

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



SCHAYANNA COSTA DE ALMEIDA MACÁRIO

**Influência do inóculo na produção de hidrogênio a partir do soro de queijo em pó, da lactose isolada e do efluente da indústria de laticínios em reator anaeróbio de leito fluidificado.**

Maceió  
2016

SCHAYANNA COSTA DE ALMEIDA MACÁRIO

**Influência do inóculo na produção de hidrogênio a partir do soro de queijo em pó, da lactose isolada e do efluente da indústria de laticínios em reator anaeróbio de leito fluidificado.**

**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.**

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena  
Cavalcante de Amorim

Maceió  
2016

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

M115i	<p>Macário, Schayanna Costa de Almeida. Influência do inoculo na produção de Hidrogênio a partir do soro de queijo em pó, da lactose isolada e do efluente da industria de laticínios em reator anaeróbio de leite fluidificado / Schayanna Costa de Almeida Macário. – 2016. 67 f. : il.</p> <p>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.</p> <p>Bibliografia: f. 60-67.</p> <p>1. Anaeróbia – Digestão. 2. Biohidrogênio. 3. Inóculos. 4. Rúmen ovino. 5. Resíduos orgânicos industriais. I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 628.35:62-622</p>
-------	---



## Folha de Aprovação

SCHAYANNA COSTA DE ALMEIDA MACÁRIO

Influência do inóculo na produção de hidrogênio a partir do soro de queijo em pó, lactose isolada e efluente da indústria de laticínios em reator anaeróbio de leite fluidificado

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.ª Dr.ª Karina Ribeiro Salomon  
(Examinadora interna – PPGRHS-UFAL)

Prof. Dr. Daniel Mouriera Fontes Lima  
(Examinador externo - UFS)

*Aos meus pais: James e Scheila.*

*E aos meus avós: Luís, Suzete, James e Maria do Carmo.*

*...Com todo meu amor.*

*“Somos assim, sonhamos o voo, mas tememos a altura.*

*Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o vazio, porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas, mas é isso que tememos: o não ter certezas.*

*Por isso trocamos o voo por gaiolas.*

*As gaiolas são o lugar onde as certezas moram.”*

Fiódor Dostoievski.

*“Sobre os limites do conhecimento: desejo que este, liberte-se das gaiolas de nossas mentes e que tenhamos coragem para ousar chegar aonde ninguém chegou. Que não nos contentemos em só passar. Deixemos nossa contribuição positiva nesse mundo carente de pessoas dispostas a fazer a diferença”.*

Schayanna M.

## **AGRADECIMENTOS**

Sem dúvida e previsivelmente, agradeço primeiramente à Deus! Sem Ele, nada sou, nada é e nada será.

Em segundo, ao meu pai, ídolo, amigo e o primeiro grande incentivador do meu ingresso no mestrado: James Macário. Saiba que tenho muito orgulho em ser sua filha.

Agradeço também uma pessoa muito importante pra mim, a segunda “culpada” pelo meu ingresso no curso, minha amiga Camila Alcides. Dona dos melhores conselhos, sempre.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Lucena. Obrigada por me apresentar o mundo do hidrogênio! Por todo conhecimento transferido. Por me passar tranquilidade nos momentos mais turbulentos da operação dos reatores. E principalmente, por ter o dom de ensinar e usá-lo com muito prazer.

Agradeço também a minha mãe, Scheila. Pelo amor, carinho e apoio. E por nunca desistir de mim e fazer com que eu me torne uma pessoa melhor a cada dia.

Aos meus quatro avós, meus exemplos de vida. Pelos ensinamentos. Saibam que tudo isto aqui é para dar orgulho aos senhores: Luís Almeida, Suzete Almeida, James Macário e Maria do Carmo da Silva.

Agradeço também, aquele que mais do que ninguém, aceitou minha ausência durante momentos de lazer e datas comemorativas importantes, para que eu fosse alimentar minhas filhas (bactérias) e, que muitas vezes ainda me acompanhou nessa missão em finais de semana e feriados. Meu melhor amigo, meu amor, parceiro e porto-seguro: Victor Pontes.

Aos meus irmãos e primos mais próximos: Sollón, Schaylla, Robson Luís, Schayara, Miguel, Ingrid, Iann, Mardem, Chris e Wendell. Obrigada por existirem, pois só por existir, vocês já dão cor e tornam minha vida mais feliz. Como irmã/prima mais velha, sinto-me na obrigação de ser um bom exemplo para vocês, crianças, portanto, isto aqui, também é por vocês.

As minhas tias: Verusca (que me deu sorte me levando para a prova da seleção), Valeska e Indira, por todo apoio e carinho. Em especial a tia Indira e o tio André, que foram um dia na universidade e me ajudaram a fazer um dos relatórios diários.

Agradeço ao PPGRHS, pela oferta do curso, dando a oportunidade aos Alagoanos interessados na área, de não precisar se afastar do estado para aprofundar seus conhecimentos. E agradeço aos que fazem o PPGRHS, os(as) professores(as): Cleuda Custódio, Marllus

Neves, Christopher Freire, Vladimir Caramori, Nélia Calado, Carlos Ruberto, Roberto Caffaro, Karina Salomon, Antônio Pedro Netto, Rosângela Reis, e claro, Eduardo Lucena.

Agradeço aos presentes que ganhei no mestrado: Aryane Mota, Milena Melo, Pedro Omena e Thiago Góis. Minha equipe, foi um prazer trabalhar e conviver diariamente com vocês!

Aos colegas do mestrado: Amesson, Abel, Fernando, Mayara, Camila, Renata, Marconi, Alane, Tardelly, Cristiano, pela boa companhia diária. Em especial a Tainara, pelas caronas divertidas.

Agradeço também, pelo apoio de uma família composta por pessoas importantes e especiais na minha vida: Jane, Valdiron, Luciano, Mércia, Liciane, Vinícius, Renato, Lavínia e tia Hélia. Pela torcida, carinho, conselhos e apoio em diversos momentos.

Ao pessoal do Centro de Ciências Agrárias da Ufal: professores Elton e Keds e, os alunos que possibilitaram a coleta do rúmen. Em especial, ao próprio carneirinho.

Aos técnicos e colaboradores que fazem parte do Laboratório de Saneamento da UFAL: Nadjane, Ricardo, Odete e todas as meninas que sempre estavam dispostos a nos ajudar.

A toda família da “Casinha”: Williane, Gabryel, Giovanna, Letícia, Isabela, Thiago, Antônio, Vinícius, Camila, Emanuelle, Pablo, Isadora e Wallison. Em especial a Norma Amorim e Aline Silva por todo conhecimento transmitido.

E o mais importante agradecimento dentre esses, para aqueles que fizeram a pesquisa acontecer junto comigo. O grupo de laticínios: Williane, Gabryel, Giovanna, Letícia e Isabela. Só nós sabemos o que passamos e o que abdicamos nesse caminho. Cada um de vocês teve um papel fundamental na pesquisa e sou muito grata pelo esforço de todos. Obrigada de verdade!

A Norma novamente, e a Júlia, por deixar que eu injetasse minhas amostras várias vezes na frente da delas. E ao Thiago, por deixar o cromatógrafo todo pra mim em finais de semana que seria dele, permitindo que eu adiantasse minhas análises.

Ao Técnico Ronaldson, obrigada por todo suporte nas instalações elétricas e ajuda com as bombas em momentos de sufoco. Você é fera Ronaldson!

Muito obrigada ao Projeto Casadinho, pela oportunidade incrível de cursar as disciplinas do meu segundo semestre do mestrado na Escola de Engenharia de São Carlos (EESC – USP).

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Eugênio Foresti, a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Márcia Damianovic e a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Bernadete Vareshe, pelo conhecimento transmitido nas disciplinas cursadas na EESC.

A Isabel Sakamoto, pelos conhecimentos transmitidos sobre as técnicas de PCR/DGGE.

Ao Lucas Fuess, por me apresentar o LPB e me deixar acompanhar sua pesquisa.

Aos colegas das disciplinas na USP: Ahamad Fiaz, Carolina, Paulo, Milena e Martina, pela companhia agradável nas aulas, pelos momentos de estudos e conhecimentos compartilhados.

As pessoas lindas que São Carlos me apresentou: Fran, Jú, Carlinha, Pariconha, Evandro, Jamil, Djalma, Angel, e Danilo. Alguns pelo acolhimento, outros por bandejar comigo, outros pelos momentos descontraídos e por tornar tudo mais fácil. Em especial a minha Fran, melhor “roommate” não poderia existir, tenho saudade até do seu grito com o rato “gorrrrrdo”.

Ao Oscar, pela fabricação dos reatores.

As minhas grandes amigas Luana, Rayssa e Nanda, pela amizade, torcida e apoio de sempre.

Obrigada também aos que participaram dos mutirões para corte dos pneus: Letícia, Marconi, Alson, Alane, Amesson, Alberonaldo, Gabryel, Giovanna, Williane e Isabella. Saldo: 1600mL de pneu cortado, cinco tesouras quebradas, alguns calos na mão e alguns dias sem conseguir movimentar bem o dedão.

Aos meus irmãos: Schayara (10 anos), Robson Luís (15), Schaylla (17) e a minha mãe, pela leitura dos dados do caderninho de operações, para que eu atualizasse as planilhas semanalmente.

A minha mãe, mais uma vez, por ter faltado o trabalho pra ir coletar comigo, pois passamos por uma fase onde era difícil encontrar voluntários.

Então já que comecei a falar das coletas...

Agradeço aos motoristas da UFAL: Sivaldo, Flávio, Paulo e Eduardo Lucena (durante a greve dos motoristas, o professor que assumiu o volante). Obrigada pela ajuda nas coletas, porque não bastava levar, esperar e trazer de volta, tinha somente uns 300 litros de efluente para ajudar a carregar e descarregar do veículo. E obrigada por vocês aguentarem dirigir até Maceió durante 1 hora e meia com o carro cheio de moscas. Tudo pela ciência! Ou pelo emprego? Enfim, obrigada!!! Ah! E dentre os quatro motoristas, o que eu menos agradeço é o Sivaldo, que em todas as viagens me fez escutar “as Coleguinhas” (na ida e na volta).

Bom, obrigada também, claro, a todas as pessoas que foram coletar comigo. Não era fácil. Viajar 3 horas (ida e volta). Ficar no sol durante horas olhando para um tubo de pvc de 150mm, aguardando o efluente “ideal” chegar. E a espera era grande... pois não sabíamos a hora que ele viria: poderia vir assim que chegássemos (só tivemos essa sorte uma vez), como poderia nem vir, como aconteceram em duas coletas e tivemos que retornar no dia seguinte. Durante a espera, deixávamos passar o efluente amarelo (suco artificial de laranja), o ef. vinho (suco artificial de uva), o ef. marrom (achocolatado), o ef. rosa (iogurte de morango), o ef. branco com cheiro de banana (iogurte de banana). E tentávamos só coletar quando vinha o efluente branco, sem cheiro de banana e ainda com o pH entre  $4 > 7$ , para garantir que não tinha água de lavagem misturada ao leite. Quando chegava o efluente “ideal”, era aquela pressa (desespero!), para armazenar o maior volume que conseguíssemos, pois a remessa às vezes era pequena. Mirando baldes e a boca estreita de barriletes de 5, 20 e 35 litros em dois pontos da queda “d’água” (e haja coluna!) localizada antes da entrada da ETE. Levando sempre o máximo de barriletes que coubesse no carro (coluna pra que te quero?). Também tínhamos que vedar pra não transbordar no percurso de volta. Homogeneizar ao chegarmos na Universidade. Identificar e, finalmente: congelar. Eram dias longos e a partir do TDH de 2h precisávamos coletar semanalmente, pois utilizávamos 50L diário (25L para cada reator) do efluente puro (sem diluição). Então, obrigada, muito obrigada mesmo, obrigada de verdade, as seguintes pessoas: Letícia, Giovanna, prof. Eduardo Lucena, Milena, Camila, Vitor, Pablo, Emanuelle, Gabryel, Pedro, minha mãe, Alberonaldo e Tardelly.

Por fim, deixo meus sinceros agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

## RESUMO

O grande potencial energético e a não emissão de gases poluentes, são características do hidrogênio ( $H_2$ ) que viabilizam a sua utilização como combustível. Além dessas vantagens, o gás hidrogênio também pode ser obtido a partir de processos anaeróbios, utilizando compostos orgânicos, como por exemplo, águas residuárias das agroindústrias. As indústrias de laticínios estão inseridas nesse quadro de possibilidades, tendo em vista que durante os processos de fabricação dos produtos, é gerado um grande volume de efluentes com alta concentração de matéria orgânica e carboidrato (lactose), o que torna esses efluentes atrativos para produção de  $H_2$ . Entretanto, a maioria das pesquisas realizadas até o momento, utilizaram o soro de queijo ou a lactose isolada como substrato. Neste trabalho, também foi estudada a produção de  $H_2$  a partir do efluente real coletado na indústria de laticínios, além do soro de queijo em pó e da lactose isolada, com o objetivo de analisar a viabilidade da utilização do rúmen ovino e da fermentação natural como inóculos desses três substratos. Para isso, foram utilizados dois reatores anaeróbios de leiteo fluidificado. O Reator 1 (R1) foi inoculado com rúmen, e no Reator 2 (R2) foi realizada a autofermentação do efluente de laticínio. Ambos com mesma configuração e operados de forma contínua. O tempo de detenção hidráulica variou entre 6h e 4h, até atingir a fase de estabilização, onde foi mantido em 2h. Os resultados mostraram que a presença do rúmen teve grande influência na produção de  $H_2$ . Dos metabólitos envolvidos no processo, o ácido acético e o etanol foram os que estiveram mais presentes durante a operação de ambos os reatores. O rendimento máximo foi de 1,66 mol. $H_2$ /mol.carboidrato e ocorreu no R1, quando utilizou-se o soro de queijo como substrato. O R2, reator onde utilizou-se o procedimento de fermentação natural, mostrou-se mais viável que o R1 apenas quando o substrato foi o efluente de laticínio real.

**Palavras-chave:** Digestão anaeróbia. Biohidrogênio. Inóculos. Rúmen ovino. Resíduos orgânicos industriais.

## ABSTRACT

The great energy potential and no pollutant gas emissions are hydrogen characteristics ( $H_2$ ) that enable its use as fuel. In addition to these advantages, the hydrogen gas can also be obtained from anaerobic processes using organic compounds, such as wastewater from agribusiness. The dairy industries are placed in this framework of possibilities, considering that during the product manufacturing processes, it generates a large volume of wastewater with a high concentration of organic matter and carbohydrates (lactose), making these attractive effluents to produce  $H_2$ . However, most studies realized until now have used the cheese whey or isolated lactose as a substrate. In this work, the production of  $H_2$  from the actual effluent was collected in the dairy industry, in addition to whey powder and isolated lactose, to analyze the viability of using the sheep rumen and natural fermentation as inoculants to these three different substrates. For this, we used two anaerobic fluidized bed reactors. The first reactor (R1) was inoculated with rumen, and the second reactor (R2) was performed auto fermentation of the dairy effluent. Both with the same configuration and operated continuously. The hydraulic retention time varied between 6h and 4h until the stabilization phase, which was kept at 2h. The results showed that the presence of the rumen has a great influence in the production of  $H_2$ . About the metabolites products in the process, acetic acid and ethanol were those most present during operation of both reactors. The maximum yield was  $1.66\text{mol.H}_2/\text{mol.carbohydrate}$  and occurred in R1 when cheese whey was used as substrate. The reactor, which used the natural fermentation procedure, was more viable than the reactor with inoculum, only when the substrate was the dairy effluent.

**Keywords:** Anaerobic digestion. Biohydrogen. Inocula. Rumen sheep. Organic industrial wastes.

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Símbolo	Denominação	Unidade
	Reator anaeróbio operado em	
AnSBBR	batelada sequencial com biomassa imobilizada <i>(anaerobic sequencing biofilm batch reator)</i>	
CECA	Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas	
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo	
CH <sub>4</sub>	Metano	
CIP	<i>Clean in Place</i>	
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico	
CSTR	Reator de agitação contínua <i>(Continuous stirred-tank reactor)</i>	
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio	mg.L <sup>-1</sup>
DQO	Demanda Química de Oxigênio	mg.L <sup>-1</sup>
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes	
EtOH	Etanol	mM
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>	
H <sub>2</sub>	Hidrogênio	
Hac	Ácido Acético	mM
Hbut	Ácido Butírico	mM
HCl	Ácido Clorídrico	mM
Hpr	Ácido Propiônico	mM
HPV	Produção volumétrica de hidrogênio	L.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup>
HY	Rendimento da produção de hidrogênio	mol.H <sub>2</sub> /mol.carboidrato
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística	
N.A.	Não analisado	
PET	Polietileno tereftalato	
pH	Potencial Hidrogeniônico	
R1	Reator inoculado com rúmen	
R2	Reator da autofermentação	
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado	

SST	Sólidos suspensos totais	mg.L <sup>-1</sup>
SSV	Sólidos suspensos voláteis	mg.L <sup>-1</sup>
TCO	Taxa de carregamento orgânico	kg.DQO.m <sup>3</sup> d <sup>-1</sup>
TCD	Detector por condutividade térmica	
TDH	Tempo de detenção hidráulica	h
TVPH	Taxa volumétrica da produção de hidrogênio	
UASB	Reator anaeróbio de manta de lodo	
UHT	Ultra High Temperature	

---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Crescimento na produção de leite em diferentes períodos analisados.....	21
Tabela 2 – Volume aproximado de efluentes gerados em diferentes linhas de produção.....	22
Tabela 3 – Características dos efluentes não tratados das indústrias de laticínios.....	22 e 23
Tabela 4 – Produção de Hidrogênio a partir de efluente de laticínios.....	25 e 26
Tabela 5 – Composição média dos materiais constituintes dos pneus.....	31
Tabela 6 – Análises para o controle operacional dos reatores.....	32
Tabela 7 – Fases de operação dos reatores.....	35
Tabela 8 – Resumo das fases de estabilização.....	37
Tabela 9 – Caracterização dos efluentes de laticínio real.....	38
Tabela 10 – Comparação entre os parâmetros dos efluente coletados com os valores da literatura.....	39
Tabela 11 – Média com desvio padrão das concentrações de carboidrato afluente, efluente e conversão da glicose em R1 nas fases de estabilização.....	41
Tabela 12 – Média das concentrações de carboidrato afluente, efluente e da conversão do carboidrato com desvio padrão no R2 nas fases de estabilização.....	26
Tabela 13 – Média com desvio padrão das concentrações dos metabólitos solúveis em R1 .....	43
Tabela 14 – Média com desvio padrão das concentrações dos metabólitos solúveis em R2 .....	44
Tabela 15 – Média com desvio padrão do rendimento de H <sub>2</sub> em R1 e R2.....	45
Tabela 16 – Média do conteúdo do biogás no R1 em cada fase.....	53
Tabela 17 – Média do conteúdo do biogás no R2 em cada fase.....	54
Tabela 18 – Média dos principais parâmetros avaliados durante o monitoramento dos reatores.....	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sequência das rotas metabólicas e grupos de microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia.....	20
Figura 2 – Efluente gerado a partir da produção do suco artificial de laranja (a), do suco artificial de uva (b), das águas de lavagem (c) e o efluente coletado para o experimento gerado a partir da produção de leite (d).....	30
Figura 3 – Pneus triturados utilizados como material suporte do RALF.....	31
Figura 4 – Reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF's) recém instalados e o esquema operacional dos reatores.....	34
Figura 5 – Bombas ECOSAN utilizadas para recirculação do efluente nos reatores.....	35
Figura 6 – Concentração média da carboidrato afluente e efluente nas fases de estabilização do R1.....	40
Figura 7 – Concentração média de carboidrato afluente e efluente nas fases de estabilização do R2.....	41
Figura 8 – Concentração dos metabólitos solúveis no Reator 1.....	42
Figura 9 – Concentração molar dos metabólitos solúveis no Reator 2.....	44
Figura 10 – Média com desvio padrão do rendimento de hidrogênio nos Reatores 1 e 2.....	45
Figura 11 – Diagrama de caixa para os valores de pH afluente em função da fase de operação do Reator 1.....	46
Figura 12 – Diagramas de caixa para os valores de pH efluente em função da fase de operação do R1.....	47
Figura 13 – Diagramas de caixa para os valores de pH afluente no R2.....	47
Figura 14 – Diagrama de caixa para os valores de pH efluente em função da fase de operação do Reator 2.....	48
Figura 15 – Diagrama de caixa para os valores de DQO afluente no Reator 1.....	49
Figura 16 – Diagrama de caixa para os valores de DQO efluente no Reator 1.....	49
Figura 17 – Diagrama de caixa para os valores da eficiência na remoção da DQO no R1.....	50
Figura 18 – Diagrama de caixa para os valores de DQO afluente no Reator 2.....	50
Figura 19 – Diagrama de caixa para os valores de DQO efluente no Reator 2.....	51
Figura 20 – Diagrama de caixa para os valores da eficiência na remoção da DQO no R2.....	51
Figura 21 – Percentual do conteúdo do biogás em R1.....	52
Figura 22 – Percentual do conteúdo do biogás em R2.....	53

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	18
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	18
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	18
3	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
3.1	<b>Digestão anaeróbia</b> .....	19
3.2	<b>Indústria de laticínios e seus efluentes</b> .....	21
3.3	<b>Produção de hidrogênio utilizando efluentes de laticínios</b> .....	23
3.4	<b>Influência do inóculo na produção de hidrogênio</b> .....	27
4	<b>METODOLOGIA</b> .....	29
4.1	<b>Águas residuárias</b> .....	29
4.2	<b>Material suporte</b> .....	30
4.3	<b>Análises físico-químicas</b> .....	32
4.4	<b>Inóculo</b> .....	33
4.5	<b>Operação dos reatores</b> .....	33
4.6	<b>Cálculo dos principais parâmetros</b> .....	36
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	37
5.1	<b>Caracterização dos efluentes de laticínios</b> .....	37
5.2	<b>Conversão do carboidrato</b> .....	39
5.2.1	Conversão do carboidrato no R1 nas fases de estabilização .....	39
5.2.2	Conversão do carboidrato no R2 nas fases de estabilização .....	41
5.3	<b>Metabólitos solúveis</b> .....	42
5.3.1	Metabólitos solúveis em R1 .....	42
5.3.2	Metabólitos solúveis em R2 .....	43

5.4	<b>Rendimento de H<sub>2</sub></b> .....	45
5.5	<b>Potencial Hidrogeniônico (pH)</b> .....	46
5.5.1	pH no Reator 1 .....	46
5.5.2	pH no Reator 2 .....	47
5.6	<b>Demanda Química de Oxigênio (DQO)</b> .....	48
5.6.1	DQO em R1 .....	48
5.6.2	DQO em R2 .....	50
5.7	<b>Conteúdo do biogás</b> .....	52
5.7.1	Conteúdo do biogás no R1 em todas as fases operacionais .....	52
5.7.2	Conteúdo do biogás no R2 em todas as fases operacionais .....	53
5.8	<b>Considerações finais</b> .....	54
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	57
7	<b>RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	59
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	60

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de extrema importância na dieta do ser humano devido ao seu valor nutritivo. No Brasil, por exemplo, o Ministério da Saúde recomenda que o consumo por habitante seja de 146 a 256 litros/ano de leite fluido ou equivalente na forma de derivados, com variações de acordo com a idade do indivíduo (BRASIL, 2006). Portanto, fica evidente que as indústrias de laticínios estão inseridas num setor de grande relevância econômica. Porém, além dessa movimentação positiva na economia, as instalações desse tipo de indústria representam concomitantemente um grande impacto ambiental, devido ao elevado volume de efluentes que é gerado durante o processo produtivo.

Para o tratamento desses efluentes de laticínios, os processos biológicos são os mais utilizados em razão da grande quantidade de matéria orgânica facilmente biodegradável presentes em sua composição (SILVA, 2010). O interesse da utilização de processos anaeróbios como forma de tratamento se deve em grande parte à crise energética, devido ao aumento do preço dos combustíveis fósseis, em conjunto com o aumento da demanda por energia, além do crescimento de uma consciência ambiental e do desenvolvimento de modelos de biodigestores mais avançados e mais eficientes (ZEMPULSKI et al., 2014).

O gás hidrogênio, que pode ser obtido a partir desses processos, surge como uma excelente fonte alternativa de energia em substituição aos combustíveis fósseis. Isso porque, na sua combustão é gerado principalmente vapor d'água e seu conteúdo energético é aproximadamente 2,5 vezes maior do que qualquer combustível fóssil. Além dessas vantagens, o hidrogênio pode ser produzido a partir de fontes renováveis, tais como os diversos tipos de resíduos industriais e domésticos ricos em carboidratos (AMORIM, 2012).

A utilização dos efluentes de laticínios para produção de hidrogênio já vem sendo relatada por diversos estudos (Kisiełewska *et al.*, 2014; Fernandez *et al.*, 2014; Rosa *et al.*, 2014; Perna *et al.*, 2013; Ottaviano *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2016), entretanto, em sua maioria, foi utilizado como substrato o soro de queijo ou a lactose isolada. Deste modo, a viabilidade do efluente de laticínio real gerado na indústria utilizado para produção de hidrogênio continua pouco conhecida. E diante do que foi exposto, o presente trabalho buscou um aprofundamento nesse tema, associando ainda, com a viabilidade de se utilizar o rúmen

ovino e a fermentação natural do efluente de laticínios como inóculos para produção de hidrogênio.

Para isso, utilizou-se dois reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF), os quais já possuem viabilidade comprovada para produção de hidrogênio por diversos autores Wu et al. (2003), Shida (2008), Lin et al. (2009), Amorim et al. (2009), Barros et al. (2010), Reis (2010), Amorim et al. (2012), dentre outros.

Vale salientar, que o presente trabalho dá continuidade aos estudos que vem sendo desenvolvidos por um grupo de pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) que visa à produção de hidrogênio a partir de efluentes agroindustriais (Cardoso, 2014; Vilela, 2013; Amorim, 2012; Silva, 2015).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a influência do inóculo na produção de hidrogênio.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a influência da fermentação natural e do rúmen como inóculos na produção de hidrogênio utilizando efluente de laticínios real, soro de queijo e a lactose isolada como substrato em dois reatores anaeróbios de leite fluidificado.
- Avaliar a composição dos metabólitos produzidos durante a operação dos reatores na produção de hidrogênio;
- Comparar diferentes substratos (soro do queijo, da lactose isolada e do efluente de laticínio real) para produção de hidrogênio;

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Digestão anaeróbia

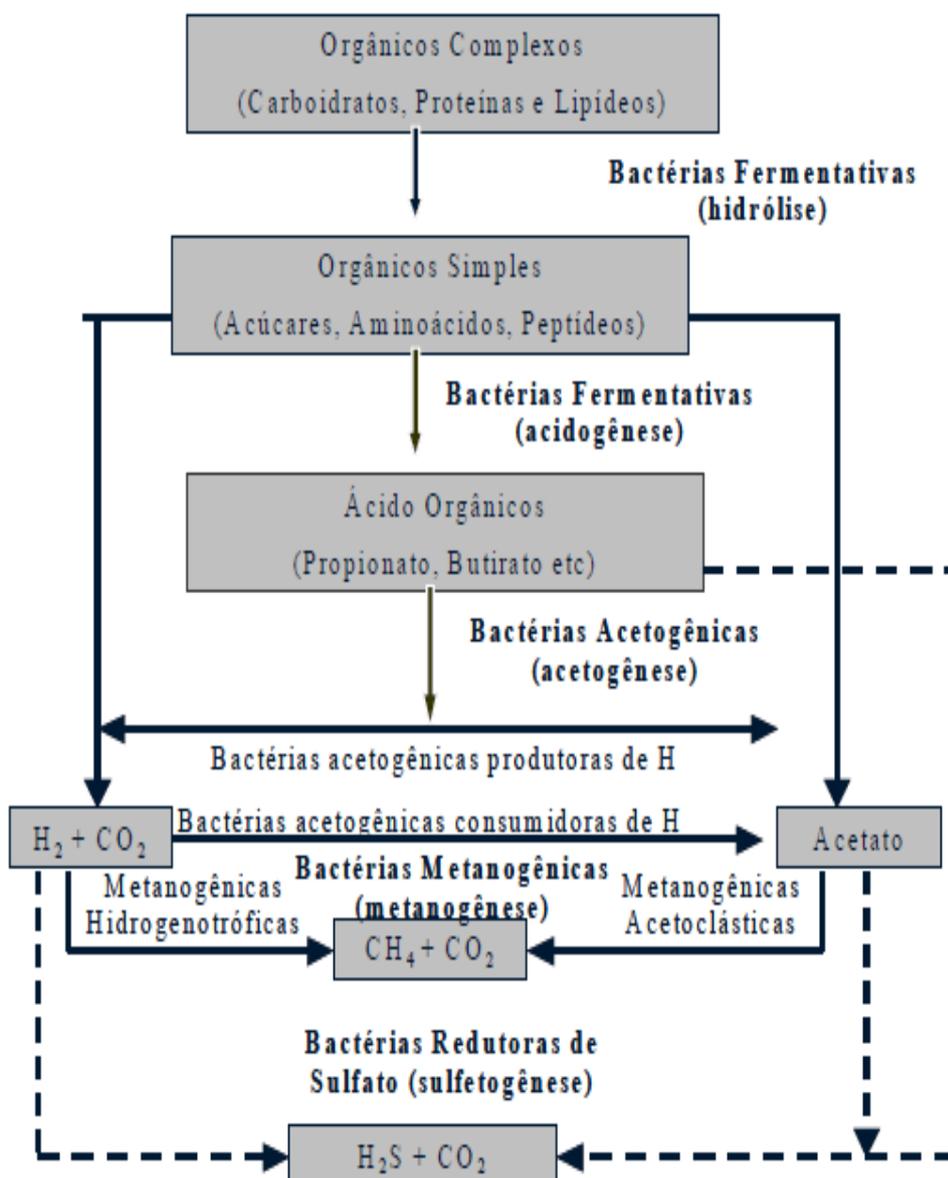
O processo de digestão anaeróbia era definido como um processo biológico natural em que uma comunidade microbiana coopera para formar uma fermentação de auto-regulação estável que converte resíduos orgânicos em uma mistura de dióxido de carbono e gás metano (MOSEY, 1983). Com o passar dos anos, pôde-se observar que além de metano e dióxido de carbono, o produto final também poderia ser o gás hidrogênio.

A digestão anaeróbia divide-se em quatro fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese, metanogênese e/ou sulfetogênese.

Na primeira fase do processo fermentativo, bactérias hidrolíticas produzem enzimas extracelulares que promovem a degradação dos materiais particulados complexos em materiais dissolvidos mais simples, os quais são permeáveis às membranas celulares das bactérias fermentativas. Na fase acidogênica, os produtos solúveis oriundos da etapa anterior são metabolizados no interior das células das bactérias, sendo convertidos em compostos mais simples. Os compostos produzidos incluem ácidos orgânicos voláteis, álcoois,  $\text{CO}^2$ ,  $\text{H}^2$ , além de novas células bacterianas. As bactérias acetogênicas são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica em substrato apropriado ( $\text{H}^2$  e ácido acético) para as arqueias metanogênicas. Nesta etapa do processo, o  $\text{H}^2$  pode também ser convertido em ácido acético pelas bactérias homoacetogênicas. Na última etapa do processo, as arqueias metanogênicas convertem o  $\text{H}^2$  e o ácido acético em  $\text{CH}^4$  e  $\text{CO}^2$ . Em função de sua afinidade pelo substrato, as arqueias metanogênicas podem ser divididas em metanogênicas acetoclásticas (arqueias que utilizam o ácido acético como substrato) e metanogênicas hidrogenotróficas (arqueias que utilizam o hidrogênio como substrato). Na presença de sulfato e nitrato no meio fermentativo, as bactérias nitrato-redutoras (BNR) e as bactérias sulfato-redutoras (BSR) são capazes de utilizar o  $\text{H}^2$  para formação de amônia e sulfeto, respectivamente (Speece, 1996; Chernicharo, 1997).

Uma representação esquemática das principais etapas do processo fermentativo anaeróbio é apresentada na Figura 1.

FIGURA 1 – Sequências das rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.



FONTE: Chernicharo, 1997.

É na fase acidogênica onde ocorre a principal geração de hidrogênio. Portanto, o processo de digestão anaeróbia deve ser interrompido nessa fase para que não haja consumo do hidrogênio produzido nas etapas posteriores à acidogênese (SHIDA, 2008).

### 3.2 Indústria de laticínios e seus efluentes

Dentre os diversos setores da indústria alimentícia brasileira, o setor de laticínios destaca-se entre os principais (SILVA, 2015) e o país vem apresentando contínuo crescimento na produção de leite (Tabela 1). Nos últimos 20 anos, a produção mais que dobrou, crescendo 103,1% - passou de 15,1 bilhões, em 1991, para 30,7 bilhões de litros de leite em 2010 (SEBRAE, 2013).

No entanto, ao serem implantadas, as indústrias de laticínios causam grandes impactos ambientais, dentre eles: o lançamento dos efluentes líquidos, à geração de resíduos sólidos e emissões atmosféricas (MACHADO et al., 2001). Porém, o despejo de efluentes, que na maioria das vezes é realizado de forma inadequada e sem nenhum tratamento, é considerado o principal impacto causado (CETESB, 2008).

**TABELA 1** – Crescimento na produção de leite em diferentes períodos analisados

Período	Crescimento (%)	
	Período	Média Anual
1990 – 1995	13,7	2,6
1995 – 2000	20,0	3,7
2000 – 2005	24,3	4,5
2005 – 2010	25,0	4,6

Fonte: IBGE, 2012.

A qualidade e também a quantidade de efluentes gerados pelas indústrias de laticínios (Tabela 2) chamam atenção, uma vez que se pode considerar a geração de 1 a 6 litros de despejos para cada litro de leite processado. Normalmente, os pontos de geração de efluentes industriais são (CETESB, 2008):

- Lavagem e limpeza de produtos remanescentes em caminhões, latões, tanques, linhas e máquinas e equipamentos diretamente envolvidos na produção;
- Derramamentos, vazamentos, operações deficientes de equipamentos e transbordamento de tanques;

- Perdas no processo, tais como em operações de “partida” e de “parada” do pasteurizador e extravazão dos produtos, arraste de produtos na evaporação (leite condensado e em pó) e aquelas resultantes do acerto das acondicionadoras, no início do processo de embalagem;
- Descarte de produtos, tais como: soro ou leite ácido.

**TABELA 2** – Volume aproximado de efluentes gerados em diferentes linhas de produção

<b>Tipo de produto</b>	<b>Volume de efluentes líquidos (L/kg de leite processado)</b>
Produtos “brancos” (leite, cremes e iogurtes)	3
Produtos “amarelos” (manteiga e queijos)	4
Produtos “especiais” (concentrados de leite ou soro e produtos lácteos desidratados)	5

**Fonte:** European Commission – Integrated Pollution Prevention and Control (2006) *apud*, CETESB (2008).

Na Tabela 3, onde são apresentados os parâmetros físico-químico dos efluentes, pode-se observar uma elevada carga orgânica e uma alta concentração de carboidratos presentes nos efluentes, o que possibilita e viabiliza sua utilização em tratamentos biológicos.

**TABELA 3** – Características dos efluentes não tratados das indústrias de laticínios

<b>Parâmetros</b>	<b>Faixa de variação</b>	
	<b>(1)</b>	<b>(2)</b>
Sólidos suspensos voláteis	24-5700 mg/L	100-1000 mg/L
Sólidos suspensos totais	135-8500 mg/L	100-2000 mg/L
DQO	500-4500 mg/L	6000 mg/L
DBO <sub>5</sub>	450-4790 mg/L	4000 mg/L
Proteína	210-560 mg/L	ND
Gorduras/Óleos e graxas	35-500 mg/L	95-550 mg/L
Carboidratos	252-931 mg/L	ND
Amônia – N	10-100 mg/L	ND
Nitrogênio	15-180 mg/L	116 mg/L

**TABELA 3** – Características dos efluentes não tratados das indústrias de laticínios. (continuação)

Parâmetros	Faixa de variação	
	(1)	(2)
Fósforo	20-250 mg/L	0,1-46 mg/L
Sódio	60-807 mg/L	ND
Cloretos	48-469 mg/L	ND
Cálcio	57-112 mg/L	ND
Magnésio	22-49 mg/L	ND
Potássio	11-160 mg/L	ND
pH	5,3-9,4	1-12
Temperatura	12-40°C	20-30°C

**Fonte:** (1) Environment Agency of England and Wales (2000), European Commission – Integrated Pollution Prevention and Control (2006); (2) ABIQ, *apud*, CETESB (2008).

### 3.3 Produção de hidrogênio utilizando efluentes de laticínios

Grande parte das pesquisas relacionadas à produção de hidrogênio utilizando efluentes de laticínios se concentra na utilização do soro de queijo em pó como substrato.

O uso do soro de queijo (também chamado de soro de leite) em pó, apresenta algumas vantagens quando comparado com o soro de leite in natura, principalmente com relação ao volume reduzido, maior estabilidade em longo prazo e maior facilidade de armazenamento e transporte (Kargi e Ozmihci, 2006).

Além do soro de queijo, a lactose isolada como substrato também tem sido estudada com mais frequência para a produção de hidrogênio por fermentação anaeróbia (SILVA, 2015).

Antonopoulou et al. (2008) investigou o potencial de hidrogênio e a produção de metano subsequente de soro de queijo puro, à 35°C. O processo de produção fermentativa de hidrogênio a partir do soro de queijo foi realizado num reator de agitação contínua (CSTR), operado num tempo de detenção hidráulica baixo (TDH de 24h). O trabalho concluiu que a produção de biohidrogênio a partir de soro de queijo pode ser associada de forma muito eficiente com a produção de metano, num passo subsequente, explorando o potencial biocombustível gasoso deste tipo de efluente.

Também utilizando um CSTR, operado durante 65,6 dias, com soro de queijo como substrato, Davila-Vazquez *et al.* (2009) avaliou a produção de hidrogênio em três tempos de detenção hidráulica (TDH). Foram testados os TDH's de 10, 6 e 4h e, a maior produção de hidrogênio volumétrico (HPR) foi atingida com TDH de 6h. Em seguida, quatro taxas de carregamento orgânicas (TCO's) para um TDH fixo de 6h foram testados, sendo: 92,4; 115,5; 138,6; 184,4g.lactose/L/d. A maior produção volumétrica encontrada foi de 46,61mmolH<sup>2</sup>/L/h e o máximo rendimento molar de hidrogênio (HY) foi de 2,8mol.H<sup>2</sup>/mol.lactose, quando a TCO foi de 138,6g.lactose/L/d.

Kargi et al. (2012) utilizou uma solução de soro de queijo em pó como substrato para a produção de hidrogênio em temperaturas mesofílicas (35°C) e termofílicas (55°C). A fermentação termofílica apresentou uma maior formação acumulativa de hidrogênio (171mL), maior rendimento de hidrogênio (111ml.H<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de açúcar total) e maior taxa de formação de hidrogênio (3,46ml de H<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), em comparação com a fermentação mesofílica.

Enquanto que, Lima *et al.* (2016) utilizando um AnSBBR com biomassa imobilizada e com recirculação, visando a produção de hidrogênio a partir do soro de leite, concluiu que operando o reator em baixa temperatura (15°C) pode-se obter melhores resultados (1,12molH<sub>2</sub>/mol.lactose) do que com a temperatura mais alta (45°C), a qual apresentou efeitos negativos no processo, chegando a anular a produção de hidrogênio no final da operação.

Já Ottaviano (2014) operou dois reatores, ambos com temperatura controlada de 55°C. Variou o TDH no primeiro reator e variou a TCO no outro reator. No primeiro, a máxima da produção volumétrica de hidrogênio obtida foi de 2,9L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> para o TDH de 0,5h. No segundo reator, o valor máximo obtido de HPR foi de 0,854L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> para concentração de substrato de 7g.L<sup>-1</sup>.

A Tabela 4 apresenta diversos estudos encontrados na literatura os quais utilizaram efluentes de laticínios em processos anaeróbios visando à produção de hidrogênio.

TABELA 4 – Produção de Hidrogênio a partir de efluente de laticínios.

Substrato	Tipo do Reator	Inóculo	Temp. (°C)	pH	TDH(h)	TCO (kg DQO m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	*TVPH	*HY (m <sup>3</sup> H <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> DQO)	Referência
Soro de queijo	CSTR	Microrganismos indígenas	35	5.2	24	60	2.9	0.016	Venetsaneas et al. (2009)
Soro de queijo	CSTR	Microrganismos indígenas	35	5.2	24	61	2.51	0.041	Antonopoulou et al. (2008)
Soro de queijo em pó	CSTR	Lodo de digestor anaeróbio	35-38	4.0-5.0	24	10,12	0.29	0.040-0.052	Yang et al. (2007)
Soro de queijo	CSTR	Lodo anaeróbio granular c/ tratamento térmico	55	5.5	24-120	21,35,47	0.3-7.9	0.117-0.493	Davila-Vazquez et al. (2009)
Soro de queijo em pó	CSTR	Lodo anaeróbio granular c/ tratamento térmico	37	5.9	4-10	63-208	2.47-25.2	0.020-0.056	Azbar et al. (2009)
Soro de leite	AnSBBR	Lodo anaeróbio c/ tratamento térmico	15	5.8	24	20-35	0.30-0.96	0.016-0.035	Kisieleska et al. (2014)

\*TVPH: Taxa volumétrica da produção de hidrogênio; \*HY: Rendimento da produção de hidrogênio;

TABELA 4 – Produção de hidrogênio a partir de efluentes de laticínios. (continuação)

Substrato	Tipo do Reator	Inóculo	Temp. (°C)	pH	TDH(h)	TCO (kg COD m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	TVPH	*HY (m <sup>3</sup> H <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> COD)	Referência
Soro de queijo	UASB	Lodo de reator acidogênico de escala laboratorial	30	5.0	12,24	10,20	0.122	0.061	Castello et al. (2004)
Soro de queijo em pó	UASB	Lodo anaeróbico granular c/ tratamento térmico	22-25	5.9	6-24	5-20	0.5	NA	Reyes et al. (2012)
Efluente de Laticínios	Reator Anaeróbico em Batelada	Tratamento ácido e térmico	28	6.0	24	2.4,3.5,4.7,	0.7-2.1	0.156	Mohan et al. (2007)
Soro de queijo pó	Reator de Leito Fixo	Microorganismos indígenas	30	4.8-6.2	24	22,33,37	0.06-1.0	0.064	Perna et al. (2013)
Soro de queijo em pó	Reator de Leito Fixo	Partículas sólidas do tratamento de águas residuárias	35	4.5-5.5	24,48	6.3-18.8	NA	0.018-0.025	Fernandez et al. (2014)
Soro de queijo em pó	RALF	Lodo anaeróbico c/ tratamento térmico	30	4.0-4.5	1-4	30-120	0.23-0.74	0.014-0.038	Rosa et al. (2014)

Fonte: Adaptado de Karadag (2014).

### 3.4 Influência do inóculo na produção de hidrogênio

A produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia pode ser realizada por meio de culturas microbianas mistas, derivadas de ambientes naturais, ou por culturas puras, selecionadas a partir de bactérias produtoras de  $H_2$  (SÁ *et al.*, 2014). Desta forma, estes podem ser usados como os principais inóculos dos reatores anaeróbios que visam à produção de hidrogênio (WANG e WAN, 2008).

Segundo NTAIKOU *et al.* (2010), as vantagens da utilização de culturas puras estão relacionadas à seletividade do substrato, à melhor manipulação do metabolismo através de alterações das condições de crescimento, aos elevados rendimentos de  $H_2$  e à redução de subprodutos. Por outro lado, culturas puras são sensíveis à contaminação, o que implica, na maioria dos casos, no emprego de condições assépticas e aumento do custo global do processo. As espécies pertencentes ao gênero *Clostridium*, bem como, as bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Enterobacter* e *Thermoanaerobacterium*, têm sido relatadas como potenciais produtoras de  $H_2$  e por isso, são as mais utilizadas para produção de  $H_2$  via processo fermentativo (Kraemer e Bagley, 2007).

A utilização de culturas mistas para processos em grande escala é considerada favorável devido ao controle e operação do processo serem facilitados pela utilização de meios não estéreis, reduzindo o custo global (NTAIKOU *et al.*, 2010). Os tipos de culturas mistas mais utilizadas para produção de  $H_2$  são os inóculos obtidos a partir do lodo de esgoto e resíduos de animais, o que viabiliza ainda mais a utilização desse processo, por serem fontes naturais.

A desvantagem na utilização de culturas mistas, em termos da viabilidade econômica, está relacionada à presença, sempre provável, de microrganismos consumidores de  $H_2$ , tais como as arqueias metanogênicas, as bactérias homoacetogênicas e as bactérias sulfato e nitrato redutoras (NTAIKOU *et al.*, 2010; FANG, 2010) Tornando necessário a realização de um pré tratamentos específico para inativação das atividades metanogênicas.

Penteado (2012) investigou a influência de diferentes origens e pré-tratamentos do inóculo. Utilizou o lodo anaeróbio de reator UASB aplicado ao tratamento de água residuária de abatedouro de aves e, lodo anaeróbio de reator UASB aplicado ao tratamento de água residuária de suinocultura; além da autofermentação. A produção volumétrica máxima de

hidrogênio foi obtida quando se utilizou o lodo anaeróbio de reator UASB aplicado ao tratamento de água residuária de abatedouro de aves, no qual foi aplicado um pré-tratamento ácido. No entanto, durante o estudo deste autor, pôde-se observar que a autofermentação apresentou valores de HY semelhantes aos produzidos com os inóculos, tornando-se uma alternativa economicamente mais viável, pois não utiliza nenhum pré-tratamento.

Nissilä et al. (2011) utilizou temperaturas elevadas (52°C, 60°C e 65°C) para enriquecimento das bactérias produtoras de hidrogênio em celulose a partir de fluido do rúmen de vaca. As atividades metanogênicas foram inibidas com dois tratamentos térmicos diferentes. A produção de hidrogênio foi considerável a 60°C, com o rendimento mais elevado de H<sub>2</sub> de 0,44mol.H<sub>2</sub>/mol.hexose<sup>-1</sup>. A temperatura ótima e o pH para a produção de H<sub>2</sub> da cultura de enriquecimento de fluido do rúmen foi de 62°C e 7,3, respectivamente. Os enriquecimentos em 52°C e 60°C eram compostos principalmente por bactérias da família Clostridium. A 52°C, a diversidade bacteriana foi maior e não foi afetada pelos tratamentos térmicos. A diversidade bacteriana a 60°C mantiveram-se semelhantes entre os tratamentos térmicos, mas diminuiu durante o enriquecimento.

Mohan (2008) avaliou a influência de diferentes métodos de pré-tratamento aplicado sobre inóculo misto anaeróbio. Entre os métodos de pré-tratamento estudado, o pré-tratamento químico obteve os melhores resultados de produção de H<sub>2</sub>. O pré-tratamento de choque de calor (100°C; 1h) foi o procedimento que resultou em rendimento relativamente mais baixo de H<sub>2</sub> em comparação com os outros experimentos.

Mohammadi (2011) avaliou a influência de diferentes métodos de pré-tratamento aplicado sobre inóculo de uma cultura mista anaeróbia, utilizado para enriquecer seletivamente a produção de hidrogênio (H<sub>2</sub>), utilizando águas residuais de laticínios como substrato. Entre os métodos de pré-tratamento estudado, o pré-tratamento químico (sal de sódio de ácido sulfônico de 2-bromoetano (0,2g/L); 24h) foi o procedimento que permitiu um maior rendimento de H<sub>2</sub>, juntamente com melhor eficiência de remoção de substrato. Pelo contrário, o pré-tratamento térmico (100°C; 1 h) resultou num rendimento relativamente baixo de H<sub>2</sub>.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Água residuária

Foram utilizados três tipos de águas residuárias, sendo duas sintéticas e uma real, visando à produção fermentativa de hidrogênio no presente trabalho:

- ✓ Lactose isolada (sintética);
- ✓ Soro de queijo em pó (sintética);
- ✓ Efluente advindo de uma indústria de laticínios localizada no município de Palmeira dos Índios, no estado de Alagoas (real).

Vale salientar que a indústria onde foi coletado o efluente possui uma linha de produção variada. Além do leite UHT integral e desnatado, também são produzidas bebidas lácteas, queijo *pettit suisse*, manteiga, suco de frutas artificiais, achocolatados e iogurtes.

Os efluentes gerados por todos esses produtos são destinados para Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) sem que haja a separação dos mesmos, com exceção do soro de queijo que é segregado para posteriormente ser comercializado. Porém, apesar de não haver a separação do efluente, no momento da coleta, era possível identificar facilmente o produto o qual pertencia o despejo através da coloração e do cheiro característico de cada um.

Outra garantia para coletar apenas o efluente advindo da produção de leite, dava-se pelo fato de que após a fabricação de um tipo específico de produto, é feita a lavagem dos equipamentos, enviando para ETE uma água quase transparente e com espuma, servindo assim como uma forma de sinalização de que haveria uma mudança de produto fabricado naquele momento.

Portanto, no momento da coleta, optava-se pelos efluentes de cor branca, com cheiro característico de leite e com pH entre 4 e 7.

O efluente preferencialmente coletado e outros diversos tipos de efluentes gerados nesta indústria são apresentados na Figura 2:

FIGURA 2 – Efluente gerado a partir da produção do suco artificial de laranja (a), do suco artificial de uva (b), das águas de lavagem (c) e o efluente coletado para o experimento gerado a partir da produção de leite (d).



Fonte: Autora, 2016.

## 4.2 Material suporte

O material suporte para aderência microbiana utilizado, em ambos os reatores anaeróbios de leito fluidificado, foi o pneu triturado (Figura 3), seguindo a metodologia

aplicada por Barros (2009) e Silva (2015). Em cada reator foi adicionado um volume de 800mL de pneu triturado.

Barros (2009) comparou em seu trabalho a viabilidade do pneu triturado, da PET e do poliestireno para a produção de hidrogênio. Devido à rugosidade elevada, as partículas de pneu demonstraram que possuem uma capacidade maior de aderência da biomassa, resultando concomitantemente numa presença maior das bactérias acidogênicas.

**FIGURA 3 – Pneus triturados utilizados como material suporte do RALF.**



**FONTE:** Autora, 2016.

A Tabela 5 apresenta a composição média em porcentagem dos materiais que constituem os pneus.

**TABELA 5 – Composição média dos materiais constituintes dos pneus.**

<b>Material</b>	<b>Composição média % em peso</b>
Elastômeros	52
Fibras	6
Aço	11
Negro de fumo	31

**FONTE:** Novick (2004)

### 4.3 Análises físico-químicas

A Tabela 6 apresenta as análises laboratoriais que foram realizadas no decorrer do trabalho para o controle operacional dos reatores utilizados e as respectivas metodologias que foram adotadas para execução das mesmas.

**TABELA 6** - Análises para o controle operacional dos reatores

Análise	Periodicidade	Metodologia
pH	5x/semana	APHA: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998).
DQO	3x/semana	
Sólidos (sólidos totais – ST, sólidos suspensos totais – SST, sólidos suspensos voláteis – SSV)	2x/semana	
Hidrogênio	3x/semana	Medidor MilliGascounter (Ritter) Cromatografia gasosa (MODELO)
Ácidos Orgânicos Voláteis e Alcoóis	1x/semana	Cromatografia gasosa (MODELO)
Carboidratos	5x/semana	Dubois <i>et al.</i> (1956)

Fonte: Autora, 2016.

A medição de hidrogênio por cromatografia gasosa foi realizada em um detector por condutividade térmica (TCD) e coluna Carboxen#1010 PLOT de 30m x 0,53mm. A determinação de ácidos orgânicos foi realizada por cromatografia pelo método de extração com éter etílico, enquanto que a determinação do etanol utilizou o método de extração por headspace. Em ambos os métodos foi utilizado um detector de ionização de chama (FID, Flame Ionization Detector) em cromatógrafo SHIMADZU GC-2010 Plus e coluna SUPELCO WAX 10, de 30 m x 0,25 mm x 0,25µm, com hidrogênio como gás de arraste (ADORNO et al., 2014; MAINTINGUER et al., 2008).

#### 4.4 Inóculo

No presente trabalho, utilizou-se como inóculo o rúmen ovino no Reator 1 enquanto que no Reator 2 foi utilizada a autofermentação (Leite *et al.*, 2006; Peixoto, 2008; Penteado, 2012; Silva, 2015), quando não há nenhum inóculo no reator.

O rúmen utilizado como inóculo em R1, foi coletado no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Antes de inoculado no Reator 1, o rúmen ovino foi submetido ao tratamento ácido para inativação dos microrganismos metanogênicos. O procedimento foi realizado através do controle do pH, adicionando ácido clorídrico (HCl) com concentração de  $1,0\text{mol.L}^{-1}$  até que o pH estabilizasse em 3,0. Foi mantido nesse valor por 24 horas. Após o término das 24 horas, elevou-se o pH a 6,8 com adição de hidróxido de sódio com concentração de  $1,0\text{mol.L}^{-1}$  (Wang e Wan, 2008; Penteado, 2013).

A autofermentação não necessita de nenhum pré-tratamento. No entanto, a inoculação da biomassa obtida de fermentação natural do efluente de laticínios real realizada no R2, seguiu o procedimento utilizado por Silva (2015), adaptado do trabalho de Leite et al. (2006). Primeiramente o efluente coletado na indústria ficou exposto ao ambiente por 48 horas. Posteriormente, foi bombeado para o reator, sendo recirculado durante 48 horas (durante esse tempo o reator não foi alimentado). A velocidade de recirculação do inóculo foi determinada como sendo 30% maior que a velocidade mínima de fluidificação do pneu ( $1,53\text{cm/s}$  – Barros, 2012).

#### 4.5 Operação dos reatores

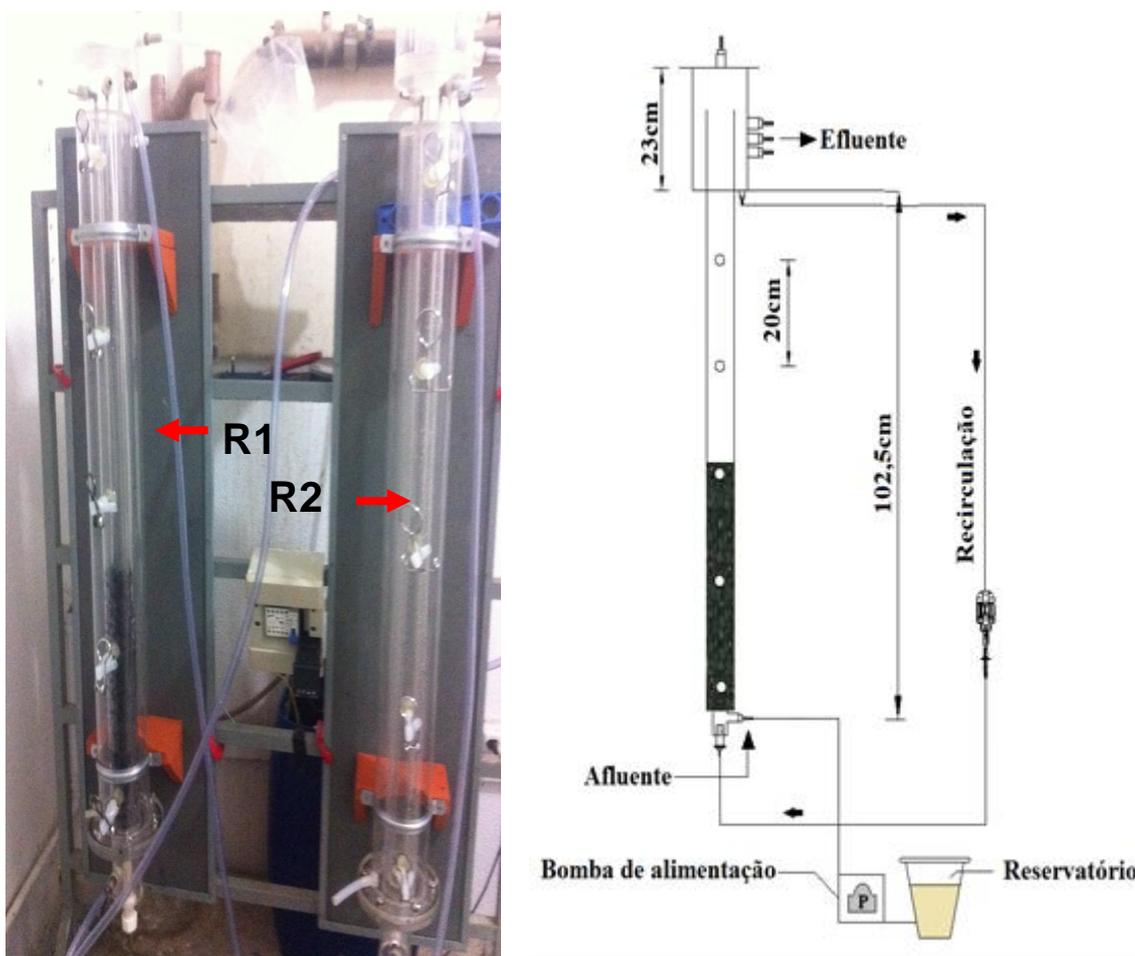
Para produção de hidrogênio foram utilizados dois reatores anaeróbios de leiteo fluidificado, sendo o Reator 1 (R1) o reator inoculado com rúmen ovino e, o Reator 2 (R2) o reator onde utilizou-se a autofermentação do efluente de laticínios.

Cada reator utilizado na pesquisa possui 125,5cm de altura, diâmetro interno de 6cm e volume útil de  $1950\text{cm}^3$ . Os reatores foram mantidos em temperatura ambiente durante a

operação, apresentando uma variação de 25,4 à 38,8°C no Reator 1 e 25,2 à 39,9°C no Reator 2. A altura do leito variou entre 53cm e 76cm no R1, e entre 54cm e 81cm no R2.

A Figura 4 apresenta os reatores utilizados na pesquisa e o esquema operacional.

FIGURA 4 – Reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF's) recém instalados e o esquema operacional dos reatores.



Fonte: Autora, 2016.

As bombas de alimentação utilizadas são da marca DOSITEC, modelo DLX MA/A. E para recirculação foram utilizadas bombas dosadoras da marca ECOSAN (Figura 5).

FIGURA 5 – Bombas ECOSAN utilizadas para recirculação do efluente nos reatores.



FONTE: Autora, 2016.

A operação dos reatores foi contínua e dividida em cinco fases. As Fases F1 e F2 tiveram como objetivo a adaptação do reator, nestas fases o TDH variou de 6 para 4h. Já nas Fases F3, F4 e F5, foi estudada a estabilidade do sistema, onde o TDH foi mantido em 2h, pois, conforme estudos anteriores, o TDH de 2h apresentou os melhores rendimentos na produção de hidrogênio quando utilizado RALF's (Wu et al., 2003; Barros et al., 2010; Amorim et al., 2009; Amorim, 2012). As condições operacionais detalhada das cinco fases são apresentadas na Tabela 7.

TABELA 7 – Fases de operação dos reatores

Fase	Substrato	TDH (h)	Duração (dias)	Tipo
F1	Ef. Laticínios real + 1g.glicose/L	6h	15	Adaptação
F2	Ef. Laticínios real (s/ glicose)	4h	15	Adaptação
F3	Lactose isolada (1,3g/L)	2h	20	Estabilização
F4	Soro de queijo (1,5g/L)	2h	23	Estabilização
F5	Ef. Laticínios real (s/ glicose)	2h	10	Estabilização

FONTE: Autora, 2016.

O efluente real coletado na indústria de laticínios foi utilizado nas fases F1, F2, e F5. Sendo a F1 a fase onde o efluente foi suplementado com 1g de glicose por litro de efluente real. E as Fases F2 e F5, as fases onde o efluente foi utilizado da forma como foi coletado na indústria, isto é, sem adição de glicose ou de qualquer outro tipo de suplementação.

A lactose isolada foi utilizada na fase F3. Preparou-se uma solução com 1,3g de lactose para cada litro de água.

O soro de queijo em pó foi utilizado na fase F4. Preparou-se uma solução com 1,5g de soro de queijo em pó para cada litro de água.

As definições das concentrações de 1,3g de lactose isolada e 1,5g do soro de queijo em pó foram definidas após alguns testes, que buscou aproximar a concentração do carboidrato afluente do soro de queijo e da lactose isolada, aos valores médios encontrados para esse parâmetro nas caracterizações do efluente real da indústria de laticínios.

#### 4.6 Cálculo dos principais parâmetros

Logo abaixo, são descritos a base de cálculo dos principais parâmetros que serão apresentados no próximo capítulo deste trabalho:

- HY: Rendimento de hidrogênio = (quantidade (mol) de  $H^2$  produzido)/(quantidade(mol) de carboidrato consumido);
- HPR: Produção volumétrica de  $H_2$  = (quantidade (L) de  $H^2$  produzido)/(tempo(h))/(volume(L) do reator);
- Conversão do carboidrato =  $100 \times (\text{carboidrato afluente} - \text{carboidrato efluente})/(\text{carboidrato afluente})$ ;
- AVT = ácidos voláteis totais e SMP = metabólitos totais produzidos foram baseados na concentração molar; EtOH/SMP, relação molar do etanol com o SMP; Hac/SMP, relação molar do acetato com o SMP; HBut/SMP, relação molar do butirato com o SMP; HPr/SMP, relação molar do propionato com o SMP.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo apresentam-se os resultados dos principais parâmetros analisados, relacionados à produção de hidrogênio.

Ao todo, a operação dos RALF's teve uma duração de 4 meses, no entanto, devido à instabilidade do início da operação, não serão relatados os dados referentes a este período.

Foram analisados apenas os dados das cinco fases apresentadas na Tabela 7 (capítulo 4.5 deste trabalho), que juntas somam 83 dias de operação.

Ainda assim, dentro das 5 fases, foi dada ênfase aos dados obtidos nas fases de estabilização (F3, F4 e F5), que são as fases consideradas de maior interesse.

Para uma melhor compreensão dos resultados, as “fases de estabilização” são apresentadas separadamente na Tabela 8:

**TABELA 8** – Resumo das fases de estabilização

Fase	Substrato	TDH (h)
F3	Lactose isolada (1,3g/L)	2
F4	Soro de queijo (1,5g/L)	2
F5	Ef. Laticínios real (s/ glicose)	2

**FONTE:** Autora, 2016.

### 5.1 Caracterização dos efluentes de laticínios

No início das atividades, foi realizada primeiramente, a caracterização dos efluentes coletados na indústria, para melhor conhecer suas características físico-químicas.

Na Tabela 9 são apresentados os dados obtidos na caracterização dos efluentes coletados na indústria de laticínios.

TABELA 9 – Caracterização dos efluentes de laticínios real

Parâmetros	Data da coleta						
	28/09/2015	20/10/2015	28/10/2015	09/11/2015	13/11/2015	10/12/2015	10/12/2015
<b>pH</b>	5,68	9,54	5,84	N.A.	N.A.	4,35	4,3
<b>Carboidratos (mg/L)</b>	2709,51	873,80	2871,42	702,37	N.A.	2370,25	2516,68
<b>SST<sup>1</sup> (mg/L)</b>	490	380	730	2740	N.A.	6517	10467
<b>SSV<sup>2</sup> (mg/L)</b>	400	218	606	4040	N.A.	5250	8917
<b>DQO<sup>3</sup> (mg/L)</b>	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5924,27	1348,52
<b>Nitrogênio (mg/L)</b>	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5,08	5,08
<b>Fósforo (mg/L)</b>	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	49,44	78,5

<sup>1</sup>SST = Sólidos Suspensos Totais; <sup>2</sup>SSV = Sólidos Suspensos Voláteis; <sup>3</sup>DQO = Demanda Química de Oxigênio; N.A. = Não analisado.

Analisando a Tabela 9, observa-se que na coleta realizada em 20/10/2015 ocorreu uma grande variação no pH (9,54), esse fato, possivelmente decorre da mistura do efluente com as águas de lavagem.

Essas águas de lavagem são provenientes de um processo chamado de *Clean in Place* (CIP), que consiste em algumas etapas de lavagem, incluindo pré enxague com água (38°C a 46°C), circulação de solução alcalina (80°C), enxague para remoção do alcalino, circulação de solução ácida (70°C) e novo enxágue (SANTOS, 2009). Tal procedimento se faz necessário nas indústrias alimentícias para higienização adequada dos equipamentos.

Ainda observando a Tabela 9, nota-se que apenas nas últimas duas coletas (10/12/2015) foram caracterizados todos os parâmetros. Isto porque, foram as águas residuárias dessa coleta que utilizou-se na fase de estabilização (Fase 5), sendo portanto, consideradas de maior importância. Enquanto que as outras coletas (28/09, 20/10, 28/10, 09/11, 13/11), foram utilizadas nas fases de adaptação (F1 e F2).

Na Tabela 10, é feita a comparação entre os valores médios, mínimos e máximos encontrados na caracterização dos efluentes coletados na indústria de laticínios, com os valores encontrados na literatura. Observa-se na Tabela 10 que a maioria dos parâmetros encontrados apresentou valores médios dentro da faixa de resultados encontrados na literatura. Com exceção dos SSV e SST.

TABELA 10 – Comparação entre os parâmetros dos efluentes coletados com os valores da literatura.

Parâmetros	Caracterização dos efluentes coletados			Valores encontrados na literatura				
	Média	Mínimo	Máximo	E.A.C.W. <sup>1</sup> (2000)	CETESB <sup>2</sup> (2008)	Silva (2015)	Seifert <i>et al.</i> (2010)	Amini <i>et al.</i> (2013)
pH	5,9	4,3	9,5	1,0 - 12,0	1,0 - 12,0	0,8 - 12,28	4,27	6,5 – 6,7
Carboidratos (mg/L)	2007,3	702,4	2871,4	N.D.	N.D.	1657 - 4750	-	-
SST <sup>3</sup> (mg/L)	6574	380	10467	100 - 2000	100 - 2000	268 - 1658	-	9.620 – 9.625
SSV <sup>4</sup> (mg/L)	6069	218	8917	100 - 2000	100 - 2000	202 - 707	-	6.985 – 6.990
DQO <sup>5</sup> (mg/L)	3636,4	1348,5	5924,3	500 - 4500	6000	6314 - 15.441	46.300,0	13.050 – 13.060
Nitrogênio Total (mg/L)	5,08	5,08	5,08	-	-	4,4 - 36,4	-	68 - 70
Fósforo (mg/L)	64,0	49,4	78,5	20 - 250	0,1 - 46	-	-	

<sup>1</sup>Environment Agency of England and Wales (2000), European Commission – Integrated Pollution Prevention and Control (2006); <sup>2</sup>ABIQ, apud, CETESB (2008); <sup>3</sup>SST – Sólidos Suspensos Totais; <sup>4</sup>SSV – Sólidos Suspensos Voláteis; <sup>5</sup>DQO – Demanda Química de Oxigênio.

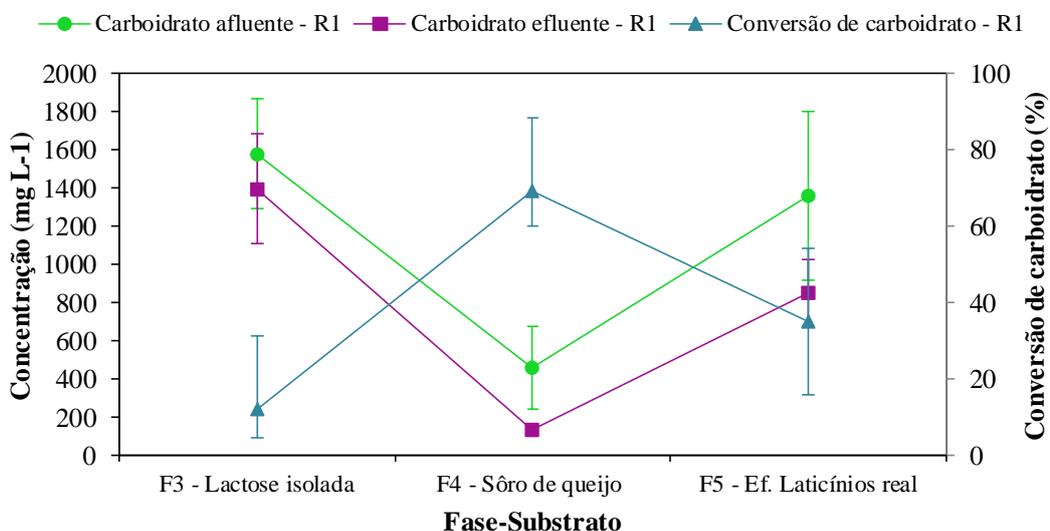
De um modo geral, assim como Silva (2015), observou-se que a maioria dos parâmetros analisados apresentaram significativa variação entre as coletas, ou seja, igualmente como verificado na literatura, não houve uma uniformização das características dos efluentes de laticínios, devido principalmente aos diferentes produtos fabricados, às substâncias utilizadas na higienização dos equipamentos e ao diferentes processos produtivos realizados nestas indústrias.

## 5.2 Conversão do carboidrato

Este item apresenta a média das concentrações afluente e efluente, bem como o comportamento da conversão do carboidrato nos Reatores 1 e 2 (separadamente), em função das três fases finais (F3, F4 e F5, quando foram utilizados os três tipos de substratos diferentes no mesmo TDH).

### 5.2.1 Conversão do carboidrato no R1 nas fases de estabilização

A Figura 6 apresenta a média das concentrações afluente e efluente, bem como o comportamento da conversão da glicose do Reator 1 (R1), em função dos substratos utilizados nas fases F3, F4 e F5, quando o TDH foi de 2h para os três substratos.

**FIGURA 6** – Concentração média do carboidrato afluente e efluente nas fases de estabilização do R1

A Tabela 11 apresenta os valores médios com desvio padrão das concentrações afluentes e efluentes e, a conversão do carboidrato do R1 (reator inoculado com rúmen), utilizando três diferentes tipos de substratos nas fases em que o TDH = 2h.

**TABELA 11** – Média com desvio padrão das concentrações do carboidrato afluente, efluente e conversão do carboidrato em R1 nas fases de estabilização.

Substrato	Carboidrato afluente (mg.L <sup>-1</sup> )	Carboidrato efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	Conversão do carboidrato (%)
Lactose Isolada	1579 ± 285	1394 ± 288	11 ± 7
Soro de queijo	458 ± 215	128 ± 28	69 ± 9
Ef. de Laticínios real	1361 ± 443	849 ± 177	42 ± 19

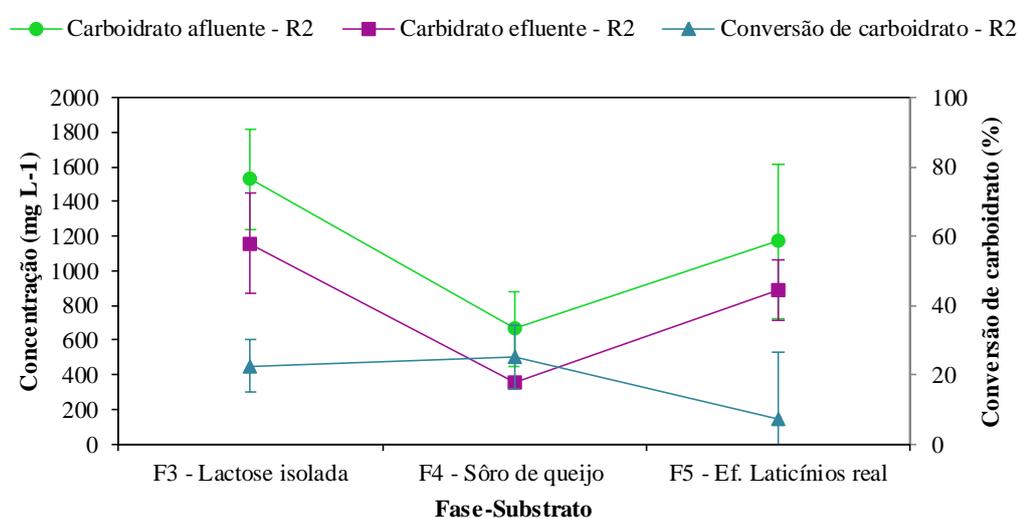
**FONTE:** Autora, 2016.

Os valores médios das concentrações do carboidrato afluentes tiveram variações consideráveis, principalmente o efluente real de laticínio, apresentando uma concentração mínima de 1.093 mg L<sup>-1</sup> e concentração máxima de 1.873 mg L<sup>-1</sup>. A média da concentração mais baixa foi observada quando utilizou-se o soro de queijo como substrato, no entanto, analisando a conversão do carboidrato em todas as etapas principais, foi nesta fase onde se obteve a maior eficiência de conversão da glicose no R1.

### 5.2.2 Conversão do carboidrato no R2 nas fases de estabilização

A Figura 7 apresenta a média das concentrações afluentes e efluente, bem como o comportamento da conversão do carboidrato do Reator 2 (autofermentação), em função dos substratos utilizados nas fases F3, F4 e F5, quando o TDH foi de 2h para os três substratos.

**FIGURA 7** – Concentração média da glicose afluentes e efluente nas fases de estabilização do R2



A Tabela 12 apresenta os valores médios com desvio padrão das concentrações afluentes, efluente e as médias da conversão do carboidrato do R2 (reator sem inóculo), utilizando três diferentes tipos de substratos nas fases em que o TDH=2h.

**TABELA 12** – Média das concentrações afluentes e efluente e da conversão do carboidrato com desvio padrão no R2 nas fases de estabilização

Substrato	Carboidrato afluente (mg.L <sup>-1</sup> )	Carboidrato efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	Conversão do carboidrato (%)
Lactose Isolada	1529 ± 431	1158 ± 203	20 ± 20
Soro de queijo	665 ± 434	351 ± 455	56 ± 18
Ef. de Laticínios real	1170 ± 994	888 ± 783	23 ± 7

FONTE: Autora, 2016.

No Reator 2, os valores médios das concentrações de carboidrato afluentes tiveram variações consideráveis assim como no Reator 1. O efluente real de laticínio advindo da indústria apresentou uma maior variação do carboidrato afluente, seguido da lactose isolada e do soro de queijo, respectivamente.

Novamente, a maior eficiência na conversão do carboidrato ocorreu na fase onde foi utilizado o soro de queijo como substrato, removendo uma média de 56% do carboidrato, apesar de concomitantemente ser a fase onde se obteve a menor concentração de carboidrato afluente.

### 5.3 Metabólitos solúveis

#### 5.3.1 Metabólitos solúveis em R1

A Figura 8 apresenta o comportamento dos metabólitos solúveis presentes no Reator 1 através da média de suas concentrações (mM) em função das fases operacionais.

**FIGURA 8** – Concentração dos metabólitos solúveis no Reator 1

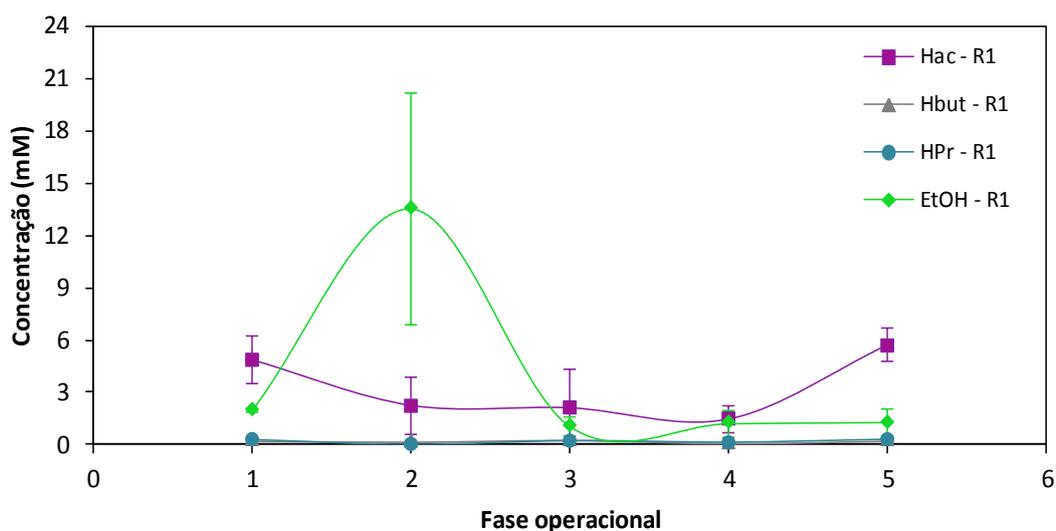


Tabela 13 apresenta os valores médios das concentrações dos metabólitos com desvio padrão no decorrer da operação do R1 (reator c/ rúmem).

**TABELA 13** – Média com desvio padrão das concentrações dos metabólitos solúveis em R1

<b>Fase</b>	<b>Ác. Acético (mM)</b>	<b>Ác. Butírico (mM)</b>	<b>Ác. Propiônico (mM)</b>	<b>Etanol (mM)</b>
F1	4,86 ± 1,41	0,17 ± 0,05	0,28 ± 0,06	1,95 ± 0,09
F2	2,25 ± 1,64	0,12 ± 0,05	0,00 ± 0,17	13,52 ± 6,69
F3	2,11 ± 2,25	0,22 ± 0,28	0,22 ± 0,25	1,03 ± 0,55
F4	1,46 ± 0,77	0,03 ± 0,05	0,13 ± 0,12	1,19 ± 0,76
F5	5,71 ± 0,94	0,18 ± 0,04	0,30 ± 0,09	1,25 ± 0,74

**FONTE:** Autora, 2016.

As médias mais altas da concentração do ácido acético 4,86mM e 5,64mM, ocorreram em duas fases que se utilizava o efluente de laticínio real como substrato, sendo a F1 com adição de glicose e a F5 sem adição.

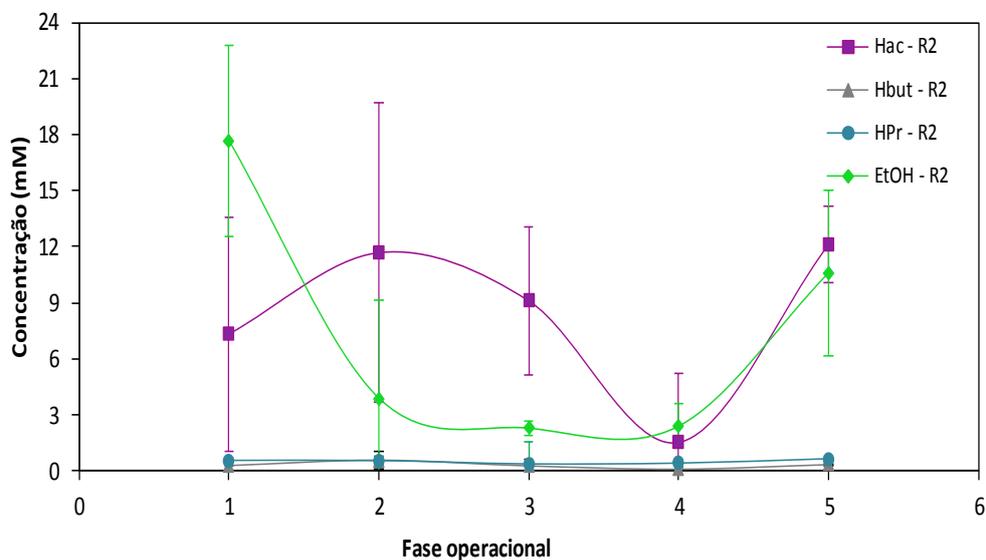
As concentrações de etanol tiveram médias similares nas fases F1, F3 e F4. Porém nas fases F1 e F5, observou-se dois picos na concentração, sendo estas as maiores médias de etanol registradas no Reator 1 no decorrer da operação (8,79mM e 8,61mM) e coincide com as Fases onde também foram registradas as maiores médias de concentração do ácido acético.

O ácido butírico e o ácido propiônico, ainda que em baixas concentrações, se fizeram presente durante praticamente toda a operação do Reator 1.

### **5.3.2 Metabólitos solúveis em R2**

A Figura 9 apresenta o comportamento dos metabólitos solúveis presentes no Reator 2 através da média de suas concentrações (mM) em função das fases operacionais.

**FIGURA 9** – Concentração molar dos metabólitos solúveis no Reator 2



A Tabela 14 apresenta os valores médios das concentrações dos metabólitos com desvio padrão no decorrer da operação do R2 (autofermentação).

**TABELA 14** – Média com desvio padrão das concentrações dos metabólitos em R2

<b>Fase</b>	<b>Ác. Acético (mM)</b>	<b>Ác. Butírico (mM)</b>	<b>Ác. Propiônico (mM)</b>	<b>Etanol (mM)</b>
F1	7,33 ± 6,26	0,28 ± 0,00	0,56 ± 0,06	17,69 ± 5,12
F2	11,68 ± 8,00	0,57 ± 0,48	0,55 ± 0,25	3,90 ± 5,22
F3	9,10 ± 4,01	0,26 ± 0,39	0,37 ± 1,20	2,29 ± 0,41
F4	1,52 ± 3,66	0,09 ± 0,12	0,42 ± 0,24	2,39 ± 1,18
F5	12,11 ± 2,04	0,33 ± 0,06	0,65 ± 0,09	10,60 ± 4,47

**FONTE:** Autora, 2016.

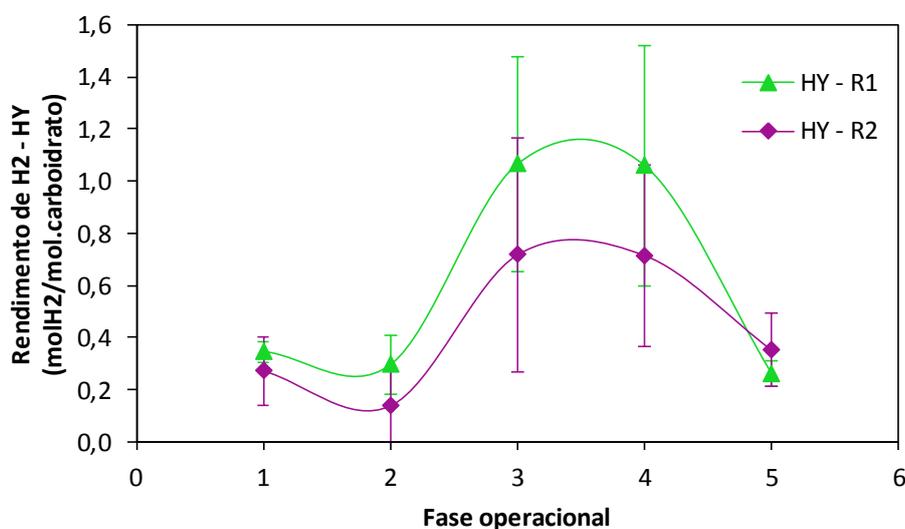
Nas fases de estabilização, a média mais alta da concentração do ácido acético foi de 8,76mM e ocorreu na Fase 5, onde utilizou-se o laticínio real como substrato sem adição de glicose. Na mesma fase, também foi observada a maior média da concentração de etanol (17,80mM).

Foram registradas baixas concentrações dos ácidos butírico e propiônico, porém ambos se fizeram presente durante toda a operação do Reator 2.

## 5.4 Rendimento de H<sub>2</sub>

Na Figura 10 são apresentados os valores médios com desvio padrão referentes ao rendimento de hidrogênio obtidos nos Reatores 1 e 2 no decorrer da operação.

FIGURA 10 – Média com desvio padrão do rendimento de hidrogênio nos Reatores 1 e 2.



Na Tabela 15 apresentam-se as médias com desvio padrão do rendimento de H<sub>2</sub> em R1 e R2 em todas as fases.

TABELA 15 – Média com desvio padrão do rendimento de H<sub>2</sub> em R1 e R2

Fase	Reator 1				Reator 2			
	HY (mol H <sub>2</sub> /mol glicose)				HY (mol H <sub>2</sub> /mol glicose)			
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio	Mínimo	Máximo	Média	Desvio
F1	0,30	0,38	0,35	0,04	0,13	0,38	0,27	0,13
F2	0,00	0,42	0,30	0,11	0,04	0,49	0,14	0,14
F3	0,64	1,61	1,07	0,41	0,15	1,05	0,72	0,45
F4	0,36	1,66	1,06	0,46	0,27	1,25	0,71	0,35
F5	0,21	0,30	0,26	0,05	0,19	0,45	0,35	0,14

FONTE: Autora, 2016.

As Fases F3 e F4 onde utilizou-se a lactose isolada e o soro de queijo para produzir hidrogênio, obtiveram rendimentos de H<sub>2</sub> bastante similares em ambos os reatores. Nestas fases foram registradas as maiores médias (1,07 e 1,06 molH<sub>2</sub>/mol carboidrato) do rendimento

de  $H_2$  no Reator 1, bem como as maiores médias do rendimento no Reator 2 (0,71 e 0,72mol.H<sub>2</sub>/mol carboidrato).

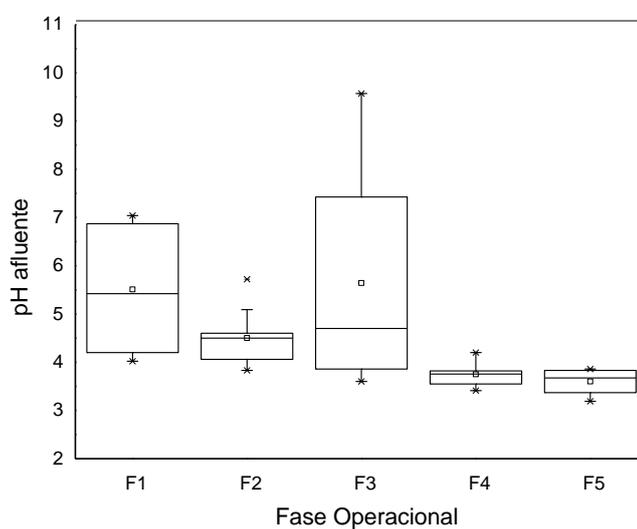
Outro aspecto observado foi o fato do Reator com rúmen ter apresentado um rendimento melhor que o Reator da autofermentação em todas as fases, exceto na F5, onde utilizou-se o efluente de laticínios sem adição de glicose como substrato.

### 5.5 Potencial Hidrogeniônico (pH)

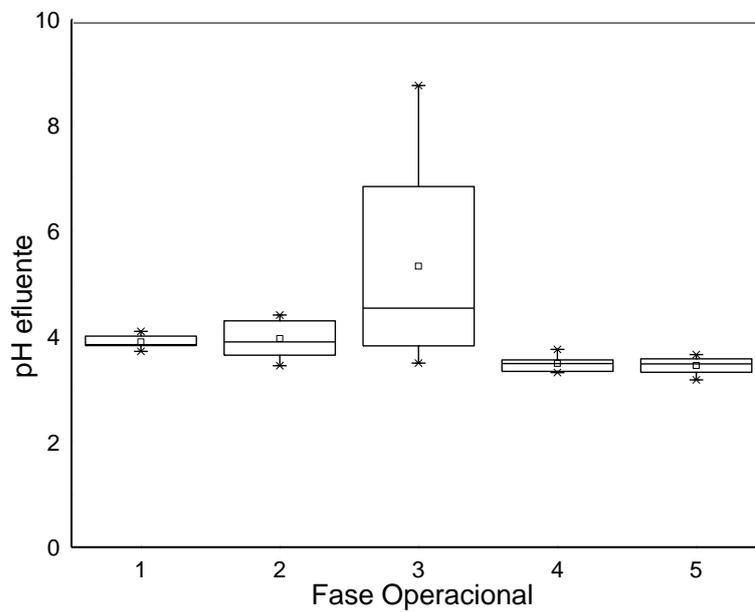
Este item apresenta os valores de pH afluente e efluente encontrados nos Reatores 1 e 2 durante a operação.

#### 5.5.1 pH no Reator 1

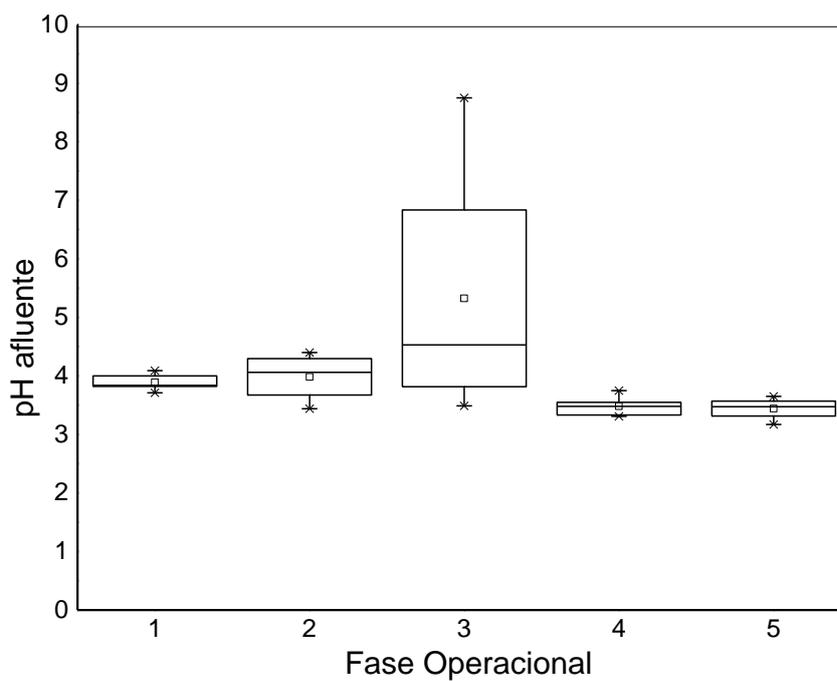
**FIGURA 11** – Diagrama de caixa para os valores de pH afluente em função da fase de operação do Reator 1.

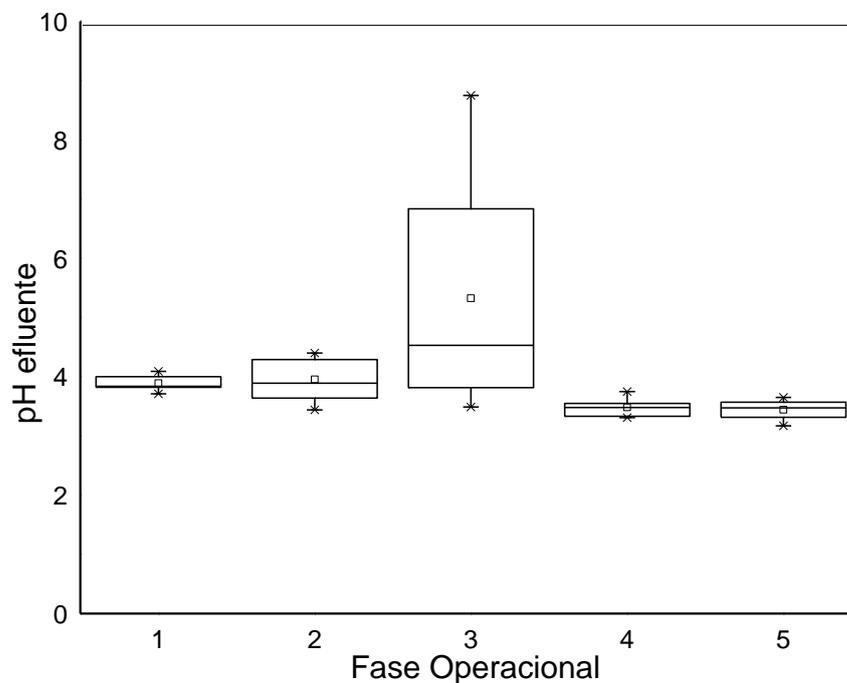


Observa-se que entre as duas primeiras fases no Reator 1, não houve variação significativa do pH afluente. Na F3, foi observado um aumento significativo, alcançando um pico de pH igual a 9,57.

**FIGURA 12** – Diagramas de caixa para os valores de pH do efluente em função da fase de operação do R1.

### 5.5.2 pH no Reator 2

**FIGURA 13** – Diagramas de caixa para os valores de pH afluente no R2.

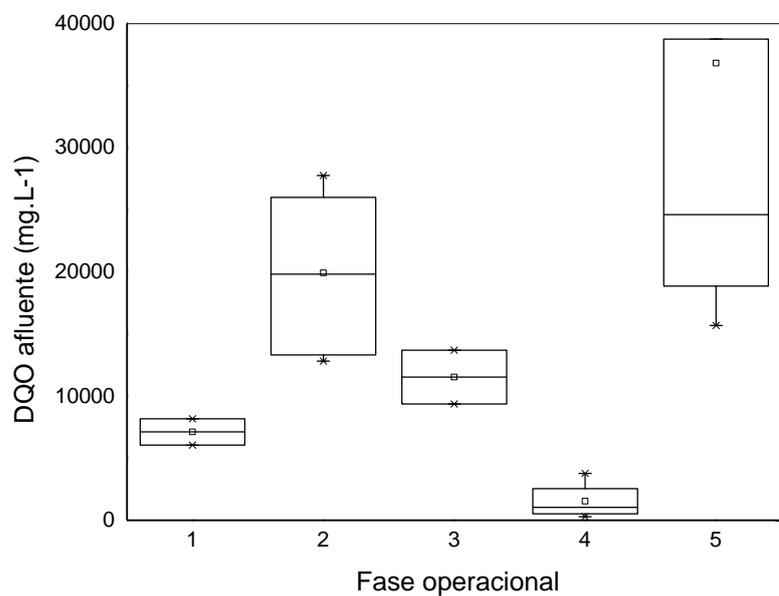
**FIGURA 14** – Diagrama de caixa para os valores de pH efluente em função da fase de operação do Reator 2.

Observa-se que no Reator 2 entre as duas primeiras fases não houve variação significativa do pH afluente. Na Fase F3, um aumento expressivo foi observado, alcançando um pico de pH igual a 8,75.

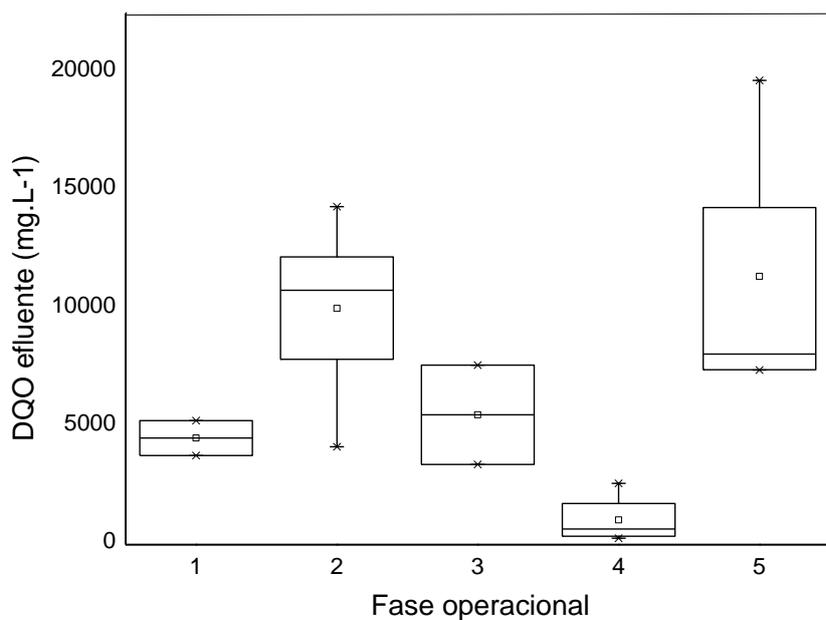
## 5.6 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Este item apresenta os valores da DQO encontrados nos Reatores 1 e 2 no decorrer da operação.

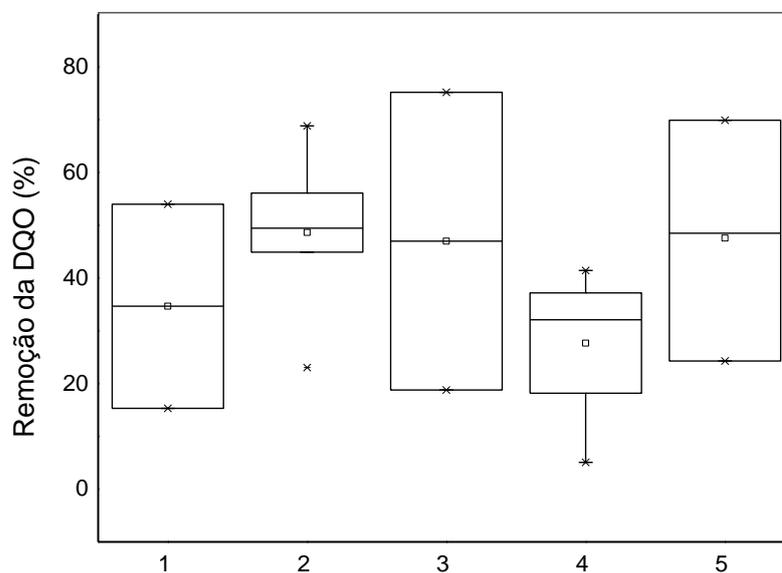
### 5.6.1 DQO em R1

**FIGURA 15** – Diagrama de caixa para os valores da DQO afluyente no Reator 1.

Observa-se que a DQO afluyente teve uma grande variação durante toda operação do Reator 1. Na Fase F5, foi observada a maior variação (15.672,69mg/L a 24.602,79mg/L).

**FIGURA 16** – Diagrama de caixa para os valores da DQO efluente no Reator 1.

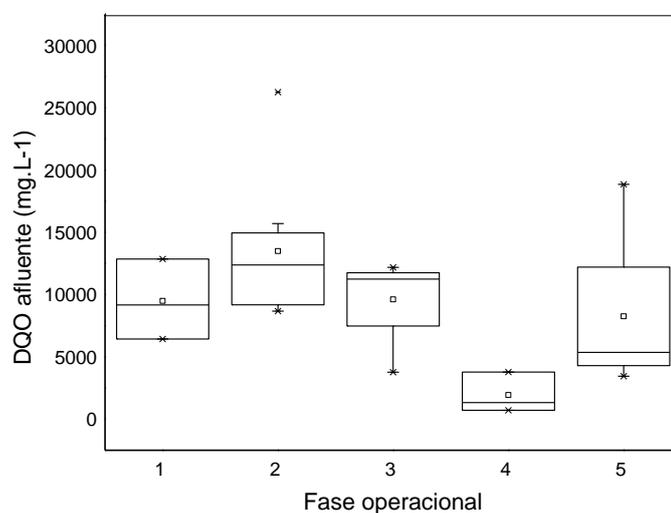
**FIGURA 17** – Diagrama de caixa para os valores da eficiência na remoção da DQO no Reator 1.



Dentre as três fases de maior importância, a maior eficiência (47 e 49%) de remoção ocorreu nas Fases F3 e F5 respectivamente, onde utilizou-se o soro de queijo e o efluente de laticínios como água residuária.

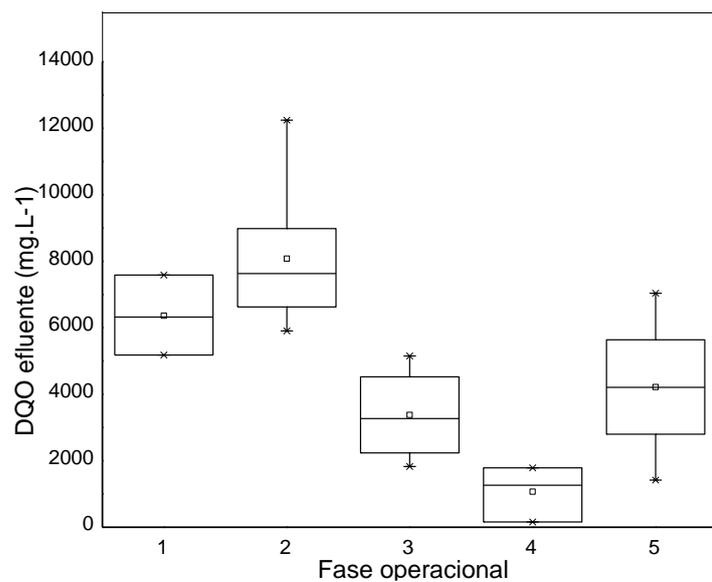
### 5.6.2 DQO em R2

**FIGURA 18** – Diagrama de caixa para os valores de DQO afluente no Reator 2.

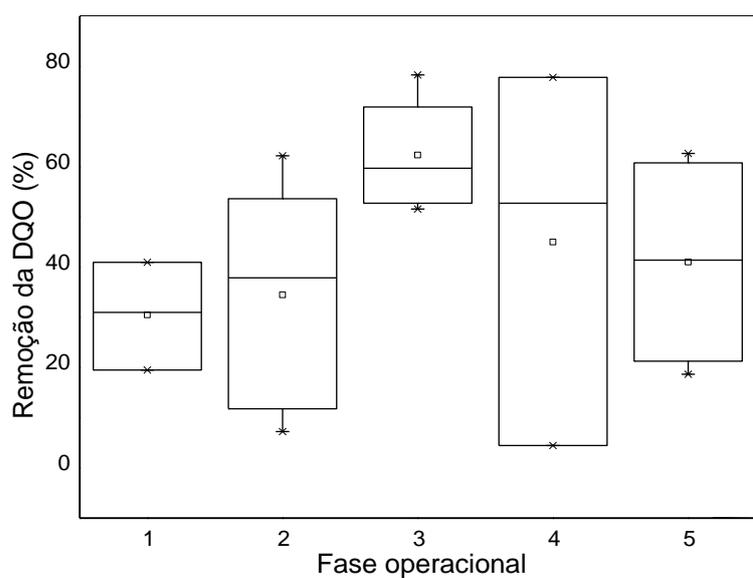


O comportamento da DQO afluente teve uma grande variação durante toda operação do Reator 2. Na Fase F5, foi observada a maior variação (3.445mg/L a 18.846mg/L).

**FIGURA 19** – Diagrama de caixa para os valores de DQO efluente no Reator 2.



**FIGURA 20** – Diagrama de caixa para os valores da eficiência na remoção da DQO no R2.



A maior eficiência de remoção da DQO no Reator 1 ocorreu na Fase F1. No entanto, dentre as três fases de maior importância, a maior eficiência ocorreu na Fase F4, onde utilizou-se o soro de queijo como água residuária.

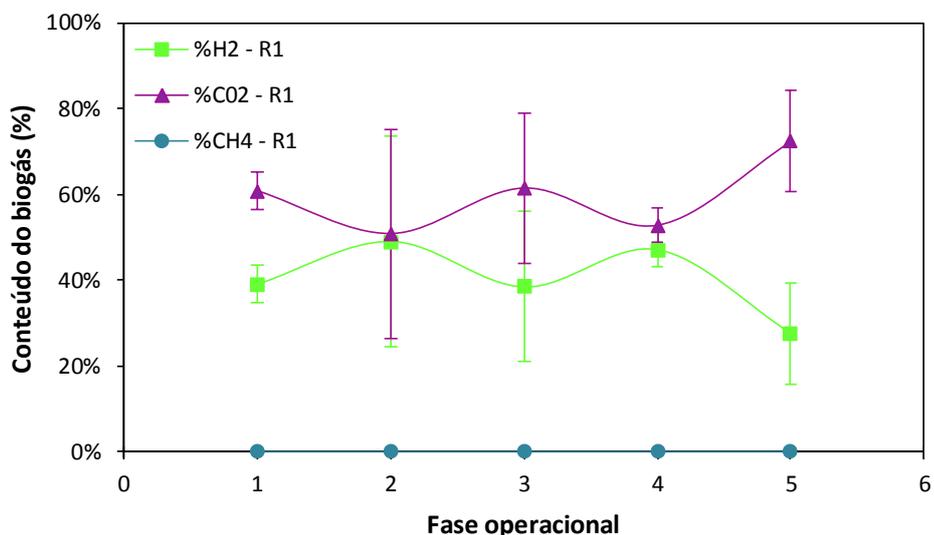
## 5.7 Conteúdo do biogás

Este item apresenta a média com desvio padrão do conteúdo do biogás presente nos Reatores 1 e 2 durante todo o período operacional, em função das fases operacionais.

### 5.7.1 Conteúdo do biogás no R1 em todas as fases operacionais

A Figura 21 apresenta a média do conteúdo do biogás com desvio padrão no Reator 1 (R1) durante o período de operação do reator.

FIGURA 21 – Percentual do conteúdo do biogás em R1



A Tabela 16 apresenta os valores médios com desvio padrão do conteúdo do biogás no Reator 1 (inoculado com rúmen).

TABELA 16 – Média do conteúdo do biogás no R1 em cada fase.

Fase	Substrato	TDH	H <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	CH <sub>4</sub> (%)
F1	Ef. laticínios real + glicose	6h	39	61	0
F2	Ef. laticínios real s/ glicose	4h	49	51	0
F3	Lactose isolada	2h	38	62	0
F4	Soro de queijo	2h	47	53	0
F5	Ef. laticínios real s/ glicose	2h	28	72	0

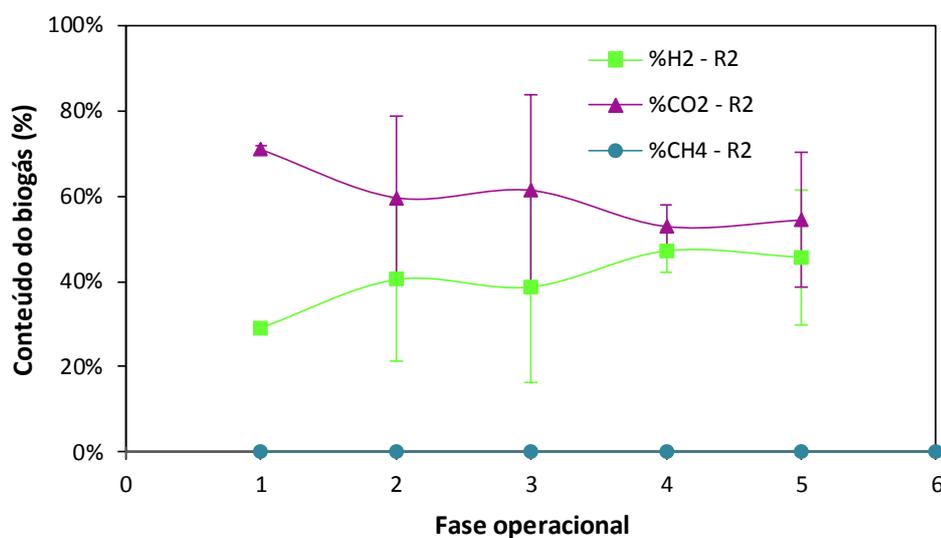
FONTE: Autora, 2016.

Na F4, obteve-se a maior média (47%) de hidrogênio no conteúdo do biogás presente no R1. Enquanto que a menor média foi de aproximadamente 24%, evidenciado na F5, quando o substrato foi o efluente real sem glicose e o TDH =2h.

### 5.7.2 Conteúdo do biogás no R2 em todas as fases operacionais

A Figura 22 apresenta a média do conteúdo do biogás com desvio padrão no Reator 2 (autofermentação) durante todo o período de operação do reator.

FIGURA 22 – Percentual do conteúdo do biogás em R2



A Tabela 17 apresenta os valores médios com desvio padrão do conteúdo do biogás no R2 (autofermentação).

**TABELA 17** – Média do conteúdo do biogás no R2 em cada fase

<b>Fase</b>	<b>Substrato</b>	<b>TDH</b>	<b>H<sub>2</sub></b> (%)	<b>CO<sub>2</sub></b> (%)	<b>CH<sub>4</sub></b> (%)
F1	Ef. laticínios real + glicose	6h	29	71	0
F2	Ef. laticínios real s/ glicose	4h	40	60	0
F3	Lactose isolada	2h	39	61	0
F4	Soro de queijo	2h	47	53	0
F5	Ef. laticínios real s/ glicose	2h	46	54	0

**FONTE:** Autora, 2016.

As maiores médias (47% e 46%) do conteúdo de hidrogênio presente no biogás no Reator 2 ocorreram nas fases F5 e F4, quando o TDH = 2h e o substrato foi o efluente de laticínio e o soro de queijo, respectivamente..

## 5.8 Considerações Gerais

Neste trabalho ficou mais uma vez comprovado que é possível produzir hidrogênio através de processos anaeróbios devido a sua capacidade de conversão de substratos orgânicos.

O rendimento máximo da produção de hidrogênio durante a realização do experimento foi obtido nas Fases F3 e F4 no Reator 1 (inoculado com rúmen). As médias encontradas foram iguais a 1,07 e 1,06mol H<sub>2</sub>/mol carboidrato, respectivamente.

Também nas Fases F3 e F4 foram encontradas os maiores rendimentos da produção de H<sub>2</sub> no Reator 2 (reator que se utilizou a fermentação natural do efluente de laticínios). Obteve-se uma média de 0,72 e 0,71 mol H<sub>2</sub>/mol carboidrato, respectivamente.

Vale salientar que as Fases F3 e F4 foram as fases onde utilizou-se a lactose isolada e o soro de queijo, respectivamente, como substrato.

Os valores de HY obtidos são similares aos encontrados na literatura. Perna et al. (2013) utilizaram o soro de queijo para produção de H<sub>2</sub>, obtiveram um rendimento máximo

igual a  $0,668 \pm 0,002$  mol H<sub>2</sub>/mol lactose. Ottaviano (2014), utilizando o soro de queijo, num RALF, teve rendimento máximo de 3,3 molH<sub>2</sub>/mol<sup>-1</sup>lactose. Davila-Vazquez et al. (2008), para produzir hidrogênio utilizaram reatores em bateladas e, a lactose e o soro de queijo em pó como substrato, resultando em rendimentos iguais a  $3,6 \pm 0,03$  molH<sub>2</sub>/mol de substrato e  $3,1 \pm 0,04$  molH<sub>2</sub>/mol de substrato.

Em relação aos metabólitos solúveis presentes na operação, observou-se a presença do etanol em todas as fases, o que indica a possibilidade da produção de hidrogênio ter ocorrido através da rota metabólica (Reação 1), que produz ao mesmo tempo o etanol e o hidrogênio (AMORIM, 2012).



Sobre a conversão de carboidrato, analisando as fases de estabilização (TDH=2h) em ambos os reatores, pôde-se observar que a concentração afluente de carboidratos apresentou uma influência direta nos resultados obtidos. Ficou evidente que quanto menor a concentração afluente de carboidratos, maior a capacidade de conversão de carboidratos nos reatores. Sendo as conversões máximas obtidas iguais a 69% no R1 e 56% no R2. Tais valores são semelhantes ao encontrado por Silva (2015), que também operou um RALF para produção de H<sub>2</sub> a partir de efluentes de laticínios e obteve a máxima da conversão igual a 62,63%. No entanto, abaixo dos valores médios encontrados por Lima (2016), que utilizou soro do leite como substrato para produção de H<sub>2</sub>, e obteve uma conversão média sempre acima de 90%, porém o autor utilizou outro modelo de reator.

Na Tabela 18 é apresentado um resumo dos principais parâmetros monitorados durante a operação de todas as fases dos dois reatores.

TABELA 18 – Média dos principais parâmetros avaliados durante o monitoramento dos reatores.

Parâmetro	Reator 1					Reator 2				
	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
pH afluente	5,5 ± 1,4	4,5 ± 0,5	5,6 ± 2,7	3,7 ± 0,3	3,6 ± 0,3	5,60 ± 1,6	4,7 ± 0,6	4,1 ± 0,9	3,9 ± 0,4	6,1 ± 4,1
pH efluente	3,8 ± 0,2	3,9 ± 0,4	4,5 ± 2,4	3,5 ± 0,2	3,5 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,1 ± 0,6	3,8 ± 0,6	3,6 ± 0,4	3,6 ± 0,2
DQO afluente (mg/L)	7113 ± 1493	19810 ± 7129	11522 ± 3062	1036 ± 1554	18846 ± 4527	9165 ± 3220	12370 ± 5768	11240 ± 3917	1323 ± 1623	5352 ± 7124
DQO efluente (mg/L)	4515 ± 1044	10769 ± 3608	5497 ± 2973	663 ± 1063	8071 ± 3786	6323 ± 1204	7631 ± 2096	3269 ± 1457	1264 ± 831	4208 ± 2295
Remoção de DQO (%)	35 ± 27	49 ± 15	47 ± 40	32 ± 16	49 ± 23	31 ± 11	38 ± 22	60 ± 12	53 ± 37	41 ± 23
Concentração afluente de Carboidratos (mg/L)	2830 ± 1991	2542 ± 1534	1579 ± 285	458 ± 215	1361 ± 443	2006 ± 1648	2157 ± 1413	1529 ± 431	665 ± 434	1170 ± 994
Concentração efluente de Carboidratos (mg/L)	832 ± 46	1212 ± 1196	1398 ± 288	139 ± 28	950 ± 177	825 ± 873	732 ± 963	203 ± 1121	454,52 ± 104	783 ± 755
Conversão de Carboidratos (%)	62 ± 25	34 ± 18	12 ± 7	69 ± 9	35 ± 19	60 ± 8	43 ± 25	20 ± 23	56 ± 25	23 ± 7
Percentual de H <sub>2</sub> no biogás (%)	39 ± 24	49 ± 18	38 ± 12	47 ± 22	28 ± 14	29 ± 19	40 ± 23	39 ± 16	47 ± 21	46 ± 36
Percentual de CO <sub>2</sub> no biogás (%)	61 ± 24	51 ± 18	62 ± 12	53 ± 22	72 ± 14	71 ± 19	60 ± 23	61 ± 16	53 ± 17	54 ± 36
Percentual de CH <sub>4</sub> no biogás (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HY (mol H <sub>2</sub> /mol carboidrato)	0,35 ± 0,04	0,30 ± 0,11	1,07 ± 0,41	1,06 ± 0,46	0,26 ± 0,05	0,27 ± 0,13	0,14 ± 0,14	0,72 ± 0,45	0,71 ± 0,35	0,35 ± 0,14
HPR (L.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )	0,003 ± 0,003	0,006 ± 0,005	0,002 ± 0,002	0,002 ± 0,001	0,029 ± 0,014	0,005 ± 0,002	0,004 ± 0,003	0,001 ± 0	0,010 ± 0,012	0,010 ± 0,003
Percentual de Hac (%)	67 ± 19,3	19 ± 14,0	59 ± 62,9	52 ± 27,5	39 ± 6,4	28 ± 24,2	70 ± 107,6	69 ± 52,8	34 ± 82,9	32 ± 23,2
Percentual de Hbut (%)	2 ± 0,7	1 ± 0,4	6 ± 7,8	0 ± 1,9	1 ± 0,3	1 ± 1,1	3 ± 3,4	3 ± 2,8	0 ± 2,0	1 ± 1,2
Percentual de Hpr (%)	4 ± 0,8	0 ± 1,4	6 ± 7,1	5 ± 4,2	2 ± 0,6	2 ± 0,5	3 ± 1,5	4 ± 12,7	9 ± 5,4	2 ± 0,3
Percentual de EtOH (%)	27 ± 1,2	80 ± 74,0	29 ± 15,3	42 ± 26,9	58 ± 99,5	68 ± 19,8	23 ± 31,3	24 ± 4,4	54 ± 26,8	65 ± 77,0

FONTE: Autora, 2016.

## 6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos nos experimentos realizados neste trabalho pode-se concluir que a utilização do rúmen ovino como inóculo mostrou-se mais viável para produção de hidrogênio comparado ao processo de fermentação natural do efluente de laticínios, quando utilizou-se a lactose isolada e o soro de queijo em pó como substrato em TDH de 2h.

Porém, quando o substrato foi o efluente de laticínios real sem glicose, no TDH de 2h, o Reator 2 (autofermentação), apresentou um melhor rendimento na produção de  $H_2$  ( $0,35 \text{ mol.H}_2/\text{mol.carboidrato}$ ) comparado com o Reator inoculado com rúmen ( $0,25 \text{ mol.H}_2/\text{mol.carboidrato}$ ). Deste modo, nessas circunstâncias considera-se a autofermentação como a melhor alternativa, tendo em vista que não precisa de nenhum tipo de pré-tratamento, sendo portanto, a opção economicamente mais viável.

Além disso, os dados analisados e discutidos permitem concluir que:

- É possível produzir hidrogênio utilizando reator anaeróbio de leito fluidificado, inoculado com rúmen ovino e com as águas residuárias estudadas;
- Dentre as três águas residuárias estudadas, a lactose isolada e o soro de queijo em pó foram as que apresentaram o maior rendimento de  $H_2$  em ambos reatores. A lactose isolada teve rendimento médio de  $1,07 \text{ mol.H}_2/\text{mol carboidrato}$  no R1 e o soro de queijo  $1,06 \text{ mol.H}_2/\text{mol carboidrato}$ . Já no Reator 2, a lactose isolada teve um rendimento médio de  $0,72 \text{ mol.H}_2/\text{mol carboidrato}$  e o soro de queijo  $0,71 \text{ mol.H}_2/\text{mol carboidrato}$ . Portanto, conclui-se que em cada um dos reatores, ambos substratos apresentaram rendimentos quase idênticos.
- Sem o uso de suplementação, o efluente de laticínio real utilizado como água residuária e associado com a fermentação natural, foi capaz de produzir hidrogênio e mostrou-se mais viável que quando utilizou-se o rúmen como inóculo. Porém, o rendimento máximo obtido foi de  $0,35 \text{ mol.H}_2/\text{mol carboidrato}$  e encontra-se abaixo dos valores encontrado na literatura.
- O biogás produzido foi composto apenas por  $H_2$  e  $CO_2$ . As porcentagens médias de hidrogênio variaram de 29 à 47% no reator com rúmen e 53 à 71% no reator da autofermentação.

- O ácido acético e o etanol foram os principais metabólitos produzidos em todas as fases operacionais dos dois reatores, com distribuição percentual variando entre 19% e 67% (ác. acético) e 27% e 80% (etanol) no Reator 1 e, variando entre 28% e 70% (ác. acético) e 23% e 68% (etanol) no Reator 2.
- O pré-tratamento ácido aplicado ao rúmen ovino se mostrou eficiente para eliminação de micro-organismos consumidores de H<sub>2</sub>.

## **7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

A partir dos resultados experimentais, numa perspectiva de novos trabalhos, sugere-se:

- Utilizar reatores anaeróbios de leito fluidificado separados para cada água residuária;
- Submeter as três águas residuárias paralelamente a temperaturas termofílicas e/ou psicofílicas e manter o controle da temperatura;
- Suplementar o efluente de laticínios real;
- Avaliar a taxa de carregamento orgânico, para isto, seria interessante homogeneizar melhor os efluentes coletados, evitando assim a grande variabilidade das suas características e resultando numa avaliação mais consistente;
- Avaliar a comunidade microbiana envolvida no processo.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA): AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA): WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19<sup>th</sup> ed. Washington, 1998.

AMINI, M., et al. Determination of optimum conditions for dairy wastewater treatment in UAASB reactor for removal of nutrients. **Bioresource Technology**, v.145, p.71-79, 2013.

AMORIM, E. L. C., et al. Anaerobic Fluidized Bed Reactor with Expanded Clay as Support for Hydrogen Production thorough Dark Fermentation of Glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 783-790, 2009.

\_\_\_\_\_; SADER, L. T.; SILVA, E. L. Effects of substrate concentration on dark fermentation hydrogen production using an anaerobic fluidized bed reactor. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 166, p. 1248-1263, 2012.

AMORIM, N. C. S. **Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado**. Dissertação (mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia, Maceió, 2012.

ANTONOPOULOU, G., et al. Biohydrogen and methane production from cheese whey in a two-stage anaerobic process. **Ind Eng Chem Res** 47:5227–5233 (2008).

AZBAR, N., et al. Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, 34:7441–7447 (2009).

BARROS, A. R. et al. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**, 35: p. 3379-3388, 2010.

BARROS, A.R. **Produção de hidrogênio e etanol em reator anaeróbio de leito fluidizado: avaliação do desempenho de três materiais suporte em diferentes condições**

**operacionais.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2012.

BARROS, A.R. **Influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável / Secretaria de Atenção à Saúde.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 210p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

CASTELLO, E. et al. Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: links between microbial community and reactor performance. **International Journal of Hydrogen Energy**, 34:5674–5682 (2009).

CARDOSO, P. H. G. **Produção de hidrogênio a partir da manipeira em reator anaeróbio de leito fluidificado: efeito do pH.** Dissertação (mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia, Maceió, 2014.

CETESB – Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Guia Técnico de Produtos Lácteos – Série P+L.** São Paulo – SP, 2008.

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

DAVILA-VAZQUEZ, G. et al., Continuous biohydrogen production using cheese whey: improving the hydrogen production rate. **International Journal of Hydrogen Energy**, 34:4296–4304 (2009).

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

ERGÜDER, T. H., et al. Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. **Waste Management**, v. 21, p. 643-650, 2001.

FANG, H. H. **Environmental Anaerobic Technology: applications and new developments**. World Scientific (2010).

FERNANDES, B. S. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2008.

FERNANDEZ, C., et al. Application of a packed bed reactor for the production of hydrogen from cheese whey permeate: effect of organic loading rate. **J Environ Sci Health, Part A** 49:210–217 (2014).

GRIFFITHS, R. I., et al. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA-and rRNA-based microbial community composition. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5488-5491, 2000.

HUANG, G. H. et al. **Study on hydrogen production with hysteresis in UASB**. *Chemosphere*, v. 54, n. 7, p. 815-821, 2004.

KAMIYAMA, C. M.; OTENIO, M. H. Aspectos sobre qualidade da água e qualidade de produtos na indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 391, p. 42-50, 2013.

KARADAG, D. et al. A review on fermentative hydrogen production from dairy industry wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, n. 11, p. 1627-1636, 2014.

KISIELEWSKA M, WYSOCKA I AND RYNKIEWICZ. Continuous biohydrogen and biomethane production from whey permeate in a two-stage fermentation process. **Environ Prog Sustain Energy** (2014).

KRAEMER, J. T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnology letters**, 29(5), 685-695 (2007).

LEITE, J. A. C., et al. Application of anaerobic packed-bed reactor for the production of hydrogen and organic acids. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 5234-5241, 2008.

LI, C. L.; FANG, H. H. P. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures, **Crit Ver Env Sci Technol**, v. 37, p. 1-39, 2007.

LIMA, D. M. F., et al. Optimization performance of an AnSBBR applied to biohydrogen production treating whey. **Journal of Environmental Management**, v. 169, p. 191-201, 2016.

\_\_\_\_\_; **Produção de biohidrogênio a partir de soro de leite em AnSBBR com recirculação da fase líquida**. 506p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

LIMA, E. C. **Remoção de sulfato em efluentes de curtume usando processo biológico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

LIN, C. N., 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.

MACHADO, R. M. G.; SILVA, P. C. da; FREIRE, V. H. Controle ambiental em indústrias de laticínios. **Brasil Alimentos**, v. 7, p. 34-36, 2001.

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

MOHAMMADI, P., et al. Effects of different pretreatment methods on anaerobic mixed microflora for hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, n. 14, p. 1654-1658, 2011.

MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): effect of organic loading rate. **Enzyme Microbiol Technol** 41:506–515 (2007).

\_\_\_\_\_ et al. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 1, p. 59-67, 2008.

MOSEY, F. E. Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science & Technology**, v. 15, n. 8-9, p. 209-232, 1983.

MU, Y.; YU, H. Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules. I: Physicochemical characteristics of hydrogen-producing granules. **Biotechnology and bioengineering**, v. 94, n. 5, p. 980-987, 2006.

NGUYEN, T.; Anh D., et al. Optimization of hydrogen production by hyperthermophilic eubacteria, *Thermotoga maritima* and *Thermotoga neapolitana* in batch fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 5, p. 1483-1488, 2008.

NIELSEN, A. T., et al. Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1251-1258, 1999.

NISSILÄ, M. E., et al. Thermophilic hydrogen production from cellulose with rumen fluid enrichment cultures: effects of different heat treatments. **International journal of hydrogen energy**, v. 36, n. 2, p. 1482-1490, 2011.

NOVICK, R. E. M., et al. **Retornagem de pneus**. Revista Borracha Atual, n.44, p.38-43. Editora Borracha Atual LTDA, Campinas, 2004. Disponível no site <http://www.borrachaatualcom.br/>.

NTAIKOU, I.; ANTONOPOULOU, G.; LYBERATOS, G. Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: a review. **Waste and Biomass Valorization**, 1(1), 21-39 (2010).

OTTAVIANO, L. M. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado a partir de água residuária de soro de queijo em condição termófila**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2014.

PENTEADO, E. D. **Influência da origem e do pré-tratamento do inóculo na produção de hidrogênio a partir de águas residuárias em biorreatores anaeróbios**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2012.

\_\_\_\_\_ et al. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6137-6145, 2013.

PERNA, V., et al. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, 38:54–62 (2013).

REIS, C. M. **Efeito da velocidade ascensional na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado**. São Carlos. 2010. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos-Universidade de São Paulo, 2010.

REYES, J. C., et al. Different start-up strategies to enhance biohydrogen production from cheese whey in UASB reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, 37:5591–5601 (2012).

ROSA P. R. F., et al. Hydrogen production from cheese whey with ethanol-type fermentation: effect of hydraulic retention time on the microbial community composition. **Bioresour Technol** 161:10–19 (2014).

SÁ, L. R. V.; CAMMAROTAC, M. C.; LEITÃO, V. S. F. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia - aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Quim. Nova**, 37(5), 857-867 (2014).

SANTOS, S. C. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado termofílico com vinhaça como substrato orgânico**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2014.

SEBRAE. **Cenário para leites e derivados na região Nordeste em 2020**. Recife – PE, 2013. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/estudo-Cenarios-para-leite-e%20derivados-NE.pdf>>. Acesso em: 07 fev. 2015. <http://www.sebrae.com.br/>

SEIFERT, K.; WALIGORSKA, M.; LANIECKI, M. Hydrogen generation in photobiological process from dairy wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.35, p9624-9629, 2010.

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.

SILVA, A.C.F.M. **Tratamento de resíduos líquidos de laticínios em reator anaeróbio compartimentado seguido de leitos cultivados**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.

SILVA, A. N. **Produção de hidrogênio a partir de efluentes de laticínios**. Dissertação (mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia, Maceió, 2015.

SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters. In: **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**, 1996.

VILELA, L. M. B. **Produção biológica de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado: Efeito da adição de esgoto sanitário para redução da carga orgânica.** Dissertação (mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia, Maceió, 2013.

VENETSANEAS, N., et al. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. **Bioresource Technol** 100:3713–3717 (2009).

WANG, J. L.; WAN, W. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-production bacteria from digested sludge. **International journal of hydrogen energy**, v. 33, n. 12, p. 2934-2941, 2008.

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.

YANG, P., et al. Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. **International Journal of Hydrogen Energy**, 32:4761–4771 (2007).

ZEMPULSKI, D. A., et al. Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação anaeróbia de manipueira e de permeado de soro de queijo. **ENGEVISTA**, v. 16, n. 4, p. 431-447, 2014.