

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



Thiago de Gois Araújo Tavares

PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA MANIPUEIRA EM REATOR
ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO SOB CONDIÇÕES TERMOFÍLICAS

Maceió
2016

THIAGO DE GOIS ARAÚJO TAVARES

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA MANIPUEIRA EM REATOR
ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO SOB CONDIÇÕES TERMOFÍLICAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

**Maceió
2016**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

T231p Tavares, Thiago de Gois Araújo.
 Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de
 leito fluidificado sob condições termofílicas / Thiago de Gois Araújo
 Tavares. – 2016.
 66 f. : il.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.
Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) –
Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Programa de
Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento. Maceió, 2016.

Bibliografia: f. 58-65.

1. Produção de hidrogênio. 2. Reator anaeróbio de leito fluidificado.
3. Argila expandida. 4. Variação da temperatura. 5. Tempo de detenção
hidráulico. I. Título.

CDU: 62-622



Folha de Aprovação

THIAGO DE GOIS ARAUJO TAVARES

Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leite
fluidificado sob condições termofílicas

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

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

Banca examinadora:

Prof. Dr. Antônio Pedro de Oliveira Netto
(Examinador interno- PPGRHS/UFAL)

Prof. Dr. Vicente Rodolfo Santos Cezar
(Examinador externo - IFAL)

Dedico este trabalho a meus pais: Sergio e Ana Tavares,

Minha irmã Andressa Tavares.

Não teria sentido chegar até aqui sem vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas bênçãos recebidas. Sem ele nada seria possível!

Aos meus pais, Sérgio Tavares e Ana Tavares, pelo amor, incentivo, por terem ficado comigo durante todo o percurso. Sem vocês não teria conseguido nada.

Agradeço aos Professores do programa pós-graduação em recursos hídricos, amizade, conversas, conselhos e alguns puxões de orelha dados ao longo dos anos.

Em especial ao meu orientador, Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim, por aceitar a orientação, por sempre estar disponível a ajudar as diversas dificuldades encontradas nesses 2 anos, pela confiança depositava, pois sabia das minhas dificuldades, Muito obrigado!

Aos colegas de pesquisa por todo apoio e ajuda. Não sei o que seria de mim sem vocês: Vinícius Sales, Emmanuelle Balbino, Pedro Henrique, Schayanna Macário, Aryanne Mota.

Aos meus coletas

Agradeço a UFAL e ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, pois tudo começou por ele.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental da UFAL, onde foram desenvolvidas quase todas as análises.

A FAPEL pelo financiamento do projeto.

Agradeço a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para minha nova conquista.

RESUMO

Na tentativa de melhores rendimentos e produção volumétrica de hidrogênio, pesquisas têm avaliado os fatores que podem provocar um crescimento na produção de hidrogênio fermentativo, a temperatura é um deles, pesquisas recentes têm demonstrado um incremento na produção de hidrogênio fermentativo, com o aumento da temperatura. Com isso, o objetivo deste trabalho foi a produção de hidrogênio em temperaturas termofílicas a partir da manipueira como fonte de carbono em reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF). O material suporte para a aderência da biomassa foi a argila expandida (2,8 – 3,35 mm). A aderência da biomassa foi realizada com argila expandida. A partida do reator foi iniciada com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 h, passando por um TDH de 6 h, 4 h e finalizando com TDH de 2 h. Após, atingir um TDH de 2 h a taxa de carregamento orgânico foi mantida a uma DQO afluenta constante de 4000 mg.L⁻¹. A partir deste ponto, foi então avaliado o efeito das temperaturas termofílicas sobre a produção de hidrogênio. O reator foi operado sob temperaturas diferentes: 45°C, 55°C, 65°C. Neste estudo, foi possível observar um rendimento mínimo de 1,24 mol H₂.mol glicose⁻¹ na temperatura de 65°C. Além disso, pode ser observado que com o aumento da temperatura de 45-55°C foi obtido o rendimento máximo de 1,66 mol H₂.mol glicose⁻¹. Sendo observado a presença dos seguintes metabolitos líquidos: ácido acético como principal metabolito na produção de hidrogênio.

Palavras-chave: Variação do TDH, Argila expandida, tratamento térmico.

ABSTRACT

In an attempt to obtain better yields and higher volumetric production of hydrogen, researches have reported factors that can cause an extender in the production of fermentative hydrogen, the temperature is one, and recent research has demonstrated an increase in the production of fermentative hydrogen by increasing temperature. Thus, the objective of this work was the production of hydrogen at thermophilic temperatures from cassava as a carbon source in anaerobic fluidized bed reactor (RALF). The support material for the adhesion of biomass was expanded clay (2.8 to 3.35 mm). The adhesion of the biomass was performed with expanded clay. The departure of the reactor was started with an 8 h hydraulic retention time (HRT), through a 6 h HRT, 4 h and ending with 2 h HRT. After it reaches a 2 h HRT, the organic loading rate was maintained at a constant influent COD of 4000 mg L⁻¹. Then, from this point it was evaluated the effect of temperature on the thermophilic hydrogen production. The reactor was operated under different temperatures: 45°C, 55°C, 65°C. In this study, we observed a minimum return of 1.24 mol H₂.mol glucose⁻¹ at 65°C. Moreover, it can be seen that increasing temperature of 45-55 °C was obtained a maximum yield of 1.66 mol H₂.mol glucose⁻¹. It was noticed the presence of the following metabolites liquids: acetic acid as the primary metabolite in the production of hydrogen.

Keywords: Hydrogen production, anaerobic fluidized bed reactor, thermophilic temperatures

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.	18
Figura 2. Fluxograma da metodologia utilizada.	31
Figura 3. Coleta da Manipueira, no município de Feira Grande/AL.	32
Figura 4. Tratamento Térmico do Inoculo.	34
Figura 5. Esquema e dimensões do RALF utilizado	36
Figura 6. RALF preenchido com argila expandida	37
Figura 7. Reator sendo inoculado.	38
Figura 8. Variação do pH afluente (■) e pH efluente (●) ao longo das fases de operação do reator.	45
Figura 9. Variação da DQO afluente (■), DQO efluente (●) e DQO removida (▲).	46
Figura 10. Variação de carboidrato afluente (■), carboidrato efluente (●) e eficiência na remoção de carboidratos (▲) ao longo da fase de operação do reator.	47
Figura 11. Variação da concentração sólidos suspensos totais afluentes (■), suspensos voláteis (▲) e suspensos fixos (●) e sólidos suspensos totais efluente (▼), suspensos voláteis (►), suspensos fixos (◄) ao longo da operação do reator.	48
Figura 12. Rendimentos de H ₂ (■) no reator RALF ao longo das fases de operação.	50
Figura 13. Porcentagem de Hidrogênio (■) no Biogás durante toda a operação do reator.	51
Figura 14. Produção volumétrica (■) obtida durante a variação da temperatura.	51
Figura 15. Variação da concentração metabolitos produzidos Etanol (■), ácido acético (●) ácido butírico (▲) ácido propiônico (▼) ao longo da operação do reator.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Trabalhos que utilizaram temperaturas termofílicas na produção de hidrogênio (Fonte: PAWAR & NIEL, 2013).....	24
Tabela 2. Estudos de produção de hidrogênio com RALF (Fonte: Adaptado Amorim, 2012).....	28
Tabela 3. Caracterização da Manipueira.	33
Tabela 4.Características físicas da argila expandida (cinasita)	34
Tabela 5.Período no qual o RALF foi suplementado com glicose.	35
Tabela 6. Vazão, TDH e TCO Teórica adotados na fase de mudança do TDH.	39
Tabela 7.Vazão, TDH e TCO Teórica adotados na fase de mudança de temperatura.	39
Tabela 8.Vazão Teórica e Real durante as fases operacionais.	40
Tabela 9.Frequência de coleta e análise de amostras para monitoramento do reator.....	42
Tabela 10. Variação do pH ao longo das fases operacionais.....	44
Tabela 11. DQO afluente e efluente da manipueira, e taxa de remoção durante operação o RALF.....	46
Tabela 12. Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose.	46
Tabela 13.Variação da concentração dos SST, SSF e SSV no Afluente e no Efluente.	48
Tabela 14. Valores de produção de hidrogênio utilizando diferentes taxas de carregamento orgânico e TDH.	50
Tabela 15. Produção volumétrica, porcentagem de hidrogênio no biogás.	52
Tabela 16. Concentração dos metabolitos produzido.....	53
Tabela 17. Média das DQOs teóricas dos metabólitos, DQO da biomassa e DQO efluente medida.	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivos específicos.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Hidrogênio como um combustível.....	17
3.2	Produção de hidrogênio a partir da Biomassa.....	17
3.3	Digestão Anaeróbia-Fermentação	17
3.4	Rotas Fermentativas.....	18
3.5	Fatores que interferem a produção de hidrogênio	19
3.5.1	Taxa de carregamento orgânico (TCO)	19
3.5.2	Tempo de detenção hidráulica (TDH)	21
3.5.3	Influência da Temperatura	22
3.5.4	Substrato	23
3.5.5	Influência do potencial hidrogeniônico (pH).....	25
3.6	Manipueira – O efluente líquido	25
3.6.1	Produção de Hidrogênio a partir da manipueira	26
3.7	Reatores Anaeróbios de Leito fluidificado	26
3.7.1	Material suporte	29
3.8	Considerações finais	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	Água residuária – Manipueira	31
4.1.1	Caracterização da Manipueira	32
4.2	Tratamento Térmico do Inóculo	33
4.3	Material suporte.....	34
4.4	Suplementação da água residuária	35
4.5	Reator anaeróbio de leito fluidificado.....	35
4.5.1	Sistema de Aquecimento do reator	36
4.6	Operação do reator.....	37
4.7	Análises físico-químicas.....	40
4.7.1	Hidrogênio	40
4.7.2	Carboidratos.....	41
4.8	Cromatografia.....	41

4.8.1	Determinação da Produção de Hidrogênio	41
4.8.2	Determinação de Ácidos e Álcoois.....	41
4.9	Frequência das análises químicas e microbiológicas	42
4.10	Calculo dos Principais Parâmetros	42
4.10.1	Balanço de Carbono.....	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	44
5.1	pH	44
5.2	DQO	45
5.3	Carboidratos	46
5.4	Sólidos Suspensos: Totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV).....	47
5.5	Rendimento na Produção de Hidrogênio	49
5.6	Produção Volumétrica.....	51
5.7	Rotas Metabólicas Observadas.....	52
5.8	Balanço de Carbono	55
6	CONCLUSÕES.....	56
7	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	57
	REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a consciência mundial da mudança climática global, poluição do ar e garantia do suprimento de energia no futuro, tem estimulado pesquisas acerca de fontes alternativas de energia (REN *et al.*, 2006). Pois, as energias renováveis tornaram-se a opção estratégica do mundo para resolver a poluição ambiental, abordar a crise energética e alcançar o desenvolvimento social sustentável (HE *et al.*, 2015). O hidrogênio é uma alternativa energética promissora e tem recebido a atenção do mundo nos últimos anos (WANG & WAN, 2009), pois há geração apenas de energia e vapor de água na sua combustão (VAN GINKEL *et al.*, 2001). Esse gás pode ser produzido a partir de combustíveis fósseis, da água e de biomassa. Entretanto, para que seja considerada uma tecnologia sustentável, a sua produção deve ser realizada a partir de fontes renováveis. Deste modo, a produção de hidrogênio a partir de águas residuárias ou resíduos sólidos, além de ser considerada uma perspectiva interessante em relação à outros métodos, também pode ser econômica e ambientalmente favorável (BARTACEK *et al.*, 2007).

De acordo com LAY *et al.* (1999), o gás hidrogênio pode ser obtido a partir de quatro principais processos, a partir de fontes primárias de energia, que são: a eletrólise da água, processos termoquímicos, processos radiolíticos e processos biológicos. A produção de hidrogênio por processos biológicos, pode ser gerada por meio de processos fototróficos ou fermentativos, sendo este último o mais vantajoso por ser o processo mais simples, o qual apresenta as maiores velocidades de produção de hidrogênio e o menor custo de implementação (LAY *et al.*, 1999; MATHEWS & WANG, 2009).

A produção de hidrogênio através do processo fermentativo, torna-se interessante, pois pode ocorrer simultaneamente a degradação de poluentes orgânicos e geração energias renováveis (LUO *et al.*, 2009).

Diversos estudos têm analisado a produção fermentativa de hidrogênio, utilizando distintas configurações de reatores: de crescimento imobilizado, de leito fixo e de crescimento suspenso. Além de outros fatores que podem influenciar a produção de hidrogênio, como: potencial hidrogeniônico (pH), temperatura, tempo de detenção hidráulico (TDH), taxa de carregamento orgânico (TCO), material suporte dentre outros. (AMORIM *et al.*, 2009; BARROS *et al.*, 2010; LUO *et al.*, 2010; AMORIM *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2014a,b). Sendo também utilizado uma ampla variedade de substrato para produção de hidrogênio: glicose (DE VRIJE *et al.*, 2007; KOSKINEN *et al.*, 2008), sacarose (O-THONG *et al.*, 2008a, b; KESKIN *et al.*, 2011), água residuária de tofu (KIM *et al.*, 2011a, b) e manipueira (LUO *et al.*, 2010a; AMORIM *et al.*, 2012).

A manipueira é o resíduo resultante da prensagem da mandioca na produção de farinha, na qual contém grande conteúdo energético, cerca de 20 a 40 g.L⁻¹ de carboidratos, tendo grande potencial poluidor, se descartada indevidamente. Porém, o potencial energético da manipueira a torna bastante atrativa como substrato para a produção de hidrogênio, além de promover benefícios ambientais pela minimização de possíveis impactos ambientais de sua disposição sem prévio tratamento (CAPPELLETTI *et al*, 2011).

Alguns estudos utilizando a manipueira como substrato em reatores em batelada já foram desenvolvidos e seus resultados indicam a viabilidade deste resíduo na produção de hidrogênio (CAPPELLETTI *et al.*, 2011; LAMAISSON, 2009; LUO *et al.*, 2010a, b). Já outros, obtiveram sucesso ao testar o reator anaeróbico de leito fluidificado (RALF), visando a produção de hidrogênio, a partir da vinhaça (SANTOS *et al.*, 2014a,b,c), manipueira (AMORIM *et al.*, 2012).

Servindo esse último de inspiração para este trabalho. Decorrente dos resultados obtidos por AMORIM *et al* (2012), surgiu-se a necessidade de aprofundar os estudos a fim de obter um maior conhecimento do processo fermentativo a partir de um substrato real, neste caso a manipueira, em reator anaeróbico de leito fluidificado. Sendo desta vez analisada outra característica importante, as temperaturas termofílicas, a fim de obter um máximo incremento da produção de hidrogênio.

Ao comparar o efeito da temperatura mesofílicas (37°C), termofílicas (60°C) e extremo-termofílicas (75°C), LUO *et al.* (2010a) apontam vantagens do processo termofílico. KIM *et al.* (2002) associa que o incremento da produção de hidrogênio pode ser relacionado, com fatores como por exemplo: o aumento da metabolização de sólidos orgânicos e aumento da separação líquido-sólido. Podendo ainda aumentar a hidrólise de partículas sólidas, o crescimento microbiano, e a solubilidade do H₂ diminuída. (WEILAND, 2010).

Processos termofílicos exibem baixa solubilidade de hidrogênio na fase aquosa, e melhores condições de transferência líquido-gás do hidrogênio (AKUTSU *et al.*, 2009).

Diante do explicado acima, pretende-se verificar o efeito de temperaturas termofílicas na produção de hidrogênio, além disso, que alguns aspectos influenciam a produção de hidrogênio deveriam ser melhor explorados, tais como: a utilização de um substrato real, a influência da TCO e do TDH na produção de hidrogênio, a formação dos metabólitos solúveis, dentre outros.

Além disso, as áreas localizadas no Nordeste do Brasil, têm valores da radiação solar diária, média anual comparáveis às melhores regiões do mundo. Tendo as menores variações sazonais, o que poderá resultar em importantes vantagens técnicas e econômicas dos sistemas

solares instalados nesta região (CRESESB, 2000). Tal característica, de clima do nordeste brasileiro permite utilizar o potencial de energia solar para aquecer os reatores termofílicos e com isso reduzir os custos operacionais.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado, alimentado com água residuária do processamento da mandioca – a manipueira – como fonte de carbono, analisando a influência de temperaturas termofílicas.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho de um substrato real, a manipueira, na produção de hidrogênio em temperaturas termofílicas de 45°C, 55°C e 65°C;
- Quantificar os metabólitos líquidos e gasosos produzidos durante a operação do reator.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hidrogênio como um combustível

Muitas questões ambientais foram causadas ou relacionadas com a produção, transformação e uso de combustíveis fósseis, por exemplo, a chuva ácida, destruição da camada de ozônio, mudanças climáticas e entre outras. Recentemente, uma variedade de possíveis soluções para os problemas ambientais atuais associados a utilização de combustíveis fósseis tem evoluído. A utilização de energias limpas, como por exemplo o hidrogênio parece ser a uma das soluções mais eficazes e podem desempenhar um papel significativo em um meio ambiente mais sustentável (DINCER, 2007; TURNER *et al.*, 2008).

O hidrogênio vem sendo considerado o combustível do futuro, pois sua combustão gera apenas água, além de possuir maior conteúdo energético do que os combustíveis fósseis (VAN GINKEL *et al.*, 2001), possuindo um alto poder calorífico 122 kJ.g^{-1} , que é 2,75 vezes maior do que os combustíveis de hidrocarbonetos (gasolina, metano, propano, etc.) (KAPDAN, 2005).

O hidrogênio pode ser utilizado para o consumo doméstico / industrial através de meios convencionais. O gás H_2 é mais seguro de manusear do que o gás natural doméstico. Atualmente, 40% de H_2 é produzida a partir de gás natural, de 30% a partir de óleos pesados e nafta, 18% a partir do carvão, e 4% de electrólise e cerca de 1% é produzido a partir de biomassa (DAS, 2009).

3.2 Produção de hidrogênio a partir da Biomassa

Os métodos disponíveis para a produção de hidrogênio a partir da biomassa pode ser dividida em duas categorias principais: vias biológicas e térmica. O hidrogênio pode ser produzido a partir de matérias-primas renováveis via processos termoquímicos de conversão, como a pirólise e a gaseificação. A produção biológica de hidrogênio pode ser classificada nos seguintes grupos: (i) biofotólise: direta e indireta, usando algas verdes e algas azuis (cianobactérias), (ii) foto-fermentação, (iii) fermentação (BALAT *et al.*, 2010).

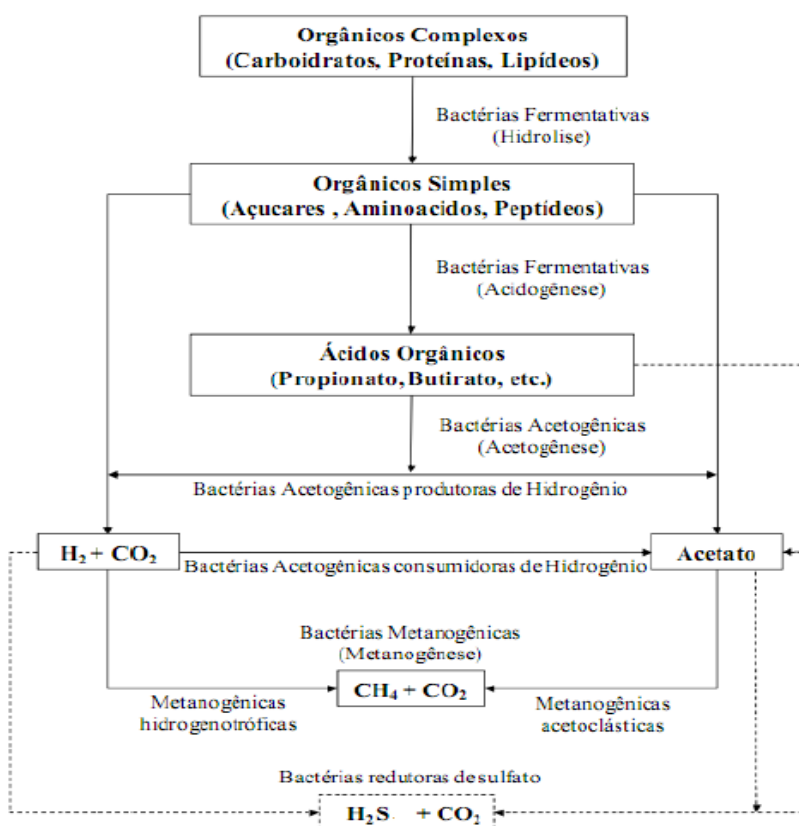
3.3 Digestão Anaeróbia-Fermentação

No tratamento anaeróbio de materiais orgânicos complexos, pode ser normalmente considerado por ser um processo de dois estágios. Na primeira etapa, os orgânicos complexos são alterados na forma de um grupo de bactérias anaeróbias facultativas e denominado geralmente os formadores de ácidos. Onde os materiais complexos, são hidrolisados, fermentados, e biologicamente convertidos em materiais orgânicos mais simples. Durante a segunda fase da fermentação ocorre a estabilização de resíduos. Nesta fase, os ácidos orgânicos são convertidos pelas bactérias metanogênicas, sendo transformado em dióxido de carbono e metano (MCCARTY, 1964). Quando existem sulfato e nitrato presentes no meio, as bactérias

redutoras de sulfato e as bactérias redutoras de nitrato são capazes de utilizar o hidrogênio como doador de elétrons, formando sulfeto e amônia, respectivamente (VALDEZ-VAZQUEZ *et al.*, 2005).

A acidogênese (etapa 1) e a metanogênese (etapa 2) podem ser consideradas como as etapas básicas do processo biológico, porém a produção de hidrogênio apenas é observada na acidogênese, pois na metanogênese ocorre a conversão do hidrogênio formado em metano e dióxido de carbono (BARROS, 2009). De maneira simplificada, pode-se observar o processo anaeróbico de conversão da matéria orgânica (Figura 1).

Figura 1 - Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.

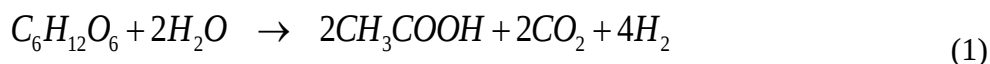


Fonte: LETTINGA *et al.*, 1996.

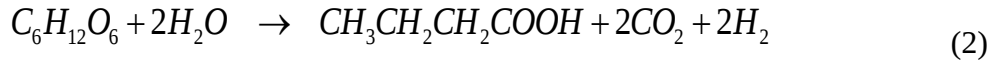
3.4 Rotas Fermentativas

O hidrogênio pode ser produzido a partir de vários compostos contendo matérias orgânica. O ácido acético (Equação 1) e o ácido butírico (Equação 2) 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 do ácido acético:



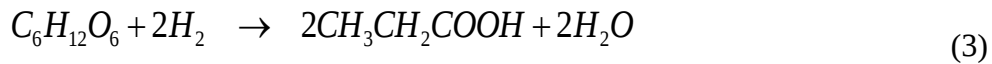
Produção do ácido butírico:



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 produzidas, 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 (Equação 3) reage com a glicose consumindo hidrogênio (REIS, 2010).

Produção do ácido propiônico:

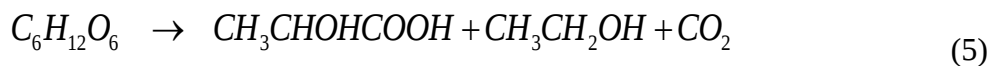


Segundo AMORIM (2009), o ácido láctico é produzido a partir da glicose através de três rotas metabólicas: homofermentativa (Equação 4), heterofermentativa (Equação 5), porém em nenhuma dessas rotas há produção ou consumo de hidrogênio. Assim como na formação do etanol, há apenas o consumo do substrato que poderia gerar hidrogênio.

Rota homofermentativa:



Rota heterofermentativa:



3.5 Fatores que interferem a produção de hidrogênio

3.5.1 Taxa de carregamento orgânico (TCO)

A produção de hidrogênio a partir de substrato real, é fortemente influenciada por vários fatores, dentre eles pela taxa de carga orgânica. A TCO depende do tempo de detenção hidráulico (TDH) e sobre o teor de matéria orgânica do substrato. Portanto, é essencial definir um intervalo de TCO, no qual será possível conseguir uma eficiência constante no reator biológico, ou um valor TCO ideal para a produção máxima hidrogênio. Como resultado, as rotas fermentativas e metabólitos finais podem ser modificadas devido à TCO aplicada, bem como a eficiência da conversão do substrato e da comunidade microbiana criada em o sistema (GIOANNIS *et al.*, 2013).

A TCO é determinada pela relação entre a concentração do substrato e o TDH. Na Equação 6 pode-se observar a representação matemática da TCO. O aumento da TCO promove uma perspectiva de maior produção de hidrogênio (REIS, 2010).

$$TCO = \frac{DQO_{afluente}}{TDH} \quad (6)$$

Diversas pesquisa têm observado que a produção máxima de hidrogênio é alcançada com o aumento significativo da taxa de carregamento orgânico. Porém, o aumento excessivo da TCO promove uma redução do rendimento de hidrogênio. Esse fato pode ser causado pela sobrecarga decorrente da elevada TCO aplicada. (LIN *et al.*, 2006; AMORIM, 2009; AMORIM, 2012; SANTOS *et al.*, 2014a;).

AMORIM (2009) observou um aumento linear da produção volumétrica de hidrogênio em função do aumento da TCO aplicada, obtendo um rendimento máximo de hidrogênio de 2,52 mol H₂.mol glicose⁻¹ quando o reator foi operado com TCO de 114,72 kg DQO.m⁻³.d⁻¹.

AMORIM (2012) observou também incremento do rendimento de hidrogênio 1,91 mol H₂.mol glicose⁻¹, quando aplicada uma TCO 126 kg.m⁻³.d⁻¹. Os dados mostraram que o rendimento da produção de hidrogênio sofreu acréscimo de 0,31 para 1,91 mol H₂.mol glicose⁻¹ com o aumento da TCO de 28 até 126 kg.m⁻³.d⁻¹, respectivamente. A partir desse ponto o aumento da TCO até 161 kg.m⁻³.d⁻¹ resultou na diminuição do rendimento de hidrogênio para 1,20 mol H₂.mol glicose⁻¹.

SHIDA *et al.*, (2012) obtiveram resultados semelhantes, tendo um aumento linear no rendimento da produção de hidrogênio dos reatores AFBR1 e AFBR2, obtendo um aumento de 1,38 para 2,18 mol H₂.mol glicose⁻¹ e de 0,96 a 1,78 mol H₂.mol glicose⁻¹, respectivamente, quando a TCO aumentou de 19,0-44,0 kg. DQO m⁻³ d⁻¹. Sendo obtido um rendimento máximo para uma TCO de 84,3 kg. DQO m⁻³ d⁻¹, com um valor máximo de 2,45 mol H₂ mol⁻¹ de glicose (SHIDA *et al.* 2012).

JUNIOR *et al.* (2014) avaliaram o efeito da carga orgânica sobre a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de fluxo ascendente, utilizando como substrato o bagaço de cana. A produção ótima de hidrogênio foi obtida com uma TCO de 84,2 kg. DQO. m⁻³ d⁻¹, tendo uma produção volumétricas de hidrogênio 1.117,2 mL-H₂. d⁻¹ L⁻¹ e um rendimento de e 2,4 mols H₂ molglicose⁻¹.

SANTOS *et al* (2014a), observaram o efeito da TCO aplicada em reatores termofílicos. Avaliando no reator 1 valores médios de TCO entre 60,0 e 360,0 DQO.m⁻³.d⁻¹ e no reator 2,

variando de 80,0 a 480,0 DQO.m⁻³.d⁻¹. Tal análise, verificou que a produção volumétrica de hidrogênio teve um incremento, devido ao aumento da TCO. Sendo alcançado uma produção de 0,45-1,49 L.H₂.h⁻¹ L⁻¹ (17.5-58.5mmol H₂.h⁻¹ L⁻¹) no reator alimentado com uma TCO de 15.000 m.L⁻¹, enquanto que no reator alimentado com uma concentração de 20,000 mg.L⁻¹, alcançou uma produção volumétrica de 0,54-1,20 L.H₂.h⁻¹ L⁻¹ (21,4-47,3 mmol H₂.h⁻¹ L⁻¹).

3.5.2 Tempo de detenção hidráulica (TDH)

Estudos tem demonstrado que o TDH exerce grande influência na produção de hidrogênio e ácidos orgânicos, este parâmetro é constantemente estudado a fim de obter a condição ótima, de modo que seja possível obter um maior rendimento na produção de hidrogênio (SANTOS *et al.*, 2014b; LUO *et al.*, 2010b; BARROS *et al.*, 2010)

O interesse na manipulação do TDH está relacionado com sua capacidade de inibir o crescimento de bactérias metanogênicas (WANG *et al.*, 2006; SHIDA *et al.*, 2009). CHEN *et al.* (2001) apresentaram como método de inibição da fase metanogênica da digestão anaeróbia a operação do TDH de entre 2 e 4 h, que contribui no arraste das arqueias metanogênicas dos reatores. O arraste desses microorganismos pode ser explicado pela velocidade específica máxima do crescimento (U_{max}) das arqueias metanogênicas suspensas, da ordem de 0,0167h⁻¹, ser inferior das bactérias acidogênicas, que é de aproximadamente 0,083 h⁻¹. Dessa forma, as arqueias metanogênicas são incapazes de manter uma população estável e acabam sendo eliminadas do sistema (CHEN *et al.*, 2001).

Em relação as condições ótimas para produção de hidrogênio, SHIDA (2008) utilizou um RALF para avaliar a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos e observou que a redução do TDH de 8 h a 1 h resultou no aumento da produção volumétrica de hidrogênio de 0,28 para 1,15 L.h⁻¹.L⁻¹, respectivamente. Enquanto que o rendimento de produção hidrogênio aumentou de 1,84 mol H₂.mol glicose⁻¹ para 2,29 mol H₂.mol glicose⁻¹, com a redução do TDH de 8 h para 2 h. Segundo o autor, o biogás não continha metano e o conteúdo máximo de hidrogênio foi de 37% em TDH de 2 h.

AMORIM (2012), obteve resultados semelhantes, obtendo um incremento da produção volumétrica de hidrogênio de 0,20 para 2,04 L.h⁻¹.L⁻¹ com a redução do tempo de detenção hidráulica de 8 h para 1 h, respectivamente. Também o rendimento se comportou de forma semelhante em estudos anteriores, onde é evidenciado o aumento do rendimento até certo ponto, que no caso foi na passagem do TDH de 8 (0,31mol H₂.mol glicose⁻¹ para 2 h (1,91mol H₂.mol glicose⁻¹), e, em seguida, observou-se uma redução no rendimento da produção de hidrogênio ao reduzir o TDH para 1 h (1,20mol H₂.mol glicose⁻¹).

3.5.3 Influência da Temperatura

A temperatura é um dos fatores mais importantes, pois influencia as atividades dos microrganismos, inclusive das bactérias produtoras de hidrogênio. Diversos trabalhos têm sido realizados e têm demonstrado que há uma determinada faixa de temperatura entre 25°C e 60°C em que se nota alta capacidade das bactérias produtoras de hidrogênio em produzir gás por meio da fermentação (WANG e WAN 2009).

WANG e WAN (2008) estudaram o efeito da temperatura na produção de hidrogênio em reatores em batelada inoculados com lodo de decantador primário de uma estação de tratamento de esgoto sanitário de Pequim e observaram que, ocorreu um acréscimo na produção de hidrogênio e na degradação do substrato, com o aumento da temperatura de 20°C para 40°C.

Existem diversos trabalhos que investigaram a produção de hidrogênio termofílico. Porém pode-se perceber que poucos estudos têm investigado o efeito da temperatura em reatores anaeróbios de leito fluidificado (Tabela 1).

Um aspecto importante que deve ser observado, é que o hidrogênio é um gás que apresenta baixa solubilidade em ambiente aquoso. Segundo GUWY *et al.* (1997), a solubilidade do hidrogênio é 0,017 mL H_2 ·mL⁻¹ em água a 1 bar e 37°C. Levando-se em consideração a Lei de Henry, temperaturas mais elevadas acabam reduzindo a solubilidade do gás na fase aquosa e, conseqüentemente, a interação do gás com os microrganismos presentes no processo. Isso desfavorece o consumo do gás para geração de outros produtos do processo fermentativo e aumenta a eficiência de remoção do biogás (SANTOS, 2014).

GALAVA *et al.* (2006) estudaram dois reatores contínuos de mistura completa, um a 35°C e outro a 55°C e observaram que em condições termofílicas ocorreu um melhor rendimento na produção de hidrogênio e na produção volumétrica de hidrogênio, quando comparados com o reator mesofílico. A produção volumétrica de hidrogênio obtida foi de 100 ml H_2 h⁻¹ L⁻¹g⁻¹ SSV para o reator termofílico e de 15 ml H_2 h⁻¹ L⁻¹g⁻¹ SSV para o reator mesofílico.

Para LUO *et al.* (2010a) a produção de hidrogênio em condições termofílicas (60 °C), a partir da mandioca foi provado ser mais eficiente do que a de condições de fermentação mesófilos (37°C) e extrema-termófilas (70°C). Para a temperatura de 70° C, foi verificado que os microrganismos necessitam de mais tempo para se adaptar à condição de temperatura extrema.

SANTOS *et al.* (2014a), obteve uma produção de 0,81 L de H_2 H⁻¹ L⁻¹, usando vinhaça de cana, a uma concentração de 20.000 mg.L⁻¹, para uma temperatura de 55°C. Pode-se observar que no estudo de Santos *et al* (2014a), obteve o dobro da produção, em comparação com a

produção de H_2 fermentativo em sistema mesófilos utilizando melaço (2000-10,000 $mg.L^{-1}$), que produziu 0,4 L de H_2 . $H^{-1} L^{-1}$, num estudo realizado por REN *et al.* (2008).

3.5.4 Substrato

WON *et al.* (2013), afirma que o rendimento de hidrogênio depende da concentração de carboidratos e da matéria orgânica, principalmente quando utilizado TDHs reduzidos e TCO elevadas para a fermentação do substrato. Concentrações elevadas do substrato poderão aumentar a capacidade da produção de H_2 (WANG e WAN, 2009), porém, para as concentrações muito elevadas de substrato essa capacidade poderá diminuir (SARIPAN e REUNGSANG, 2013)

Com isso, tem se buscado o equilíbrio de nutrientes necessários no intuito de possibilitar um incremento na produção de hidrogênio, pois é de entendimento que o excesso de nutrientes pode ocasionar a sobrecarga no sistema (AMORIM *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2014a). AMORIM *et al.*, (2012), que avaliou a produção de hidrogênio com substrato sintético (glicose) em RAFL mesofílico, em diferentes concentrações de substrato (2000, 4000, 10000 e 25000 $mg.L^{-1}$), obtendo um rendimento máximo de H_2 para uma concentração de 4000 $mg.L^{-1}$.

SANTOS (2014) avaliou diferentes concentrações (5000, 10000, 15000, 20000, 30000 $mg DQO.L^{-1}$) de substrato real (vinhaça), em RALF termofílico, obtendo um incremento do rendimento de H_2 (HY), com a diminuição concentrações afluentes.

SANTOS (2014) atribuiu essa característica a sobrecarga ao sistema, assim como resultado da maior disponibilidade dos compostos recalcitrantes/tóxicos presentes na vinhaça de cana-de-açúcar, refletindo negativamente neste parâmetro de avaliação da viabilidade de produção biológica de hidrogênio.

Tabela 1 - Trabalhos que utilizaram temperaturas termofílicas na produção de hidrogênio.

Tipo do reator	método de cultivo	Condições			Matéria prima/ substrato	Organismo / fonte de inóculo para a cultura mista	Produção de H		Vazão (mL/h)	Referência
		TDH (h)	Temp. (°C)	pH			ml- H ₂ / gVS	mol/C6 mol		
CSTR	Contínuo	2,86	72	6,7	Glicose	<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	-	3	12,4	DeVrije <i>et al.</i> (2007)
CSTR	Contínuo	3	58	6	Glicose	-	-	1,54	45,8	Koskinen <i>et al.</i> (2008)
UASB	Contínuo	0,75	60	5	Sacarose	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> PSU-2	-	1,3	152	O-Thong <i>et al.</i> (2008a, b)
UASB	Contínuo	24	70	5,1	Palha de trigo hidrolisado	-	89	-	1,52	Kongjan <i>et al.</i> (2010a, b)
CSTR	Contínuo	4	60	5,5	Glicose + água residuais do queijo	-	-	2,3	20,7	Kim and Lee(2010)
biofilm	Contínuo	3	55	5	Sacarose	-	-	1,59	4,66	Keskin <i>et al.</i> (2011)
Membrane bioreactor	Contínuo	4	60	5,5	Água residuais do queijo	Esgoto sanitário	-	1,45	34,25	Kim <i>et al.</i> (2011a, b)
Upflow anaerobic	Contínuo	2	55	5,5		Esgoto sanitário	-	1,9	3,81	Yu <i>et al.</i> (2002)
Semicontinuous	Contínuo	16	60	5,5	Manipueira	Lodo do tratamento da manipueira	56.7	-	6,2	Luo <i>et al.</i> (2010)
UASB	Contínuo	24	55		Melaço retirado o açúcar	-	159.6	-	7,76	Kongjan <i>et al.</i> (2011)
EGSB	Contínuo	6	70		Glicose	-	-	4,66	-	Abreu <i>et al.</i> (2010)

Fonte: PAWAR & NIEL, 2013.

3.5.5 Influência do potencial hidrogeniônico (pH)

O pH é outro importante fator que influencia a síntese de hidrogênio nos sistemas biológicos, pois o pH pode afetar tanto a atividade da hidrogenase quanto as rotas metabólicas. Estudos têm demonstrando que há uma faixa apropriada de pH entre 4,0 e 7,0 para a obtenção de hidrogênio. Quando se eleva o pH de 2,0 para próximo de 7,0 pode se notar um aumento da capacidade das bactérias produtoras de hidrogênio. No entanto, valores elevados de pH entre 10 e 14 podem diminuir a produção (WANG; WAN, 2009).

LUO *et al.* (2010a) operaram 3 reatores em diferentes faixas de pH, com cada reator com uma temperatura típica: 37°C, 60°C e 70°C respectivamente. Sendo verificado que com o pH inicial de 5-6, resultou em uma produção de hidrogênio mais, enquanto que para o pH inicial de 9 e 10, foi detectado a presença de metano no biogás.

Outra característica observada por LUO *et al.* (2010a) foi que a produção de ácidos obteve um aumento com o aumento do pH inicial, sendo o valor máxima na produção de hidrogênio alcançado quando o pH inicial estava entre 5 e 6. O aumento do pH estimulou a produção de ácido propiônico, onde esse pode consumir o hidrogênio. Sendo observado que, a produção de hidrogênio diminuiu com o aumento de inicial pH superior a 6.

3.6 Manipueira – O efluente líquido

O processamento da mandioca se dá em diferentes escalas dependendo do produto fim que se deseja obter. Nas casas de farinha, a mandioca é convertida em farinha e, nas fecularias, em fécula e amido, ou ainda em polvilho (por fermentação da fécula) (LAMAISON, 2009).

A manipueira apresentam características ácidas com um alto teor de matéria orgânica (carboidratos e proteínas solúveis) e sólidos suspensos (lipídios e carboidratos não-solúveis - amido ou celulose fibras). Além disso, a manipueira contém sais minerais e substâncias orgânicas tóxicas, como o cianeto e dióxido de enxofre (FAO, 2004).

O efluente gerado no processamento da mandioca (manipueira), quando lançado diretamente no meio ambiente sem o tratamento adequado, é uma fonte de poluição. Em muitas áreas a água residual é normalmente descartado além do muro "fábrica" em valas de beira de estrada ou campos e permitiu a fluir livremente, estabelecendo-se em depressões rasas. Eventualmente, isso vai infiltrar no subsolo ou fluxo em córregos (FAO, 2004)

Os efluentes resultantes do processamento da mandioca apresentam um potencial tóxico devido à presença de cianeto livre (CN-) e na forma molecular que se acumulam

nas folhas e raízes da planta. Na forma molecular pode ser encontrado sob a constituição de dois glicosídeos denominados linamarina e lotaustralina, sendo o primeiro mais abundante na composição da mandioca (LIED, 2012).

Segundo Silva (2009), o potencial poluidor da manipueira provém da elevada concentração de matéria orgânica. O autor afirma que a DQO da manipueira gerada em casa de farinha está entre 60 g.L⁻¹ e 100 g.L⁻¹. Nas fecularias, a diluição reduz a DQO para aproximadamente 6 g.L⁻¹ a 15 g.L⁻¹ (KUCZMAN, 2007 *apud* SILVA, 2009). A manipueira quando constituída da prensagem da massa ralada, a manipueira apresenta um conteúdo líquido solúvel da raiz, contendo cerca de 20 a 40g.L⁻¹ de carboidratos (WOSIACKI e CEREDA, 2002).

3.6.1 Produção de Hidrogênio a partir da manipueira

Por apresentar uma alta concentração de carboidratos, a manipueira vem sendo cada vez mais objeto de pesquisas, sendo também um substrato de baixo custo, renovável e abundante no setor agrícola (CAPPELLETTI, 2009).

Alguns estudos foram desenvolvidos com a finalidade de avaliar a produção de hidrogênio a partir da manipueira (LUO *et al.*, 2010a; CHENG *et al.*, 2011 WANG *et al.*, 2010, AMORIM, 2012).

LUO *et al.* (2010b) observaram que produção de hidrogênio sob condição termofílica (60°C), a partir da manipueira, obteve um rendimento máximo de 53,8 mL H₂.gSV⁻¹, obtendo um melhor rendimento, quando comparado com os valores sob as condições mesófilicos (37 °C) e extremotermofílico (70°C).

WANG *et al.* (2010) analisou, a produção de hidrogênio e metano termofílico, a uma temperatura de 60°C, sendo utilizado a manipueira como substrato, onde foi obtido um produção ótima de hidrogênio com um rendimento máximo de 74 mL.g total de carboidrato solúvel⁻¹.

CHENG *et al.* (2011) obtiveram uma produção de hidrogênio a partir de amido de mandioca, a uma taxa máxima de 351 mL H₂.g de amido⁻¹ (2,53 mol H₂.mol hexose⁻¹) e 334,8 mL H₂. L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Para este rendimento a concentração do substrato, temperatura de fermentação e pH foram otimizados como 10,4 g.L⁻¹, 31°C e 6,3, respectivamente.

3.7 Reatores Anaeróbios de Leito fluidificado

Os sistemas de alta taxa foram desenvolvidos diante da demanda crescente de estudos e pesquisas na área de tratamento anaeróbio. Esses sistemas têm como característica principal a capacidade de reter grandes quantidades de biomassa, de elevada

atividade, mesmo com a aplicação de baixos tempos de detenção hidráulica, resultando em reatores compactos em relação aos reatores anaeróbios de crescimento suspenso. Esses reatores podem ser classificados de acordo com o tipo de crescimento de biomassa no sistema em: reatores de crescimento microbiano disperso e crescimento microbiano aderido (CHERNICHARO, 1997).

O reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) corresponde ao sistema de alta taxa com crescimento microbiano aderido e consiste em um vaso contendo material suporte inorgânico. Esse material suporte é fluidificado pela velocidade ascendente do líquido gerada pelas taxas de escoamento de alimentação e recirculação. No topo do reator está localizado um separador que garante a separação do líquido, biogás e sólido (AMORIM, 2007).

A eficiência do processo de leito fluidificado é garantida pelo máximo contato entre o líquido e o material suporte, pela minimização da formação de canais preferenciais, empacotamento e retenção de gás, pela habilidade de controlar e otimizar a espessura do filme biológico, pela resistência difusional do filme líquido ser mínima devido ao movimento da partícula e velocidade do líquido, pela estabilidade e pelo fato de a remoção de DQO ser mais eficiente quando comparado com reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) (HICKEY E OWENS, 1981 *apud* SHIDA, 2008).

Existem diversos trabalhos que utilizaram reator anaeróbio de leito fluidificado e verificaram que sua utilização para produção de hidrogênio é tecnologicamente viável (Tabela 2)

Tabela 2 - Estudos de produção de hidrogênio com RALF (Fonte: Adaptado Amorim, 2012).

Condições			Inóculo Pré-tratamento	Material Suporte	Matéria prima /Substrato	HY* (mol H ₂ .mol substrato ⁻¹) TCO (kg DQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	Referência
T (°C)	pH	TDH(h)					
-	5,8 – 6,8	1 – 6 h	Lodo de ETE Ácido e térmico (70°C–30 min)	Imobilizado Gel de alginato	Sacarose 20 gDQO.L-	0,126-2,67 80-480	Wu <i>et al.</i> (2003)
-		2,2 – 8,9 h	Lodo de ETE Térmico 100°C–1 hora	Imobilizado Gel de silicone	Sacarose 5-40gDQO.L-1	1,83-4,98 13,5-436,4	Lin <i>et al.</i> (2006)
-	4	0,5 – 4 h	Lodo de ETE Térmico 105°C–45 min	Aderido Carvão ativado	Glicose 10 gDQO.L-1	0,94-1,19 60-480	Zhang <i>et al.</i> (2007)
-	3,5 – 4,39	8 – 1	Lodo de Suinocultura Térmico 90°C–10 min	Aderido Argila expandida	Glicose 2 gDQO.L-1	1,84-2,29 13,57-104,20	Shida (2008)
30 ± 1	3,5 – 4,39	8 – 1	Lodo de Suinocultura Térmico 90°C–10 min	Aderido Argila expandida	Glicose 2-25gDQO.L-1	0,96-2,49; 1,10-2,52; 0,48-1,32; 0,23-0,63 19,40-116,46; 41,08-273,26; 116,12-1010,38; 274,92-2247,90	Amorim <i>et al.</i> (2009)
40	-	6 – 2	Lodo de ETE Térmico 100°C–1 hora	Imobilizado Etileno-acetato de vinila	Sacarose 5-40gDQO.L-1	2,31-4,26 34,7-833,3	Lin <i>et al.</i> (2009)
30	4,44 – 5,95	8 – 1	Lodo de Suinocultura Térmico 90°C–10 min	Aderido Pneu triturado e PET	Glicose 4-5 gDQO.L-1	Máx. 2,25 17-445,83	Barros <i>et al.</i> (2010)
23-31°C	4,70-3,97		Lodo de Suinocultura Térmico 90°C–10 min	Argila Expandida		0,13-1,91	Amorim (2012)
55±1	4,87- 5,06	6 - 1	Lodo de ETE (vinhaça de cana de açúcar) Térmico 90°C–10 min	Argila Expandida	-	Máx 2,23 60-480	Santos <i>et al.</i> (2014)
55	4,61 - 5,06	8 - 1	Lodo de ETE (vinhaça de cana de açúcar) Térmico 90°C–10 min	Argila Expandida	-	5,73 52,7	Santos <i>et al.</i> (2014)

3.7.1 Material suporte

De acordo com KIDA *et al.* (1996) *apud* BARROS (2009), o material suporte é considerado a variável mais significativa no funcionamento do RALF. Para BARROS (2009), a superfície de materiais inertes é atrativa para o desenvolvimento das atividades metabólicas dos microrganismos.

A escolha do material suporte é de grande importância para o desempenho do reator anaeróbio de leito fluidificado, pois a formação do biofilme depende das características das bactérias, da vazão afluente e, também, do material suporte (KURODA *et al.*, 1988 *apud* AMORIM, 2009).

CHANG *et al.* (2002) examinaram três materiais suporte (carvão ativado, argila expandida e espuma de poliuretano) em ensaio em batelada no que diz respeito à retenção de biomassa e à produção de hidrogênio e observou que a argila expandida obteve um dos melhores desempenhos. Depois de um período de um ciclo de cultivo, as colunas empacotadas com carvão ativado, argila expandida e espuma de poliuretano acumularam aproximadamente 5,53 g SSV.L⁻¹, 1,85 g SSV.L⁻¹ e 0,94 g SSV.L⁻¹ de biomassa, respectivamente. Em relação à produção de hidrogênio o desempenho do reator com carvão ativado, argila expandida e espuma de poliuretano obtiveram 1.010,0 mL, 980,0 mL e 190,0 mL, respectivamente.

AMORIM *et al.* (2009) observaram que o reator anaeróbio de leito fluidizado, utilizando argila expandida mostrou-se eficiente para a produção de hidrogênio. A argila expandida tem uma boa aderência sobre as partículas de biomassa, especialmente quando operando com um baixo tempo de detenção hidráulica. A densidade de argila expandida junto à água facilita o movimento da cama, e é um material de baixo custo.

Ainda segundo AMORIM *et al.* (2009) o teor de hidrogênio aumentou significativamente como diminuição do TDH. Os ácidos acéticos e butílicos foram dominantes como metabolito solúvel, o que indica que a comunidade microbiana neste sistema RALF foi eficiente na produção de H₂. Atingindo um rendimento máximo na produção de hidrogênio de 2,49 mols H₂.mol de glicose⁻¹ para o TDH 2 h.

BARROS *et al.* (2010) obtiveram melhor desempenho da argila expandida em relação ao poliestireno na produção volumétrica de hidrogênio (1,21 L.h⁻¹.L⁻¹ e 1,90 L.h⁻¹.L⁻¹, respectivamente, no TDH de 2 h) e em relação ao rendimento máximo (2,59 mol H₂.mol⁻¹ glicose⁻¹ e 1,90 mol H₂.mol⁻¹ glicose⁻¹, respectivamente, no TDH de 1 h).

Neste trabalho foi adotada a argila expandida com material suporte pelos resultados de desempenho obtidos em trabalhos anteriores (AMORIM *et al.*, 2009;

BARROS *et al.*, 2010). Além disso por apresentar uma facilidade de aquisição e pelo seu baixo custo.

3.8 Considerações finais

Sabe-se que o hidrogênio é uma das soluções alternativas de energia limpa, pois libera apenas água na sua combustão. Além disso, apresenta uma alta eficiência energética. Tais características tornaram o hidrogênio uma das principais alternativas em substituição aos combustíveis fósseis.

Cada vez mais, pesquisas tem avaliado a produção biológica de hidrogênio, mostrando que bioenergia pode também tornar-se uma promissora fonte de energia limpa, pois juntamente com o tratamento de um efluente líquido, produz um biogás com valor energético possível de utilização. Muitos estudos por todo o mundo têm sido desenvolvidos, sendo avaliado os mais diversos parâmetros operacionais que interferem na produção de hidrogênio fermentativo.

Tendo visto, que algumas pesquisas tiveram um aumento na produção de hidrogênio termofílicos, quando comparados com as condições mesofílicas, é necessário compreender claramente os diferentes mecanismos envolvidos, pois ainda não foram feitos estudos analisando a eficiência da produção de hidrogênio termofílicos em reatores anaeróbios de leito fluidificado utilizando substrato real.

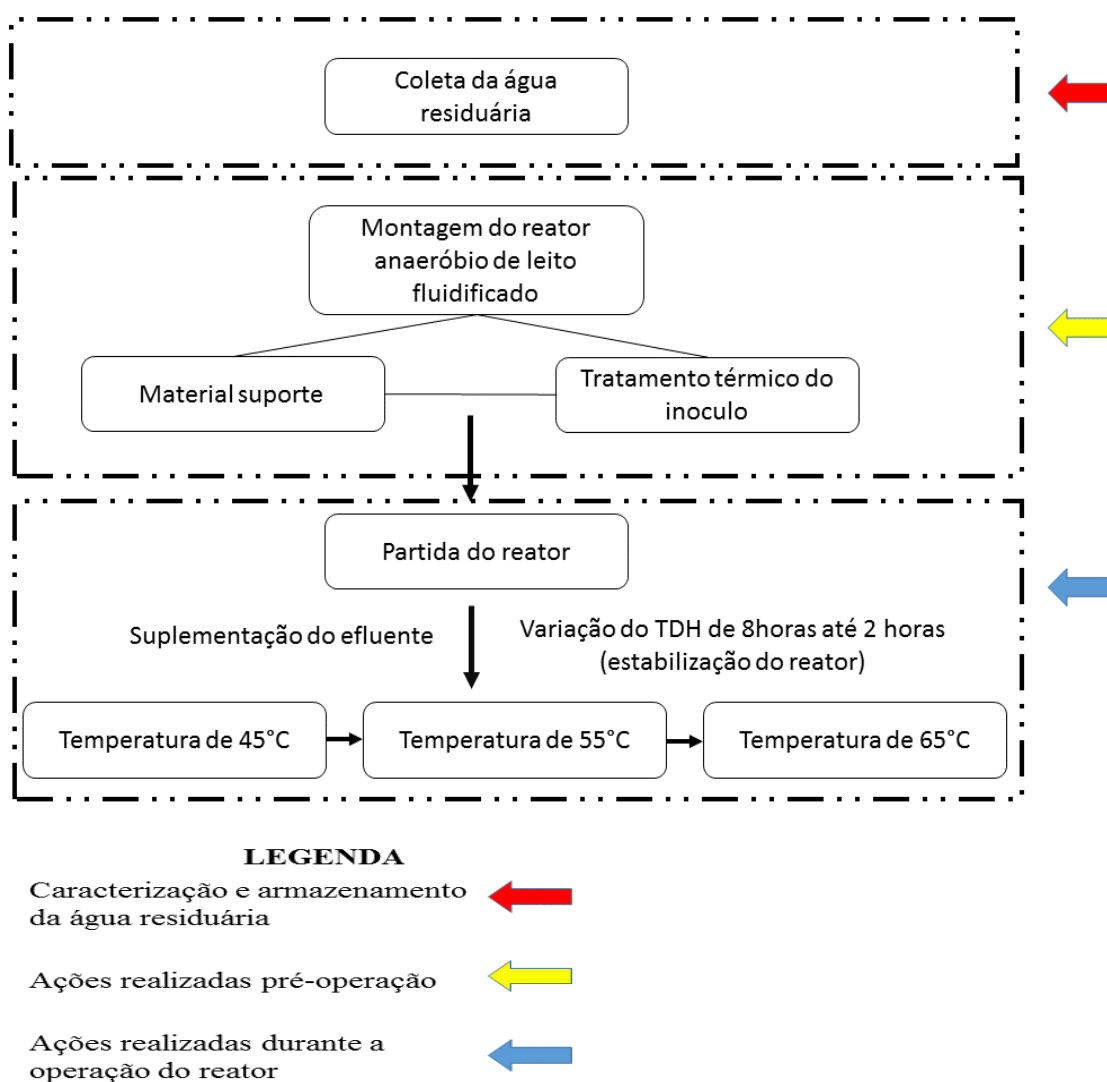
A manipueira como substrato para a produção de hidrogênio é interessante, pois é um resíduo rico em carboidratos, sendo também um produto gerado em grande quantidade no nosso estado. É de entendimento que fontes puras de carboidratos como a glicose, a sacarose e a lactose, podem tornar o processo economicamente-viável.

Dentro deste contexto, o grupo de pesquisa PPGRHS tem obtido resultados interessantes na produção de hidrogênio. Tendo realizados testes utilizando reatores anaeróbios de leito fluidificado, no ano de 2012. Foram realizados ensaios analisando configurações ideais (TDH, Concentração substrato, pH, TCO) para um maior rendimento na produção de hidrogênio. Assim, o presente trabalho se enquadra nesta realidade, utilizando a manipueira para produzir hidrogênio, sendo avaliada as temperaturas termofílicas, sendo este parâmetro, ainda não avaliado pelo grupo de pesquisa.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O fluxograma da Figura 2 apresenta, de forma resumida, a metodologia adotada no desenvolvimento deste trabalho

Figura 2 - Fluxograma da metodologia utilizada.



Fonte: Autor, 2016.

4.1 Água residuária – Manipueira

A água residuária do processamento da mandioca, a manipueira, foi obtida numa indústria de farinha de mandioca localizada no Estado de Alagoas, no município de Feira Grande (Figura 3), nas respectivas coordenadas: Latitude:9°51'10.72"S; Longitude: 36°40'40.45"O.

A escolha por uma matéria prima numa indústria de farinha de mandioca, justifica-se por este conter características mais reais, quando comparados a uma matéria-prima produzida sinteticamente, pois a água residuária sintética pode não representar com veracidade as características da manipueira obtida no processo industrial.

A manipueira foi armazenada em recipientes de 1 e/ou 2 L. Os recipientes foram mantidos em freezer a -15°C até o uso, quando descongelados estes foram diluídos para uma DQO de 4000 mg.L⁻¹ para então serem utilizados. A solução de alimentação foi

trocada diariamente. A utilização de uma DQO de 4000 mg.L^{-1} foi baseada no estudo de AMORIM (2009), que obteve um rendimento máximo para a concentração de 4000 mg.L^{-1} , quando avaliado diferentes concentrações do substrato na produção de hidrogênio.

Figura 3 - Coleta da Manipueira, no município de Feira Grande/AL.



Fonte: Autor, 2015.

4.1.1 Caracterização da Manipueira

A manipueira utilizada na pesquisa apresentou altas concentrações de carboidratos, em torno 72 g.L^{-1} . CAPPELLETTI (2009), encontrou uma concentração de açúcares totais em torno de 20 a 40 g.L^{-1} . AMORIM (2012), na caracterização realizada no seu estudo da água residuária utilizada, encontrou uma concentração de carboidratos em torno de 38 g.L^{-1} .

Para que a produção de hidrogênio a partir do processo fermentativo seja considerada viável ambientalmente é necessário que a água residuária utilizada obedeça alguns critérios. A principal característica que o substrato deve ter é ser rica em carboidratos. Além disso, deve-se optar por substratos que possuam concentração suficiente para que a fermentação e a recuperação da energia sejam energeticamente favoráveis (LAMAISON, 2009).

Após a coleta realizada no dia 18/05/2015 e 04/11/2015 foi realizada a caracterização da manipueira coletada. A caracterização foi realizada para os seguintes parâmetros: carboidratos, DQO, ácidos voláteis, pH, nitrogênio, sólidos totais, sólidos suspensos e sólidos fixos (Tabela 3).

A caracterização permitiu estimar a quantidade de água necessária para diluir a manipueira bruta, transformando-a em uma solução com DQO de 4000 mg.L^{-1} , sendo essa utilizada para alimentar o RALF.

Com a caracterização apresentada na Tabela 3, nota-se que a água residuária utilizada apresenta um potencial na produção de hidrogênio, já que é rica em carboidratos, cerca de 42% a mais do que revelado na literatura.

Tabela 3 - Caracterização da Manipueira.

Análises	Resultado (Data)	
	18/05/2015	04/11/2015
Ácidos Voláteis (g HAc.L ⁻¹)	1,96	4,03
Carboidrato (g.L ⁻¹)	77,43	73,42
Demanda Química de Oxigênio – DQO (g.L ⁻¹)	97,54	90,09
Nitrogênio Total (mg.L ⁻¹)	4074	5680,4
pH	5,4	5,92
Sólidos Suspensos Totais (mg.L ⁻¹)	3020	3200
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	1220	700
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1800	2500

Fonte: Autor, 2015.

A concentração de ácidos voláteis da manipueira utilizada nessa pesquisa foi em média de 2,99 g.L⁻¹. A presença de ácidos voláteis indica a possível produção de ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico, dentre outros, que são metabólitos formados na fermentação da glicose e pode interferir na produção de hidrogênio tanto positivamente (ácido acético e ácido butírico) quanto negativamente (ácido propiônico). Na cromatografia líquida realizada no afluente foi identificado a presença de ácido acético.

4.2 Tratamento Térmico do Inóculo

O lodo utilizado para inocular o RALF foi coletado de biodigestor que tratava resíduos de uma suinocultura localizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas.

Antes de ser utilizado, o lodo passou por um pré-tratamento térmico a fim de impedir o crescimento de microrganismos metanogênicos consumidores de hidrogênio e a permanência dos microrganismos formadores de esporos, as quais são as principais bactérias produtoras de hidrogênio (MAINTINGUER *et al.*, 2008). O Pré-tratamento térmico foi realizado de acordo com a metodologia proposta por MAINTINGUER *et al.* (2008). Essa metodologia é uma adaptação de KIM *et al.* (2006), e consiste no aquecimento prévio do lodo por 10 minutos a uma temperatura de 90°C e, posterior esfriamento em banho de gelo até que este atinja a temperatura de 25°C (Figura 4).

Figura 4 -Tratamento Térmico do Inoculo



(a) aquecimento prévio do lodo

(b) resfriamento em banho de gelo

Fonte: Autor, 2015.

4.3 Material suporte

A argila expandida foi escolhida para a formação da biomassa, por ser um material barato que é resistente à abrasão e que possui uma elevada rugosidade para imobilização da biomassa, sendo usado com sucesso como um transportador de suporte para a produção de H₂ em reatores anaeróbios de leito fluidificado (AMORIM *et al.*, 2009; BARROS, 2010; AMORIM, 2012).

Além disso, a densidade aparente de argila expandida é ligeiramente maior do que a de água (1,06 g cm⁻³), facilitando a expansão do leito e reduzindo custos de operação.

Amorim *et al.*, 2009, observou a formação de células, principalmente em formas semelhantes a haste e esféricas, e alguns endosporos, cobrindo a superfície e cavidades da argila expandida, mostrando que a argila expandida tem uma boa aderência sobre as partículas de biomassa, especialmente quando operando com um baixo tempo de retenção hidráulica.

Sendo utilizada com as características físicas observadas na Tabela 4.

Tabela 4 -Características físicas da argila expandida (cineasta)

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

Fonte: ORTEGA *et al.* (2001).

A argila expandida foi adquirida como pedras para uso de jardinagem e a seleção das pedras foi feita observando a densidade delas em relação a densidade da água. Para

isso, inicialmente a argila expandida foi lavada. Após a lavagem, foram colocadas em recipiente contendo água para separar aquelas que possuem densidade maior que a da água. Com isso, foram selecionadas apenas as pedras que afundam no recipiente. Após essa prévia seleção, as pedras foram trituradas e peneiradas. Nesta nova seleção de pedras, foram escolhidas apenas as pedras que estavam na faixa granulométrica compreendida entre 2,8 e 3,35 mm.

Finalizada a classificação por faixa granulométrica, as partículas de argila expandida foram novamente lavadas e separadas pelas a que possuíram maior densidade. Por fim, as pedras selecionadas foram separadas para o uso como material suporte no RALF.

A velocidade mínima de fluidificação e a vazão de recirculação para a argila expandida foram calculadas a partir de dados experimentais de velocidade superficial e perda de carga baseados em AMORIM (2009).

4.4 Suplementação da água residuária

Durante as primeiras fases, entre o TDHs 8h-4h do reator foi necessário a suplementação do mesmo, com o objetivo de acelerar o crescimento microbiano, não tendo uma preocupação com a estabilidade do reator. A suplementação foi realizada com 2 g de glicose.L⁻¹, sendo mostrado na Tabela 5 as fases que foram suplementadas.

Tabela 5 - Período no qual o RALF foi suplementado com glicose.

TDH (h)	Temp (°C)	Período suplementado (dias)	Período de operação (dias)
8	45	Sem suplementação	10
6		Sem suplementação	19
4		11	23
	45	23	51
2	55	Sem suplementação	21
	65	Sem suplementação	19

Fonte: Autor, 2016

4.5 Reator anaeróbio de leito fluidificado

Neste trabalho, foi utilizado um reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), sendo operado em fluxo contínuo. Esse reator foi preenchido com um material inerte (argila expandida) a fim de agregar biomassa. Nesses reatores, as bactérias desenvolvem-se aderidas ao material inerte, que foi mantido suspenso pelo resultado do movimento vertical ascendente da massa líquida (BUSATO, 2004).

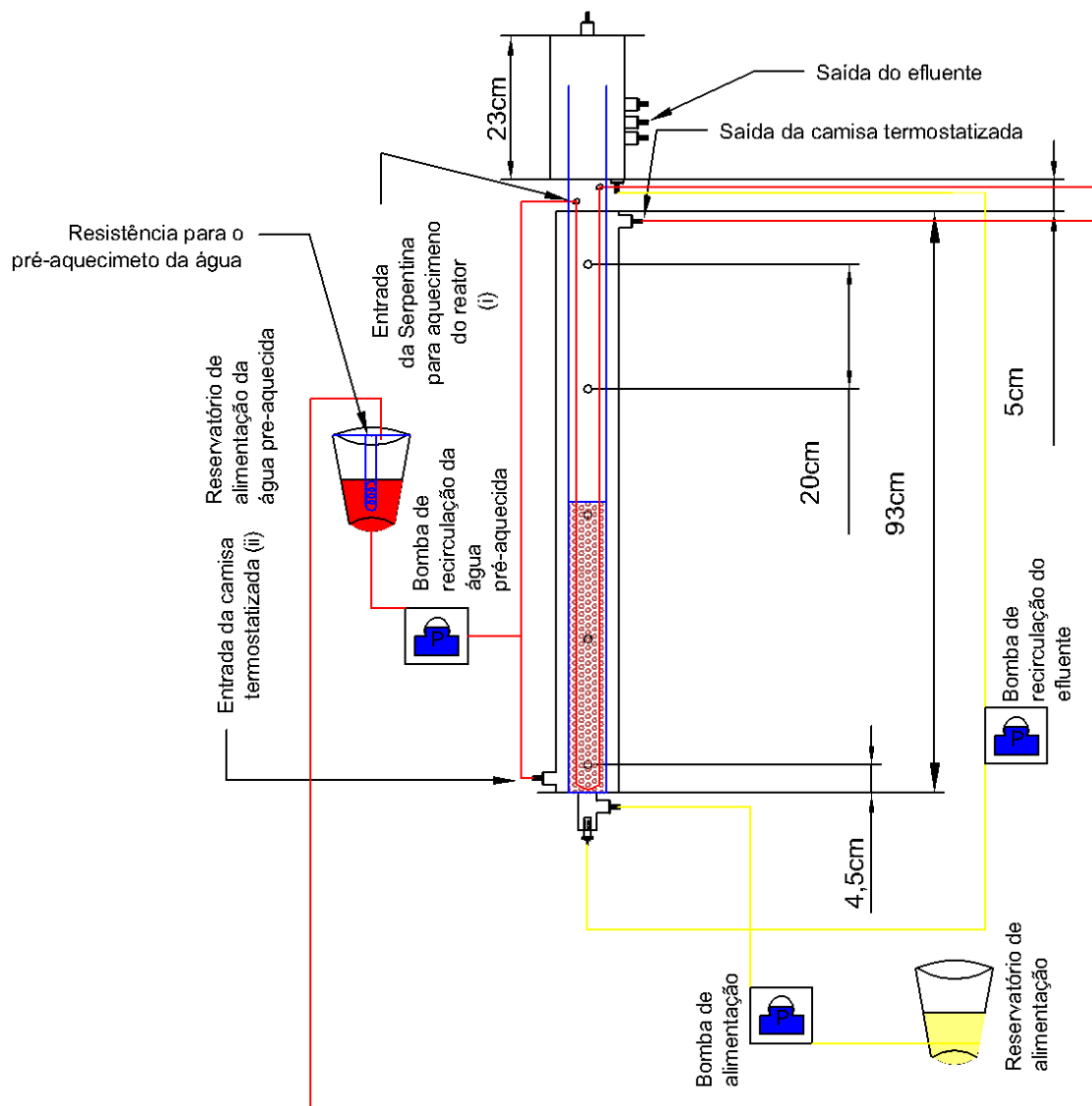
O reator anaeróbio de leito fluidificado utilizado foi construído em acrílico transparente com uma espessura de 4 mm, possuindo uma altura de 110 centímetros. O

reator possui 3 saídas laterais para coleta das amostras de partículas, localizadas a 20 cm, 30, cm, 45 cm, 65 cm ao longo do reator, conforme descrito na Figura 5. O reator utilizado nesta pesquisa apresentou um volume total de 2,75 L e um volume útil de 2 L.

4.5.1 Sistema de Aquecimento do reator

O sistema de aquecimento do reator foi realizado mediante a recirculação de água pré-aquecida por dois caminhos, são eles: (i) serpentina dentro do reator, a fim de manter a temperatura termofílica do reator de forma uniforme, no interior da qual circula água proveniente de banho ultratermostatizado; (ii) uso de camisa de termostatização, no interior das quais circula água proveniente de um banho ultratermostatizado (Figura 5).

Figura 5 - Esquema e dimensões do RALF utilizado.



Fonte: Autor, 2016.

4.6 Operação do reator

Antes de inocular o RALF, esse foi preenchido por partículas de argila expandida (cinasita) selecionadas na faixa granulométrica de 2,8 a 3,35 mm, conforme mostrado na Figura 6. Proporcionalmente ao estudo feito por AMORIM (2009), o volume ocupado com o material suporte foi o volume correspondente a uma altura de 50 cm da base do reator (aproximadamente 750 cm³), correspondendo a uma de aproximadamente 0,500 kg.

Figura 6 - RALF preenchido com argila expandida.



Fonte: Autor, 2016.

A adaptação da população microbiana foi feita no próprio reator, onde foi utilizando a argila expandida como meio suporte para a adesão microbiana. Para a adaptação da população microbiana, o reator foi operado em circuito fechado (batelada), com a recirculação do lodo suíno, após receber o tratamento térmico descrito no item 4.2.

Para isso, foi necessário definir as condições fluidodinâmicas do reator, na qual foram utilizados dados experimentais de velocidade mínima de fluidificação (V_{mf}) para partículas de argila expandida que serviram para a determinação da velocidade de recirculação que garantam as condições de fluidificação (1,3 vez V_{mf}) (AMORIM *et al.*, 2009).

Esse parâmetro foi obtido a partir do trabalho de AMORIM *et al.* (2009) que utilizou um reator semelhante, sendo adotado o valor da velocidade de mínima fluidificação para a partícula de argila expandida de $1,24 \text{ cm.s}^{-1}$, que gerou uma vazão de $1,612 \text{ cm.s}^{-1}$ (1,3 vez V_{mf}). Para regular a vazão da bomba de recirculação, foi utilizada uma proveta com volume conhecido, sendo marcado o tempo que essa proveta levou até encher a um volume conhecido.

Definida a vazão de recirculação ($1,612 \text{ cm.s}^{-1}$), foi acionada a bomba dosadora, deixando o sistema permanecer em recirculação como se estivesse em batelada. Nesse momento, o sistema foi alimentado com uma solução contendo água e inóculo (lodo suíno) para que ocorresse a adaptação no próprio reator.

O inóculo foi desenvolvido em recipiente tampado (20 L) contendo 15 L de solução de água e inóculo. A proporção da solução foi composta por 10% de lodo suíno e 90% de água. O sistema foi alimentado pela solução água e lodo suíno sob uma vazão de $343,75 \text{ mL.h}^{-1}$, que foi a vazão correspondente ao TDH de 8 h (Figura 7) (AMORIM, 2009).

Figura 7 - Reator sendo inoculado.



Fonte: Autor, 2016.

O reator foi inoculado com lodo do biodigestor pré-tratado, conforme descrito no item 4.2. Neste experimento adotou-se o sistema de recirculação entre o barrilete e o reator, com o objetivo de iniciar o crescimento da biomassa no material suporte no próprio reator. Deste modo, o reator foi operado em circuito fechado (modo batelada) durante 48 horas. Ao final de 48 horas, o reator passou a ser operado com alimentação contínua de manipueira uma DQO afluyente de 4000 mg.L⁻¹, sendo então operado de acordo com o descrito na fase (i) e (ii) abaixo:

A operação do reator pode ser dividida em duas fases: (i) variação do TDH; fase (ii) variação de temperatura. Vale lembrar que a operação do reator foi iniciada a uma temperatura de 45°C.

Na fase (i) ocorreu a variação do TDH de 8 h até 2 h, sendo sempre adotada a DQO afluyente de 4000 mg.L⁻¹. No total, ocorreram quatro variações do TDH: 8h, 6h, 4h e 2h (Tabela 6).

Esta fase buscou apenas proporcionar um aumento progressivo da carga orgânica (para não causar inibição pelo substrato) até o TDH desejado de 2 h. Pois de acordo com outro trabalho, o rendimento máximo de hidrogênio é alcançado com o TDH de 2 h (AMORM, 2009; AMORIM, 2012).

Tabela 6 - Vazão, TDH e TCO Teórica adotados na fase de mudança do TDH.

TDH (hora)	Temp (°C)	Vazão (mL. h ⁻¹)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	Tempo de operação (dias)
8	45	343,75	12,0	10
6		458,33	16,0	20
4		687,5	24,0	23

Fonte: Autor, 2016

Na fase (ii) foi avaliada a influência de temperaturas termofílicas na produção de hidrogênio, nesta fase foi mantido um TDH de 2 h. A temperatura variou de 45°C a 65°C, sendo mantida também uma DQO afluyente de 4000 mg.L⁻¹. Nesta fase ocorreram 3 (três) variações de temperatura: 45°C, 55°C e 65°C (Tabela 7).

Tabela 7 - Vazão, TDH e TCO Teórica adotados na fase de mudança de temperatura.

TDH (h)	Temperatura (°C)	Vazão (mL. h ⁻¹)	TCO (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	Tempo de operação (dias)
2	45	1375	48,0	51
	55			21
	65			19

Fonte: Autor, 2016.

Após a partida do reator, análises foram realizadas periodicamente para observar o consumo de substrato pelos microrganismos.

Optou-se por não controlar o pH durante a operação do reator para observar o comportamento do sistema. Ao longo do experimento, a média do pH efluente do reator foi próximo a $4,0 \pm 0,50$.

A fase de estabilização do reator durou 53 dias, onde foram analisados 4 ciclos experimentais sendo que cada ciclo teve um TDH correspondente, são eles: No TDH de 8 h (10 dias), 6 h (20 dias), 4 h (23 dias), respectivamente 2. Já na fase de variação da temperatura o reator foi monitorado por 94 dias, na qual permaneceu 52 dias na temperatura 45°C e 21 dias nas temperaturas de 55°C e 65°C.

O controle do TDH de cada fase foi feito através do acompanhamento da vazão correspondente a cada TDH. A vazão teórica de cada fase foi determinada pela divisão entre o volume do reator (2.750 mL) e o TDH correspondente. A Tabela 8 mostra as vazões teóricas e as vazões reais aplicadas ao longo do experimento.

Tabela 8 -Vazão Teórica e Real durante as fases operacionais.

TDH (hora)	Temp (°C)	Vazão Teórica (mL. h ⁻¹)	Vazão Real (mL. h ⁻¹)
8	45	343,75	262,6
6	45	458,33	323,60
4	45	687,5	502,5
2	45,55,65	1375	1050,1

Fonte: Autor, 2016.

4.7 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas periodicamente. As determinações de pH, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram feitas de acordo com o APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998).

4.7.1 Hidrogênio

Para a produção volumétrica de hidrogênio foi medida por meio do MilliGas-counter da Ritter, com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 5 mol.L⁻¹ precedendo o aparelho para que o CO₂ presente no biogás fique retido na solução e apenas o gás hidrogênio seja medido.

Baseado no trabalho de Peixoto (2008), o procedimento de medição da vazão volumétrica de hidrogênio foi realizado através da quantificação do volume do gás pelo

medidor milligasCounter durante 1 minuto por 10 vezes consecutivas. O volume foi dado pela média aritmética dos valores obtidos.

4.7.2 Carboidratos

Foi utilizado 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.

As medições de absorbância das amostras de carboidratos a 490 nm foram realizadas através do espectrofotômetro HACH modelo DR-2500.

4.8 Cromatografia

4.8.1 Determinação da Produção de Hidrogênio

Foi utilizado o cromatógrafo, Shimadza GC-2010-Plus, equipado com detector de condutividade térmica. A coluna utilizada foi a Supelco Carboxen 1010Plot (30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,53 mm) e detector de condutividade térmica, o gás de arraste foi o argônio sob fluxo de 21,9 cm/s⁻¹. As temperaturas do forno, da coluna e do detector foram de 30°C, 200°C e 230°C, respectivamente. (MAINTINGUER *et al.*, 2008).

4.8.2 Determinação de Ácidos e Álcoois

A concentração dos ácidos orgânicos voláteis e dos álcoois foram determinadas através do cromatógrafo a gás modelo GC-2010 do fabricante Shimadzu, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna ZET de 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 µm. A metodologia utilizada foi a desenvolvida pelo Laboratório de Processos Biológicos – Setor de Cromatografia do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) (MAINTINGUER *et al.*, 2008).

As condições cromatográficas foram:

-temperatura do injetor: 250°C, razão de Split 1.

-Temperatura do forno: 35°C (0') 2°C.min⁻¹. 38°C (0') 10°C.min⁻¹. 75°C (0') 35°C.min⁻¹. 120°C (1') 10°C.min⁻¹. 170°C (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.

As condições e matérias utilizados para injetar a amostra no cromatógrafo para a análise de Alcool e ácidos foram as seguintes:

- Seringa de 1 mL;
- Pré-aquecimento da seringa de 1 mL a uma Temperatura da seringa: 90°C;
- Volume injetado: 400 µL;
- Temperatura de incubação da amostra: 100°C;
- Tempo de incubação da amostra: 13 minutos.

As condições e matérias utilizados para injetar a amostra no cromatógrafo para a análise de ácidos por éter foram as seguintes:

- Seringa de 1 mL;
- Resfriamento da seringa de 1 mL a uma Temperatura da seringa: -10°C;
- Volume injetado: 1mL;
- Resfriamento da amostra por 15 minutos a uma temperatura de -10°C

4.9 Frequência das análises químicas e microbiológicas

As frequências das análises químicas foram determinadas a partir da influência de cada parâmetro no desempenho do reator (Tabela 9).

Tabela 9 -Frequência de coleta e análise de amostras para monitoramento do reator.

Análises	Frequência
pH	Diária
Glicose/DQO	3 x semana
Conteúdo do biogás (H ₂ e CO ₂)	3 x semana
Ácidos orgânicos e álcoois	3 x semana
Vazão	diária
ST, SST e SSV	3 x semana

Fonte: Autor, 2016.

4.10 Calculo dos Principais Parâmetros

Os cálculos dos principais parâmetros podem ser observados nas equações abaixo:

$$HY = \frac{\text{Quantidade(mol)}H_2 \text{ produzido}}{\text{Quantidade(mol)}\text{glicose consumida}} \quad (7)$$

$$\text{remoção glicose(\%)} = 100 \frac{(\text{Glicose}_{Afluente} - \text{Glicose}_{Efluente})}{\text{Glicose}_{Afluente}} \quad (8)$$

$$TCO_{Teórica \text{ aplicada}} = \frac{DQO_{Afluente}}{TDH} \quad (9)$$

$$TCO_{Real \text{ aplicada}} = \frac{DQO_{Afluente}}{(A_{cilindroHL})/Vazão} \quad (10)$$

$$TCO_{Real \text{ removida}} = \frac{DQO_{Afluente} - DQO_{Efluente}}{(A_{cilindroHL})/Vazão} \quad (11)$$

4.10.1 Balanço de Carbono

Para determinar o balanço de carbono, foram utilizadas as relações estequiométricas de oxidação da glicose, do ácido acético, do ácido butírico e do ácido propiônico, da biomassa, do etanol e do metanol para calcular a DQO efluente teórica, de acordo com as equações abaixo.

DQO teórica total é dada pelo somatório da DQO teórica da biomassa e da glicose remanescente com as DQO teórica dos metabólitos produzidos durante o experimento.

$$DQO_{Total} = DQO_{Teórica\ da\ glicose} + DQO_{Teórica\ biomassa} + DQO_{Teórica\ metabólitos} \quad (12)$$

Ou seja,

$$DQO_{Total} = a \left(\frac{mmol.acético}{1} \right) \cdot 64 \frac{mgDQO}{mmol.acético} + b \left(\frac{mmol\ butírico}{1} \right) \cdot 160 \frac{mgDQO}{mmol.butírico} + c \left(\frac{mmol.propiônico}{1} \right) \cdot 112 \frac{mgDQO}{mmol.propiônico} + d \left(\frac{mmol.etanol}{1} \right) \cdot 96 \frac{mgDQO}{mmol.etanol} \quad (13)$$

Onde:

a , b , c e d são as concentrações medidas do acético, butírico, propiônico e etanol, respectivamente.

A diferença entre a DQO medida e a DQO baseada nos metabólitos solúveis produzidos (Equação 4) pode ocorrer possivelmente devido à existência de outros metabólitos solúveis não identificados na análise cromatográfica realizada (AMORIM, 2009).

$$DQO_{outros} = DQO_{Efluente\ medida} + DQO_{Teórica\ total} \quad (14)$$

Para determinar o balanço de carbono, foram utilizadas as relações estequiométricas de oxidação da glicose, do ácido acético, do ácido butírico e do ácido propiônico, da biomassa, do etanol para calcular a DQO efluente teórica, de acordo com (AMORIM, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo foram apresentados os resultados obtidos nesta pesquisa. Assim, foi explanado através de gráficos e tabelas o desempenho do reator anaeróbio de leito fluidificado na produção de hidrogênio a partir da manipueira em temperaturas termofílicas. As análises foram correspondentes a cada fase de operação do reator, sendo demonstrados o comportamento dos parâmetros observados em função da mudança de temperatura e também do tempo de detenção hidráulica.

5.1 pH

A variação do pH pode ser observada na Tabela 10. Foi observado que o nas três fases de variação de temperatura o pH afluente apresentou uma variação entre 3,52 a 3,68, enquanto que o pH efluente variou de 3,3 a 3,62.

Pode observar que com o aumento da temperatura o pH efluente obteve uma diminuição. Tal variação pode ser visto pela Figura 8.

Tabela 10 - Variação do pH ao longo das fases operacionais.

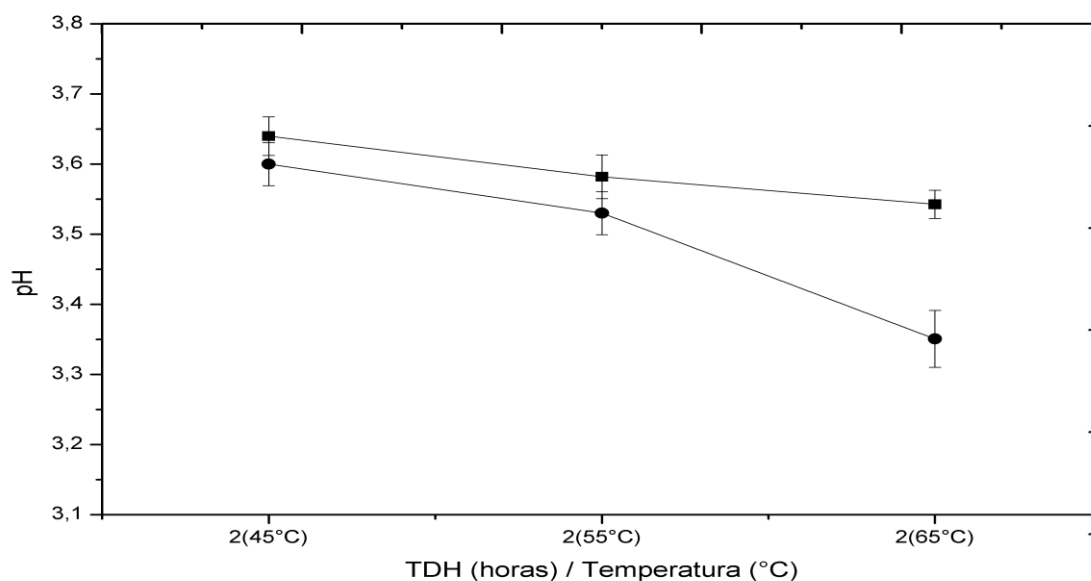
TDH (horas)	Temp (°C)	pH afluente	pH efluente
2	45	$3,68 \pm 0,029$	$3,62 \pm 0,035$
	55	$3,58 \pm 0,014$	$3,54 \pm 0,012$
	65	$3,52 \pm 0,012$	$3,3 \pm 0,01$

Fonte: Autor, 2016.

Ainda não há uma definição quanto ao pH ótimo para produção termofílica de hidrogênio. LUO *et al*, 2010a, avaliaram o efeito do pH na produção de hidrogênio mesofílico (37°), termofílico (60°C) e hiper-termofílico (70°C), observaram que o pH 6, foi o que apresentou um rendimento máximo para uma temperatura de 60°C.

AMORIM (2012), operando RALF sob condições mesofílicas, obteve rendimentos máximos na produção de hidrogênio com pH máximo em torno 4,3. SANTOS (2014), que operou RALF termofílico, também obteve rendimentos máximos com pH afluente e efluente médios de 4,3 e de 4,1.

Figura 8 -Variação do pH afluente (■) e pH efluente (●) ao longo das fases de operação do reator.



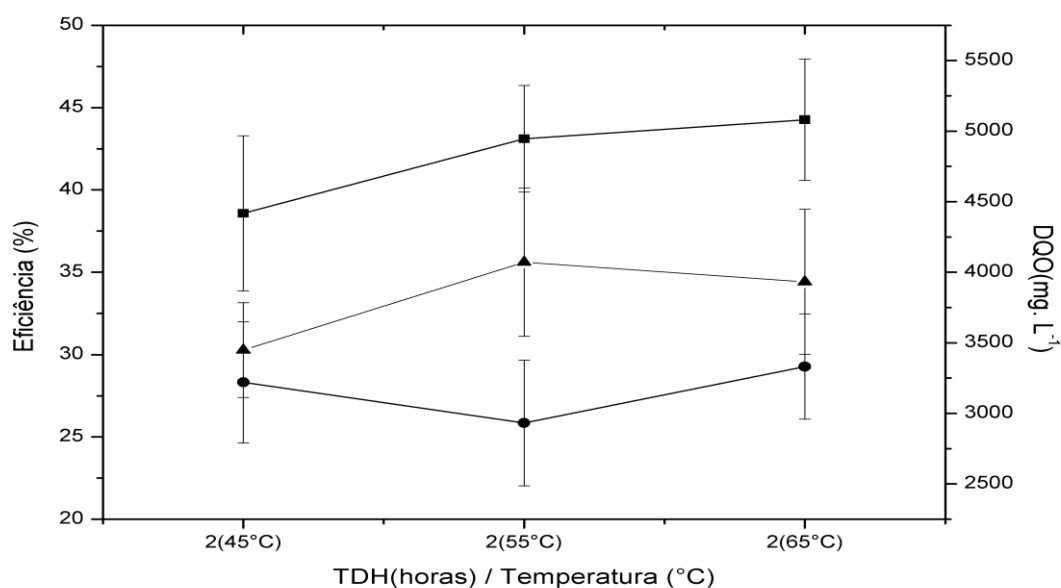
Fonte: Autor, 2016.

5.2 DQO

A Figura 9 apresenta as concentrações da DQO ao longo das temperaturas adotadas para a produção de hidrogênio e a eficiência de remoção. Pode-se observar que a DQO afluente apresentou uma variação de 4619-5080 mg.L⁻¹, enquanto que a DQO efluente não 2932-3332 mg.L⁻¹.

Quando observado a eficiência na remoção de DQO, percebe-se que quando ocorreu um aumento da temperatura de (45°C-55°C) foi obtido a eficiência máxima de 41% na remoção de DQO, quando realizado um novo aumento da temperatura para 65°C, ocorreu uma queda de 7% na eficiência de remoção de DQO. Esse valor de remoção é o esperado em reatores acidogênicos utilizados na produção de hidrogênio. AMORIM (2009) obteve taxa de remoção de DQO semelhante a observada nessa pesquisa.

Figura 9 - Variação da DQO afluyente (■), DQO efluente (●) e DQO removida (▲).



Fonte: Autor, 2016.

Na Tabela 11 são apresentados os valores de DQO afluyente e efluentes, com a sua respectiva eficiência de remoção.

Tabela 11 - DQO afluyente e efluente da manipueira, e taxa de remoção durante operação o RALF.

TDH (h)	DQOafluyente (mg.L ⁻¹)	DQOefluente (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
2(45°C)	4619,39 ± 549	3221 ± 430	30,28
2(55°C)	4553,01 ± 378	2932 ± 445	35,61
2(65°C)	5080,30 ± 430	3332 ± 372	34,42

Fonte: Autor, 2016.

5.3 Carboidratos

A Tabela 12 apresenta a variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose afluyente e efluente nas temperaturas termofílicas utilizadas.

Foi observado que a concentração de carboidratos afluyente variou de 1270 na temperatura de 45°C a 1327 mg.L⁻¹ na temperatura de 65°C.

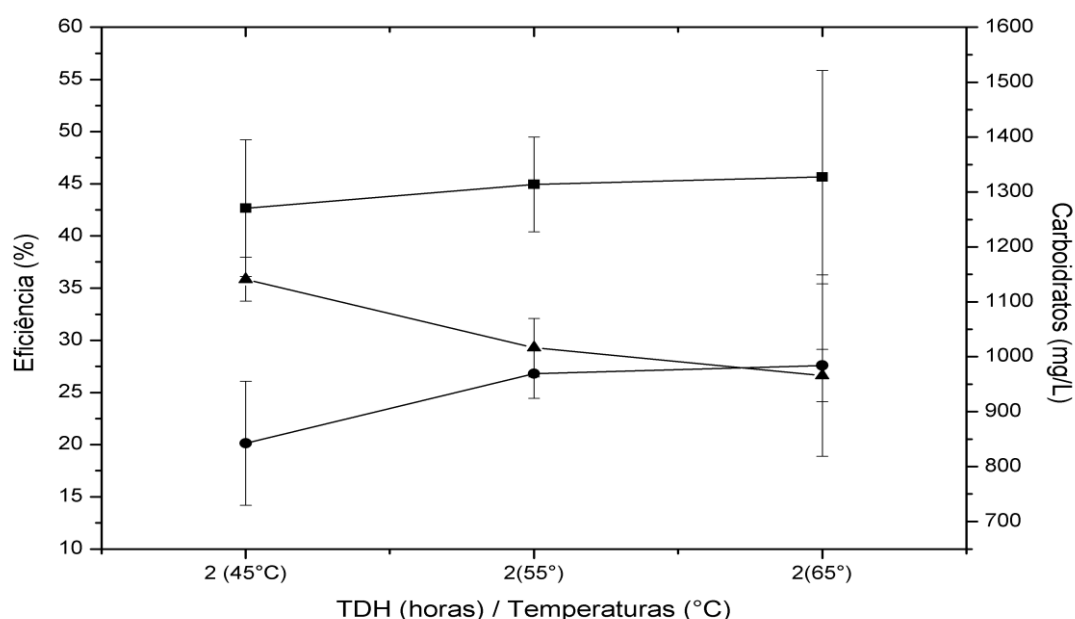
Tabela 12 - Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose.

TDH (h)/Temperatura (°C)	Afluyente (mg.L ⁻¹)	Efluente (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
2 (45°C)	1270,53 ± 124,56	842,55 ± 112,81	36
2(55°)	1313,89 ± 86,44	969,24 ± 44,823	29
2(65°)	1327,38 ± 194,28	984,04 ± 165,27	27

Fonte: Autor, 2016.

O RALF obteve uma redução máxima na temperatura de 45°C, obtendo uma remoção de carboidratos de 35%. A menor remoção de carboidratos foi observado no TDH de 2 h para uma temperatura de 65°C, obtendo uma taxa na remoção de carboidratos em torno de 27% (Figura 10).

Figura 10 - Variação de carboidrato afluente (■), carboidrato efluente (●) e eficiência na remoção de carboidratos (▲) ao longo da fase de operação do reator.



Fonte: Autor, 2016.

Durante a fase de variação de temperatura, de 45-65°C, a um TDH de 2 h o rendimento variou de 1,24-1,66 mol H₂.mols de glicose⁻¹. Quando comparados com os rendimentos obtidos em temperaturas mesofílicas, utilizando substrato real (1,91mol H₂.mols de glicose⁻¹) (AMORIM, 2012) e substrato sintético (2,94 mol H₂.mols de glicose⁻¹) (AMORIM *et al*, 2009), nota-se um melhor rendimento na produção de hidrogênio para as temperaturas mesofílicas. Tal fato pode ser explicado pela concentração de carboidratos no substrato, sendo observado nessa pesquisa uma concentração em torno de 1300 mg.L⁻¹, em quanto que AMORIM (2012) observou uma concentração de carboidratos em torno de 3400mg.L⁻¹ e uma eficiência de conversão em torno de 65%. Enquanto que AMORIM (2009), utilizou uma concentração de glicose de 4000 mg.L⁻¹.

5.4 Sólidos Suspensos: Totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV)

A Tabela 13 apresenta a concentração dos sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) nas amostras afluente e efluente ao longo do experimento e seus respectivos desvios padrão.

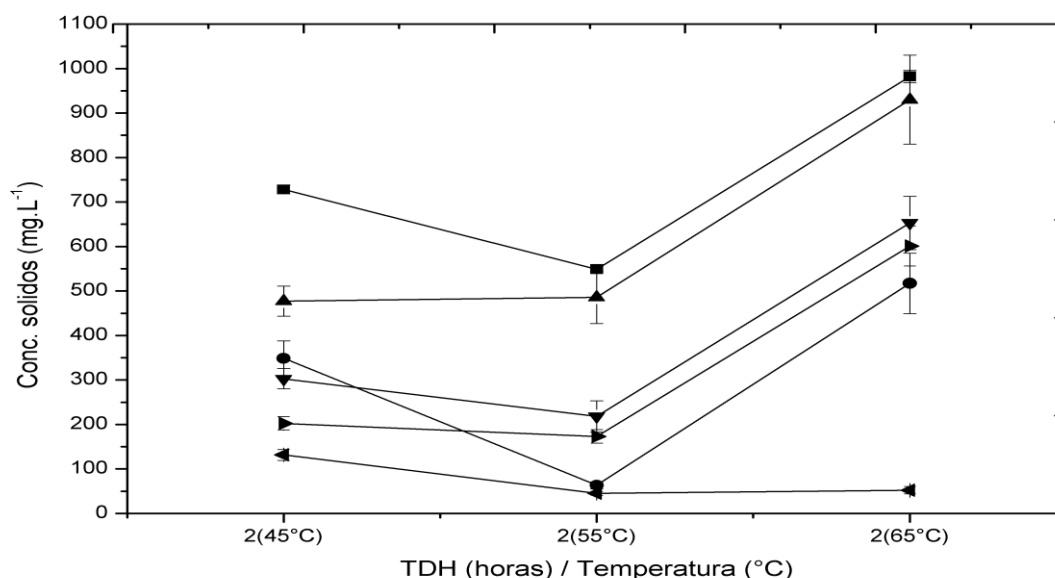
Tabela 13 -Variação da concentração dos SST, SSF e SSV no Afluente e no Efluente.

TDH (horas)	SST (mg.L ⁻¹)	SSF(mg.L ⁻¹)	SSV(mg.L ⁻¹)	
2 (45°C)	728 ± 10	349 ± 39	477 ± 34	Sólidos Afluente
2 (55°C)	549 ± 6,1	63 ± 8	486 ± 59	
2 (65°C)	982 ± 14,1	517 ± 68	930 ± 100	
2 (45°C)	303 ± 23	131 ± 12,2	203 ± 15	Sólidos Efluente
2 (55°C)	218 ± 35	45 ± 4,5	173 ± 15	
2 (65°C)	653 ± 60,1	52 ± 8,1	601 ± 45	

Fonte: Autor, 2016.

Na Figura 11 é mostrada a concentração SST, sendo obtido um valor mínimo de 549 mg.L⁻¹ na temperatura de 55°C, enquanto que a concentração máxima de SST foi de 982 mg.L⁻¹ na temperatura de 65°C.

Figura 11 - Variação da concentração sólidos suspensos totais afluentes (■), suspensos voláteis (▲) e suspensos fixos (●) e sólidos suspensos totais efluente (▼), suspensos voláteis (▷), suspensos fixos (◁) ao longo da operação do reator.



Fonte: Autor, 2016.

Já o SSF afluente, apresentou uma variação de 453 mg.L⁻¹, entre o valor mínimo, a uma temperatura de 55°C e o valor máximo a uma temperatura de 65°C. Enquanto que no efluente a concentração esteve entre 45mg.L⁻¹, na temperatura de 55°C e 131mg.L⁻¹, na temperatura de 45°C.

A concentração dos SSV afluente variou entre 477 mg.L⁻¹, na temperatura de 45°C, a 930 mg.L⁻¹, na temperatura de 65°C. Enquanto que no efluente a variação foi de 173 mg.L⁻¹, na temperatura de 55°C, a 601 mg.L⁻¹, na temperatura de 65°C.

Pode-se observar que a concentração de sólidos suspensos presente nesse estudo, foi de cerca de 1691 mg.L⁻¹, quando comparados com Amorim, 2012, a concentração de

sólidos chega a atingir o triplo da concentração obtida por Amorim, 2012 (656 mg.L⁻¹) e quase 4 vezes mais que a concentração encontrada por Santos, 2014 (406 mg.L⁻¹). No contexto da produção de biohidrogênio, a concentração de sólidos suspensos presentes na manipueira representa um problema, uma vez que será necessário elevado tempo de contato a fim de hidrolisar os carboidratos particulados (Nasr *et al.*, 2011). Isso explica as reduzidas taxas de remoção de carboidratos totais obtidas neste estudo, cerca de até 36% para um tempo de detenção hidráulico de 2 h.

5.5 Rendimento na Produção de Hidrogênio

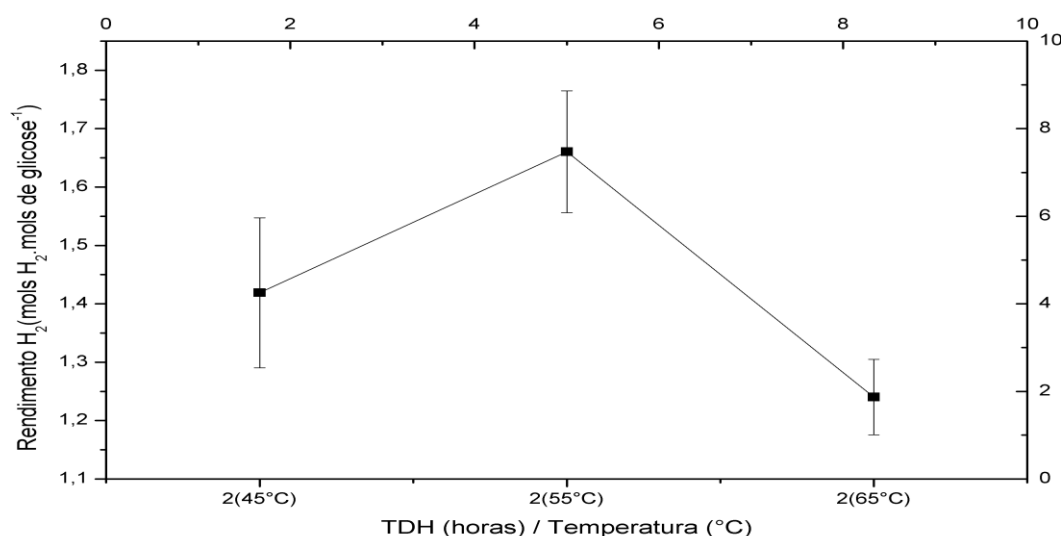
Um critério frequentemente usado para avaliar o potencial para a aplicação biotecnológica de um substrato é a eficiência de sua conversão no produto desejado. A eficiência de conversão constitui-se no número de moles de hidrogênio produzido em relação à quantidade teórica que poderia ser obtida se todo o substrato fosse utilizado para a produção do hidrogênio (CAPPELLETTI, 2009). Sabe-se que essa conversão pode produzir uma conversão teórica máxima de hidrogênio até 4 mols H₂.mol glicose⁻¹.

De acordo com os dados apresentados na Figura 12 os rendimentos de hidrogênio obtidos no reator apresentaram uma variação de 1,24 a 1,66 mol H₂.mol de glicose⁻¹. O rendimento mínimo ocorreu na temperatura de 65°C, enquanto que o máximo ocorreu no para uma temperatura de 55°C, todos a um TDH de 2 h.

Pode ser observado pela Tabela 14, que apresenta os valores de produção de hidrogênio, nas diferentes temperaturas aplicados. Sendo observado que com o aumento da temperatura de 45°C para 55°C no TDH de 2 h, ocorreu um incremento de 15% no rendimento de hidrogênio. O mesmo não ocorreu quando a temperatura foi elevada de 55°C para 65°C, sendo observado uma redução de 25% no rendimento de H₂, passando de um rendimento de máximo de 1,66 mol H₂.mol de glicose⁻¹ para 1,24 mol H₂.mol de glicose⁻¹.

KIM *et al.* (2002) explicam que no processo termofílico, ocorre o aumento da metabolização de sólidos orgânicos e aumento da separação líquido-sólido. Podendo aumentar o crescimento microbiano e a hidrólise de partículas sólidas, e a solubilidade do H₂ diminuída, aliviando o efeito inibitório causado pela alta pressão parcial do H₂ (WEILAND, 2010).

Figura 12 - Rendimentos de H_2 (■) no reator RALF ao longo das fases de operação.



Fonte: Autor, 2016.

Pode-se observar que o rendimento máximo de 1,66 mol H_2 .mol de glicose⁻¹ obtido nessa pesquisa, foi inferior ao obtido por AMORIM (2012), 1,91 mol H_2 .mol. glicose⁻¹, a um TDH de 2 h, em RALF mesofílico a partir de glicose como fonte orgânica. Tal fato pode ser atribuído a diversos fatores, um deles é a concentração de sólidos suspensos, como explicado anteriormente os sólidos suspensos presentes na manipueira representa um problema, pois será preciso um elevado tempo de contato (TDH) a fim de hidrolisar os carboidratos particulados.

Tabela 14. Valores de produção de hidrogênio utilizando diferentes taxas de carregamento orgânico e TDH.

TCO _{Teórica} Aplicada (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	TCO _{Real} Aplicada (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	DQO real aplicada (mg.L ⁻¹)	TDH (horas)	Rendimento H_2 HY* (mol H_2 . mol glicose ⁻¹)	Conversão H_2 (%)
48	114	4417,03	2(45°C)	1,4	18 ± 3
48	117	4945,26	2(55°)	1,66	28 ± 5
48	121	5080,30	2(65°)	1,24	20 ± 5

Fonte: Autor, 2016.

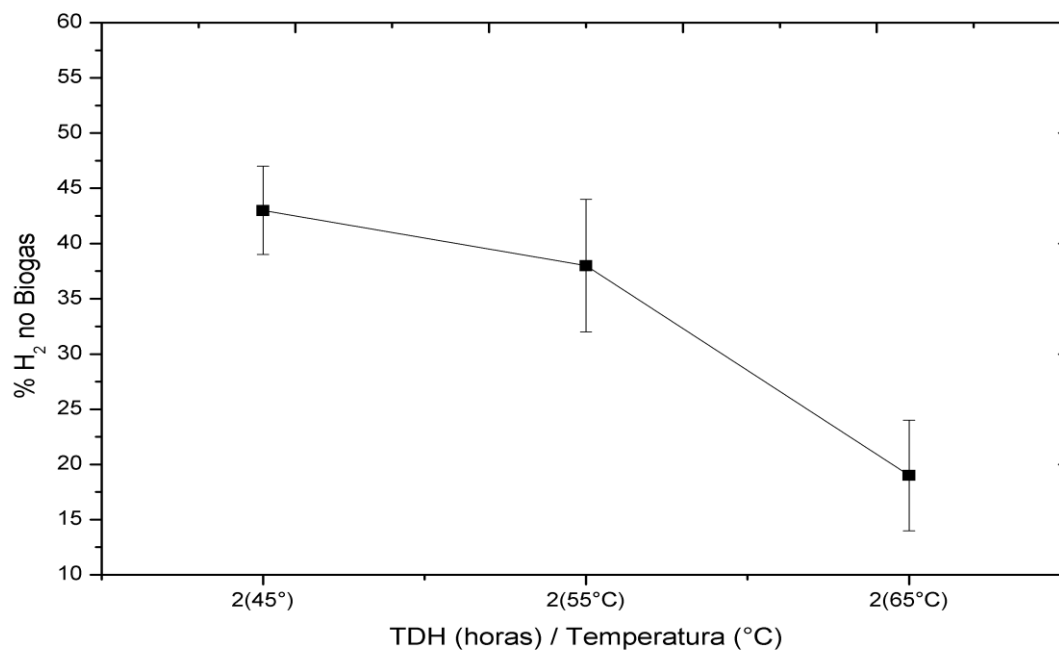
Em relação a conversão da manipueira em hidrogênio, foi obtido uma conversão máxima de 28%. Novamente comparada com AMORIM (2012) que avaliou a produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leite fluidificado, esse obteve uma eficiência na conversão da manipueira em hidrogênio em torno de 48% (1,91 mol H_2 .mol glicose⁻¹) no TDH de 2 h.

CAPPELLETI (2009) obteve eficiência na conversão de manipueira em hidrogênio utilizando uma concentração próxima a utilizada nesse estudo (5000 mg.L⁻¹) em torno de 60% (2,41 mols H_2 .mol glicose⁻¹) em reator em batelada.

5.6 Produção Volumétrica

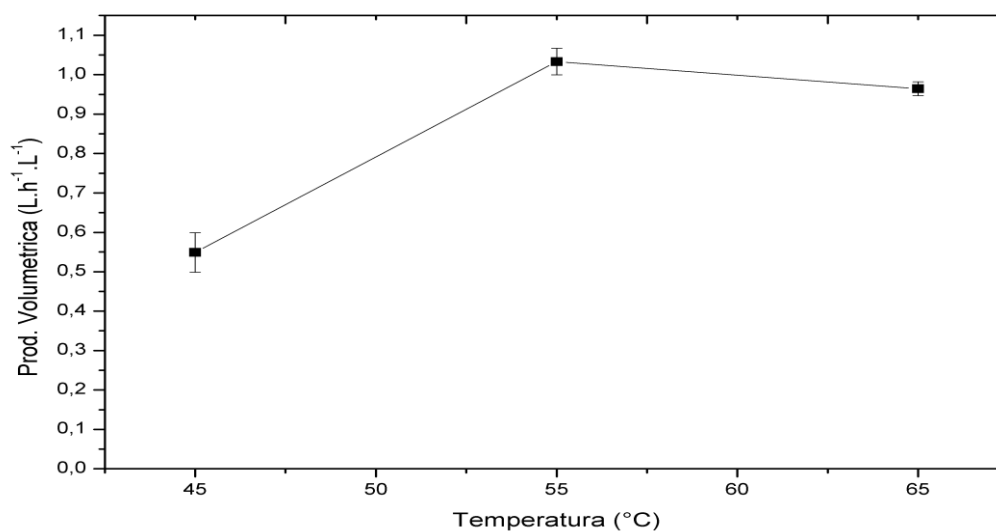
Os dados das produções volumétricas e da porcentagem de hidrogênio no biogás, estão apresentados na Tabela 15, sendo suas variações observadas pela Figura 13 e Figura 14.

Figura 13 - Porcentagem de Hidrogênio (■) no Biogás durante toda a operação do reator.



Fonte: Autor, 2016.

Figura 14 - Produção volumétrica (■) obtida durante a variação da temperatura.



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 15 - Produção volumétrica, porcentagem de hidrogênio no biogás.

TCO _{Real} Aplicada (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	DQO real aplicada (mg.L ⁻¹)	TDH (horas)	HPR Produção Volumétrica H ₂ (L.h ⁻¹ .L ⁻¹)	H ₂ no biogás (%)
114	4417,03	2(45°C)	0,54 ± 0,05	43 ± 5
117	4945,26	2(55°)	1,03 ± 0,03	38 ± 6
121	5080,30	2(65°)	0,97 ± 0,01	19 ± 5

Fonte: Autor, 2016.

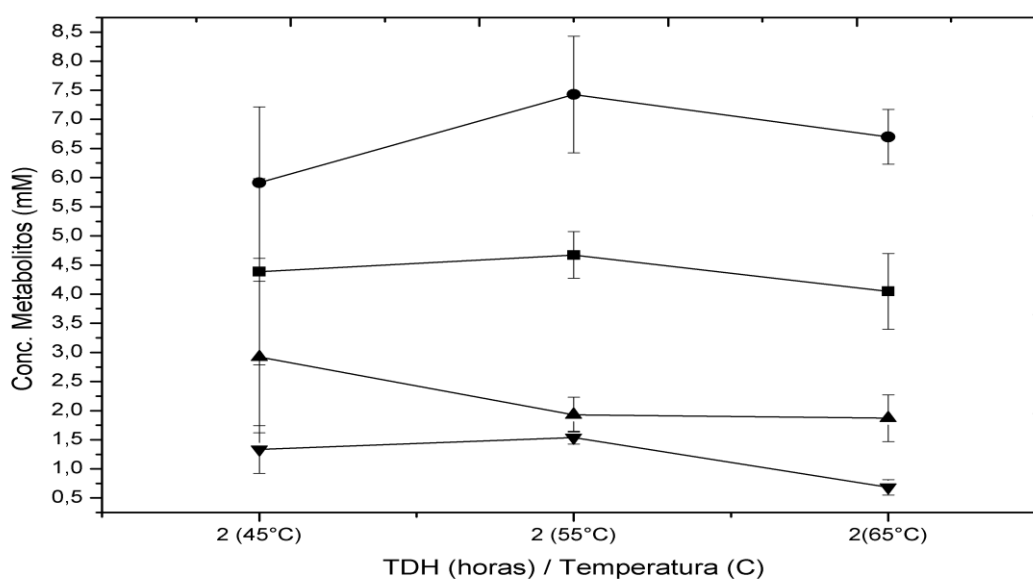
A produção volumétrica sofreu um incremento de aproximadamente 50% com o aumento da temperatura de 45-55°C. Sendo a HPR máxima de 1,03 L.h⁻¹.L⁻¹ obtida quando o reator estava sendo operado a uma temperatura de 55°C.

O aumento da produção volumétrica verificados nesse estudo podem estar relacionados com as vantagens operacionais obtidas com o aumento da temperatura. AKUTSU *et al.* (2009) relataram que a produção de H₂ pode ser aumentada em razão do favorecimento de transferência líquido-gás do H₂, resultando em valores elevados de produtividade. Sendo também observado por WEILAND (2010), que em temperaturas termofílicas, a solubilidade do H₂ diminuída, aliviando o efeito inibitório causado pela alta pressão parcial do H₂ (OH *et al.*, 2011).

5.7 Rotas Metabólicas Observadas

Os metabólitos líquidos produzidos durante a operação do RALF podem ser observados pela Figura 15. Sendo observado a presença dos seguintes metabolitos líquidos: ácidos acético, butírico e propiônico e etanol.

Figura 15. - Variação da concentração metabolitos produzidos Etanol (■), ácido acético (●) ácido butírico (▲) ácido propiônico (▼) ao longo da operação do reator.



Fonte: Autor, 2016.

O Ácido acético foi o metabólito observado em maior quantidade, sendo observado em todas as fases de operação do reator. A concentração deste metabólito variou de 354 mg.L⁻¹ (5,91mM), na temperatura de 45°C, até o valor máximo de 445,7 mg.L⁻¹ (7,4 mM), para a temperatura de 55°C. AMORIM (2012) justificou essa característica pelo fato de que a rota metabólica que gera esse ácido ser a mais favorecida em relação às demais, já que a energia livre de Gibbs é superior.

HASYIM *et al*, 2011, observou comportamento semelhante na produção de hidrogênio sob condições extrema-termofílica, onde rota principal na produção de hidrogênio foi a do ácido acético.

Neste estudo, foi observado que o rendimento máximo atingiu 1,66 mol H₂.mols de glicose⁻¹, sendo verificado que o ácido acético foi o metabolito com a maior porcentagem, cerca de 47,7%. Altas concentrações de ácido butírico ou acético podem ser indicativas de elevada produção de hidrogênio (HAWKES *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2009).

O resumo das concentrações de todos os metabólitos gerados durante a operação do RALF pode ser observado na Tabela 16.

Tabela 16 - Concentração dos metabolitos produzido.

TDH (horas) Tempe- ratura	Etanol			Ác. Acético			Ác. Butírico			Ác. Propiônico		
	mM		mg.L ⁻¹	mM		mg.L ⁻¹	mM		mg.L ⁻¹	mM		mg.L ⁻¹
2(45°C)	4,4	± 1,6	201,8	5,9	± 1,3	354,7	2,9	± 1,3	257,2	1,3	± 0,41	98,7
2(55°C)	4,7	± 0,4	214,9	7,4	± 1	445,7	1,9	± 0,3	170,0	1,5	± 0,11	113,8
2(65°C)	4,1	± 0,65	186,3	6,7	± 0,47	401,9	1,9	± 0,4	164,7	0,7	± 0,13	50,5

Fonte: Autor, 2016.

AMORIM (2009) também utilizou a glicose como substrato e observou uma variação na produção de ácido acético entre 3,76 mM (TDH 6 h) e 8,87 mM (TDH 2 h). O autor também obteve uma representativa produção de ácido butírico (4,66 mM, no TDH de 8 h, e 6,60 mM, no TDH de 2 h). A produção de etanol foi em torno de 1,16 mM, no TDH de 1h, e 2,14 mM, no TDH de 4 h.

SANTOS (2014), observou que com a aplicação do TDH de 2 h, ocorreu o acúmulo de ácido acético, de 127,7 para 1033,8 mg L⁻¹, com diminuições no conteúdo e rendimento de H₂, ou seja, de 50,8 para 42,8% e de 4,14 para 3,11 mmol H₂.g DQO_{adicionada}⁻¹, respectivamente. A formação de ácido acético por meio da via metabólica da homoacetogênese, ou seja, conversão de H₂/CO₂ em acetato, ocorre devido ao consumo de hidrogênio e de gás carbônico (Saady, 2013).

LUO *et al.* (2010c), também observaram um incremento na concentração de ácido acético em reator CSTR termofílico para a produção de H_2 a partir de águas residuárias de destilarias de álcool. Tal estudo constatou a homoacetogênese, porém os autores observaram uma produção de H_2 de $69,6 \text{ mLgSV}^{-1}$, em reator termofílico, enquanto que no reator mesofílico, a produção de H_2 foi inferior, de $14,0 \text{ mLgSV}^{-1}$.

Outro fato observado, foi que a produção do metabolito etanol ocorreu em todas as fases da operação do RALF, variando de $186,3 \text{ mg.L}^{-1}$ ($4,1\text{mM}$) a $214,9 \text{ mg.L}^{-1}$ ($4,7\text{mM}$). Tal característica indica a possibilidade de produção de hidrogênio através da rota metabólica que produz ao mesmo tempo o etanol e o hidrogênio.

A presença do etanol em todas as fases de monitoramento do RALF, pode ser explicada por conta do pH está abaixo de 5,00 ($4,3-3,2$). Segundo Terrancino&Kashket (1986) *apud* SHIDA (2008), a troca do metabolismo acidogênico para o solventogênico ocorre em pH abaixo de 5,00.

A maior produção de ácido propiônico de $113,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ($1,5 \text{ mM}$) foi observada na temperatura de 55°C . Contudo, tal produção, de ácido propiônico nessa fase não impediu a produção de hidrogênio, pois também ocorreu um aumento na produção de ácido acético, atingindo seu valor máximo de $445,7 \text{ mg.L}^{-1}$ ($7,4 \text{ mM}$).

Nota-se que com o aumento da temperatura de 55°C para 65°C , ocorreu notável redução de 55% na concentração de ácido propiônico, o mesmo ocorreu com a concentração de ácido acético e etano, porém em menor proporção. As reduções desses metabolitos podem justificar a diminuição do rendimento obtida na temperatura de 65°C .

Tal fato, também foi observado por LUO *et al.* (2010a), que com o aumento da temperatura de 60°C para 70°C , as concentrações de ácido propiônico e butirato diminuiu acentuadamente enquanto que as concentrações de ácido acético e etanol foram semelhantes com as concentrações apresentadas para a temperatura de 60°C .

SANTOS (2014) explica que que as concentrações elevadas e moderadas de ácido butírico e de ácido acético, podem direcionado a produção via fermentação do tipo butírica. ROY *et al.* (2012) sob condições termofílicas, obtiveram este tipo de fermentação a partir de águas residuárias de destilarias de álcool, atingindo rendimento de hidrogênio de $2,7 \text{ mol } H_2 \text{ mol glicose}^{-1}$.

LUO *et al.* (2010a), observaram para a temperatura termofílica de 60°C , a produção de ácido acético e o propiônico, não obtendo um incremento na produção, quando comparadas com os valores obtidos em temperaturas mesofílicas.

De modo geral, pode observar neste estudo, que o rendimento da produção de H₂ acompanhou a produção a concentração de metabolitos gerados, sendo observado no rendimento máximo (1,66 mol H₂.mol glicose⁻¹) as maiores concentrações dos metabolitos responsáveis pela conversão do substrato, neste caso a glicose (ácido acético e butírico) em hidrogênio.

5.8 Balanço de Carbono

Para calcular o balanço de carbono, calculou-se a DQO efluente teórica com base nas relações estequiométricas para oxidação da glicose, do ácido acético, do ácido butírico e do ácido propiônico, da biomassa, e do etanol (AMORIM, 2012). A Tabela 17 apresenta os valores da DQO teórica da glicose remanescente, dos metabólitos solúveis, da biomassa, sendo apresentado a diferença entre a DQO teórica e DQO media durante a operação do RALF.

Foi observado que a diferença entre a DQO efluente medida e a DQO teórica total variou de 770 (65°C) a 968 mg.L⁻¹ (55°C). AMORIM (2012) observou uma diferença máxima entre as DQOs de 810,20 mg.L⁻¹, utilizando glicose como substrato na concentração de 4000 mg.L⁻¹. Já AMORIM (2009), encontrou uma diferença que variou entre 25 e 1259 mg.L⁻¹, também utilizou a concentração de glicose de 4000 mg.L⁻¹.

Os dados observados na literatura, assim como os obtidos nessa pesquisa, apontam para possível produção de outros metabólitos não detectados como o ácido isobutírico, ácido capróico, e entre outros.

Tabela 17 - Média das DQOs teóricas dos metabólitos, DQO da biomassa e DQO efluente medida.

TDH (horas)	DQO efluente (mg.L ⁻¹)	DQO glicose (mg.L ⁻¹)	DQO bimassa (mg.L ⁻¹)	DQO Ác. Acético (mg.L ⁻¹)	DQO Ác. Butírico (mg.L ⁻¹)	DQO Etanol (mg.L ⁻¹)	DQO Ác. Propiôni co (mg.L ⁻¹)	DQO teórica (mg.L ⁻¹)	DQO outros (mg.L ⁻¹)
2(45°C)	3221	899	272	278	26	867	39	2381	840
2(55°C)	2932	1034	232	187	27	449	35	1964	968
2(65°C)	3332	1050	807	227	31	410	37	2562	770

Fonte: Autor, 2016.

6 CONCLUSÕES

Os resultados dessa pesquisa indicam que a utilização de um substrato real, a manipueira, em reator anaeróbio de leito fluidificado para produção de hidrogênio apresentou rendimento máximo da produção de hidrogênio máximo de 1,66 mol H₂.mols de glicose⁻¹.

Foi obtido um incremento no rendimento da produção de hidrogênio com o aumento da temperatura de 45°C para 55°C. Obtendo um aumento da produção de hidrogênio de aproximadamente 14%. Os dados mostraram que o rendimento da produção de hidrogênio sofreu acréscimo de 1,24 para 1,66 mol H₂.mol glicose⁻¹ com o aumento da de temperatura de 45°C para 55°C.

A temperatura de 55°C mostrou ser a de melhor desempenho na produção de hidrogênio, sendo obtido para essa temperatura o rendimento máximo de 1,66 mol H₂.mols de glicose⁻¹. Além disso, quando realizado o aumento para a temperatura de 65°C ocorreu uma redução de 26% na produção de hidrogênio, atingindo o valor mínimo observado de 1,24 mol H₂.mols de glicose⁻¹.

A manipueira foi utilizada de forma efetiva como fonte de carbono para a produção termofílica de hidrogênio, sendo testadas concentrações afluente em torno de 4000 mg DQO L⁻¹), mediante a diminuição do tempo de detenção hidráulica, de 8 h a 2 h. Ocorreu um aumento do rendimento de hidrogênio conforme foi reduzido.

Foram encontrados os seguintes metabolitos: ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol. Sendo observado que a rota do ácido acético foi a que sobressaiu quando obtido o rendimento máximo de hidrogênio.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

-Estimar faixas mais próximas do TDH ótimo para buscar melhores resultados na produção de hidrogênio termofílicos, na melhor faixa de temperatura termofílica encontrada;

-Avaliar a interferência do pH no rendimento de hidrogênio, na melhor faixa de temperatura termofílica encontrada;

-Avaliar a utilização de um efluente com menor concentração de carboidratos na diluição da manipueira;

-Analisar outros tipos de material suporte, podendo esse servir como solução alcalinizante do meio;

-Estudar o efeito de outros tipos de tratamento do inóculo na produção de hidrogênio a partir da manipueira em RALF;

- Estudar o efeito de outros tipos de tratamento do inóculo na produção de hidrogênio a partir da manipueira em RALF.

8 REFERÊNCIAS

- ABREU, A. A.; ALVES, J. I.; PEREIRAMA, K. D.; ALVES M. M.; ANGELIDAKI, I. Engineered heat treated methanogenic granules: a promising biotechnological approach for extreme thermophilic biohydrogen production. *Biores Technol* 101(24):9577–9586 2010.
- AMORIM, E. L. C. Desempenho de reator anaeróbio de leito fluidificado operado sob condições de aumento progressivo da carga orgânica no tratamento de fenol. 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) –Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- AMORIM, E. L. C.; BARROS, A. R.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; SILVA, E. L. Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 34, p.783–790, 2009.
- AMORIM, E. L. C. Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- AMORIM, N. C. S. Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado. 2012. 108 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Alagoas, Alagoas. 2012
- AMORIM, E.L.C.; SADER, L.T.; SILVA, E.L. Effect of Substrate Concentration on Dark Fermentation Hydrogen Production Using an Anaerobic Fluidized Bed Reactor. *Applied Biochemistry Biotechnology*, v. 166, p. 1248-1263, 2012.
- AKUTSU, Y.; LI, Y.Y.; HARADA, H.; YU, H.Q. Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 34, p. 2558-2566, 2009.
- Balat, H.; Kırtay, E. Hydrogen from biomass e Present scenario and future prospects. *international journal of hydrogen energy*. v. 35, p.7416 -7426. 2010.
- BARROS, A. R. Influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado) – DEQ, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
- BARROS, A. R.; AMORIM, E. L. C.; REIS, C. M.; SHIDA, G. M.; SILVA, E. L. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bedreactors: Effectofsupport material and hydraulicretention time *International Jornal ofHydrogenEnergy* . v. 35, p.3379 – 3388. 2010.
- BARTACEK, J., J. ZABRANSKA & P. N. L. Lens. Developments and constraints in fermentative hydrogen production. *Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr*, v.1, p. 201-2014, 2007.
- BUSATO, R. Desempenho de um filtro anaeróbio de fluxo ascendente como tratamento de efluente de reator UASB: estudo de caso da ETE de Imbituva. Dissertação (Mestrado

em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004.

CAPPELLETTI, B. M. Efeito da concentração inicial da água residual do processamento da mandioca na produção de biohidrogênio por *Clostridium acetobutylicum* ATCC 24. 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CAPPELLETTI, B. M.; REGINATTO, V.; AMANTE, E. R.; ANTÔNIO, R. V. Fermentative production of hydrogen from cassava processing wastewater by *Clostridium acetobutylicum*. *Renewable Energy*, v. 36, p. 3367-3372, 2011.

CARERE C, RYDZAK T, VERBEKE T, CICEK N, LEVIN D, SPARLING R. Linking Genome Content To Biofuel Production Yields: a meta analysis of major catabolic pathways among select H₂ and ethanol-producing bacteria. *BMC Microbiol.* v. 12, n.1, p.295, 2012.

CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 27, p.1167-1174, 2002.

CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J.S. Kinetics Of Hydrogen Production With continuous anaerobic cultures utilize sucrose as the limiting substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v.57, n.1-2, p.56-64, 2001.

CHEN, S.; LO, Y.; LEE, K.; HUANG, T.; CHANG, J. Sequencing batch reactor enhances bacterial hydrolysis of starch promoting continuous bio-hydrogen production from starch feedstock. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 34, p. 8549-8557, 2009.

CHENG, J.; SU, H.; ZHOU, J.; SONG, W.; CEN, K. Hydrogen production by mixed bacteria through dark and photo fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.36, p.450-457, 2011.

CRESESB-Centro de Referência para Energia Solar e Eólica. Atlas Solarimétrico do Brasil: banco de dados solarimétricos. Coord Tiba, C. et al. Ed. Universitária da UFPE, Recife. 2000.

DAS, D. Advances in biohydrogen production processes: An approach towards commercialization. *international journal of hydrogen energy*, p. 1-9. 2009 .

DE VRIJE, T.; MARS, A. E.; BUDDE, M. A.; LAI, M. H.; DIJKEMA, C.; DE WAARD, P.; CLAASSEN, P. A. M. Glycolytic pathway and hydrogen yield studies of the extreme thermophile *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Appl Microbiol Biotechnol* v.74, p.1358–1367. (2007).

DUBOIS, S.M. et al. Colorimetric Methods for determination of sugar and related substance. *Analytical Chemistry*, v. 228, p. 13-21. 1956.

Dincer I. Environmental and sustainability aspects of hydrogen and fuel cell systems. *International Journal of Energy Research* 2007;31(1):29e55.

FAO. 2004. Strategic Environmental Assessment: An Assessment of the Impact of Cassava Production and Processing on the Environment and Biodiversity. <http://www.fao.org/docrep/007/y2413e/y2413e0d.htm> (Acesso Maio.10, 2016)

GAVALA, H.N.; SKIADAS, L. V.; AHRING, B. K. Biological Hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 31, n. 9, p. 1164-1175, 2006.

GIOANNIS, G.D.E, MUNTONI, A., POLETTINI, A., POMI, R. A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions. *Waste Manage.* v. 33, p. 1345–1361. 2013.

GUWY, R. A. J.; HAWKES, F.R.; HAWAKES, D. L.; ROZZI, A.G. Hydrogen production in a high rate fluidized anaerobic digester. *Water Research*, v. 31, n.6, p.1291-1298, 1997.

HAWKES, F. R.; DINSDALE, R.; HAWKES, D. L.; HUSSY, I. Sustainable fermentative hydrogen production: Challenges for process optimization. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.27, p.1339-1347, 2002.

HE, Y.; XU, Y.; PANG, Y.; TIAN, H.; WU, R. A regulatory policy to promote renewable energy consumption in China: Review and future evolutionary path. *Renewable Energy*. v 89, p. 695-705, 2015.

HASYIM, R.; IMAIA, T.; REUNGSANG, A.; O-THONGE, S. Extreme- thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated digested sewage sludge culture. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.36, p.8727-8734. 2011.

JO, J.H.; LEE, D.S.; PARK, D.; CHOE, W.; PARK, J.M. Optimization Of Key Process Variables For enhanced hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* using statistical methods. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 2061-2066, 2008.

JUNIOR, A. D. N. F.; ZAIAT, M.; GUPTA, M. ELBESHBISHY, E.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G. Impact of organic loading rate on biohydrogen production in an up-flow anaerobic packed bed reactor (UAnPBR). *Bioresource Technology*, v.164, p.371–379. 2014.

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

KESKIN, T.; GIUSTI, L.; AZBAR, N. Continuous biohydrogen production in immobilized biofilm system versus suspended cell culture. *Int J Hydrogen Energy*. v. 37, p.1418–1424. 2011.

KIM, M.; SPEECE, R. E. Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion: mesophilic and thermophilic. *Water Research*, v.36, p.4369-4385, 2002.

KIM, S.; HAN, S.; SHIN, H. Effect Of Substrate Concentration On Hydrogen production and 16S rRNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. *Process. Biochem*, v. 41, p. 199-207, 2006.

KIM, M.S.; LEE, D.Y. Fermentative hydrogen production from tofuprocessing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium. *Biores Technol*, v.101, n.1, p. 48–52, 2010.

KIM, M. S.; LEE, D. Y.; KIM, D. H. Continuous hydrogen production from tofu processing waste using anaerobic mixed microflora under thermophilic conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.36, p.8712–8718. 2011a

KIM, Y. M.; CHO, H. S.; JUNG, G. Y.; PARK, J. M. Engineering the pentose phosphate pathway to improve hydrogen yield in recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnol Bioeng* v.108, p.2941–2946. 2011b.

KONGJAN, P.; O-THONG, S.; KOTAY, M.; MIN, B.; ANGELIDAKI, I. Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate by dark fermentation using extreme thermophilic mixed culture. *Biotechnol Bioeng*, v.105, n.5,p.899–908, 2010b.

KONGJAN, P.; O-THONG, S.; ANGELIDAKI, I. Biohydrogen production from desugared molasses (DM) using thermophilic mixed cultures immobilized on heat treated anaerobic sludge granules. *Int J Hydrogen Energy*, v. 36 ,n.21 ,p.14261–14269, 2011.

KOSKINEN, P. E. P.; LAY, C. H.; PUHAKKA, J. A.; LIN , P. J.; WU, S.Y.; ÖRLYGSSON, J.; LIN, C. Y. High-efficiency hydrogen production by an anaerobic, thermophilic enrichment culture from an Icelandic hot spring. *Biotechnol Bioeng* v.101, p.665–678. 2008.

KOSKINEN, P.; O-THONG, S.; ANGELIDAKI, I. Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from hydrolysate in UASB reactors. *Biores Technol*, v. 102, n.5, p.4028–4035. 2010a.

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

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 Hidráulica e Saneamento) –Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

LETTINGA, G.; HULSHOOF, P. L. W.; ZEEMAN, G. Biological wastewater treatment. Part I: Anaerobic Wastewater treatment. *Lecture Notes*. Wageningen Agricultural University, ed. January, 1996.

LIED, E.B. Tratamento de efluente industrial de feccularia utilizando macrófita aquática *Eichhornia crassipes* e coagulante natural. Dissertação de mestrado. Toledo, PR, 2012.

LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicon-gel-immobilized anaerobic sludge. *Int. J. Hydrogen Energy*, v. 31, p. 2200-2210, 2006.

LIN et al. Biohydrogen production in a three-phase fluidized bed bioreactor using sewage sludge immobilized by ethylene–vinyl acetate copolymer. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 3298–3301, 2009.

LUO, G.; XIE, L. ZOU, Z.; WANG, W.; ZHOU, Q. Evaluation of pretreatment methods on mixed inoculum for both batch and continuous thermophilic biohydrogen production from cassava stillage

LUO, G. XIE, L. ZOU, Z. ZHOU. Q. WANG, J.Y. Fermentative Hydrogen Production From cassava stillage by mixed anaerobic microflora: Effect of temperature and Ph. *Applied Energy*. 87, p.3710–3717. 2010a.

LUO, G.; XIE, L.; ZOU, Z.; WANG, W.; ZHOU, Q.; Exploring Optimal Conditions for thermophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 35, p. 6161-6169.2010b.

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

MATHEWS, J.; WANG, G.Y. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.34, n.17, p.7404-7416, 2009.

MCCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. Chemistry and Microbiology. Partone. 1964.

NASR, N., ELBESHBISHY, E., HAFEZ, H., NAKHLA, G., NAGGAR, M.H.E. Biohydrogen Production From Thins tillage using conventional and acclimatized anaerobic digester sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 36, p.12761-12769, 2011.

ORTEGA, F. S. et al. Aplicação de espumas cerâmicas produzidas via “gelcasting” em biorreator para tratamento anaeróbio de águas residuárias. *Cerâmica*, v. 47, n. 304, p. 199-203, 2001.

OH, Y.; RAJ, S.M.; JUNG, G.Y.; PARK, S. Current status of the metabolic engineering of microorganisms for biohydrogen production. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 8357-8367, 2011.

O-THONG, S.; PRASERTSAN, P.; INTRASUNGKHA, N.; DHAMWICHUKORN, S.; BIRKELAND, N. K. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mil effluent by *Thermoanaerobacterium*-rich sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.33, p.1221–1231. 2008a.

O-THONG, S.; PRASERTSAN, P.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I.; High-rate continuous hydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 immobilized on heat-pretreated methanogenic granules. *International Journal of Hydrogen Energy* v.33, p.6498–6508. 2008b.

REIS, C. M. Efeito da velocidade ascensional na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado. 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

REN, N. Q.; LI, Y. F.; WANG, A. J.; LI, J. Z.; DING, J.; ZADSAR, M. Hydrogen production by fermentation: review of a new approach to environmentally safe energy production. *Aquat Eco Health Mange*. V.9, p. 39–42, 2006

ROY, S.; GHOSH, S.; DAS, D. Improvement of hydrogen production with thermophilic mixed culture from rice spent wash of distillery industry. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, p. 15867-15874, 2012.

REN, N.Q., TANG, J., LIU, B.F., GUO, W.Q. Biological hydrogen production in continuous stirred tank reactor systems with suspended and attached microbial growth *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 35, p.2807–2813. 2008.

SANTOS, S. C. Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado termofílico com vinhaça como substrato orgânico. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Organic loading rate impact on biohydrogen production and microbial communities at anaerobic fluidized thermophilic bed reactors treating sugarcane stillage. *Bioresource Technology*. v. 159, p. 55–63. 2014a.

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.39, p. 9000-9011. 2014b.

SARIPAN, A.F.; REUNGSANG, A. Biohydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KKU-ED1: Culture conditions optimization using mixed xylose and arabinose as substrate. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 16, p. 1-17, 2013.

SHIDA, G. M.; SADER, L. T.; AMORIM, E. L. C.; SAKAMOTO, I. K.; MAINTINGUER, S. I.; SAAVEDRA, N. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Performance and composition of bacterial communities in anaerobic fluidized bed reactors for hydrogen production: Effects of organic loading rate and alkalinity. *International Journal of Hydrogen Energy* v.37, p.16925-16934, 2012.

SHIDA, G. M. Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fluidificado. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

SHIDA, G. M.; BARROS, A. R.; REIS, C. M.; AMORIM, E. L. C.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; SILVA, E.L. Long-term stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat-treated anaerobic sludge inoculum. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 34, p.3679-3688. 2009

TURNER, J; SVERDRUP, G; MANN, M. K; MANESS, P. C; KROPOSKI, B; GHIRARDI, M. Renewable hydrogen production. *International Journal of Energy Research* 2008;32(5):379e407.

THANWISED, P.; WIROJANAGUD, W.; REUNGSANG, A. Effect of hydraulic retention time on hydrogen production and chemical oxygen demand removal from tapioca wastewater using anaerobic mixed cultures in anaerobic baffled reactor (ABR). *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, p. 15503-15510, 2012

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

VALDEZ, V. I.; RIOS, L. E.; ESPARZA, G. F.; CECCHI, F.; POGGI, V. H. M. Semi-Continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: mesophilic versus thermophilic regime. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 30, p. 1383-1391. 2005.

ZHANG, Z. P. et al. Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. *Int. J. Hydrogen Energy*, v. 32, p. 185-191, 2007.

WANG, Y.; UM, Y.; YU, H. Q. Comparative performance of two upflow anaerobic biohydrogen-producing reactors seeded with different sludges. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.32, p.1086-1094. 2006.

WANG B, WAN W, WANG J. Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.33, p. 7013-9, 2008.

WANG, J.; WAN, W. Effect Of Temperature On Fermentative Hydrogen production by mixed culture. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 33, n. 20, p. 5392-5397, 2008.

WANG, W.; XIE, L.; CHEN, J.; LUO, G.; ZHOU, Q. Biohydrogen and methane production by co-digestion of cassava stillage and excess sludge under thermophilic condition. *Bioresource Technology*. n. 102, p. 3833–3839. 2010.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiological Biotechnology*, v.85, p. 849-860, 2010.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Valorização de resíduos do processamento da mandioca. *Publicatio UEPG. Exact and Soil Sciences, Agrarian S. and Engineering, Ponta Grossa*, v. 8, p.27-43, 2002.

WON, S.G.; BALDWIN, S.A.; LAU, A.K.; REZADEHBASHI, M. Optimal operational conditions for hydrogen production from sugar refinery wastewater in an ASBR. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, p. 13895-13906, 2013.

WU, S. Y. et al. Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactor. *Biotechnol. Prog.*, v. 19, p. 828-832, 2003.

YU, H.; ZHU, Z.; HU, W.; ZHANG, H. Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. *Int J Hydrogen Energy* v.27, ed. 11–12 , p.1359–1365, 2002.