste estudo serão representados pelas funções sigmoidais de Gompertz e Logística, sendo estes os mais usuais para produção de hidrogênio. Assim, a máxima produção de hidrogênio foi estimada através do ponto de inflexão – ponto no qual ocorre a taxa máxima de variação da função – dos modelos de regressão não-linear ajustados aos dados observados. O software Origin 8.0 foi utilizado para ajustar os dados ao modelo.

De acordo com PASSOS (2010), a soma dos quadrados dos resíduos pode ser utilizada como critério na escolha do melhor ajuste. Portanto, como pode ser observado na Tabela 9, a sigmóide que melhor se ajustou aos dados foi a de Gompertz, que segundo LAZARO (2012), é o modelo ideal para descrever a produção de biogás em ensaio em batelada.

Tabela 9: Comparativo dos modelos de regressão não-linear.

Reatores	Gompertz		Logística	
	R^2	Soma dos Quadrados dos Resíduos	R^2	Soma dos Quadrados dos Resíduos
R1	0,98968	0,0000075	0,97350	0,0000193
R2	0,98289	0,0000234	0,96396	0,0000494
R3	0,98827	0,0000173	0,97283	0,0000401
R4	0,97313	0,0000448	0,95210	0,0000799

Fonte: Autora (2015).

O Modelo de Gompertz expressa por (Equação 1):

$$y = a \cdot \exp(-\exp(-k \cdot (x - x_c))) \quad (1)$$

Sendo,

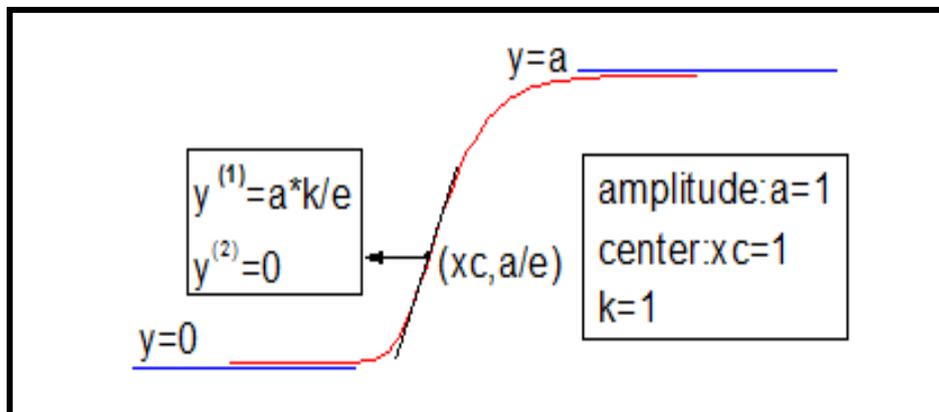
a= Potencial de produção de hidrogênio (mmol);

x= Variável independente e

e= 2.718281828

A função sigmóide é crescente em todo intervalo de variação de tempo, não possui pontos extremos – máximos e mínimos, mas possui o ponto de inflexão, representado pela Figura 8.

Figura 8: Representação do ponto de inflexão da função sigmoidal de Gompertz.



Fonte: Origin 8.0

4.8 Balanço de carbono

Para calcular o balanço de carbono foram utilizados valores de DQO_{inicial} e DQO_{final} medidos e os valores de DQO_{inicial} e DQO_{final} teóricos, calculados para os ácidos voláteis (ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico), etanol e carboidratos totais. A DQO da biomassa não foi contabilizada para os cálculos, uma vez que, não foram realizadas análises de sólidos totais voláteis.

A $DQO_{\text{teórica}}$ foi calculada para os compostos identificados no início e no final de cada ensaio segundo a Equação 2.

$$DQO_{\text{teórica}} = DQO_{\text{HAC}} + DQO_{\text{HBu}} + DQO_{\text{HPr}} + DQO_{\text{EtOH}} + DQO_{\text{carboidratos}} \quad (2)$$

Para cálculo da $DQO_{\text{teórica}}$ foram utilizados as Reações a seguir:

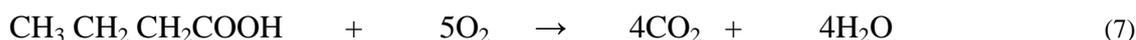
- Ácido Acético (HAc)



$$DQO_{\text{teóricaHAc}} = 64 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 60 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de HAc}$$

$$DQO_{\text{teóricaHAc}} = 1,067$$

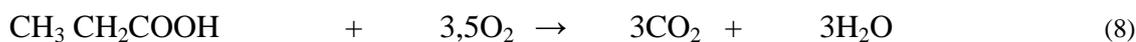
- Ácido Butírico (HBu)



$$DQO_{\text{teóricaHBu}} = 160 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 88 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de HBu}$$

$$DQO_{\text{teóricaHBu}} = 1,818$$

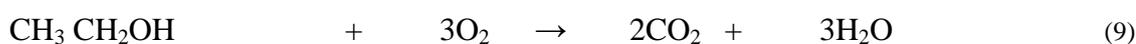
- Ácido Propiônico (HPr)



$$\text{DQO}_{\text{teóricaHPr}} = 112 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 74 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de HPr}$$

$$\text{DQO}_{\text{teóricaHPr}} = 1,514$$

- Etanol (EtOH)



$$\text{DQO}_{\text{teóricaEtOH}} = 96 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 46 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de EtOH}$$

$$\text{DQO}_{\text{teóricaEtOH}} = 2,087$$

- Glicose



$$\text{DQO}_{\text{teórica glicose}} = 192 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 180 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de glicose}$$

$$\text{DQO}_{\text{teórica glicose}} = 1,067$$

- Sacarose



$$\text{DQO}_{\text{teórica sacarose}} = 384 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de O}_2 / 342 \text{ g.mol}^{-1} \text{ de glicose}$$

$$\text{DQO}_{\text{teórica sacarose}} = 1,12$$

A $\text{DQO}_{\text{outros}}$ (referente aos compostos não quantificados) foi calculada segundo a Equação 3.

$$\text{DQO}_{\text{outros}} = (\text{DQO}_{\text{medida}} - \text{DQO}_{\text{teórica}}) \quad (3)$$

4.9 Cálculos dos principais parâmetros

- Rendimento de Hidrogênio (*HY*)

$$HY = \frac{\text{Quantidade (mmol) de } H_2 \text{ produzido}}{\text{Quantidade (mmol) carboidratos totais consumidos}}$$

- Composição do Biogás (%)

$$\% H_2 = \frac{\text{Volume (L) } H_2 \text{ produzido}}{\text{Volume (L) biogás produzido}} \times 100$$

$$\% CO_2 = \frac{\text{Volume (L) } CO_2 \text{ produzido}}{\text{Volume (L) biogás produzido}} \times 100$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização da vinhaça da Cana-de-açúcar

A quantidade de matéria orgânica expressa em DQO da vinhaça da cana-de-açúcar foi de 43,341 g. L⁻¹, pouco superior à reportada na literatura. Lazaro (2012) trabalhou com vinhaça de DQO em torno de 20 e 32 g. L⁻¹. Em relação à quantidade de carboidratos, a vinhaça apresentou cerca de 14,505 g. L⁻¹ de carboidratos totais, o que demonstra que este substrato tem grande potencial para a produção de hidrogênio, visto que é rico em carboidratos.

A composição físico-química da vinhaça utilizada nos ensaios está apresentada na Tabela 10.

Tabela 10: Caracterização da vinhaça usada na montagem dos reatores.

Parâmetros	2 ° lote
pH	4,36
Temperatura	85 °C
Ácidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	4,245
Alcalinidade (g. L ⁻¹)	ND
DQO (g. L ⁻¹)	43,341
Fósforo (g. L ⁻¹)	0,078
Carboidratos (g. L ⁻¹)	14,504
Nitrogênio (NTK) (g. L ⁻¹)	0,235
Sólidos Totais (g. L ⁻¹)	34,090
Sólidos Voláteis Totais (g. L ⁻¹)	26,350
Sólidos Fixos (g. L ⁻¹)	7,740
Sulfato (g. L ⁻¹)	0,240

*ND: Não detectado

Fonte: Autora (2015)

A presença de ácidos voláteis ($4,245 \text{ g. L}^{-1}$) pode indicar a possível produção de ácidos orgânicos (ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico, dentre outros) que são metabólitos formados a partir da fermentação dos carboidratos (sacarose e glicose).

Em relação ao nitrogênio, sulfato e fósforo foram obtidos valores de 0,235; 0,240 e $0,078 \text{ g. L}^{-1}$, respectivamente. Os valores reportados por LAZARO (2012) foram 0,188; 0,391 e $0,133 \text{ g. L}^{-1}$, respectivamente. O valor de pH foi de 4,36, no qual esta dentro da faixa de valores reportados por diversos autores: SALOMON e LORA (2009), 3,7 – 4,6; LAZARO (2012), 3,8 – 4,6.

Destaca-se que a variação na composição quantitativa da vinhaça justifica-se pelo período de colheita, da variedade da cana-de-açúcar, da característica do solo, além do processo produtivo de acordo com SALOMON e LORA (2009).

5.2 Produção de Hidrogênio

A produção de hidrogênio foi acompanhada por 69 dias até atingir a estabilidade em reator anaeróbio em batelada com 4 diferentes concentrações de vinhaça da cana-de-açúcar. Os dados relativos a consumo do substrato, composição dos metabólitos solúveis produzidos (SMP) e produção de biogás serão apresentados a seguir.

Não houve controle do pH ao longo do experimento. O pH inicial de cada reator foi ajustado com adição de NaOH $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$ para valores próximos a 5,5, sendo este um valor adequado para produção de hidrogênio (LIN e LAY, 2004). A Tabela 11 apresenta os valores de pH inicial e final.

Tabela 11: pH inicial e final dos reatores.

Reatores	pH inicial	pH final
R1	5,48	4,58
R2	5,49	4,50
R3	5,47	4,57
R4	5,49	4,44

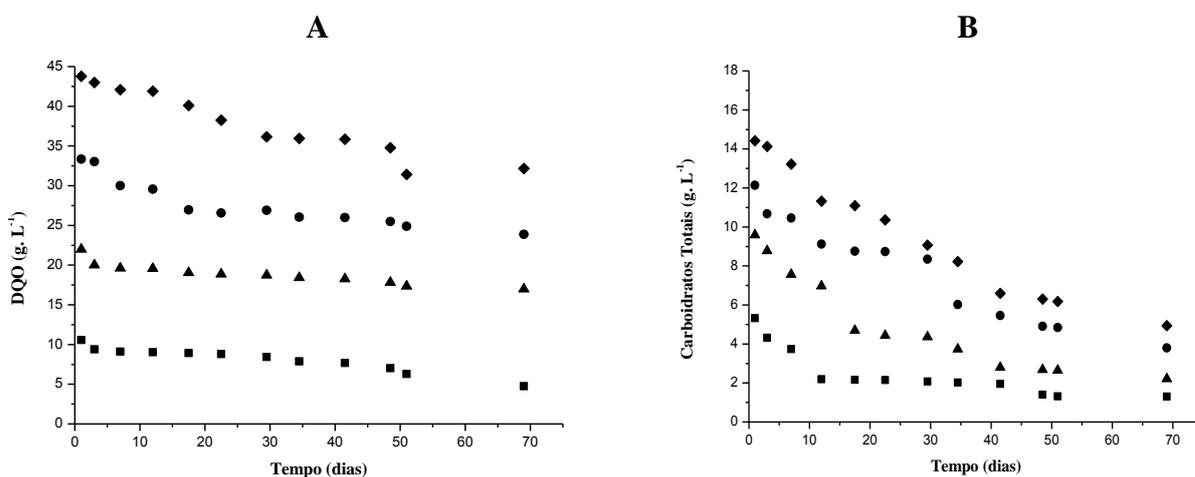
Fonte: Autora (2015)

Foi observada uma diminuição no pH final de cada reator, como mostra a Tabela 11, o que indica a geração de ácidos orgânicos, como já era esperado. Os dados indicam que a variação do pH está dentro de uma faixa compatível com a produção de hidrogênio de acordo com a literatura (LAZARO, 2012; SANTOS, 2014).

5.2.1 DQO e carboidrato do substrato (vinhaça)

Neste estudo foi utilizado substrato que apresentou DQO de $43,767 \text{ g. L}^{-1}$ (*in natura*) e carboidratos totais de $14,504 \text{ g. L}^{-1}$. A partir deste, foram adotadas 4 DQO distintas (aproximadamente 10 g. L^{-1} , 20 g. L^{-1} , 35 g. L^{-1} e 43 g. L^{-1}), com intervalo de cerca de 10 g. L^{-1} entre cada um deles até a concentração da DQO *in natura* e os reatores foram monitorados durante todo o experimento, conforme apresentados na Figura 9.

Figura 9: (A) Variação temporal da DQO e (B) Variação temporal de Carboidratos. (■) R1, (▲) R2, (●) R3 e (◆) R4



Por meio da determinação da $DQO_{inicial}$ e DQO_{final} verificou-se a eficiência de remoção da matéria orgânica em cada reator. A eficiência de remoção da DQO variou aproximadamente entre 22% a 55% (Tabela 12). LAZARO (2012), obteve em seu estudo utilizando a vinhaça como substrato uma remoção entre 6 e 11% para ensaios a 37 °C e entre 0 e 11% para os ensaios a 55 °C. Importante ressaltar que a remoção de DQO não é completamente reduzida no processo de produção de H_2 , sendo necessárias etapas posteriores da digestão anaeróbia para diminuição da matéria orgânica. Segundo SÁ (2013) estima-se que a redução de DQO neste estágio seja inferior a 20%. A Tabela 12 apresenta as concentrações iniciais e finais de DQO e carboidratos, além da eficiência de remoção de DQO e eficiência de consumo de carboidratos totais.

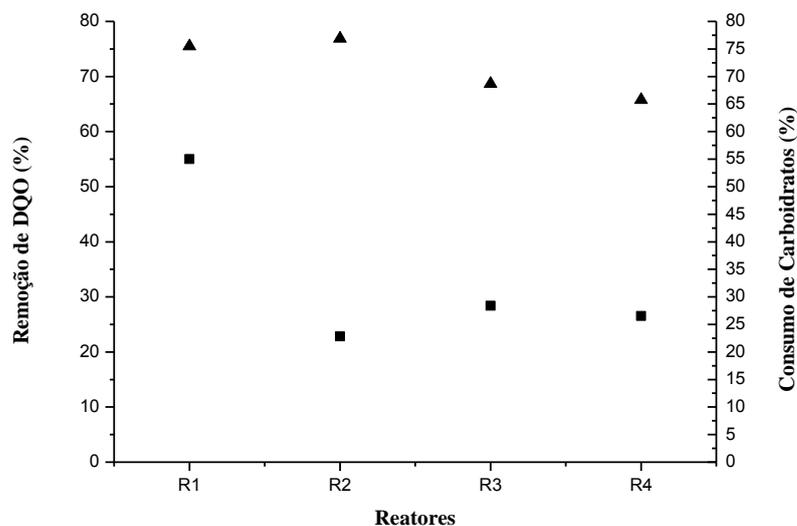
Tabela 12: Concentrações iniciais e finais de DQO e carboidratos totais, eficiência de remoção de DQO e eficiência de consumo de carboidratos totais.

Reatores	DQO			Carboidratos totais		
	Inicial (g.L ⁻¹)	Final (g.L ⁻¹)	Eficiência de remoção (%)	Inicial (g.L ⁻¹)	Final (g.L ⁻¹)	Eficiência de consumo (%)
R1	10,571	4,755	55,02	5,316	1,302	75,15
R2	21,999	16,980	22,81	9,593	2,215	76,91
R3	33,337	23,888	28,37	12,143	3,803	68,68
R4	43,767	32,161	26,52	14,421	4,936	65,77

Fonte: Autora (2015).

Foi observado que o consumo dos carboidratos (Tabela 12) também reduziu com o aumento da concentração do substrato (75% a 65%), possivelmente os microorganismos presentes não conseguiram degradar todo o carboidrato, o que podemos prever que esse substrato ainda teria capacidade de produção de hidrogênio se o mesmo fosse transferido para outro reator. LAZARO (2012), obteve consumo de carboidratos de 79 a 87%.

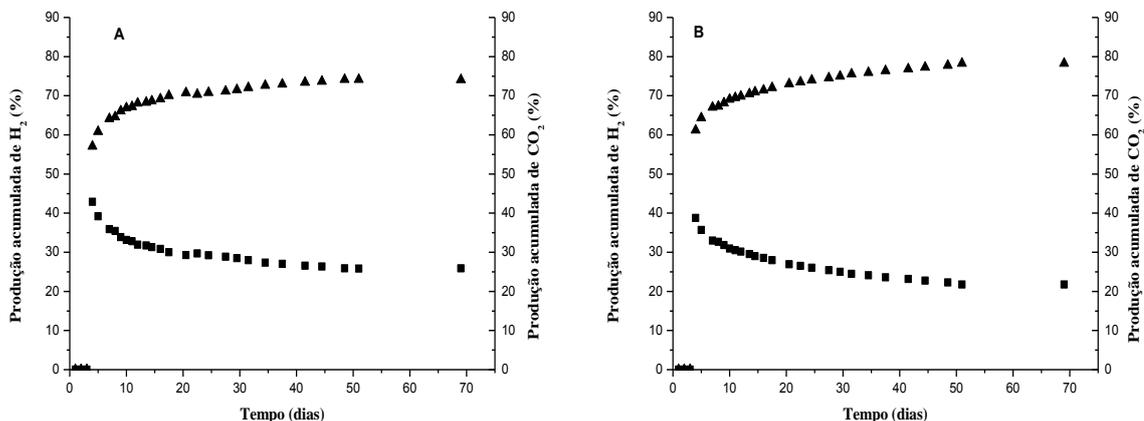
Figura 10: (■) Remoção de DQO e (▲) Consumo de carboidratos.

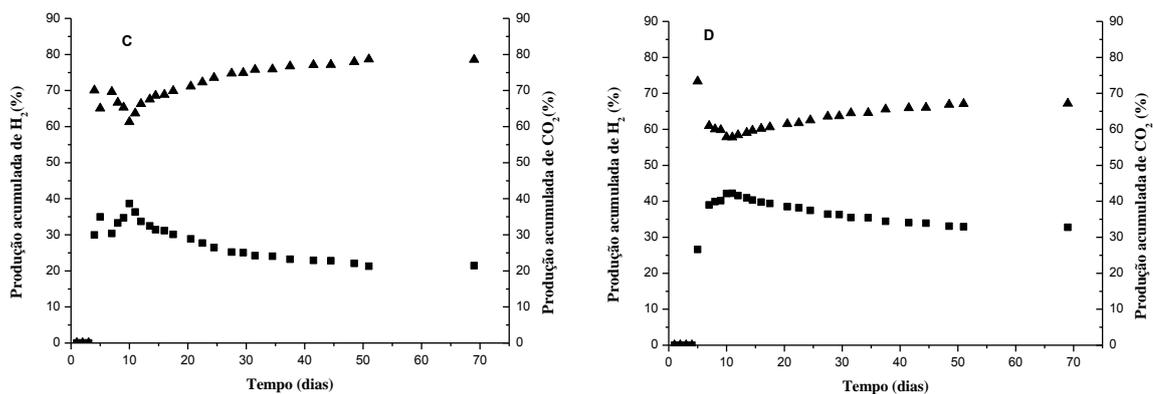


5.2.2 Composição do Biogás

Foram observados conteúdos de H_2 e CO_2 no biogás, não sendo detectada a presença de metano em nenhum reator durante todo o experimento. A ausência de metano pode ser atribuída ao pH em condições acidogênicas, o que inibe a atividade metanogênica responsável pelo consumo de hidrogênio.

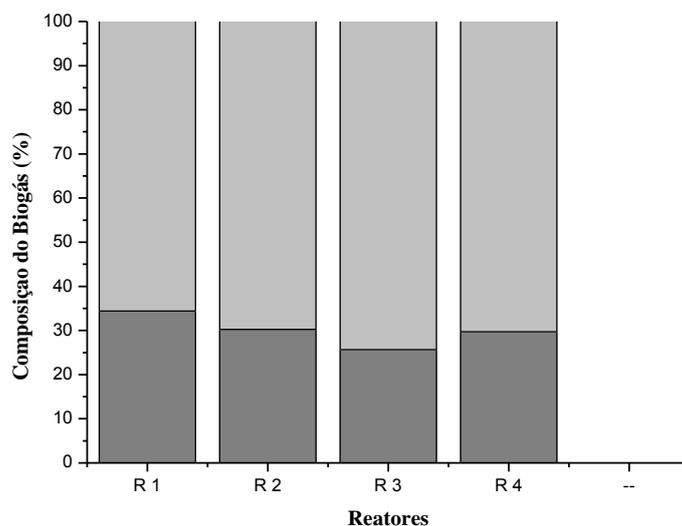
Figura 11: Variação temporal da composição de H_2 e CO_2 no biogás. (A) R1, (B) R2, (C) R3 e (D) R4. (■) % H_2 e (▲) % CO_2 .





Observou-se que o conteúdo do biogás não variou muito no decorrer do experimento. O R1 foi o que apresentou maior conteúdo médio de H_2 , em torno de 34%, R2 de 30%, R3 de 25% e R4 de 29% (Figura 12). Vale ressaltar que de acordo com as rotas metabólicas envolvidas na degradação do substrato, a porcentagem máxima de H_2 é de 66%, utilizando a rota do ácido acético.

Figura 12: Composição média do Biogás por reator. (■) % H_2 e (▲) % CO_2 .



5.2.3 Produção acumulada de hidrogênio (H₂)

De acordo com os resultados do desvio padrão (σ) e do coeficiente de variação (CV) (Tabela 13), observou-se que o R1 e R2 apresentaram menor variabilidade dos dados em relação a média. Considerando $CV \leq 20\%$ para os dados apresentados, pode-se dizer que as médias representam de maneira significativa a produção acumulada de hidrogênio das réplicas dos reatores. Assim, para análise da produção acumulada de hidrogênio foi utilizada a média da produção de cada reator, porém para o R4 foi utilizado apenas o resultado de um reator, pois sua réplica não produziu hidrogênio em nenhum momento do experimento, supondo que houve uma contaminação no mesmo.

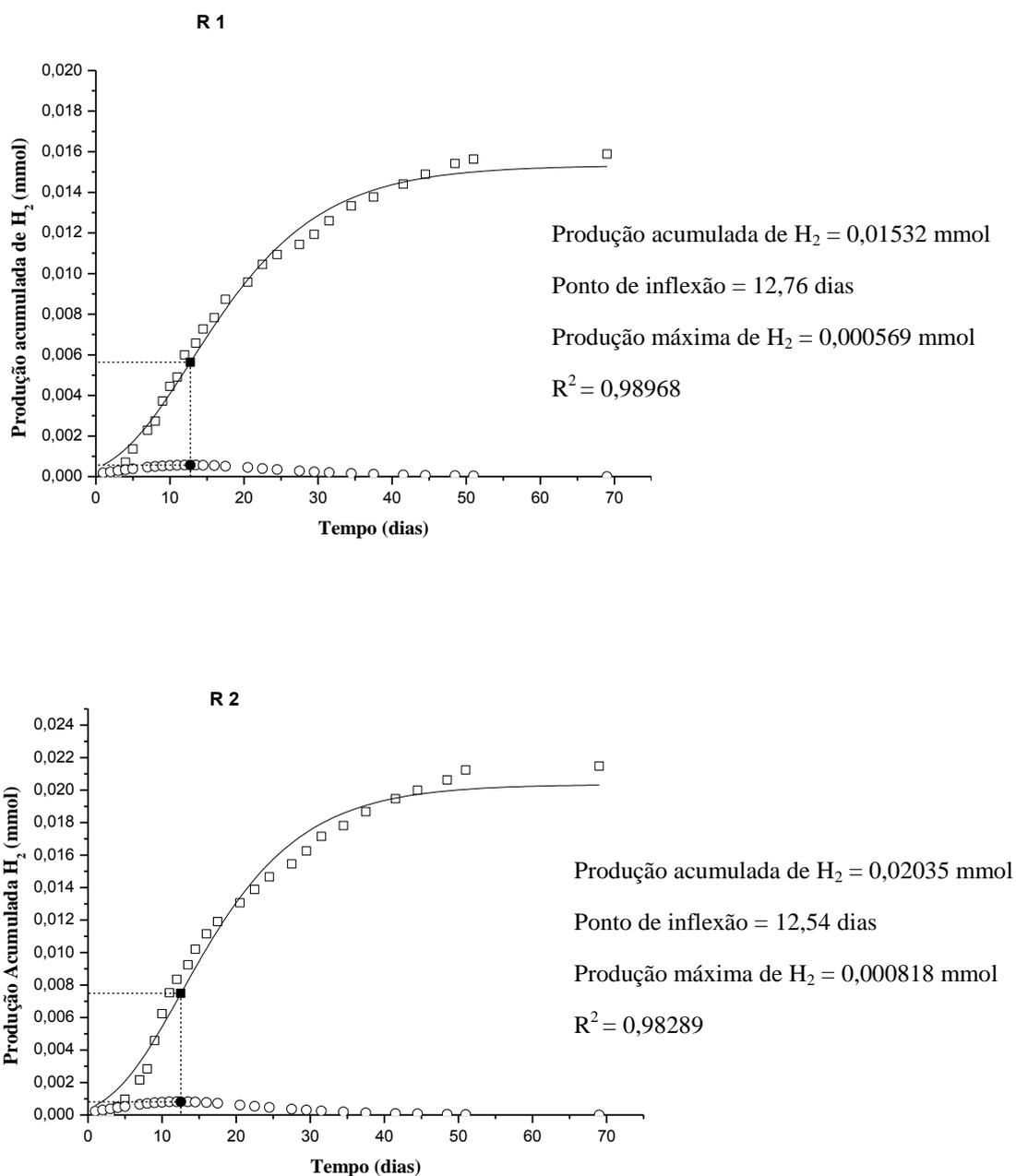
Tabela 13: Produção acumulada de H₂, media da produção acumulada, desvio padrão e coeficiente de variação dos reatores.

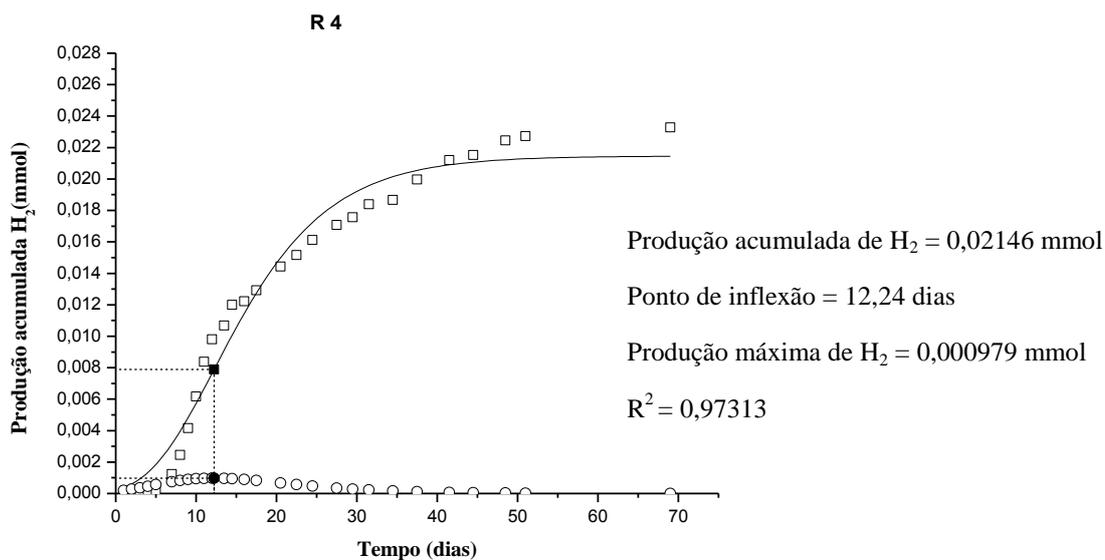
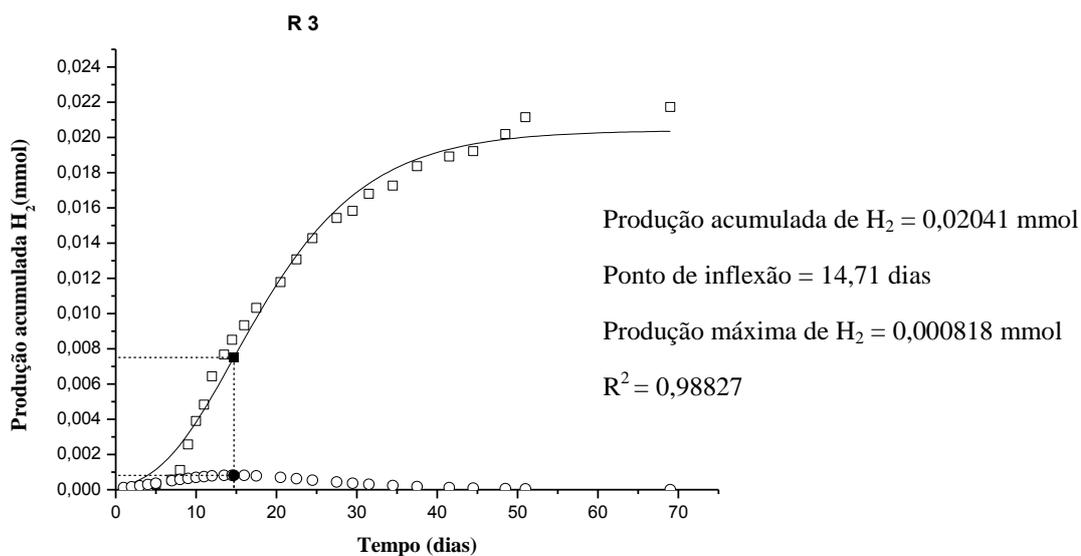
Reatores	R1		R2		R3		R4	
	R 1.1	R 1.2	R 2.1	R 2.2	R 3.1	R 3.2	R 4.1	R 4.2
Produção acumulada de H₂ (mmol)	0,01525	0,01653	0,02283	0,02013	0,02350	0,01995	0,02328	0,0000
Media produção acumulada de H₂ (mmol)	0,01589		0,02148		0,02173		0,02328	
Desvio padrão (σ)	0,00090		0,00191		0,00251		-	
CV (%)	5,66		8,88		11,56		-	

Fonte: Autora (2015).

Após análise estatística das réplicas, os dados de produção acumulada de hidrogênio foram ajustados ao modelo de Gompertz (Figura 13). Não foi observada a fase *lag* (tempo necessário para comunidade microbiana se adaptar e iniciar a produção de hidrogênio) em nenhum reator, presumindo que houve uma adaptação rápida do consórcio microbiano para produção de hidrogênio.

Figura 13: Produção temporal de hidrogênio por reator, ajustado ao modelo de Gompertz. (□) Produção acumulada de H₂; (○) Produção máxima; (-) sigmóide ajustado ao modelo de Gompertz; (■) Ponto de inflexão e (●) Produção máxima de H₂.

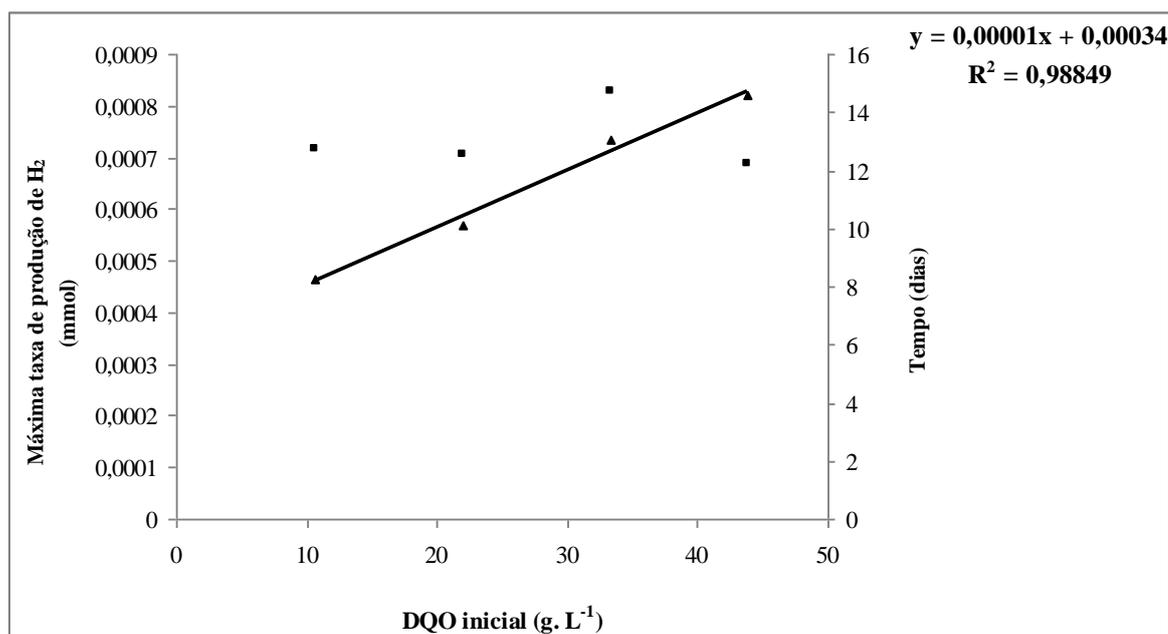




A produção de hidrogênio acumulada aumentou aproximadamente de 0,015 mmol para 0,022 mmol de H_2 com o aumento da concentração de substrato de 10 – 43 g DQO. L^{-1} (Figura 14). Não existe um consenso de qual seria uma concentração ideal para aumentar a produção e o rendimento da produção biológica de hidrogênio, porém sabe-se que uma concentração elevada de substrato pode inibir o processo, em virtude da alta quantidade de matéria orgânica, metais pesados, entre outros compostos. Além disso, o excesso da concentração do substrato pode ocasionar o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis, com isso

diminuição do pH e conseqüentemente inibir o crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio.

Figura 14: Relação entre produção máxima de hidrogênio e o tempo. (■) Tempo da máxima produção de H₂; (▲) Máxima produção de H₂ e (-) Reta da equação do tempo.

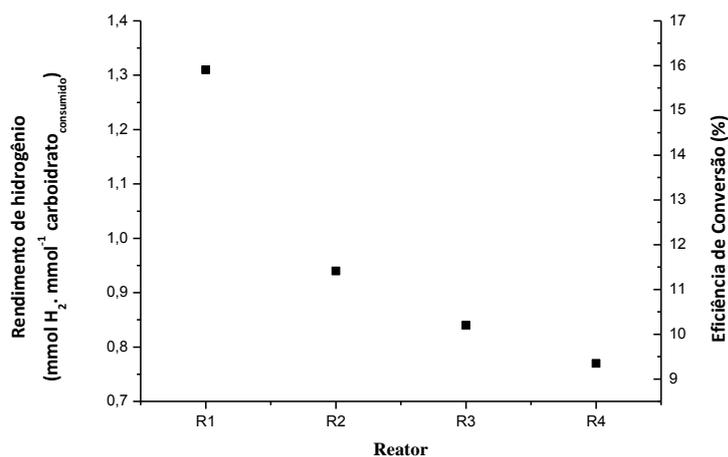


A Figura 14 também mostra que não houve variação significativa no tempo, representado pelo ponto de inflexão ($12,65 \pm 1,1$), cujo coeficiente de variação foi de 8,7% entre os reatores, presumindo que independente da concentração do substrato a produção máxima de H₂ se dará no mesmo período. Para corroborar, a equação cujo $R^2 = 0,98849$ mostra que realmente não há variação de tempo.

Já o rendimento de hidrogênio diminuiu com o aumento da concentração do substrato. O rendimento é um critério importante na avaliação do processo de produção biológica de hidrogênio. Este critério consiste no número de mols de H₂ produzidos em função da quantidade de carboidratos totais consumidos. Foram obtidos rendimentos menores (1,31 a 0,77 mmol H₂. mmol⁻¹ de carboidrato) com o aumento da concentração de carboidratos

(Figura 15). Provavelmente, pode ter ocorrido inibição do substrato ou limitações cinéticas para que ocorresse essa redução no rendimento.

Figura 15: Relação entre rendimento de hidrogênio, consumo de carboidratos totais e eficiência de conversão por reator.



Importante ressaltar que outras variáveis podem influenciar diretamente no rendimento de hidrogênio, tais como qualidade do inóculo e pH, já que não houve controle do pH e não foi realizada análise para identificar os tipos de microrganismos que participaram do processo, pois tanto culturas puras como consórcios microbianos são utilizados para produção de hidrogênio.

5.3 Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos (SMP)

A Tabela (14) apresenta os metabólitos solúveis produzidos durante o experimento em cada reator. Em todos os ensaios foram observados a presença de ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol no início do experimento. Enquanto na amostra final foi observado a presença dos mesmos ácidos, porém nenhuma amostra apresentou etanol em sua composição final, ou seja, todo etanol foi consumido durante o ensaio.

Tabela 14: Composição dos metabólitos solúveis produzidos em cada reator.

Reator		HAc	HBu	HPr	EtOH
		(mmol. L ⁻¹)			
R1	Inicial	1,113	0,110	0,277	8,040
	Final	2,530	0,108	0,374	0
R2	Inicial	1,932	0,110	0,276	20,854
	Final	9,536	3,000	0,279	0
R3	Inicial	3,604	0,112	0,280	30,745
	Final	5,217	4,054	0,282	0
R4	Inicial	2,284	0,119	0,278	11,956
	Final	3,139	0,466	0,696	0

Fonte: Autora (2015)

A produção de hidrogênio a partir de carboidratos ocorre quando há a produção de acetato e butirato (Reações 1 e 2, respectivamente do *item 3.5*), enquanto a produção de etanol resulta na não produção de H₂ (KOSKINEN, 2007). Sendo que o rendimento de hidrogênio varia substancialmente de traços a pequenas quantidades dependendo dos microrganismos presentes.

A produção de ácido acético e ácido butírico foi superior a do ácido propiônico em todos os ensaios (Tabela 14). O ácido acético apresentou maior concentração no R2 (9,536 mmol. L⁻¹ HAc.), decrescendo em seguida. Embora o R2 tenha apresentado maior concentração de ácido acético, isso não culminou em um maior rendimento de hidrogênio, como mencionado (*item 5.2.3*). Isso porque o acúmulo desse metabólito não implica necessariamente em produção de hidrogênio, visto que, algumas espécies microbianas como *Clostridium acetium*, podem converter dióxido de carbono e hidrogênio em ácido acético (Reação 12).



O ácido butírico apresentou concentração máxima de (4,054 mmol. L⁻¹ HBu.) no R3. A produção de ácido propiônico foi observada em maior quantidade no final do experimento, quando a produção de hidrogênio já se encontrava estabilizada. O ácido propiônico obteve uma maior produção no R4 (0,696 mmol. L⁻¹ HPr.), justificado pela diminuição dos ácidos acético e butírico e pelo menor rendimento de hidrogênio (3,65 mmol H₂. mmol⁻¹ carboidrato

total). Ressalta-se ainda, que a produção de ácido propiônico é desfavorável, onde não há produção de H_2 , mas sim consumo de 2 mols de H_2 (Reação 3 do *item 3.5*).

Vale salientar que a produção de hidrogênio pela fermentação do ácido acético e butírico ocorre em pH 5 – 6 e observou-se que o pH dos reatores foi acidificando, provavelmente em virtude da geração dos ácidos orgânicos, sendo comprovado pela redução de pH apresentado na Tabela 11. ANTONOPOULOU et al., (2011), afirma que a seleção de pH apropriado é determinante para a produção de hidrogênio.

Figura 16: Comportamento dos metabólitos solúveis produzidos (SMP) para cada reator. (A) Ácido Acético; (B) Ácido Butírico; (C) Ácido Propiônico e (D) Etanol. (▪) concentração inicial, (Δ) concentração final.

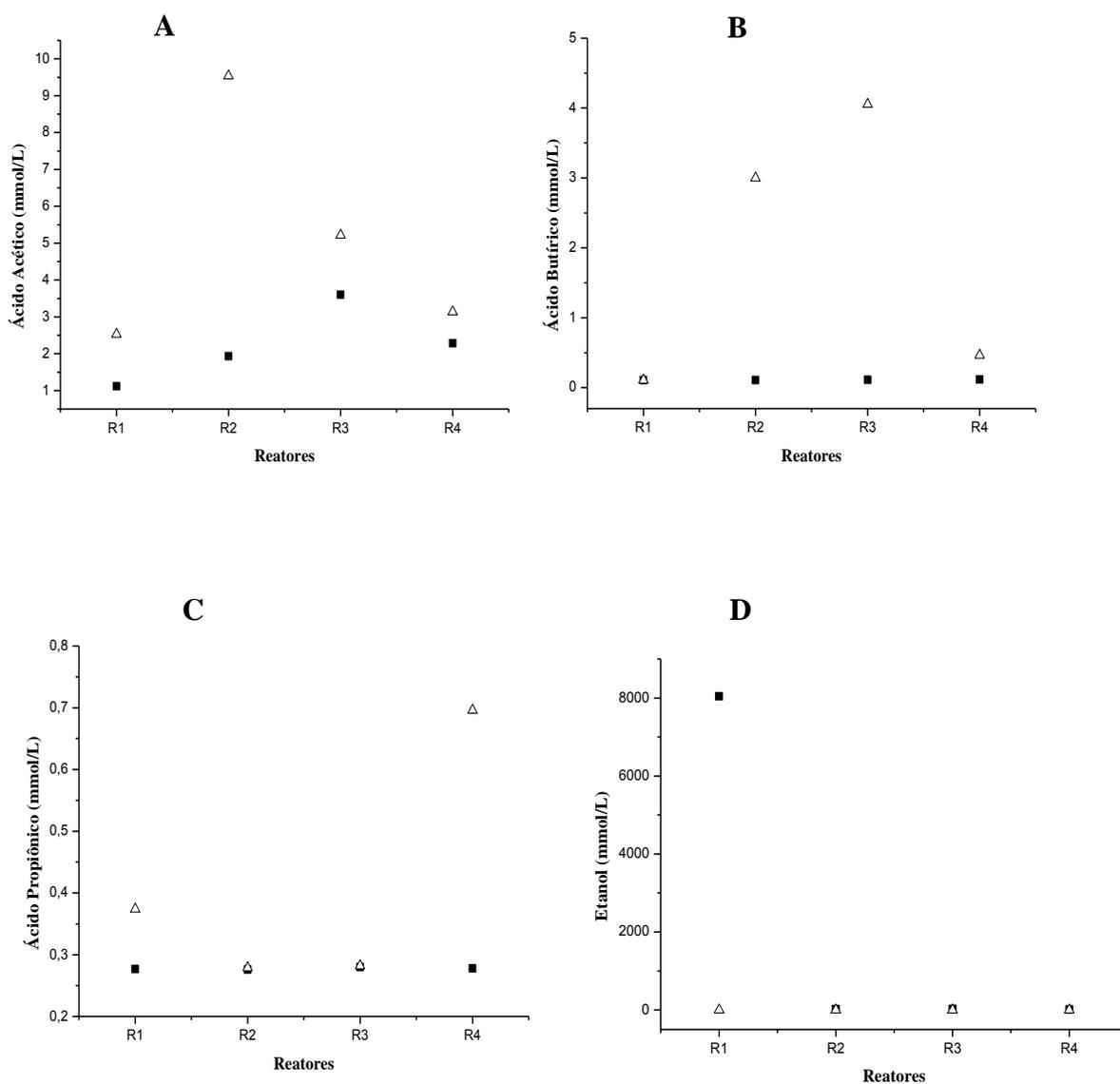


Tabela 15: Resumo dos principais dados obtidos nos ensaios de produção de hidrogênio.

Parâmetros		R1	R2	R3	R4
DQO (g.L ⁻¹)	Inicial	10,571	21,999	33,337	43,767
	Final	4,755	16,980	23,999	32,161
Carboidratos totais (g.L ⁻¹)	Inicial	5,316	9,593	12,143	14,421
	Final	1,302	2,215	3,803	4,936
pH	Inicial	5,48	5,49	5,47	5,49
	Final	4,58	4,50	4,57	4,44
Ácido Acético (mmol. L ⁻¹)	Inicial	1,113	1,932	3,604	2,284
	Final	2,530	9,536	5,217	3,139
Ácido Butírico (mmol. L ⁻¹)	Inicial	0,110	0,110	0,112	0,119
	Final	0,108	3,000	4,054	0,466
Ácido Propionico (mmol. L ⁻¹)	Inicial	0,277	0,276	0,280	0,278
	Final	0,374	0,279	0,282	0,696
Etanol (mmol. L ⁻¹)	Inicial	8,040	20,854	30,745	11,956
	Final	0	0	0	0
Rendimento					
(mmol H ₂ . mmol ⁻¹ carboidrato total consumido)		1,31	0,94	0,84	0,77
Remoção de DQO (%)		55,02	22,81	28,37	26,52
Consumo de carboidratos (%)		75,15	76,91	68,68	65,77
*Produção Acumulada de H ₂ (mmol)		0,015	0,020	0,021	0,022
Conteúdo de H ₂ Biogás (%)		34	30	25	29

*valores obtidos por meio do ajuste de dados ao modelo de Gompertz.

Fonte: Autora (2015)

5.4 Balanço de Carbono

Para determinar o balanço de carbono, foram utilizadas as relações estequiométricas de oxidação da glicose, ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol (*item 4.8*) para calcular a $DQO_{teórica}$. A $DQO_{teórica}$ total é resultado do somatório da $DQO_{teórica}$ dos metabólitos solúveis produzidos e da $DQO_{teórica}$ do carboidrato total (*item 4.8*).

A $DQO_{teórica}$ foi menor que a DQO_{medida} em todos os reatores (Tabela 16), tanto no início quanto no final do experimento, o que indica a presença de outros metabólitos solúveis não identificados na análise cromatográfica realizada, além da presença da biomassa que não foi quantificada e por isso não são considerados no cálculo da $DQO_{teórica}$, mas estão presentes e são responsáveis pela DQO_{medida} . De acordo com WILKIE et al. (2000), os compostos fenólicos (ácido tânico e ácido húmico), além de outros podem estar presentes na vinhaça.

Através dos dados verificou-se a porcentagem de $DQO_{teórica}$ em relação a DQO_{medida} no início do experimento, onde variou de 39 a 62% . Já no final do experimento essa variação foi de 21 a 34%. O R1 foi o que apresentou maior relação $DQO_{teórica}/ DQO_{medida}$ em porcentagem, ou seja, o resultado da $DQO_{teórica}$ foi mais próximo da DQO_{medida} , isto porque proporcionalmente a quantidade de matéria orgânica foi menor neste reator.

Tabela 16: Balanço de carbono: DQO inicial e final dos metabólitos, dos carboidratos totais, $DQO_{teórica}$ e DQO_{medida} inicial e final e a relação DQO_t/DQO_m .

Reatores		DQO_{HAc} (g. L ⁻¹)	DQO_{HBu} (g. L ⁻¹)	DQO_{HPr} (g. L ⁻¹)	DQO_{EtOH} (g. L ⁻¹)	$DQO_{carboidratos}$ (g. L ⁻¹)	$DQO_{teórica}$ (g. L ⁻¹)	DQO_{medida} (g. L ⁻¹)	DQO_t/DQO_m %	$DQO_m - DQO_t$ (g. L ⁻¹)
R1	Inicial	0,071	0,018	0,031	0,772	5,673	6,564	10,571	62,10	4,007
	Final	0,162	0,017	0,042	0,000	1,410	1,631	4,755	34,30	3,124
R2	Inicial	0,124	0,018	0,031	2,002	10,236	12,410	21,999	56,41	9,589
	Final	0,611	0,480	0,169	0,000	2,363	3,623	16,980	21,33	13,357
R3	Inicial	0,231	0,018	0,031	2,952	12,956	16,188	33,337	48,56	17,149
	Final	0,334	0,649	0,032	0,000	4,058	5,072	23,878	21,24	18,806
R4	Inicial	0,661	0,019	0,031	1,147	15,388	17,246	43,767	39,40	26,521
	Final	0,935	0,304	0,078	0,000	6,334	7,650	32,161	23,79	24,511

Fonte: Autora (2015)

6 CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos e apresentados conclui-se que é possível produzir hidrogênio utilizando vinhaça de cana-de-açúcar como substrato em reatores anaeróbio em batelada.

A caracterização do resíduo mostrou que a vinhaça proveniente da saída da coluna de destilação favorece mais a produção de hidrogênio por conter maior quantidade de carboidratos, porém a vinhaça proveniente da lagoa de sedimentação representaria um resíduo mais real daquele que provavelmente sairia da indústria. Uma alternativa viável seria utilizar um processo combinado onde se utilizasse a vinhaça da coluna de destilação na produção de hidrogênio e a vinhaça da lagoa de sedimentação para a produção de metano, com isso, o processo de digestão anaeróbia seria completo.

A fermentação natural se mostrou adequada para obtenção do consórcio microbiano. Além disso, não foi detectada produção de metano nos ensaios realizados, o que significa a não ocorrência do processo de metanogênese e reforça a seleção microbiana em prol da comunidade produtora de H₂. Outro fato importante, é que não foi observada a fase *lag* em nenhum ensaio, presumindo que houve uma rápida adaptação do consórcio microbiano para a produção de H₂.

Observou-se que a concentração de substrato pode influenciar diretamente na produção de H₂ em reatores alimentados com vinhaça de cana-de-açúcar, pois apesar da produção acumulada de H₂ ter sido crescente em todo experimento, o rendimento de produção de H₂ foi reduzido com o aumento da concentração de carboidratos. Destaca-se que o R1 (10g DQO. L⁻¹), obteve melhor rendimento na produção de H₂, melhor eficiência de remoção de matéria orgânica e melhor eficiência de conversão de carboidratos, presumindo que o aumento da concentração de substrato inibiu o processo de produção de H₂.

Em todos os ensaios foram obtidos concentrações superiores de ácido acético e ácido butírico e concentrações menores de ácido propiônico e não foi detectada produção de etanol em nenhum ensaio. Este fato demonstra que a produção de hidrogênio ocorreu pela rota metabólica que mais favorece a formação de H₂.

Neste sentido, salienta-se a importância de monitoramento de variáveis que possam influenciar diretamente no rendimento de H₂, tais como pH, metabólitos solúveis, qualidade do inóculo (visando selecionar consórcios microbianos produtores de H₂ com altos rendimentos).

REFERÊNCIAS

AGENCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA – ANEEL. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br>>, Acesso em: 3 Ago.2015.

_____. Disponível em: <http://www.aneel.gov.br/arquivos/pdf/atlas_par2_cap4.pdf>, Acesso em: 3 Ago.2015.

ALMEIDA, J. R. Ação da vinhaça na saúde pública. **Revista de agricultura**, v. 27, n.9, p. 269-274, 1952.

AMORIM, E.L.C. **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)– Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de 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 thorough Dark Fermentation of Glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p.783-790, 2009.

ANDRADE, A. C. F. F. **Avaliação da produção de hidrogênio por bactérias fototrófica púrpura não-sulfurosa em reator em batelada**. 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H. N.; SKUADAS, I. V.; LYBERATOS, G. Effect of substrate concentration on hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 4843-4851, 2011.

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

ARGUN, H. F.; KARGI, F.K.; KAPDAN; R. OZTEKIN. Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio of hydrogen yield and formation rate. **International Journal of Hydrogen Energy**, n. 33, p. 1813-1819, 2008.

ARMAROLI, W.; BALZANI, V. Energy for sustainable world: From the oil age to a sun powered future. **Weinheim: Wiley – VCH**, 2011.

BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL – BEN. Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2013.pdf>, Acesso em: 3 ago.2015.

BARROS, A. R. **Influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidizado**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado em engenharia química) – DEQ, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

BERGAMASCO, R; TAVARES, C. R. G. Uso de reator de leito fluidizado trifásico no tratamento dos resíduos de laticínios. **Revista UNIMAR**, v. 19, n. 4, p. 1087-1097, 1997.

CABELLO, P. E.; SCOGNAMIGLIO, F. P.; TERÁN, F. J. C. Tratamento de vinhaça em reator anaeróbico de leito fluidizado. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n. 1, p. 321-338, jan./abr. 2009.

CAMPPELLETTI, B.M. **Efeito da concentração inicial da água residual do processamento da mandioca na produção de biohidrogênio por *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824**. 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em engenharia de alimentos)– Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CHEONG, D.Y., HANSEN, C.L. Feasibility of hydrogen production in thermophilic mixed fermentation by natural anaerobes. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2229-2239, 2007.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores Anaeróbios: Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. UFMG, 1997. v. 5,

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. **Science Direct. Bioresource Technology**. v. 98, p. 1602-1607, 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>>, Acesso em: 29 jul.2015.

CORTEZ, L. MAGALHAES, P.; HAPPI, J. Principais Subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**, v. 2 n. 2. 1992.

DAS, D.; VERZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **Int J Hydrogen Energy**, v. 26, p. 13-28, 2001.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FERNANDES, B.S. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo**. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em engenharia)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

FERRAZ Jr., A. D. N. **Digestão anaeróbia da vinhaça da cana-de-açúcar em reator acidogênico de leito fixo seguido de reator metanogênico de manta de lodo**. 2013. 162 f. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica e saneamento)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

FERRAZ, F.M.; BRUNI, A.T.; BIANCHI, V.L.D. Performance of an anaerobic baffled reactor (ABR) in treatment of cassava wastewater. **Brazilian Journal of Microbiology**, v 40, p. 48-53, 2009.

FREIRE, W. J.; CORTEZ, L. A. B. **Vinhaça de cana-de-açúcar**. Ed. Agropecuária: Campinas, 2000.

GUO, X.M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRÈRE, H., STEYER, J. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **Science Direct. Journal of Hydrogen Energy**, p. 1-14. 2010.

KAPDAN, I.K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 569-582, 2006.

KIEHL, E. J. Fertilizantes orgânicos. São Paulo: **Agronômica Ceres**. 1985. 492p.

KOSKINEN, P. E. P.; KAKSONEN, A. NH.; PUHAKKA, L. A. The relationship between instability of H₂ production and compositions of bacterial communities within a dark fermentation fluidized-bed bioreactor. **Biotechnology Bioengineering**, v.97, p. 742-758, 2007.

LAIME, E. M. O.; FERNANDES, P. D. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista Trópica-ciências Agrárias e Biológicas**. v. 5, n. 3, p. 16. 2011.

LAMAISON, F.C. **Aplicação da água residuária do processamento da mandioca como substrato para a produção de hidrogênio por processo fermentativo**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em engenharia de alimentos)– Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

LAZARO, C. Z. **Influência da concentração de substrato e da temperatura na produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar**. 2012. 157 f. Tese (Doutorado em Ciências)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

LEE, K. S.; LO, Y. C.; LIN, P. J.; CHANG, J. S. Improving biohydrogen production in a carrier induced granular sludge bed by altering physical configuration and agitation pattern on the bioreactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 31, p. 1648-1657, 2006.

LEE, K. S.; HSU, Y. F.; LO, Y. C.; LIN, P. J.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Exploring optimal environmental factors for fermentative hydrogen production from starch using mixed anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 33, p. 1565-1572, 2008.

LIN, C. Y.; LAY, C. H. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. v.29, p.275-281, 2004.

LOGAN, B. E.; OH, S. E.; KIM, I. S.; VAN GINKEL, S. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers. **Environmental Science Technology**, v. 36, p. 2530–2535, 2002.

LUO, G.; XIE, L.; ZHOUNGHAI, Z.; ZHOU, Q.; WANG, J. Y. Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: effects of temperature and pH. **Applied Energy**, v. 87, p. 3710-3717, 2010.

MAINTINGUER, S.I. **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio bacteriano utilizado em reator anaeróbico em batelada aplicado à produção de hidrogênio**. 2009. 167f. Tese (Doutorado em engenharia)– Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MANISH, S.; BANERJEE, R. Comparison of biohydrogen production processes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 279-286, 2008.

MARIAKAKIS, I.; BISCHOFF, P.; KRAMPE, J.; MEYER, C.; STEINMETZ, H. Effects of organic loading rate and solids retention time on microbial population during biohydrogen production by dark fermentation in large lab-scale. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 36, p. 690-700, 2011.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>, Acesso em: 3 Jul.2015.

MASSEY, M. L.; POHLAND, F. G. Phase separation of anaerobic stabilization by kinetic controls. **J. Water Pollut. Control. Fed.**, v.50, p.2204-2222, 1978.

METCALF e EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse**. McGraw-Hill, Inc., New York, 1979.

MIZUNO, O., OHARA, T., SHINYA, M., NOIKE, T., Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora. **Water Science Technology**, v. 42, p. 338-345, 2000.

MIZUNO, O.; DINSDALE, R.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D.L.; NOIKE, T. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Biosource Technology**, v. 73, p. 59-65, 2000.

NICODEMOS, R.M.; LIMA, A.M.; ASSIS, A.M. Produção de hidrogênio a partir da fermentação de compostos orgânicos. **VII Encontro Interno. XII Seminário de Iniciação Científica**. UFU, 2008.

NOVA CANA. Disponível em: <http://www.novacana.com/etanol/sobre-etanol/>, Acesso em: 3 Ago.2015.

OH, S. E.; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environ Sci Technol.**, v. 37, n. 22, p. 5186-5190, 2003.

PANT, D.; ADHOLEYA, A. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 2321-2343. 2007.

PASSOS, J. R. S.; BISCARO, A. F. V.; FLORENTINO, H. O. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica. **AME. Rev. Bras. Biom.**, v.28, n.1, p. 141-150, 2010.

PEIXOTO, G. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária de indústria de refrigerantes.** 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado em engenharia)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

PENTEADO, E. D. **Influencia da origem e do pré-tratamento do inoculo na produção de hidrogênio a partir de águas residuárias em biorreator.** 2012. 143 f. Dissertação (Mestrado em engenharia hidráulica e saneamento)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 14. ed. Piracicaba: Nobel, 2000. 477 p.

REIS, C.M. **Efeito da velocidade ascensional na produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidificado.** 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em engenharia química)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

REMACHANDRAN, R.; MENON, R. K. An overview of industrial uses of hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.23, p. 593-598, 1998.

REN, N.; LI, J.; LI, B.; WANG, Y.; LIU, S. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentative with a pilot-scale bioreactor system. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 2147-2157, 2006.

RIBAS, M.M.F. **Tratamento de vinhaça em reator anaeróbio operado em batelada seqüencial contendo biomassa imobilizada sob condições termofílicas e mesofílicas.** 2006. 175 f. Tese (Doutorado em engenharia civil)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 2006.

ROJAS, M.D.P.A. **Influência da relação C/N na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo.** 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em ciências)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; LEITÃO, V. S. F. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia – aspectos gerais e possibilidades de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, vol. 37 n. 5 São Paulo, 2014.

SALOMON, K. R. **Avaliação técnico-econômica e ambiental da utilização do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça em tecnologia para geração de eletricidade.** 2007. 219 f. Dissertação (Doutorado em engenharia mecânica)– Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá. 2007.

SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, p.1101-1107, 2009.

SANCHEZ, E.; BOYA, R.; WEILAND, P.; TRAVIESO, L.; MARTIN, A. Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate. **Process Biochemistry**, v.37, p. 483-489, 2001.

SANTOS, S. C. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado termofílico com vinhaça como substrato orgânico.** 2014. 163 f. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica e saneamento)– Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SEARMSIRIMONGKOL, P; RANGSUNVIGT, P.; LEETHOCHAVALIT, M.; CHADEJ, S. Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using anaerobic sequencing batch reactor. **Int J Hydrogen Energ**, n. 36, p. 12810-12821. 2011.

SILES, J. A.; BREKELMANS, M. A. ; MARTÍN, M.A., CHICA, A. F. ; MARTÍN, A. Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 9040-9048. 2010.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, C. L. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v.11, n.1, p.108-114, 2007.

UNIÃO da Indústria de Cana-de-açúcar de São Paulo – ÚNICA. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/setor-sucroenergetico>>, Acesso em: 3 Ago.2015.

UNIÃO dos Produtores de Bioenergia – UDOP. Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?item=safra>>, Acesso em: 29 jul.2015.

VAN GINKEL, S.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production a function of pH and substrate concentration. **Environ Sci. Technol**, V.35, p. 4726-4730, 2001.

VARDARSHARA, G.; MAEDA, T.; WOOD, T. K. Metabolically engineered bacteria for producing hydrogen via fermentation. **Microbial Biotechnology**, v.1, p. 107-125, 2008.

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. **Int J Hydrogen Energy**, v. 34, p. 799-811, 2009.

WEBER, M. I. **Avaliação da eficiência de um reator anaeróbio de leito fluidizado para o tratamento de resíduos líquidos da indústria de refrigerante**. 2006. 166 f. Dissertação (Mestrado em engenharia de recursos hídricos e ambiental)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied Microbiology Biotechnology**, n. 85, p. 849–860. 2010.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, R. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v.19, p 63-102, 2000.