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

LÍVIA MARIA BATISTA VILELA

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

Maceió
2013

LÍVIA MARIA BATISTA VILELA

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 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
2013

Catalogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

V699p Vilela, Lívia Maria Batista.
Produção biológica de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbico de leito fluidificado: Efeito da adição de esgoto sanitário para redução da carga orgânica / Lívia Maria Batista Vilela. – 2013.
78 f. : il.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.
Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento)– Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2013.

Bibliografia: f. 64-70.

1. Hidrogênio – Produção. 2. Manipueira. 3. Esgoto sanitário. 4. Tratamento biológico de efluentes. I. Título.

CDU: 628.38

Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Centro de Tecnologia – CTEC
Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamentos – PPGRHS

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

LÍVIA MARIA BATISTA VILELA

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas e aprovada no dia 27 de setembro do ano de 2013.

Banca Examinadora:

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

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

Prof. Dr. Paulo Eduardo Vieira Cunha
(CAERN)

Dedico este trabalho a Deus, por ter sido o meu grande inspirador, e a toda minha família, em especial os meus pais: Maria José e Leonardo e aos meus irmãos: Lidiane, Leide Jane, Laelson e Lécio.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus, por toda força, incentivo e inspiração! Meu Deus, não tenho nem palavras para agradecer o que o Senhor fez por mim! Muito obrigada!

Aos meus pais, Leonardo e Maria José, pela paciência, dedicação, amor e incentivo.

Aos meus irmãos: Lidiane, Leide Jane, Laelson e Lécio, pela compreensão, paciência e incentivo.

Ao meu noivo Carlos André, pelos conselhos, incentivo e por acreditar em mim e na conclusão deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, pela paciência, compreensão e por inúmeras vezes ter me ausentado.

Ao meu orientador, Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim, pela disposição em me orientar, pela paciência, dedicação, exemplo de humanismo, ensinamentos transmitidos, pela confiança, por estar sempre presente e disposto a me ajudar. O meu muito obrigada!

Ao meu amigo Pedro Herlleyson Gonçalves Cardoso, pela experiência vivida, pelos conselhos, por sempre ter me ajudado e estar presente a cada etapa deste trabalho, o meu muito obrigada, pois não sei o que seria de mim sem você!

A minha amiga Elane Cristina, que sempre me apoiou e ajudou nas horas em que eu mais precisei.

À companheira de pesquisa Luíza Rijo pelos ensinamentos, paciência, dedicação e esforço.

Aos meus colegas de pesquisa pela ajuda fundamental: Nálem Jaci, Mari, Wiliane, Victor, Taís, Eric e Liz.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental da UFAL, onde foram desenvolvidas todas as análises, em especial às técnicas Florilda, por ter ajudado com suas experiências, análises, soluções, curvas, e Eveline, pelo companheirismo nas tardes de laboratório e ajuda nas análises.

Ao meu amigo Carlos Alberto por ter nos ajudado na parceria das coletas de manipueira, pelas conversas, ajuda nas coletas e incentivo durante o curso.

As Casas de Farinha de Santa Luzia do Norte, na pessoa da Cleide e da Madalena.

A minha amiga Luciene da Silva pelo seu exemplo, conselhos, palavras de incentivo e experiências vividas.

A minha amiga Emmanuelle Wanderley companheira de laboratório, pelo apoio e ajuda nas etapas finais deste trabalho.

A minha amiga Andrea Daniella pelo companheirismo, exemplo, conselhos e experiências vividas.

Ao meu companheiro de laboratório, Antônio, pelas ajudas nas análises e companhia nas tardes de laboratório.

Aos colegas de mestrado Aline, Andrea, Benício, Carlos Alberto, Cledeilson, João Paulo, Josuelly, Pedro Herlleyson, Sheyla, Emmanuelly e Nely, pelas experiências vividas e aprendizagem.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento e professores, pela aceitação e conhecimentos transmitidos.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto.

Ao pessoal do Laboratório de Solos, pelos equipamentos e espaço físico cedidos.

À empresa ALSAN Tecnologia Ambiental, pelo acesso às coletas de esgoto sanitário, ao Matheus e ao Tales, pela disponibilidade em nos atender.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho, o meu muito obrigada!

Nunca o homem inventará nada mais simples nem mais belo do que uma manifestação da natureza.

Leonardo da Vinci

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a produção biológica de hidrogênio a partir da associação entre a manipueira e esgoto sanitário em dois reatores de leito fluidificado (RALF 1 e 2). Para tanto, foi utilizado como material suporte argila expandida triturada (2,8-3,35 mm de diâmetro). Foram utilizados dois reatores de tamanhos diferentes (RALF 1 com 190 cm e 5,3 cm de diâmetro interno e RALF 2 com 90 cm e diâmetro interno de 4 cm), sendo os dois operados com adição de glicose (RALF 1 com concentrações de 3, 2, 1 $g.L^{-1}$ e RALF 2 com 10, 5, 2 $g.L^{-1}$, respectivamente, nas três primeiras fases em ambos os reatores). Os reatores foram inoculados com resíduo de suinocultura pré tratado termicamente e operados com tempo de detenção hidráulica entre 4-3h (RALF 1) e 4h (RALF 2), à temperatura ambiente. O pH efluente variou entre 4,47 e 5,52, no RALF 1 e entre 3,87 e 4,63 no RALF 2. A taxa média de conversão de glicose foi de 85,44% e 71% nos RALFs 1 e 2, respectivamente. Foi constatada produção volumétrica máxima de hidrogênio de 3,09 $L.h^{-1}.L^{-1}$ no RALF 1, quando o TDH foi reduzido de 4 para 3h, não havendo adição de glicose e a porcentagem de esgoto sanitário foi substituída por água. O rendimento máximo de hidrogênio no RALF 1 (1,11 mol H_2.mol $glicose^{-1}$) foi detectado na fase F50M1G. No RALF 2, não houve produção volumétrica de hidrogênio detectada pelo medidor, sendo calculada teoricamente e obtido o valor máximo de 0,98 $L.h^{-1}.L^{-1}$ na fase F50M2G. O maior rendimento de hidrogênio foi obtido no RALF 2 com 2,03 mol H_2.mol $glicose^{-1}$ na fase F100M. Os metabólitos solúveis medidos foram os ácidos acético, butírico, propiônico e etanol com suas respectivas porcentagens máximas de 42, 15, 25 e 98% para o RALF 1 e 50, 13, 31, e 97% no RALF 2. Os resultados indicaram que a rota predominante de formação de hidrogênio foi a do etanol. A produção de gases, ácidos orgânicos e álcoois foram mantidas nos reatores ao longo dos 127 dias de experimento.

Palavras-chave: Produção de biohidrogênio. Manipueira. Esgoto sanitário.

ABSTRACT

This study aimed to assess the biological production of hydrogen from association between cassava and sewage in two fluidized bed reactors (AFBR 1 and 2). Thus, it was used as support material crushed expanded clay (2.8 to 3.35 mm diameter). Two reactors of different sizes were used (RALF 1 190 cm height and 5.3 cm internal diameter and RALF 2 90 cm and internal diameter of 4 cm), and both of them with added glucose (RALF 1 with concentrations of 3 , 2 , 1 $g.L^{-1}$ and RALF 2 with 10, 5, 2 $g.L^{-1}$, respectively, the first three phases in both reactors). The reactors were inoculated with swine waste pre heat treated and operated with a hydraulic retention time of 4-3h (RALF 1) and 4h (RALF 2) at room temperature. The pH of the effluent ranged from 4.47 and 5.52 in RALF 1 and between 3.87 and 4.63 in RALF 2 . The conversion rate of glucose conversion was 85.44% and 71% in RALFS 1 and 2, respectively. Was found maximum volumetric hydrogen production of 3.09 $L.h^{-1}.L^{-1}$ in RALF 1, when the HRT was reduced from 4 to 3 hours, with no addition of glucose and the percentage of sewage was replaced by water. The maximum yield of hydrogen in RALF 1 (1.11 mol H_2. mol glucose $^{-1}$) was detected in F50M1G phase. In RALF 2, there was no volumetric hydrogen production detected by the meter, with theoretically calculated and obtained the maximum value of 0.98 $L.h^{-1}.L^{-1}$ in F50M2G phase. The highest yield of hydrogen was obtained in RALF 2 with 2.03 mol H_2. mol glucose $^{-1}$ in F100M phase. The soluble metabolites were measured acetic, butyric, propionic and ethanol to their respective maximum percentage of 42, 15, 25 and 98 % to RALF 1 and 50, 13, 31 and 97 % in RALF 2. The results indicated that the predominant route of hydrogen evolution was ethanol. The production of gases, organic acids and alcohols in the reactors were maintained throughout the 127 days of the experiment.

Key-words: Production of biohydrogen. Cassava. Sewage.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Efeito das concentrações de cianeto para a saúde humana.....20
Tabela 02 – Suplementos adicionados à água residuária para alimentação dos reatores.....36
Tabela 03 – Dimensão, densidade e velocidade mínima de fluidificação das partículas de argila expandida triturada.....38
Tabela 04 – Descrição das fases operacionais do RALF 1.....39
Tabela 05 – Descrição das fases operacionais do RALF 2.....39
Tabela 06 – Características Físicas e Químicas da manipueira utilizada na operação dos RALFs.....40
Tabela 07 – Características Físicas e Químicas dos esgotos sanitários utilizados na operação dos RALFs.....40
Tabela 08 - Frequência das análises para monitoramento dos reatores.....41
Tabela 09 – Média de pH das fases do RALF 1.....46
Tabela 10 - Média de pH das fases do RALF 2.....47
Tabela 11 – Carboidratos totais médio afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 1.....50
Tabela 12 – Carboidratos totais médio afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 2.....52
Tabela 13 - Carbono e nitrogênio orgânico afluente e relação C/N no RALF 2.....58
Tabela 14 – TCO real aplicada, TCO real removida e eficiência no RALF 1.....59
Tabela 15 – TCO real aplicada, TCO real removida e eficiência no RALF 2.....59
Tabela 16 – TCO real aplicada, rendimento de hidrogênio e produção de hidrogênio no RALF 1.....60
Tabela 17 – TCO real aplicada, rendimento de hidrogênio e produção de hidrogênio no RALF 2.....61
Tabela 18 – Concentração dos metabólitos líquidos produzidos no RALF 1.....64
Tabela 19 – Concentração dos metabólitos líquidos produzidos no RALF 2.....65
Tabela 20 – Média da porcentagem de cada metabólito produzido na operação do RALF 1.....67
Tabela 21 – Média da porcentagem de cada metabólito produzido na operação do RALF 2.....68

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – RALF 1 em operação 33
Figura 02 – RALF 2 em operação 34
Figura 03 – Esquema operacional dos RALFs 35
Figura 04 - Comportamento do pH durante as fases do RALF 1 46
Figura 05 – Comportamento do pH durante as fases do RALF 2 47
Figura 06 - Produção média de Ácidos Voláteis Totais no RALF 1 48
Figura 07- Produção Média de Ácidos Voláteis Totais no RALF 2 49
Figura 08 - Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose afluente, efluente e eficiência no RALF 1 51
Figura 09 - Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose afluente, efluente e eficiência no RALF 2 52
Figura 10 - Variação da DQO afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF1..... 53
Figura 11 - Variação da DQO afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 2. 54
Figura 12 – Comportamento do nitrogênio amoniacal afluente,efluente no RALF 1 55
Figura 13 – Comportamento do nitrogênio amoniacal afluente no RALF 2 56
Figura 14 – Relação Carbono/Nitrogênio no RALF 1 57
Figura 15 – Comportamento da TCO em relação ao rendimento e produção de H_2 no RALF 1 61
Figura 16 - Comportamento da TCO em relação ao rendimento e produção de H_2 no RALF 2 62
Figura 17 – Produção Volumétrica na fase F75M3h em função dos dias de produção no RALF 1 63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AL	Alagoas
AVT	Ácidos Voláteis Totais
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono orgânico total
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
WHO	World Health Organization
pH	Potencial hidrogeniônico
C	Carbono
CI	Carbono Inorgânico
CT	Carbono total
cm	Centímetros
CO_2	Dióxido de Carbono
CSTR	Reator de tanque continuamente agitado
CTEC	Centro de Tecnologia
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Eq.	Equação
ES1	Esgoto sanitário 1
ES2	Esgoto sanitário 2
g	grama
h	horas
H_2	Gás Hidrogênio
HY	Rendimento de Hidrogênio
Kj	Kilojoule
L	Litros
m^3	Metros cúbicos
mg	miligrama
mM	milimol
mm	milímetros
N	Nitrogênio
NO_3	Nitrogênio amoniacal
NO_4^+	Íon amônio
$N\text{-}NO_2^-$	Nitrito
$N\text{-}NO_3^-$	Nitrato
NaOH	Hidróxido de Sódio
NBR	Norma Brasileira
ºC	Graus Celsius
RALF	Reator anaeróbio de leito fluidificado
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TPH	Taxa de produção de hidrogênio
TDH	Tempo de Detenção Hidráulico
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UASB	Reator Anaeróbio de Manta de Lodo
ΔG	Energia livre de Gibbs

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 OBJETIVOS 18
2.1 Geral 18
2.2 Específicos 18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
3.1 Manipueira 19
3.2 Esgoto sanitário 20
3.3 Produção Biológica de H_2 via Fermentação 21
3.4 Rotas metabólicas favoráveis à produção de hidrogênio 22
3.5 Reatores anaeróbios de Leito Fluidificado: Ênfase na produção de H_2 23
3.6 Pré tratamento de inóculos 24
3.7 Substrato 25
3.8 Taxa de carregamento orgânico (TCO) 26
3.9 Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) 27
3.10 pH 27
3.11 Temperatura 28
3.12 Relação Carbono/Nitrogênio (C/N) 29
3.13 Nitrogênio Amoniacal 30
4 MATERIAL E MÉTODOS 32
4.1 Reatores Anaeróbios de Leito Fluidificado (RALFs) 32
4.2 Água Residuária 35
4.3 Pré-tratamento do inóculo e adaptação dos reatores 36
4.4 Material Suporte para adesão microbiana 37
4.5 Fases operacionais dos RALFs 38
4.6 Caracterização da Manipueira e Esgoto Sanitário 39
4.7 Análises Físico-Químicas 40
4.8 Carboidratos 41
4.9 Carbono orgânico total (COT) 42
4.10 Produção Volumétrica de Hidrogênio 42
4.11 Determinação dos Ácidos Orgânicos Voláteis e Álcoois 43
4.12 Cálculo dos principais parâmetros 44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45

5.1 Discussão sobre Caracterização da Manipueira e Esgoto Sanitário 45
5.2 pH 46
5.3 Produção de Ácidos Voláteis Totais 48
5.4 Conversão da glicose 50
5.5 Remoção de DQO 53
5.6 Concentração de Nitrogênio Amoniacal 55
5.7 Relação Carbono/Nitrogênio (C/N) 57
5.8 TCO e Produção de Hidrogênio 58
5.9 Concentração dos Metabólitos Solúveis 64
6 CONCLUSÕES 69
REFERÊNCIAS 71

1 INTRODUÇÃO

Combustíveis fósseis como gás natural, petróleo e carvão mineral ainda são as principais fontes de energia utilizadas atualmente. Entretanto, os gases produzidos pela queima desses combustíveis tem causado alterações climáticas, trazendo impactos negativos para o meio ambiente. Diante disso, fontes alternativas de energia tem se mostrado bastante evidentes em pesquisas científicas nas últimas décadas, visto a escassez desses recursos energéticos.

O hidrogênio tem surgido como uma das mais promissoras fontes de energia, principalmente por ser limpa, reciclável e eficiente (AMORIM et al., 2012). Entretanto, ele pode ser produzido por diversos métodos. Pelo método convencional, combustíveis fósseis são utilizados consumindo grande quantidade de energia e gerando maiores quantidades de CO_2 (KHOTARI et al., 2012). Os métodos alternativos de geração de hidrogênio incluem a biofotólise direta da água, biofotólise indireta da água, fotofermentação, fermentação anaeróbia e sistemas híbridos (CAPPELLETTI, 2011). No entanto, a produção de hidrogênio por fermentação anaeróbia tem se destacado por produzir elevadas concentrações de H_2 (VAN GINKEL et al., 2001) quando comparada aos outros processos biológicos, além da possibilidade de utilização de diversos substratos (MATHEWS e WANG, 2009) e baixo consumo energético.

Energeticamente, a utilização de gás hidrogênio apresenta vantagens sobre a utilização dos combustíveis fósseis convencionais, pois, a combustão do hidrogênio produz somente vapor de água e sua utilização em automóveis é 50% mais eficiente do que a gasolina (VAN GINKEL *et al*., 2001). Além disso, o hidrogênio apresenta um elevado conteúdo energético (da ordem de 143 $KJ.g^{-1}$), sendo aproximadamente três vezes superior quando comparada aos combustíveis à base de hidrocarbonetos pesados (DAS E VEZIROGLU, 2008).

Do ponto de vista econômico, a produção biológica de hidrogênio torna-se mais viável, especialmente se o H_2 for produzido pela fermentação da matéria orgânica a partir de resíduos agroindustriais renováveis (WANG e WAN, 2009). Neste sentido, cada vez mais esforços tem sido realizado a fim de verificar a viabilidade do uso de resíduos ricos em carboidratos e de águas residuais provenientes de diferentes fontes para a produção fermentativa de H_2 (CHEN et al. 2009; OLIVEIRA et al., 2001).

Dentre os substratos que podem ser utilizados na produção biológica de hidrogênio, a manipueira destaca-se por apresentar em sua composição glicose e outros açúcares (CEREDA, 2001), além de outras substâncias potencialmente poluidoras para os recursos hídricos. A manipueira é um líquido resultante do processamento da massa de mandioca para produção de farinha. O grande potencial de poluição da manipueira provém da elevada concentração de matéria orgânica. Este efluente é rico em carboidratos, com cerca de 5-15 e 20-50 $g.L^{-1}$ de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO), respectivamente, o que o torna um importante poluente (CAPPELLETTI, 2011). Outra característica relevante que favorece o forte impacto ambiental negativo da manipueira é a presença de cianeto, com concentração que varia de 15 a 400 mg de cianeto por quilograma de raiz (WHO, 2004).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de mandioca, cujo processamento para a produção de farinha e fécula dá origem a cerca de $7m^3$ de águas residuais por kg de raiz de mandioca processada (CAPPELLETTI, 2011). Em Alagoas, o cultivo da mandioca vem ocupando a posição da segunda maior safra agrícola do Estado desde 2006, com 190.684 toneladas e em 2010 sua produção alcançou 318.231 toneladas, sendo apenas superada pela cana-de-açúcar (IBGE, 2012).

Outro resíduo líquido produzido em grande escala pela população mundial que preocupa por sua alta carga poluidora é o esgoto sanitário. Segundo Von Sperling (1996), a DQO e DBO do esgoto sanitário é de aproximadamente 400-800 $mg.L^{-1}$ e 200-500 $mg.L^{-1}$, respectivamente. A Resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) dispõe dos parâmetros para o lançamento direto de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgotos sanitários limitando à DBO o valor máximo de 120 $mg.L^{-1}$.

Segundo a ABNT NBR 9648/1986, o esgoto doméstico é o despejo líquido que resulta da utilização da água para higiene e necessidades fisiológicas humanas. É constituído de matéria orgânica e inorgânica. Os principais constituintes orgânicos são: proteínas, açúcares, óleos e gorduras, microrganismos, sais orgânicos e componentes dos produtos saneantes (VON SPERLING, 1996).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística em 2008, apenas 28,5% dos municípios brasileiros possuíam tratamento de esgoto sanitário e do esgoto coletado no país, somente 68% é tratado. O Brasil apresenta elevado

déficit no que diz respeito ao tratamento de seus esgotos domésticos, e o atendimento dessa demanda, sob o ponto de vista tecnológico, traduz-se na busca de alternativas sustentáveis para a realidade socioambiental brasileira (OLIVEIRA NETTO, 2011). De acordo com a Companhia de Saneamento de Alagoas, a capital Maceió, gera aproximadamente 224.640 m^3. dia^{-1} de esgoto sanitário doméstico.

Diante disso, surge a possibilidade de utilizar resíduos domésticos e industriais como substrato para várias formas de geração de biocombustíveis. Entre as formas de tratamento destaca-se o reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), que tem sido significativamente utilizado e funciona com um biofilme aderido, suportando elevadas Taxas de Carregamento Orgânico (TCO), boas características de mistura otimizando a transferência de massa entre o substrato e os microrganismos, caracterizando um sistema de tratamento biológico de efluentes com alta eficiência e baixos Tempos de Detenção Hidráulica (TDH) (LIN *et al.*, 2006; ZHANG et al., 2007; WU et al., 2003; LIN et al., 2006).

Dessa forma, o presente trabalho propôs utilizar a manipueira associada ao esgoto sanitário para a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado, avaliando a influência das porcentagens de água residuária e a produção de hidrogênio através dos metabólitos solúveis produzidos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Verificar a produção de hidrogênio a partir da associação entre dois substratos reais (manipueira e esgoto sanitário), utilizando reatores anaeróbios de leito fluidificado.

2.2 Específicos

Avaliar a influência das porcentagens de água residuária na produção e rendimento de hidrogênio através das fases dos reatores;

Verificar a produção dos metabólitos solúveis obtida através dos reatores em operação;

Identificar a rota fermentativa responsável pela formação do hidrogênio nos reatores anaeróbios de leito fluidificado.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Manipueira

De acordo com Cordeiro (2006) a manipueira é um dos principais efluentes, em relação a agressão à natureza e é produzido no processo de beneficiamento da mandioca. Esse efluente é resultante da prensagem da mandioca triturada ou lavagem da mesma.

A manipueira pode ser descrita como uma mistura de compostos como a goma, glicose e outros açúcares, proteínas, células descamadas, linamarina e derivados cianogênicos (ácido cianídrico, cianetos e aldeídos), substâncias diversas e diferentes sais minerais (CEREDA et al., 2001).

O grande potencial de poluição da manipueira provém da elevada concentração de matéria orgânica. A demanda química de oxigênio (DQO) no resíduo quando proveniente de casas de farinha, situa-se entre 20 $g.L^{-1}$ e 50 $g.L^{-1}$ (CAPPELLETTI, 2011).

O favorecimento ao forte impacto ambiental negativo da manipueira é causado através da presença do cianeto. De acordo com Cereda et al. (2001), a mandioca é uma planta cianogênica que acumula glicosídeos cianogênicos, dos quais o principal é a linamarina, e por enzimas β-glicosidases como a linamarase, autóctone da mandioca. Enquanto o tecido da mandioca está intacto, glicosídeos e enzimas mantêm-se separados. Quando, no entanto, o tecido é dilacerado no processamento, a linamarina é hidrolisada enzimaticamente pela linamarase dando início a cianogênese, havendo a produção de glicose e α-hidroxinitrila, passíveis de dissociação. Esta reação se processa sob condições ótimas de 25ºC e pH entre 5,5 e 6,0 (SILVA, 2009).

A Tabela 01 mostra as consequências do cianeto para a saúde humana quando inalado, a influência da concentração e também o tempo de exposição.

Tabela 01 – Efeito das concentrações de cianeto para a saúde humana

Concentração ($\mu g.L^{-1}$)	Exposição (t, min.)	Efeito
50 a 60	20 a 60	Sem efeitos
60 a 150	30 a 60	Pode ocorrer morte
150 a 200	> 30	Fatal
200 a 300	> 10	Fatal
> 300	Instantânea	Fatal

Fonte: Who (2004) apud Silva (2009)

3.2 Esgoto sanitário

Os esgotos são efluentes provenientes de origem doméstica, pluvial e industrial podendo ter uma origem exclusiva ou variada.

Os esgotos domésticos possuem uma DBO da ordem de 300 $mg.L^{-1}$, ou seja, um litro de esgoto consome aproximadamente 300 mg de oxigênio, em cinco dias, no processo de estabilização da matéria orgânica carbonácea (VON SPERLING, 2005). O valor da DQO é geralmente encontrado entre 400 a 800 $mg.L^{-1}$ (METCALF e EDDY, 1991). Entretanto, a característica dos esgotos é função dos usos à qual a água foi submetida. Esses usos, e a forma com que são exercidos, variam com o clima, situação social, econômica e hábitos da população (VON SPERLING, 2005).

O material nitrogenado presente nas águas residuárias pode ser encontrado sob várias formas (METCALF e EDDY, 1991).

De acordo com Van Handel e Marais (1999) *apud* Gebara (2006), esse material no esgoto sanitário apresenta-se, predominantemente, na forma de nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico, e ocasionalmente são observados traços de nitrogênio em forma de nitrito e ($N\text{-}NO_2^-$) e nitrato ($N\text{-}NO_3^-$).

No esgoto sanitário, a parcela orgânica do nitrogênio é proveniente das proteínas, aminoácidos e uréia, e a do nitrogênio amoniacal é oriunda da decomposição das proteínas e hidrólise da uréia (SEDLAK, 1991). De acordo com Hammer e Hammer Jr. (1996) apud Gebara (2006) essa última forma de nitrogênio é composta ainda pela amônia (NO_3) e íon amônio (NO_4^+), cuja proporção de cada composto dependerá do pH e temperatura da água residuária.

A necessidade de tratar efluentes e atender a legislação brasileira, bem como atenuar problemas atuais e potenciais como o consumo de oxigênio no corpo receptor, toxicidade para os seres vivos no ambiente aquático, eutrofização e

possibilidade de causar doenças, tem promovido a busca de alternativas técnicas viáveis que sejam condizentes com a realidade de cada região.

3.3 Produção Biológica de H_2 via Fermentação

O gás hidrogênio pode ser obtido através da ação de microrganismos anaeróbios fermentativos que utilizam como substratos preferenciais os carboidratos (MAINTINGUER, 2009).

O processo de digestão anaeróbia se inicia com a ação das bactérias fermentativas (bactérias acidogênicas) que hidrolisam as moléculas complexas através da produção de enzimas extracelulares até seus correspondentes monômeros, que podem ser assimilados pela célula bacteriana (BARANA, 2000). No interior da célula, por processo de oxirredução, resulta a formação de dióxido de carbono, hidrogênio e ácidos voláteis tais como ácido acético, fórmico, propiônico, butírico e lático, além do etanol (NOGUEIRA, 1986 apud BARANA, 2000).

Ácidos graxos e etanol formado entram em ação as bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio. A função desses microrganismos é degradar os ácidos graxos e álcoois dando origem ao acetato, H_2 e CO_2 (LABIB et al., 1992). A maioria dos microrganismos produtores de hidrogênio é impulsionada pelo metabolismo anaeróbio do piruvato, formado durante o catabolismo de diferentes substratos (AMORIM, 2009).

De acordo com Peixoto (2008), a fermentação apresenta algumas vantagens em relação à produção por fotossíntese: bactérias fermentativas tem maior velocidade de produção de H_2, a produção de H_2 não requer luz e bactérias fermentativas já se encontram condicionadas para produzir H_2. As principais desvantagens do processo fermentativo são os rendimentos menores obtidos em relação ao processo fotossintético, ao de eletrólise e o gás produzido que se encontra misturado com CO_2, necessitando assim de posterior separação para ser utilizado.

3.4 Rotas metabólicas favoráveis à produção de hidrogênio

Durante a fermentação anaeróbia, os carboidratos mais simples, como a glicose, podem ser convertidos em ácidos orgânicos e produzir hidrogênio, esses ácidos podem ser os orgânicos voláteis, H_2 e CO_2. Os principais metabólitos produzidos nos processos de tratamento de efluentes e na produção de hidrogênio são o ácido acético e o ácido butírico e a produção de ambos leva a formação de hidrogênio (REIS, 2010). As reações 1 e 2 indicam a formação de hidrogênio a partir dos ácidos orgânicos.

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow 2CH_3COOH \text{ (acético)} + 2CO_2 + 4H_2 \quad \text{(Eq. 1)}$$

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH \text{ (butírico) } 2CO_2 + 2H_2 \quad \text{(Eq. 2)}$$

De acordo com as equações 1 e 2, o metabólito que mais produz hidrogênio a partir de sua formação é o ácido acético, pois, são produzidos 4 moles H_2.mol glicose^{-1} consumido. Já na formação do ácido butírico há produção de 2 moles H_2.mol glicose^{-1} consumido. Elevados rendimentos de H_2 são obtidos quando se observam a produção da mistura dos ácidos acético e butírico como produtos da fermentação anaeróbia (LEVIN *et al.,*2004), visto que estudos prévios mostram os resultados da razão entre o ácido acético (HAc) e o ácido butírico (HBu) podendo estar relacionada à produção de H_2, havendo um aumento da razão HAc/HBu acompanhada por um crescimento da produção de H_2 (SÁ *et al.,* 2011).

Outros ácidos orgânicos tais como propiônico, valérico e capróico podem ser produzidos na produção fermentativa de hidrogênio. Porém, o ácido propiônico destaca-se por possuir uma rota desfavorável à produção do hidrogênio, por consumir 2 moles H_2.mol glicose^{-1}. A equação 3 mostra a formação do ácido propiônico.

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH \text{ (propiônico)} + H_2O \quad \text{(Eq. 3)}$$

Existem outras formas de obtenção de hidrogênio a partir de outras rotas, que podem ser identificadas a partir do método de cromatografia gasosa. Algumas rotas conhecidas que estão envolvidas na digestão anaeróbia levam à produção de alguns

álcoois, dentre eles o etanol. Do ponto de vista de produção de hidrogênio a produção concomitante do etanol pode não ser viável porque consome o substrato que poderia ser utilizado na formação de hidrogênio (REIS, 2010), como mostra a Equação 4.

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2OH + 2CO_2 \quad \text{(Eq. 4)}$$

Entretanto, trabalhos recentes como Lin et al. (2008) e Zhu et al. (2009) mostraram que apesar da competição pelo substrato e suposto efeito inibitório causado na formação de etanol, o hidrogênio pode ser produzido. Reis (2010) relata que surgem novas rotas quando há mudanças em fatores que influenciam a produção de hidrogênio, como inoculação, cultura microbiana, substratos, tipo de reator, taxa de carregamento orgânico e outros fatores que influenciam no direcionamento da produção dos metabólitos.

Zhu et al. (2009) apresentaram algumas possíveis rotas de produção de hidrogênio e, em uma delas, haveria produção simultânea de etanol e hidrogênio, isto é, sem comprometimento da produção de hidrogênio (Equação 5).

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow C_2H_5OH + CH_3COOH + 2H_2 + 2CO_2 \quad \text{(Eq. 5)}$$

3.5 Reatores Anaeróbios de Leito Fluidificado: Ênfase na produção de H_2

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

Reatores Anaeróbicos de leito fluidificado (RALFs) com aderência a biofilme tem sido bastante utilizados como sistemas de tratamento biológico de efluentes caracterizando uma alta eficiência e curtos TDHs (LIN *et al*., 2006). Várias pesquisas tem sido desenvolvidas a fim de verificar quais os fatores operacionais que favorecem a produção de hidrogênio, como o Tempo de Detenção Hidráulica (TDH),

concentração do substrato, o meio de suporte, a taxa de carregamento orgânico (TCO) e outros.

De acordo com o estudo desenvolvido por Shida et al. (2012) a partir de dois RALFs, um sem e outro com a adição de pH tampão durante a produção de H_2, ambos com material suporte de argila expandida triturada, analisou a composição de produtos microbianos solúveis nos reatores operados sob aumento progressivo da TCO e verificou-se que em ambos os RALFs, os valores de HY aumentaram com a diminuição do TDH 8-2h, e diminuíram quando TDH foi reduzido para 1h. Os valores da taxa de produção de H_2 (TPH) aumentaram com a diminuição do TDH 8-1h. RALF 1 (sem pH tampão) apresentou maior HY e os valores da taxa de produção de H_2 em todos TDHs avaliados atingiram valores máximos de 2,45 mol de H_2.mol glicose^{-1} com TCO de 84,3 kg DQO.m^{-3}.d^{-1} e TDH de 2h e 0,95 L.h $^{-1}$.L^{-1} quando operado a TCO de 140,6 kg DQO.m^{-3}.d^{-1}.

Barros et al. (2011) avaliaram a produção de hidrogênio em RALF, utilizando polietileno e pneu inservível como material suporte e encontraram melhor desempenho no último, que apresentou rendimento máximo de hidrogênio de 2,25 mol H_2.mol glicose^{-1}, para TDH de 2 h.

Diante do bom funcionamento e aceitação em trabalhos anteriores, optou-se pelo uso do RALF neste trabalho.

3.6 Pré tratamento de inóculos

Muitos trabalhos tem descrito as tentativas para controlar o crescimento de microrganismos não produtores de H_2 e consumidores de H_2 por choque térmico, tratamento ácido, tratamento alcalino e o 2-bromoetano sulfônico (BESA) (CHAGANTI, 2012). Esses tratamentos são métodos eficazes para aumentar o rendimento de H_2 em cultura mista de anaeróbios (CHAGANTI, 2012).

Os estudos tem mostrado que o crescimento de metanogênicas pode ser controlado por tratamento térmico (KIM *et al.*, 2006). No entanto, a eficácia de um tratamento térmico em populações específicas de anaeróbios depende da gravidade das condições de tratamento. O rendimento de H_2 é significativamente afetado pela temperatura e a duração do tratamento térmico (WOO *et al.*, 2010).

O tratamento químico usando ácido linoléico (LA) é outro método que pode ser considerado para otimizar a produção de H_2 quando se utiliza comunidades microbianas anaeróbicas mistas.

Maintinguer *et al*. (2008) utilizaram o pré-tratamento térmico para um inóculo de lodo de suinocultura proveniente de um reator UASB, e verificaram o controle de pH para selecionar a produção da bactéria *Clostridium sp*., em quatro reatores em batelada com diferentes concentrações de sacarose (630, 1184, 1816 e 4128 mg sacarose.L^{-1}), sendo a segunda concentração a melhor para produção de hidrogênio.

3.7 Substrato

Tem sido demonstrado que, em um intervalo apropriado, o aumento da concentração de substrato pode aumentar a capacidade de bactérias produtoras de hidrogênio para produção do referido biogás durante a produção fermentativa, mas as concentrações de substrato em níveis muito mais elevados podem diminuir essa produção (VAN GINKEL, 2001).

A glicose é uma fonte de carbono facilmente biodegradável, presentes na maior parte dos efluentes industriais e pode ser obtida a partir de resíduos agrícolas abundantemente. Teoricamente, a bioconversão de 1 mol de glicose produz 12 mol de gás hidrogênio (H_2). De acordo com Kapdan e Kargi (2006), com a reação de bioconversão estequiométrica de 1 mol de glicose em rendimentos de acetato produz 4 mol H_2.mol $glicose^{-1}$ e apenas 2 mol H_2.mol $glicose^{-1}$ é formado quando butirato é o produto final. O maior rendimento de hidrogênio obtido a partir de glicose foi de cerca de 2,0-2,4 mol H_2. mol $glicose^{-1}$ (FANG et al., 2002).

Chen (2003) obteve um rendimento de 4,52 mol de H_2.mol $sacarose^{-1}$ num reator de tanque continuamente agitado com 8 h de tempo detenção hidráulica. No entanto, o rendimento a partir da glicose foi de apenas 0,91 mol de H_2. mol $glicose^{-1}$ sob as mesmas condições de funcionamento no CSTR.

Collet et al. (2004) relataram um rendimento máximo de hidrogênio de 3 mol H_2.mol $lactose^{-1}$ embora o rendimento teórico foi de 8 mol H_2.mol $lactose^{-1}$. Os resultados destes estudos indicaram que os melhores rendimentos de hidrogênio podem ser obtidos a partir de sacarose em comparação com outros açúcares simples.

Substratos ricos em amido são abundantes na natureza e possuem um grande potencial para serem utilizados como uma fonte de carboidratos para a produção de hidrogênio. De acordo com Zhang et al. (2003), a partir da estequiometria da reação, um máximo de gás hidrogênio foi produzido (553 mL) a partir de um grama de amido e o acetato foi produzido como um sub produto. No entanto, o rendimento pode ser mais baixo do que o valor teórico devido à utilização de substrato para a síntese celular.

3.8 Taxa de carregamento orgânico (TCO)

A taxa de carregamento orgânico destaca-se por ser um dos fatores que mais influencia na produção de hidrogênio por envolver a relação entre a concentração de substrato aplicado e o TDH utilizado.

Alguns estudos demonstram que a TCO possui uma relação linear com a produção volumétrica de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidificado (ZHANG et al., 2007; AMORIM, 2009; BARROS, 2009).

Amorim (2009) observou uma relação linear entre a produção volumétrica de hidrogênio e a TCO quando o reator foi operado com a TCO de 114,72 kg DQO. $m^{-3}.d^{-1}$, obteve-se um rendimento máximo de hidrogênio de 2,52 mol H_2.mol $glicose^{-1}$. O conteúdo de hidrogênio também aumentou com o incremento da TCO, alcançando o valor máximo de 77% com a mesma TCO.

Reis (2010) realizou um estudo e verificou que a taxa de carregamento orgânico afetou positivamente a produção de hidrogênio até a TCO de 61 kg $DQO.m^3.d^{-1}$, a partir da qual não houve melhora da produção em consequência da provável sobrecarga do meio reacional.

Zhang et al. (2007) observaram em um reator anaeróbio de leito fluifificado que a velocidade de produção volumétrica de hidrogênio pareceu ser fortemente ligada a TCO quando essa relação durou até uma TCO de 16 g $glicose.h^{-1}.L^{-1}$, no TDH de 0,5 h. Os resultados estatísticos mostraram que a velocidade de produção volumétrica específica de hidrogênio foi linearmente correlacionada com a TCO.

Lin et al. (2006) observaram que a relação linear da TCO com a produção volumétrica de hidrogênio durou até 18 g $DQO.h^{-1}.L^{-1}$, no TDH de 2,2 horas.

Contudo, de acordo com pesquisas anteriormente realizadas, o rendimento de hidrogênio produzido aumenta quando a taxa de carregamento orgânico aumenta

até certo ponto, pois altas TCOs podem acarretar sobrecarga pelo substrato e levar o reator a limitações cinéticas.

3.9 Tempo de Detenção Hidráulica (TDH)

Alguns trabalhos (WU et al., 2003; LEE et al., 2004) apresentam como método de inibição da metanogênese a operação em baixos tempos de detenção hidráulica, que influencia no sentido de carrear as arquéias metanogênicas dos reatores. O carreamento dessas bactérias para fora dos reatores se dá pela velocidade específica máxima de crescimento (μmáx) das bactérias metanogênicas, da ordem de 0,0167 h^{-1}, bem menor que das bactérias acidogênicas que é cerca de 0,083 h^{-1}. Isso mostra que os microrganismos metanogênicos são incapazes de manter uma população estável e acabam sendo eliminados do sistema (CHEN *et al*., 2001).

Van Ginkel e Logan (2005) operaram reatores quimiostato alimentados com 5 g DQO.L^{-1} à 30°C para avaliar quatro diferentes TDHs (10, 5, 2,5 e 1h) sobre a produção de hidrogênio. Eles observaram que o rendimento de produção de hidrogênio aumentou com o aumento do TDH, de 1,9 para 2,4 mols H_2.mol de glicose^{-1} quando o TDH elevou-se de 1 para 10h. Nesse estudo os autores concluíram que a concentração de glicose apresenta maior efeito sobre o rendimento da produção de hidrogênio do que o TDH.

Chen e Lin (2003) operaram um reator voltado para a produção de hidrogênio com sacarose, sem adequação do inóculo e, portanto, com a presença provável de bactérias consumidoras de hidrogênio. No entanto, com a diminuição gradual do TDH de 20 para 2,5 dias, chegando posteriormente a 6 h, os autores conseguiram selecionar uma cultura de *Clostridium pasteurianum*, sabidamente uma espécie produtora de hidrogênio.

3.10 pH

O pH se destaca por ser um parâmetro operacional de grande importância, visto a sua influência sobre a velocidade de produção de hidrogênio e a ação dos microrganismos hidrogenotróficos (consumidores de hidrogênio) diretamente afetadas pelo pH (PEIXOTO, 2008). O pH do meio afeta o rendimento de produção

de hidrogênio, o conteúdo do biogás, o tipo dos ácidos orgânicos produzidos e a taxa de produção específica de hidrogênio (KAPDAN & KARGI, 2006).

Fang *et al.* (2002) estudaram o efeito do pH na produção de hidrogênio a partir da glicose e foi feito um experimento realizado a partir de uma cultura mista. O pH analisado foi numa faixa entre 4 e 9 e observaram que havia produção máxima de hidrogênio sob pH de 5,5. O aumento do pH provocou uma queda de rendimento na produção de H_2 por conta da ativação das metanogênicas hidrogenotróficas. Estudos feitos por Khanal *et al*. (2004) o pH inicial ótimo para a produção fermentativa de hidrogênio em ensaio em batelada foi de 4,5, enquanto que o relatado por Lee *et al*. (2004) foi de 9,0 (pH inicial).

Durante a produção fermentativa de hidrogênio, concentrações elevadas de ácidos graxos voláteis, tais como ácidos butírico e acético podem ser acumulados no sistema e resultar na queda de pH se não for adequadamente controlado (LUO *et al.*, 2010).

É importante destacar que o pH abaixo de 4,7 é altamente desfavorável para a produção de hidrogênio, visto que inibe a atividade da hidrogenase e outras enzimas envolvidas no processo (LAY E LEE, 1999).

3.11 Temperatura

A temperatura está intimamente ligada com os parâmetros cinéticos de reação, por isso, é necessário verificar qual a melhor faixa de atuação (REIS, 2010).

De acordo com alguns estudos descritos na literatura a fase mesofílica (30-45ºC) se destaca por ser o melhor intervalo. Porém, de acordo com Luo et al. (2010), a produção de hidrogênio máxima com pH inicial 7 (53,8 ml $H_2.gVS^{-1}$) foi obtida sob condição termofílica (60ºC), 53,5% e 198% maior do que os valores sob temperaturas mesofílicas (37ºC) e extremas condições termofílicas (70ºC). Rendimentos semelhantes de hidrogênio de 66,3 e 67,8 ml $H_2.g\ VS^{-1}$ foram obtidos a um pH inicial de 5 e 6, respectivamente, sob condição termofílica.

Com os estudos de Wang e Wan (2008) foi demonstrado que a concentração de ácido acético nos ensaios em batelada aumentou com a elevação da temperatura de 20 °C a 35 °C, porém, tenderam a reduzir com o aumento da temperatura de 35 °C a 55 °C. Ainda neste estudo, verificou-se que as mudanças na concentração de etanol e na concentração de ácido acético dos metabólitos solúveis de cada ensaio

em batelada com o aumento da temperatura pode resultar na mudança da rota metabólica induzida pelas diferentes bactérias que foram dominantes em cada temperatura.

Os resultados de Lin e Chang (2004) demonstraram a produção de hidrogênio à temperatura ambiente (15 a 34ºC) em um reator anaeróbio do tipo termostato sob um tempo de retenção de sólidos (TRS) de 1,0 dia, o teor de hidrogênio atingiu um valor mais alto de 48,4% (v/v), porém, sob o TRS de 0,25 dia a atividade de produção de hidrogênio (HPR) foi de 1,15 mol H_2.mol glicose^{-1}.

O aumento da temperatura pode favorecer as reações químicas, entretanto, em elevadas temperaturas pode ocorrer o efeito da desnaturação das enzimas o que cessaria a produção de hidrogênio (REIS, 2010).

3.12 Relação Carbono/Nitrogênio (C/N)

Alguns nutrientes como o carbono e o nitrogênio são de fundamental importância na produção biológica de hidrogênio. O carbono possui várias funções, dentre elas fornecer energia para as atividades vitais dos microrganismos. A microflora necessita de uma taxa de nitrogênio adequada para sua reprodução e o desempenho das reações do metabolismo durante a fermentação. Um valor adequado da relação C/N para microflora é necessário para otimizar a produção anaeróbia de hidrogênio a partir de efluentes orgânicos (LIN e LAY, 2004).

Oztekin *et al.* (2008) relatam que baixas ou elevadas concentrações de nitrogênio podem causar baixo rendimento e reduzida velocidade de produção de hidrogênio, pois, podem atuar como fator limitante, mudar rotas metabólicas, reduzir a atividade biológica, causar efeitos inibitórios, interferir nas culturas microbianas dominantes e nos produtos da fermentação.

Em estudos realizados por Lin e Lay (2004) foram testados relações C/N em reator em batelada com substrato composto por sacarose e o inóculo a partir do lodo de uma estação de tratamento de esgoto (ETE) pré tratado termicamente. Comparando com o experimento sem adição de nitrogênio (amostra branca) verificou-se relação C/N mais favorável de 47 de acordo com a produtividade e velocidade de produção de hidrogênio que atingiu 4,8 mol de H_2.mol sacarose^{-1} e 270 mmol H_2.L^{-1}.dia^{-1}, respectivamente. Concluiu-se também que uma boa relação C/N aumenta a produção de biohidrogênio deslocando a via metabólica de

microrganismos e suas atividades exibe uma característica de relação C/N dependente.

Rojas (2010) analisou o efeito da relação C/N na produção de biohidrogênio a partir de água residuária sintética a base de sacarose em reatores de leito fixo e fluxo ascendente. Foram avaliadas diferentes relações C/N de 40, 90, 140 e 190, onde a fonte de carbono foi a sacarose e a de nitrogênio, a uréia. Os melhores valores de produtividade de H_2 e produção volumétrica de hidrogênio foram de 3,5 mol H_2.mol sac^{-1} e 162,5 mL $H_2.h^{-1}.L^{-1}$, respectivamente, obtidos durante a operação do reator com a relação C/N 140.

3.13 Nitrogênio Amoniacal

O nitrogênio é um componente muito importante para as proteínas, ácidos nucléicos, enzimas e para o crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio, sendo também um dos nutrientes mais essenciais para o crescimento bacteriano (LI e FANG, 2007; LIN e LAY, 2004).

Tem sido demonstrado que, em um intervalo de concentração apropriada, o nitrogênio amoniacal é benéfico para a produção fermentativa de hidrogênio, enquanto que, a uma concentração muito elevada, o nitrogênio amoniacal pode inibir a produção fermentativa de hidrogênio, pois, pode alterar o pH intracelular de bactérias produtoras de hidrogênio, aumentar a necessidade de energia para manutenção das bactérias produtoras de hidrogênio ou inibir enzimas específicas relacionadas com a produção fermentativa (BISAILLON et al., 2006; CHEN et al., 2009; SALERNO et al., 2006). A produção de hidrogênio pode ser inibida por concentrações elevadas de amônia, tais como aquelas encontradas em águas residuais de origem animal (SALERNO, 2006).

Wang et al. 2009 operaram reatores em batelada utilizando glicose como substrato e observaram que a eficiência da degradação do substrato aumentou, assim como o potencial máximo de produção de hidrogênio (291,4 mL), o rendimento máximo de hidrogênio (298,8 mL.g $glicose^{-1}$) e a taxa máxima de produção média de hidrogênio (8,5 $ml.h^{-1}$), aumentaram quando a concentração de amônia partiu de 0 até 0,01 g de $N.L^{-1}$.

A concentração de nitrogênio amoniacal ideal relatada por Bisaillon et al. (2006) foi de 0,01 g de $N.L^{-1}$, enquanto que a concentração de nitrogênio amoniacal ótima relatada por Salerno et al. (2006) foi de 7 g de $N.L^{-1}$.

As possíveis razões para as divergências entre os trabalhos foram as diferenças na utilização dos inóculos, substratos e taxas de concentração de nitrogênio amoniacal estudadas (WANG et al. 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentadas as configurações dos reatores anaeróbios, as análises e procedimentos para o desenvolvimento da parte experimental, juntamente com os métodos adotados para avaliar o desempenho dos reatores anaeróbios de leito fluidificado utilizados para a produção de hidrogênio.

4.1 Reatores Anaeróbios de Leito Fluidificado (RALFs)

Os reatores anaeróbios de leito fluidificado foram construídos com material acrílico transparente de uma espessura de 5 mm.

Para facilitar a discussão dos resultados e identificar os reatores anaeróbios de leito fluidificado foram nomeados com a abreviatura RALF 1 e RALF 2.

O RALF 1 possui uma altura de 190 centímetros e 5,3 cm de diâmetro interno; 8 saídas laterais, sendo 5 para coleta de amostras do material suporte, localizadas a 20, 40, 70, 110 e 160 cm a partir da base, distribuídas ao longo do reator e 3 saídas próximas ao topo do reator para coleta de efluente, como mostra a Figura 01. O volume total do RALF 1 foi de 4192 mL, sendo o volume útil de 3200 mL. A quantidade de argila expandida triturada utilizada como material suporte para preencher o leito foi de 1,230 kg com altura de aproximadamente 80 cm da base do reator, de acordo com procedimento utilizado por Amorim (2009).

O RALF 2 possui uma altura de 90 cm e diâmetro interno de 4 cm; 6 saídas laterais, sendo 3 para coleta do material suporte, localizadas a 10, 15 e 20 cm a partir da base, distribuídas ao longo do reator e 3 saídas próximas ao topo do reator para coleta de efluente, como mostra a Figura 02. O volume total e útil foi de 1200 mL e 900 mL, respectivamente. O mesmo foi preenchido com argila expandida triturada até uma altura aproximada de 30 cm a partir da base. A quantidade de material suporte utilizada no reator foi de 400 g aproximadamente. As figuras 01 e 02 ilustram os RALFs 1 e 2 (respectivamente) em funcionamento.

Figura 01 – RALF 1 em operação

Fonte: Autora (2013)

Figura 02 – RALF 2 em operação

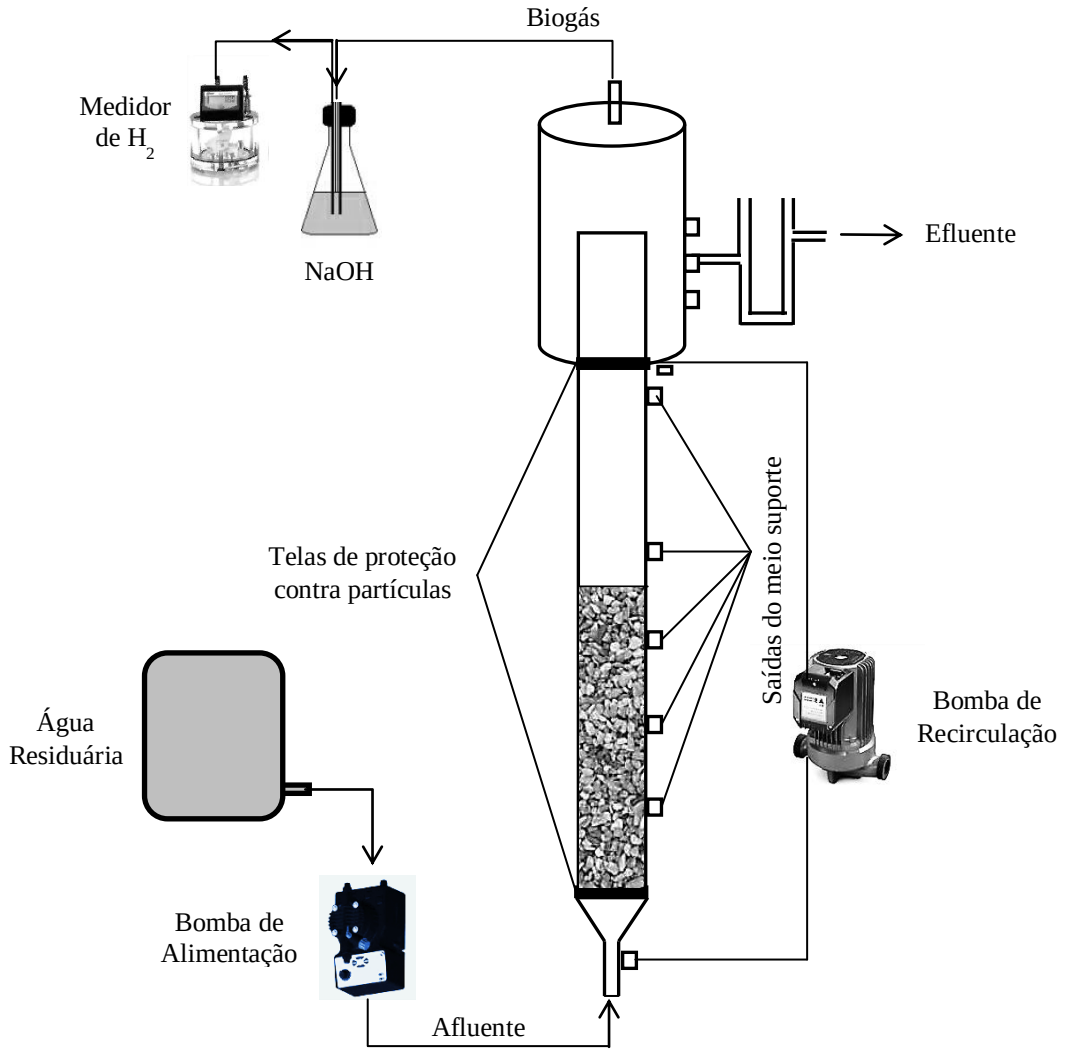
Fonte: Autora (2013)

A solução afluente foi introduzida nos reatores através de uma bomba de alimentação de marca DOSITEC, modelo DLX MA/A. A recirculação da solução foi realizada por uma bomba dosadora de marca ECOSAN, de acordo com o esquema mostrado na Figura 03.

O procedimento experimental foi desenvolvido entre os meses de dezembro de 2012 a abril de 2013, totalizando 127 dias de operação. Os reatores foram operados à temperatura ambiente. A temperatura foi verificada ao longo do experimento por um termômetro de mercúrio que registrou a variação de temperatura, sendo a máxima de 33°C e mínima de 28°C durante o período em que os reatores foram operados.

O esquema operacional do reator anaeróbio de leito fluidificado pode ser observado na Figura 03.

Figura 03 – Esquema operacional dos RALFs



Fonte: Autora (2013), adaptado de Amorim (2012)

4.2 Água Residuária

A água residuária foi preparada a partir da mistura entre manipueira, esgoto sanitário de duas origens (descritas a seguir), além da adição de glicose como fonte de carbono suplementar. A referida água residuária variou de acordo com as fases operacionais, as quais serão apresentadas no item 4.5.

As coletas de manipueira foram realizadas em uma casa de farinha artesanal localizada no município de Santa Luzia do Norte, Alagoas, que está inserido na região metropolitana de Maceió. Latitude: 9° 35' 36" Sul, Longitude: 35° 49' 20"

Oeste. A manipueira foi armazenada em recipientes de polietileno de 20 litros e acondicionada em freezer à -15°C de temperatura até o uso, sendo descongelada cerca de 24h antes de ser utilizada.

O Esgoto Sanitário 1 (ES1) foi coletado em condomínio residencial localizado no bairro Tabuleiro do Martins, em Maceió-AL. O Esgoto Sanitário 2 (ES2) foi proveniente da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e coletado em um poço de visita que recebe esgoto da universidade (inclusive do Hospital Universitário) e água de chuva, localizado no Campus A. C. Simões, Cidade Universitária, Maceió – AL.

A água residuária foi suplementada para favorecer o crescimento de microrganismos. A suplementação pode ser observada na Tabela 02.

Tabela 02 – Suplementos adicionados à água residuária para alimentação dos reatores

Composto	Concentração ($mg.L^{-1}$)
Ureia	125,0
Sulfato de Níquel	1,0
Sulfato Ferroso	5,0
Cloreto Férrico	0,5
Cloreto de Cálcio	47,0
Cloreto de Cobalto	0,08
Óxido de Selênio	0,07
Fosfato de potássio monobásico	85,0
Fosfato de potássio dibásico	21,7
Fosfato de sódio dibásico	33,4

Fonte: Autora (2013) adaptado de Amorim (2009)

4.3 Pré-tratamento do inóculo e adaptação dos reatores

Os reatores foram inoculados com resíduos de suinocultura. A coleta do material inoculado foi realizada em uma suinocultura localizada no bairro de Santa Amélia, Maceió - AL. Esse inóculo foi diluído em água e sofreu um tratamento térmico prévio que consistiu em elevar a temperatura à 90°C durante 10 minutos e depois foi conduzido a um choque térmico até atingir a temperatura de 25°C de acordo com Maintinguer et al.(2008).

No tratamento biológico de efluentes industriais, em especial àqueles projetados para remoção de alta carga orgânica, torna-se necessário à adaptação da população microbiana para que ela seja capaz de degradá-los, garantindo o bom desempenho do processo (AMORIM, 2009). Para tanto, os RALFs passaram por um período de adaptação, durante 48 horas, a fim de que, microrganismos previamente selecionados através do método de pré tratamento, aderissem ao material suporte e mantivessem a atividade microbiana do inóculo utilizado.

O método utilizado para a adaptação da biomassa foi o da adaptação dos microrganismos no próprio reator, contendo as partículas de argila expandida utilizadas como meio suporte para adesão microbiana, utilizando-se como inóculo a biomassa proveniente do resíduo de suinocultura.

A inoculação foi realizada introduzindo-se nos reatores anaeróbios de leito fluidificado 10% do inóculo pré tratado, somado à água residuária (10% de manipueira, 90% de esgoto e 10 g de glicose.L^{-1}, para favorecer o enriquecimento e metabolismo dos microrganismos) com os suplementos descritos na Tabela 02.

4.4 Material Suporte para adesão microbiana

Através da facilidade na forma de obtenção, baixo custo e bom desempenho em trabalhos executados anteriormente como Shida et al.(2012), Amorim (2012), Barros et. al (2010) na utilização da argila expandida como material suporte em reatores de leito fluidificado, optou-se por utilizar a mesma como material suporte.

A argila expandida foi obtida, triturada e peneirada até atingir uma granulometria entre 2,8 e 3,35 mm de acordo com Amorim (2009). Logo após, foi realizado o teste de densidade aparente, submetendo as argilas trituradas à agua, sendo selecionadas as que apresentaram ser mais densas que a água. O teste garante a permanência das partículas de argila na parte inferior do reator, pois, os reatores são de fluxo ascendente.

A velocidade mínima de fluidificação e a vazão de recirculação para a argila expandida foram determinadas a partir de dados experimentais de velocidade superficial e perda de carga determinados por Amorim (2009). As características, como dimensão das partículas de argila triturada, densidade e velocidade mínima de fluidificação estão apresentadas na Tabela 03.

Tabela 03 - Dimensão, densidade e velocidade mínima de fluidificação das partículas de argila expandida triturada

Partícula	Dimensão (mm)	Densidade (g cm^{-3})	V_{mf} (cm s^{-1})
Argila expandida	2,8 - 3,35	1,50	1,24

Fonte: Autora (2013) adaptado de Amorim (2009)

4.5 Fases operacionais dos RALFs

Para simplificar a análise dos resultados, o estudo foi dividido em seis fases experimentais no RALF 1 e cinco fases no RALF 2.

As fases operacionais dos reatores foram nomeadas de acordo com a porcentagem de manipueira e glicose utilizadas em cada fase. Exemplo: F10M3G fase contendo 10% de manipueira, 3 g de glicose.L^{-1} e 90% de esgoto sanitário foram adicionados. A fase F75M3h é uma exceção por não ter sido adicionado esgoto sanitário, pois os 25% restantes foram preenchidos por água. As fases dos RALFs 1 e 2 estão descritas nas Tabelas 04 e 05.

As fases operacionais foram consideradas estáveis quando o comportamento da taxa de produção de H_2 foi constante ou com uma variação dentro de 5 a 10% com intervalos entre 3 a 20 dias, de acordo com cada fase.

Os reatores anaeróbios de leito fluidificado foram operados continuamente durante o experimento. Durante as fases de operação foi avaliada a influência da associação entre a manipueira e o esgoto sanitário na produção de hidrogênio e suas respectivas percentagens.

Para tanto, foram estabelecidos porcentagens da quantidade de manipueira e esgoto sanitário a serem utilizadas nos reatores.

No RALF 1, a água residuária foi composta de manipueira (variando de acordo com a fase) e Esgoto Sanitário 2 (ES2), utilizado durante todo o experimento, exceto na primeira semana, onde foi utilizado o Esgoto Sanitário 1 (ES1). No RALF 2, o esgoto sanitário utilizado durante todo o experimento foi o ES1.

A partir disso, foi avaliada a influência da composição da água residuária e o TDH, o qual foi de 4-3h para o RALF 1 e 4h para o RALF 2, havendo uma variação da DQO afluente de acordo com o preparo da água residuária (manipueira mais esgoto), como está descrito nas Tabelas 04 e 05.

Tabela 04 – Descrição das fases operacionais do RALF 1

Fases	Dias	TDH (h)	Vol. Manipueira (%)	Vol. Esgoto (%)	Glicose (g/L)	Vol. Água (%)	DQO_{aflu} (mg/L)	TCO (kg DQO.m³.d)
F10M3G	13	4	10	90	3	0	3759	23
F40M2G	7	4	40	60	2	0	6001	36
F50M1G	4	4	50	50	1	0	7001	42
F50M	8	4	75	25	0	0	6000	36
F75M	15	4	75	25	0	0	8250	49
F75M3h	20	3	75	0	0	25	5532	44

Fonte: Autora (2013)

Tabela 05 – Descrição das fases operacionais do RALF 2

Fases	Dias	TDH (h)	Vol. Manipueira (%)	Vol. Esgoto (%)	Glicose (g/L)	DQO_{aflu} (mg/L)	TCO (kg $DQO.m^{-3}.d^{-1}$)
F10M10G	23	4	10	90	10	4064	24
F25M5G	7	4	25	75	5	6228	37
F50M2G	16	4	40	60	4	8312	49
F75M	6	4	50	50	2	9656	57
F100M	3	4	75	25	0	11856	71

Fonte: Autora (2013)

4.6 Caracterização da Manipueira e Esgoto Sanitário

A manipueira e os dois tipos de esgotos sanitários foram caracterizados durante a realização dos experimentos para obtenção de conhecimentos de alguns parâmetros importantes como os descritos na Tabela 06 e 07.

A caracterização físico-química da manipueira e do esgoto sanitário estão descritas nas Tabelas 06 e 07.

Tabela 06 – Características Físicas e Químicas da manipueira utilizada na operação dos RALFs

ANÁLISES	Média	Desvio Padrão	Literatura
pH	4,31	0,073	4,6[(1)]
Cloretos ($mg.L^{-1}$)	184,10	124,05	-
Carboidratos ($mg.L^{-1}$)	25611,6	1293,43	37540[(2)]
Demanda Química de Oxigênio (DQO) ($mg.L^{-1}$)	12807,4	4944,03	66190[(2)]
Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) ($mg.L^{-1}$)	9712,45	3254,21	29330[(2)]
Nitrogênio Total ($mg.L^{-1}$)	2618	108,89	1260[(2)]
Fósforo Total ($mg.L^{-1}$)	55,35	4,92	700[(1)]
Sólidos Suspensos Totais ($mg.L^{-1}$)	8388,00	2721,33	56700[(1)]
Sólidos Suspensos Fixos ($mg.L^{-1}$)	2508,63	987,42	8000[(1)]
Sólidos Suspensos Voláteis ($mg.L^{-1}$)	4523,34	1097,12	48700[(1)]

Fonte: Autora (2013) [(1)] Os valores estão de acordo com Silva (2009)
[(2)] Os valores estão de acordo com Amorim (2012)

Tabela 07 – Características Físicas e Químicas dos esgotos sanitários utilizados na operação dos RALFs

ANÁLISES	Esgotos Sanitários		
	Condomínio residencial	UFAL	Literatura*
pH	7,06	7,5	6,7-7,5
Alcalinidade ($mg.L^{-1}$)	137,44	34,36	110-170
Cloretos (mg $CaCO_3.L^{-1}$)	74,21	13,79	20-50
DQO ($mg.L^{-1}$)	147,99	45,82	400-800
Fósforo Total ($mg.L^{-1}$)	6,04	0,71	5-20
Sólidos Suspensos Totais ($mg.L^{-1}$)	132	16	100-500
Sólidos Suspensos Voláteis ($mg.L^{-1}$)	118	10	70-400
Sólidos Suspensos Fixos ($mg.L^{-1}$)	14	6	30-100

Fonte: Autora (2013) *Os valores estão de acordo com Metcalf e Eddy (1991) e Von Sperling (1996)

4.7 Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas foram realizadas periodicamente conforme mostra a Tabela 08.

As amostras para as análises de DQO e carboidratos foram filtradas em membrana de 0,45 µm, já as amostras para análises da série de sólidos e TOC foram filtradas por membranas de 1,2 mm.

O Nitrogênio Amoniacal foi medido através do método titulométrico nos RALFs 1 e 2. Entretanto, no RALF 2, o nitrogênio amoniacal foi medido através da parcela de esgoto sanitário e não da água residuária afluente introduzida, diferenciando

assim do RALF 1, onde o nitrogênio amoniacal foi medido através da água residuária como um todo. No RALF 2, o nitrogênio amoniacal efluente não foi medido.

Tabela 08 - Frequência das análises para monitoramento dos reatores

Análises	Frequência	Método	Referência
pH	5 x semana	Eletrométrico	APHA (1998)*
DQO (mg/L)	3 x semana	Espectofotometria	APHA (1998)*
Alcalinidade ($mg.CaCO_3L^{-1}$)	3 x semana	Volumétrico	Ripley *et al* (1986)
Ácidos Voláteis	3 x semana	Volumétrico	Ripley *et al* (1986)
Ácidos Orgânicos/Álcoois	1 x semana	Cromatografia gasosa	Maintinguer *et al.(*2008)
Carboidratos	3 x semana	Espectofotometria	Dubois et al. (1956)
Temperatura	5 x semana	-	-
Vazão	5 x semana	-	-
Hidrogênio	3 x semana	Volumétrico	AMORIM (2009)
ST, SST, SSV	1 x semana	Gravimétrico	APHA (1998)*
COT (mg/L)	1 x semana	Cromatografia líquida	APHA (2005)*
Nitrogênio Total (mg/L)	1 x semana	Titulométrico	APHA (1998)
Nitrogênio Amoniacal(mg/L)	1 x semana	Titulométrico	APHA (1998)
Nitrogênio Orgânico (mg/L)	1 x semana	-	-

Fonte: Autora (2013) *APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

4.8 Carboidratos

A determinação de carboidratos foi realizada pelo método de Dubois *et al*. (1956), o qual mede a concentração de carboidratos em $mg.L^{-1}$ de glicose. Esse método é baseado no fato de que açúcares simples e complexos e seus derivados, incluindo metil-ésteres com grupos redutores livres ou potencialmente livres, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado dão coloração amarelo-alaranjado, com uma reação sensível e coloração estável.

4.9 Carbono orgânico total (COT)

O carbono orgânico total (COT) das amostras foi medido em um analisador de COT da Shimadzu, modelo 5000 A, seguindo os métodos 5310 A e B padronizados, e expresso em mg de $C.L^{-1}$ (APHA, 2005). A concentração de COT corresponde a todo carbono ligado covalentemente a uma molécula orgânica, sendo determinada subtraindo-se a concentração de carbono inorgânico (CI), proveniente de carbonatos e bicarbonatos, do carbono total (CT). A técnica consiste na oxidação da matéria orgânica por combustão catalítica a alta temperatura (680ºC), liberando carbono na forma de CO_2, que pode ser quantificado por um detector de infravermelho. Essa determinação fornece o carbono total (CT). Acidificando a amostra com ácido fosfórico, os carbonatos dissolvidos convertem-se a CO_2 e são detectados pelo infravermelho, obtendo-se o valor de carbono inorgânico (CI).

4.10 Produção Volumétrica de Hidrogênio

A produção volumétrica de hidrogênio foi obtida de duas formas. A primeira, foi utilizada durante todo o experimento, através do medidor MilliGas-counter do fabricante Ritter do tipo MGC-1 V3 1 AMMA, que mede uma vazão mínima de $1mL.h^{-1}$ e máxima de 1 $L.h^{-1}$ de hidrogênio. Foi acoplado ao medidor um recipiente contendo uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de $5mol.L^{-1}$. Para a medição de hidrogênio, o medidor foi conectado ao reator permitindo a passagem do biogás para o medidor, entrando em contato com a solução de NaOH para que o CO_2 contido no biogás fosse retido na solução e apenas o gás hidrogênio fosse detectado, de acordo com o esquema da Figura 03.

A segunda forma foi realizada ao final do experimento, através de cálculos obtidos do volume de hidrogênio produzido ($L.h^{-1}$) e da vazão dada em $L.h^{-1}.L^{-1}$. As equações 6, 7 e 8 mostram como foi obtida a produção volumétrica de hidrogênio através desse método.

$$P.V_{H2} = n.R.T \qquad \text{(Eq. 6)}$$

$$\text{(Vazão de } H_2) \; Q_{H2} = \frac{\text{Volume de } H_2}{\text{TDH}} \qquad \text{(Eq. 7)}$$

$$\frac{\text{Vazão de } H_2 \; (Q_{H2})}{\text{Volume útil}} \qquad \text{(Eq. 8)}$$

4.11 Determinação dos Ácidos Orgânicos Voláteis e Álcoois

A concentração dos ácidos orgânicos voláteis e dos álcoois foram determinadas através do cromatógrafo gasoso modelo GC-2010 do fabricante Shimadzu, equipado com detector de ionização de chama (FID). A coluna utilizada foi a Supelco Carboxen 1010 Plot (30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,53 mm) e detector de condutividade térmica. A metodologia utilizada foi a desenvolvida pelo Laboratório de Processos Biológicos – Setor de Cromatografia do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) utilizado por Maintinguer et al.(2008).

As condições cromatográficas utilizadas foram:

- Temperatura do injetor: 250ºC, razão de Split 1.
- Temperatura do forno: 35ºC (0') 2ºC/mim; 38ºC (0') 10ºC/min; 75ºC (0') 35ºC/min; 120ºC (1') 10ºC/min; 170ºC (2'), gás de arraste: hidrogênio.
- Temperatura do detector: 280ºC, gás auxiliar (N_2): 30 mL.min^{-1}; ar sintético: 300 mL.min^{-1}, e hidrogênio: 30 mL.min^{-1}.

As amostras foram injetadas manualmente utilizando seringa "gastight" com trava. Para tanto, foram utilizados os seguintes materiais com as respectivas condições:

- Seringa de 1 mL;
- Temperatura da seringa aproximadamente: 90ºC;
- Volume injetado: 400 µL;
- Temperatura da chapa aquecedora: 100ºC;
- Tempo de incubação da amostra: 13 minutos.

4.12 Cálculo dos principais parâmetros

As equações dos principais parâmetros estão descritas abaixo.

Rendimento de hidrogênio: $HY = \frac{\text{Quantidade (mol) de } H_2 \text{ produzido}}{\text{Quantidade (mol) de glicose consumida}}$ (Eq. 9)

Produção volumétrica de H_2: $HPR = \frac{\text{Quantidade (L) de } H_2 \text{ produzido}}{\text{Tempo de Detenção Hidráulica(h).Volume (L) útil do reator}}$ (Eq. 10)

Conversão da glicose = $\frac{100 \times (\text{Glicose}_{\text{afluente}} - \text{Glicose}_{\text{efluente}})}{\text{Glicose afluente}}$ (Eq. 11)

Taxa de carregamento orgânico real aplicada: $TCO_{apli} = \frac{DQO_{\text{afluente teórica}}}{TDH_{teórico}}$ (Eq. 12)

Taxa de carregamento orgânico real removida: $TCO_{rem} = \frac{DQO_{aflu}}{TDH_{medido}}$ (Eq. 13)

AVT = ácidos voláteis totais e SMP = metabólitos totais produzidos foram baseados na concentração molar.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão expostos os resultados obtidos na operação dos reatores anaeróbios de leito fluidificado e o desempenho na produção de hidrogênio a partir da associação da manipueira com esgoto sanitário. Através das análises físico-químicas foi possível observar o comportamento dos principais parâmetros na produção do hidrogênio bem como a produção dos principais metabólitos solúveis.

5.1 Discussão sobre a Caracterização da Manipueira e do Esgoto Sanitário

A manipueira é rica em carboidratos e serve como fonte de carbono para a fase acidogênica ocorrida nos RALFs, podendo assim produzir hidrogênio. Estudos realizados com a manipueira como substrato para a produção de hidrogênio indicam resultados satisfatórios no que diz respeito à concentração de carboidratos, que de acordo com Cappelletti (2011) está entre 20 a 50 $g.L^{-1}$, podendo variar sua concentração de acordo com a manipulação e processamento da massa de mandioca nas casas de farinha.

O esgoto sanitário é um efluente proveniente de resíduos industriais, domésticos, comerciais e se caracteriza por possuir significativa carga orgânica, com DQO entre 400 e 800 $mg.L^{-1}$ de acordo com Metcalf e Eddy (1991).

As características físico-químicas dos esgotos sanitários podem divergir. Isso pode ser explicado pela diferença entre os locais de coleta, sendo o esgoto sanitário ES1 coletado em um condomínio residencial com medição de esgoto individual, podendo torná-lo mais concentrado que o esgoto da Universidade Federal de Alagoas. Já o esgoto sanitário ES2 proveniente da UFAL foi perceptivelmente mais diluído, pois o ponto de coleta tratava-se de um poço de visita que recebe contribuição tanto de água de chuva como de esgoto sanitário da Universidade, inclusive o esgoto do Hospital Universitário. Além disso, a maior parte das coletas foi realizada durante um período em que a UFAL estava em greve, podendo assim justificar os valores dos parâmetros estarem em sua maioria abaixo da média proposta pela literatura.

Valores propostos na literatura foram expostos na Tabela 07 no item 4.6. Em alguns parâmetros avaliados como cloretos, DQO e sólidos suspensos fixos, o esgoto ES1, encontra-se fora das médias propostas pela literatura. Já o ES2

encontra-se fora dos padrões fixados pela literatura (exceto o pH). De acordo com Von Sperling (1996) a característica dos esgotos é função dos usos à qual a água foi submetida, podendo assim variar.

5.2 pH

Em ambos os reatores, o pH não foi controlado durante o decorrer do experimento.

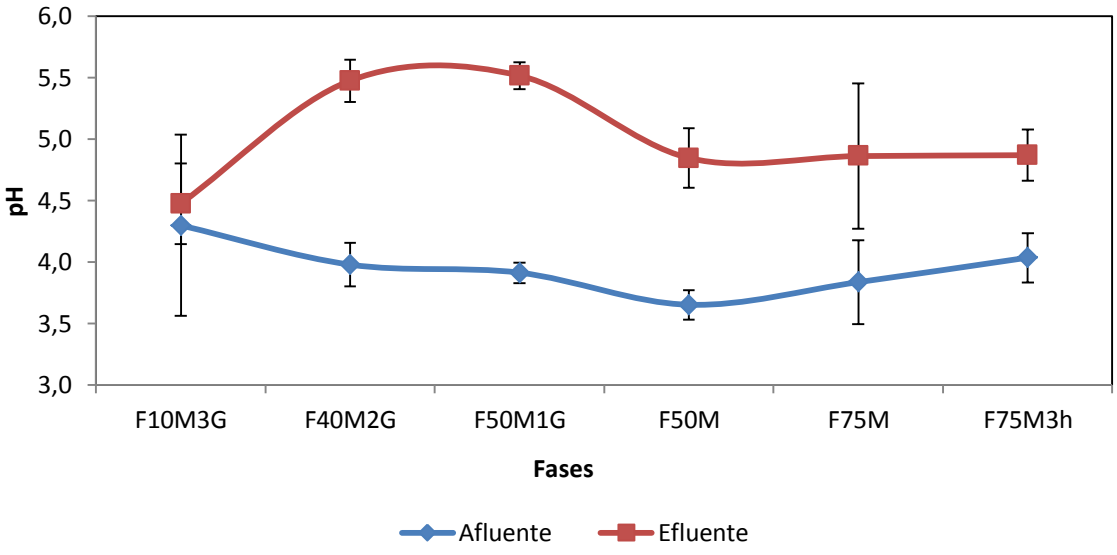
Pode-se observar que em todas as fases do RALF 1 o pH efluente foi maior que o afluente. O comportamento do pH no RALF 1 está descrito na Tabela 09 e Figura 04.

Tabela 09 – Média de pH das fases do RALF 1

Fases	pH Afluente	pH efluente
F10M3G	4,30 ± 0,74	4,47 ± 0,33
F40M2G	3,98 ± 0,18	5,47 ± 0,17
F50M1G	3,91± 0,08	5,52 ± 0,11
F50M	3,65 ± 0,12	4,85 ± 0,24
F75M	3,84 ± 0,34	4,86 ± 0,59
F75M3h	4,03 ± 0,20	4,87 ± 0,21

Fonte: Autora (2013)

Figura 04 - Comportamento do pH durante as fases do RALF 1



Fonte: Autora (2013)

Os valores médios de pH no RALF 1, variaram entre 3,65 e 4,30 para o afluente e 4,47 a 5,52 para o efluente. A variação de pH possivelmente demonstra a atividade das rotas dos ácidos orgânicos que serão comprovadas através das análises de cromatografia gasosa no item 5.9. Álcoois, ácidos orgânicos ou metano,

podem ter sido produzidos concomitantes à produção de hidrogênio, dificultando assim as rotas favoráveis ao hidrogênio. A variação de pH pode ter indicado a redução do TDH para 3 horas na fase F75M3h do RALF 1 (de acordo com a Figura 04), sendo a média do pH afluente para esta fase de 4,03 e a média efluente de 4,87, conforme a Tabela 09.

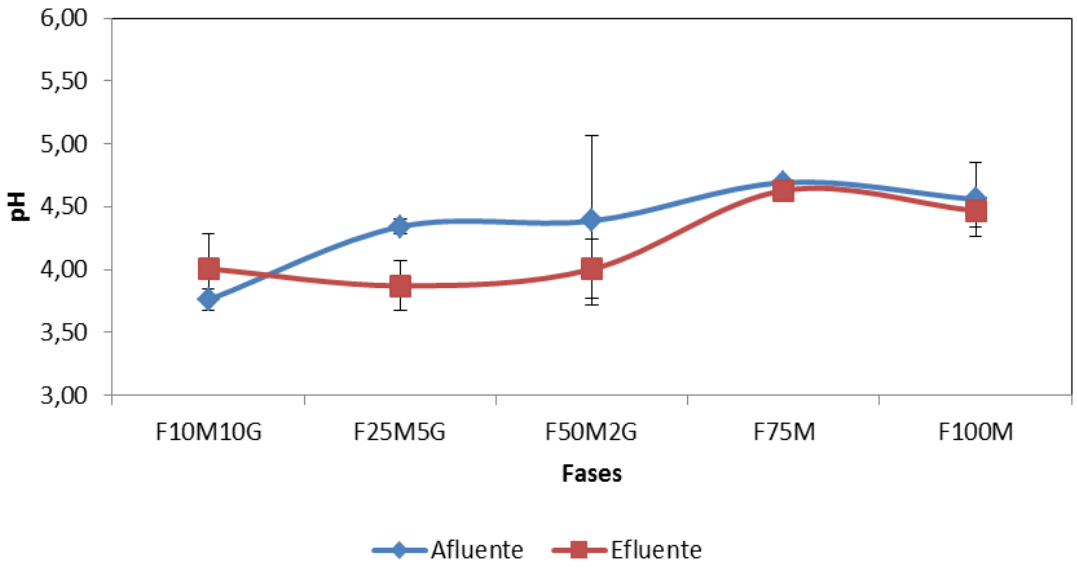
A tabela 10 e a Figura 05 mostram o comportamento do pH no RALF 2 durante o experimento.

Tabela 10 – Média de pH das fases do RALF 2

Fases	pH Afluente	pH efluente
F10M10G	3,76 ± 0,08	4,28 ± 0,27
F25M5G	4,34 ± 0,06	3,87 ± 0,20
F50M2G	4,39 ± 0,68	4,00 ± 0,24
F75M	4,69 ± 0,03	4,63 ± 0,06
F100M	4,56 ± 0,3	4,47 ± 0,13

Fonte: Autora (2013)

Figura 05 – Comportamento do pH durante as fases do RALF 2



Fonte: Autora (2013)

Os valores médios de pH no RALF 2 foram de 3,76 a 4,69 para o afluente e 3,87 a 4,63 no efluente, indicando que a fase acidogênica pode ter prevalecido durante o experimento de acordo com Peixoto (2008). No RALF 2, o pH afluente mostrou-se maior durante as fases de operação, exceto na fase F10M10G.

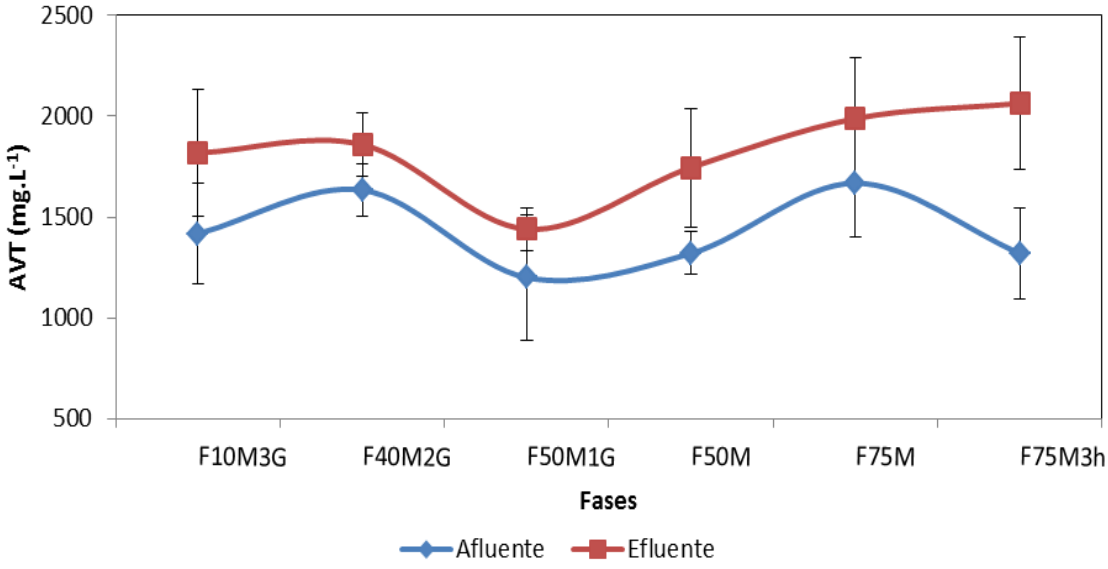
A Figura 5 mostra que o pH afluente na fase F10M10G foi inferior em relação as demais fases. Essa constatação provavelmente ocorreu devido a alimentação do

reator durante essa fase, sendo constituída de uma maior concentração de glicose e baixa concentração de manipueira (10%), ocorrendo assim uma rápida fermentação e consequente acidificação dos carboidratos de fácil degradação (glicose). Nas fases seguintes, o pH afluente teve um aumento significativo, mostrando-se superior ao pH efluente.

5.3 Produção de Ácidos Voláteis Totais

A Figura 06 mostra a produção de ácidos voláteis totais (AVT) no RALF 1, durante todo o experimento.

Figura 06 - Produção média de Ácidos Voláteis Totais no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

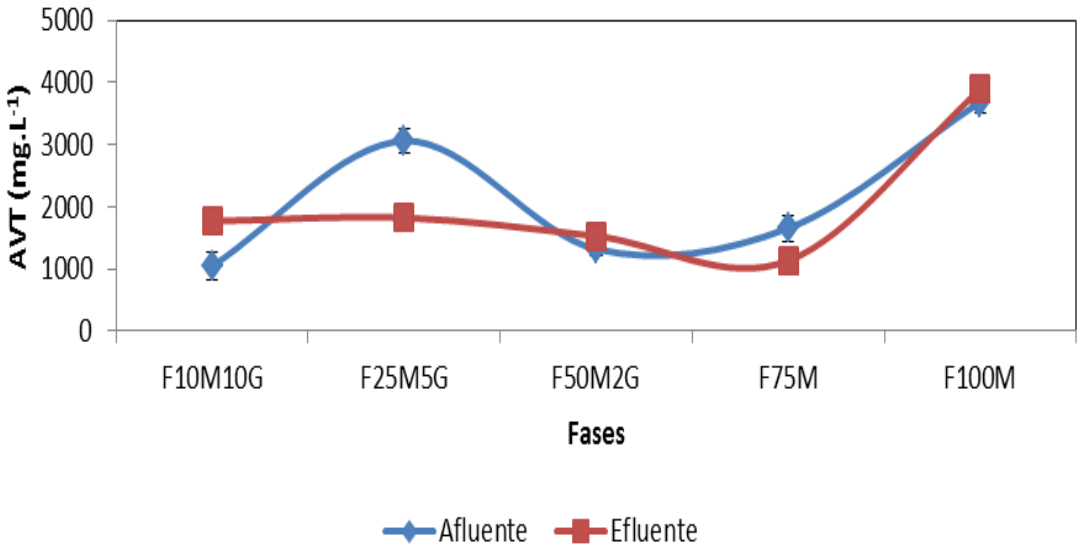
No RALF 1, a concentração média de AVT afluente atingiu 1668 $mg.L^{-1}$ na fase F75M e a mínima 1200 $mg.L^{-1}$ na fase F50M1G, já a concentração média efluente teve seu valor máximo de 2064 $mg.L^{-1}$ na fase F75M3h e mínimo de 1440 $mg.L^{-1}$ na fase F50M1G.

De acordo com a Figura 06, a produção de AVT teve um comportamento crescente de maneira geral tanto para afluente como efluente, exceto na fase F50M1G. Esse comportamento pode ter ocorrido por esta fase não ter atingido a estabilidade, visto que, o tempo de operação foi reduzido, não apresentando uma média de produção muito significativa.

A presença de ácidos voláteis totais pode indicar uma possível produção de ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico, dentre outros, que são metabólitos formados na fermentação da glicose e pode interferir na produção de hidrogênio tanto positivamente (ácido acético e ácido butírico) quanto negativamente (ácido propiônico).

A Figura 07 apresenta o comportamento da produção ácidos voláteis totais do RALF 2.

Figura 07- Produção Média de Ácidos Voláteis Totais no RALF 2



Fonte: Autora (2013)

No RALF 2, a maior concentração média de AVT afluente foi de 3687,9 $mg.L^{-1}$ na fase F100M e a mínima 1049 $mg.L^{-1}$ na fase F10M10G, já a concentração média efluente teve seu valor máximo de 3891 $mg.L^{-1}$ na fase F100M e mínima de 1133 $mg.L^{-1}$ na fase F75M. Como mostra a Figura 07, a produção de AVT efluente se manteve quase estável nas duas primeiras fases (F10M10G e F25M5G) e declinou a partir da terceira fase (F50M2G), tendo o seu pico na fase F100M.

A produção de ácidos pode ocorrer pela presença de carboidratos contidos na raiz (mandioca) através do metabolismo de microrganismos (CAPPELLETTI, 2009). Silva (2009) utilizando manipueira sob condições acidogênicas e como principal substrato obteve uma variação de ácidos voláteis entre 3,28 a 8,75 $g.L^{-1}$. Amorim (2012) encontrou concentrações de ácidos voláteis utilizando manipueira como substrato em seu experimento e obteve 3,89 $g.L^{-1}$. Esses resultados foram

semelhantes ao encontrado na última fase do RALF 2 com 3891 $mg.L^{-1}$, já que a porcentagem de manipueira adicionada a esta fase foi 100%.

5.4 Conversão da glicose

A Tabela 11 mostra os carboidratos totais médio afluente, efluente e sua eficiência de conversão.

Tabela 11 – Carboidratos totais médio afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 1

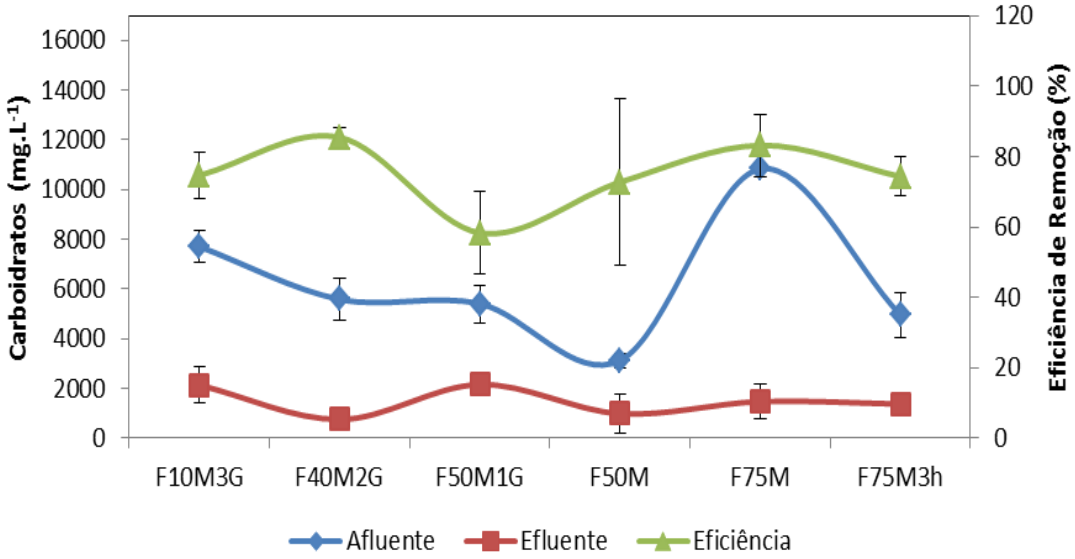
Fases	Carboidrato Afluente (mg/L)	Carboidrato Efluente (mg/L)	Eficiência (%)
F10M3G	7711± 622	2143 ± 743	75 ± 6
F40M2G	5590 ± 826	758 ± 145	85 ± 3
F50M1G	5411 ± 756	2165 ± 8,2	58 ± 12
F50M	3128 ± 287	993 ± 777	73 ± 23
F75M	10835 ± 47	1480 ± 677	83 ± 9
F75M3h	4965 ± 907	1378 ± 481	74 ± 6

Fonte: Autora (2013)

A média da glicose afluente variou de 3127,71 $mg.L^{-1}$ a 10835,4 $mg.L^{-1}$, devido a quantidade de carboidratos contidos na água residuária provenientes da glicose e manipueira adicionadas de acordo com cada fase. Já a média de glicose efluente foi de 758,39 $mg.L^{-1}$ a 1480,02 $mg.L^{-1}$, conforme mostra a Tabela 11. A média de conversão de glicose foi de 85,44% no RALF 1. A conversão máxima de glicose foi de 96,16% e ocorreu na fase F75M, entretanto, os resultados mantiveram-se relativamente constantes ao longo da mudança de fases.

A Figura 08 apresenta a concentração média de glicose afluente e efluente no RALF 1**,** bem como sua eficiência de remoção.

Figura 08 - Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose afluente, efluente e eficiência no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

Os resultados obtidos na conversão de glicose do RALF 1, foram semelhantes aos de Reis (2010), pois, o autor relata que os reatores anaeróbios de leito fluidificado em geral, apresentam bons resultados na conversão de glicose, possivelmente, devido a velocidade ascensional aplicada que reflete em melhores condições de transferência de massa entre o substrato e a biomassa.

Zhang *et al.* (2007), trabalhando com glicose e RALF obtiveram conversões de glicose em média de 99,47% utilizando TDH de 4h. Barros *et al.* (2010) conseguiram conversões entre 70,5 e 96,3%. Reis (2010) conseguiu conversão da glicose acima de 80% utilizando RALF. Diante disso, os resultados mostram-se compatíveis com pesquisas anteriores utilizando reatores anaeróbios de leito fluidificado.

A Tabela 12 mostra a média dos carboidratos e a eficiência de conversão no RALF 2.

Tabela 12 – Carboidratos totais médio afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 2

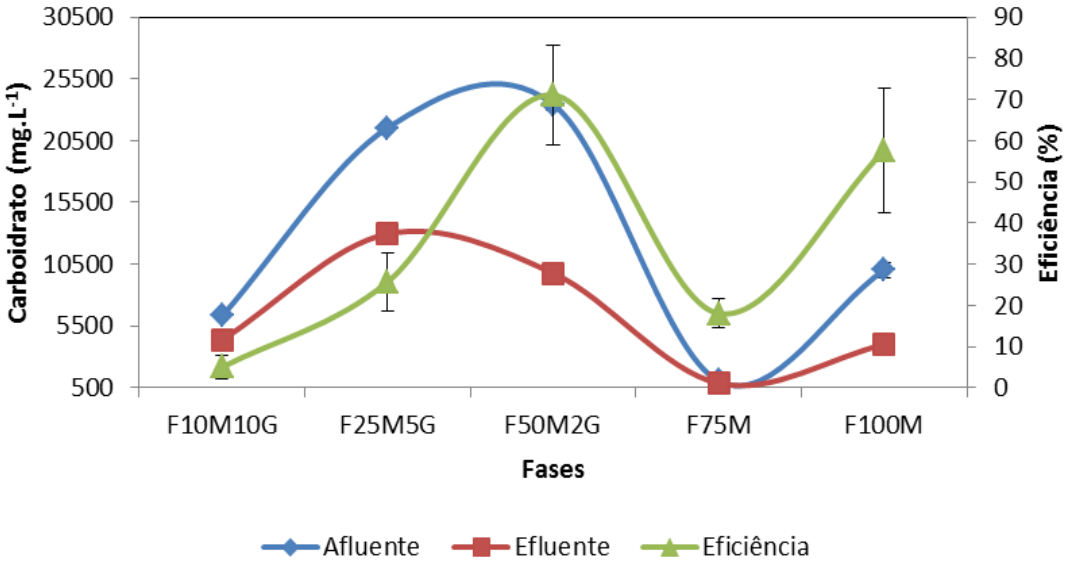
Fases	Carboidrato Afluente (mg/L)	Carboidrato Efluente (mg/L)	Eficiência (%)
F10M10G	6312,78 ± 184,62	4374,15 ± 448	5 ± 3
F25M5G	21544,94 ± 220	12961,06 ± 446	26 ± 12
F50M2G	23445,41 ± 489	9778,77 ± 589	71 ± 31
F75M	1045,86 ± 299	862,17 ± 281	18 ± 3
F100M	10032,38 ± 589	4007,49 ± 389	58 ± 43

Fonte: Autora (2013)

A média de carboidrato afluente variou de 1045,86 $mg.L^{-1}$ a 23445,41 $mg.L^{-1}$. A média efluente foi de 862,17 $mg.L^{-1}$ a 12961,06 $mg.L^{-1}$, conforme mostra a Tabela 12. A eficiência média de conversão de glicose foi de 71% no RALF 2. A conversão de glicose máxima durante toda a operação do RALF 2 foi de 93,21% na fase F50M2G e a mínima 5,03 % ocorreu na fase F10M10G.

A Figura 09 apresenta a variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose e a eficiência de conversão no RALF 2, corroborando com a constatação anterior.

Figura 09 - Variação da concentração dos carboidratos totais em forma de glicose afluente, efluente e eficiência no RALF 2



Fonte: Autora (2013)

Os resultados divergentes da conversão de glicose entre os RALFs 1 e 2 podem estar relacionados a questões como presença de culturas microbianas

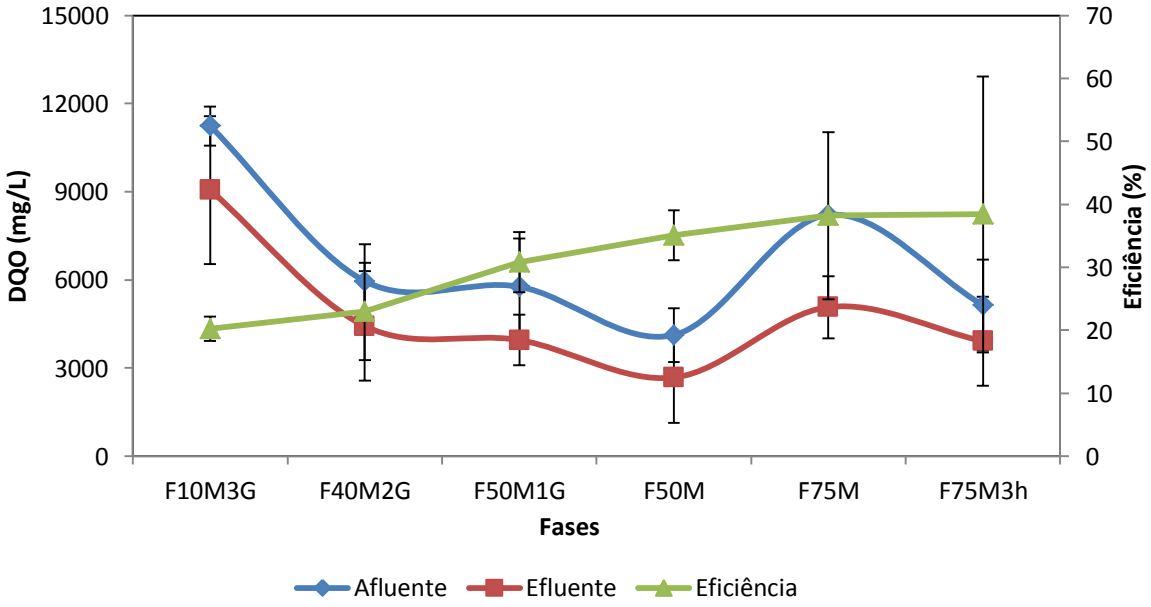
predominantes, maior adaptação do inóculo, bem como influência dos métodos operacionais como quantidade de glicose afluente, intervalos de tempo entre as fases e outros, acarretando em respostas diferentes nos reatores. Outras formas de conversão podem estar relacionadas com a concentração de amônia que pode ser encontrada na forma de nitrogênio amoniacal. Dados obtidos por Salerno (2006) mostraram um significativo aumento da taxa de remoção de glicose de 86 para 92% quando a concentração de amônia aumentou de 0,8 para 7,8 $g.L^{-1}$, sugerindo que a mudança para outros produtos finais como o hidrogênio tenha resultado no aumento da utilização do substrato.

5.5 Remoção de DQO

Neste trabalho a DQO afluente dos RALFs 1 e 2 foi proveniente da mistura da água residuária (manipueira, esgoto e glicose, variando a cada fase).

A Figura 10 apresenta a variação da DQO afluente e efluente e a eficiência de redução no RALF 1.

Figura 10 - Variação da DQO afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

No RALF 1, a média da DQO afluente de todas as fases foi 6703,8 $mg.L^{-1}$, já a média da DQO efluente foi de 5071,8 $mg.L^{-1}$, tendo uma eficiência de conversão média de 30,95%. Este resultado foi compatível com a fase acidogênica de digestão

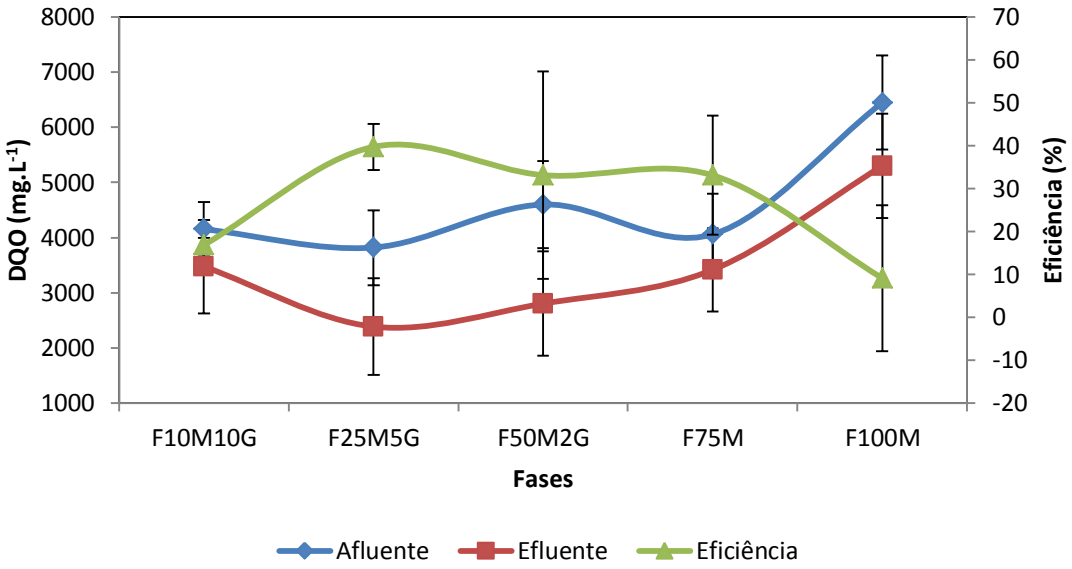
anaeróbica do trabalho de Reis (2010) que obteve uma redução média de 30,81% com o TDH de 6h e 25,20% no TDH de 4h. Amorim (2012) obteve uma redução média de DQO de 24% e no TDH de 6h obteve uma redução de 36%.

De acordo com a Figura 10, o comportamento da eficiência aumentou gradativamente à medida que a quantidade de glicose diminuiu. Isso possivelmente aconteceu devido o processo de adaptação dos microrganismos ao meio suporte e a taxa de carregamento orgânico aos quais eram submetidos.

A maior eficiência média de redução de DQO se deu na fase F75M3h com 38,39% e a menor eficiência foi na fase F10M3G com 20,21%.

A Figura 11 representa a variação da concentração de glicose afluente, efluente e a eficiência de redução durante a operação do RALF 2.

Figura 11 - Variação da DQO afluente, efluente e eficiência de conversão no RALF 2



Fonte: Autora (2013)

No RALF 2, a DQO afluente média de todas as fases foi de 4615 $mg.L^{-1}$ e a DQO média efluente foi de 3675 $mg.L^{-1}$, com uma eficiência de conversão média de 26,38%. A eficiência média máxima de DQO foi na fase F25M5G com 39% e a eficiência mínima foi na fase F100M com 9,13%.

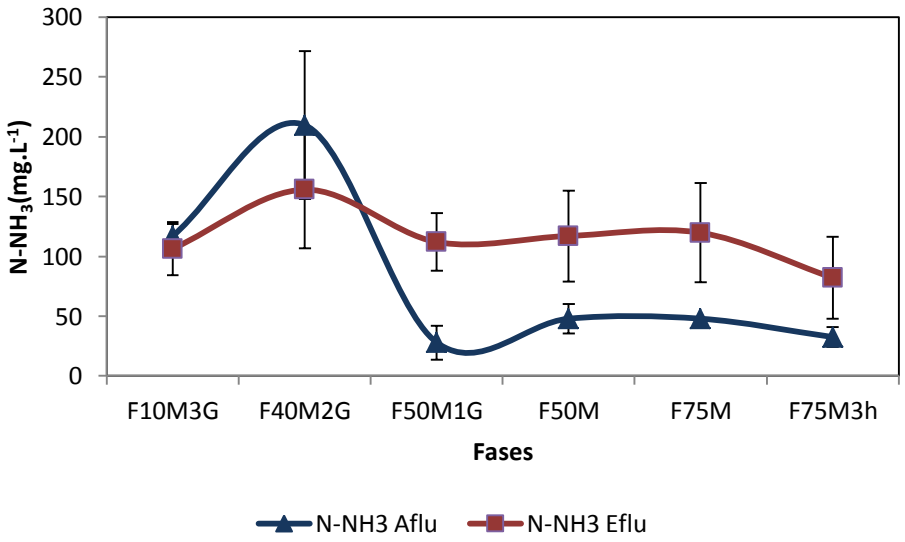
Segundo Shida (2008), a eficiência de remoção corresponde à parcela de matéria orgânica carbonácea que foi convertida em gás carbônico e biomassa que permaneceu aderida no meio de suporte, sendo a DQO efluente representada pela matéria carbonácea oxidada no sistema. Entretanto, pode não ter ocorrido a

degradação total dessa matéria carbonácea no sistema durante a fase F100M, visto que, essa fase teve 100% de carboidratos proveniente de manipueira, tento assim cadeias longas de carboidratos a serem degradadas, em um TDH de 4h por um período de tempo relativamente curto (fase com três dias de operação).

5.6 Concentração de Nitrogênio Amoniacal

A Figura 12 mostra os valores de nitrogênio amoniacal do afluente e efluente.

Figura 12 – Comportamento do nitrogênio amoniacal afluente e efluente no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

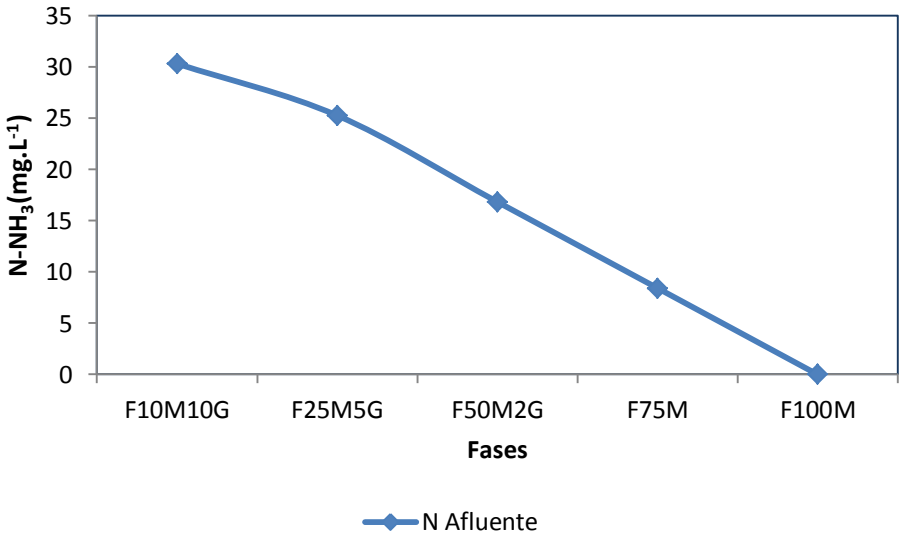
No RALF 1, a média de nitrogênio amoniacal afluente para todas as fases foi de 80,5 $mg.L^{-1}$ e a média efluente foi de 115,5 $mg.L^{-1}$. A maior concentração de nitrogênio amoniacal afluente e efluente, foi de 209,6 $mg.L^{-1}$ e 155,7 $mg.L^{-1}$, respectivamente, e ocorreram na fase F40M2G. A menor concentração de nitrogênio amoniacal ocorreu na fase F75M3h com 32,5 $mg.L^{-1}$ afluente e 82 $mg.L^{-1}$ efluente. Coincidentemente, nessa fase foi detectado uma significativa produção volumétrica de hidrogênio. Isso pode ter ocorrido pela exclusão da porcentagem de esgoto adicionada a esta fase, sendo substituído pela água.

Estudos realizados por Salerno *et al.* (2006) mostraram que a produção de hidrogênio falhou quando um reator de fluxo contínuo foi inicialmente operado a uma alta concentração de amônia (≥1,6 g $N.L^{-1}$). No entanto, quando o reator foi iniciado a uma baixa concentração de amônia (0,8 g $N.L^{-1}$), o hidrogênio pode ser produzido,

mas o rendimento diminuiu de 1,9 a 1,1 mol H_2.mol glicose^{-1} para as concentrações de 0,8 a 7,8 g N.L^{-1}, respectivamente. Isso pode indicar que a produção de hidrogênio pode ser inibida por concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal. Salerno et al (2006) ainda salientou que em reatores de batelada alimentada, o rendimento global do hidrogênio não é afetado, mas a taxa de produção de hidrogênio é reduzida. Sterling et al. (2001) verificaram que adições de 600, 1500 e 3000 mg de N.L^{-1}, inicialmente, resultou na redução das concentrações de H_2 no biogás. Após 24 h, a concentração de H_2 aumentou nas concentrações 600 e 1500 mg de N.L^{-1}, mas a produção permaneceu inibida nos 3000 mg de N.L^{-1}.

A Figura 13 apresenta os valores de nitrogênio amoniacal do afluente no RALF 2.

Figura 13 – Comportamento do nitrogênio amoniacal afluente no RALF 2



Fonte: Autora (2013)

A média de nitrogênio amoniacal afluente detectada no RALF 2 foi de 20,2 mg.L^{-1}.

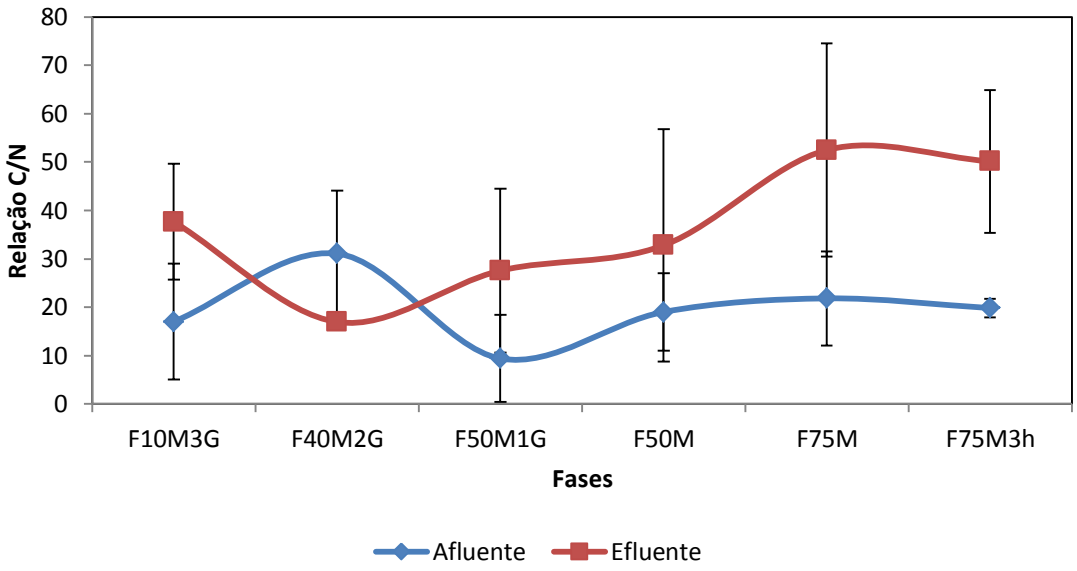
No RALF 2, o nitrogênio amoniacal afluente teve um comportamento decrescente durante as fases experimentais, devido a diminuição de esgoto sanitário aplicado no decorrer das fases, tanto que, na fase F100M a água residuária foi composta por manipueira e suplementos, como pode ser observado na Figura 13. É importante ressaltar que a medição do nitrogênio amoniacal foi realizada a partir do nitrogênio contido apenas no esgoto sanitário utilizado e não da água residuária aplicada, indicando assim valores menores em relação ao RALF 1. A medição

utilizada pode ter levado a alterações nestes valores, pois, o nitrogênio é significativamente volúvel a transformações e a manipueira também apresenta uma quantidade de nitrogênio total bastante considerável. O nitrogênio amoniacal efluente não foi medido no RALF 2, visto que, o que expressa maior relevância para o sistema é a quantidade que entra.

5.7 Relação Carbono/Nitrogênio (C/N)

A Figura 14 mostra a relação Carbono/Nitrogênio no RALF 1.

Figura 14 – Relação Carbono/Nitrogênio no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

No RALF 1, a relação C/N efluente teve o valor médio máximo de 52 na fase F75M e a maior relação C/N medida foi 80, também nesta fase. O valor médio mínimo da relação C/N obtido foi de 17 na fase F40M2G.

O segundo maior valor médio de relação C/N foi 50, na fase F75M3h que coincidentemente, foi a fase que apresentou significativa produção volumétrica de hidrogênio. Isso pode ter influenciado na produção volumétrica de hidrogênio, pois, de acordo com Lin e Lay (2004) uma boa relação C/N favorece e desloca a via metabólica de microrganismos consumindo substrato como fonte de biomassa. Neste estudo, Lin e Lay (2004) obtiveram uma relação C/N ideal de 47 com base na capacidade da microflora converter sacarose em hidrogênio através de reatores em batelada, corroborando com os resultados acima encontrados.

De acordo com Rojas (2010) a diminuição de fontes de nitrogênio aumenta a relação C/N e na fase F75M3h, a adição de esgoto sanitário foi substituída por água, diminuindo consideravelmente a concentração de nitrogênio amoniacal. Rojas (2010) observou que o aumento da produtividade de hidrogênio foi proporcional à diminuição da concentração da fonte de nitrogênio e, consequentemente, ao aumento da relação C/N. O estudo indicou ainda que a relação C/N ótima para produção de hidrogênio utilizando sacarose em RALF foi de 137 e obteve uma produtividade de 3,5 mol H_2.mol sacarose^{-1}.

A Tabela 13 indica uma estimativa da relação C/N afluente nas cinco fases de operação do RALF 2. A relação C/N do RALF 2 foi obtida de acordo com os valores conhecidos na caracterização do esgoto sanitário pelo nitrogênio orgânico durante o experimento.

Tabela 13 - Carbono e nitrogênio orgânico afluente e relação C/N no RALF 2

Fases	Carbono Orgânico Afluente (mg.L^{-1})	Nitrogênio Orgânico Afluente (mg.L^{-1})	Relação C/N Afluente
F10M10G	1516 ± 786	246,77 ± 61	13,12 ± 4
F25M5G	1456 ± 689	205,64 ± 77	7,97 ± 2
F50M2G	1439,66 ± 606	137,1 ± 89	13,48 ± 6
F75M	1206 ± 712	68,54 ± 56	17,60 ± 7
F100M	6209 ± 956	24,56 ± 4	210,22± 24

Fonte: Autora (2013)

O carbono orgânico foi medido analiticamente e indicou concentrações bastante significativas na água residuária utilizada no RALF 2. A maior concentração de carbono orgânico e a maior relação C/N ocorreram na fase F100M, possivelmente por esta fase apresentar uma porcentagem de 100% de manipueira no afluente contendo uma maior fonte de carbono. A maior concentração de nitrogênio orgânico foi na fase F10M10G (246,77 mg.L^{-1}).

5.8 TCO e Produção de Hidrogênio

A mudança da TCO foi determinada de acordo com a variação da DQO afluente e o TDH teórico que foi fixado em 4 horas, exceto na última fase do RALF 1, onde o TDH foi alterado para 3h.

A TCO real aplicada foi obtida pela razão entre a DQO afluente teórica e o TDH teórico, já a TCO real removida foi obtida pela razão entre a DQO afluente medida e o TDH real calculado (a partir da vazão medida).

A Tabela 14 apresenta a TCO real aplicada, TCO real removida e a eficiência no RALF 1.

Tabela 14 – TCO real aplicada, TCO real removida e eficiência no RALF 1

Fases	TCO Real Aplicada (kg DQO.m^{-3}.d^{-1})	TCO Real Removida (kg DQO.m^{-3}.d^{-1})	Eficiência (%)
F10M3G	37,26 ± 3,9	35,72 ± 31,8	4,11
F40M2G	25,82 ± 18,6	25,82 ± 14,5	0,00
F50M1G	34,61 ± 9,88	33,88 ± 6,1	2,12
F50M	20 ± 5,52	15,15 ± 4	24,27
F75M	49,29 ± 0,3	37,51 ± 3,8	23,90
F75M3h	41 ± 12,3	37,72 ± 10,5	8,23

Fonte: Autora (2013)

De acordo com os dados da Tabela 14, a maior eficiência média de redução da taxa de carregamento orgânico no RALF 1 foi obtida na fase F50M (24,27%), já a menor eficiência foi na fase F10M3G (4,11%), enquanto que na fase F40M2G a eficiência foi igual a zero. A eficiência média da TCO foi de 12,53% no RALF 1.

A Tabela 15 mostra os resultados da TCO real aplicada, TCO real removida e a eficiência no RALF 2.

Tabela 15 – TCO Real aplicada, TCO Real removida e eficiência no RALF 2

Fases	TCO Real Aplicada (kg DQO.m^{-3}.d^{-1})	TCO Real Removida (kg DQO.m^{-3}.d^{-1})	Eficiência (%)
F10M10G	24	18,04 ± 1,9	24,81
F25M5G	37	31,86 ± 23	13,89
F50M2G	49	40,71 ± 11	16,92
F75M	57	4,30 ± 3,2	92,46
F100M	71	36,35 ± 42,7	48,80

Fonte: Autora (2013)

Na Tabela 15, os resultados indicam que a maior eficiência no RALF 2 foi de 92,46% na fase F75M e a menor foi de 13,89% na fase F25M5G. A eficiência média no RALF 2 foi de 39%. Já Shida (2008) obteve uma média de 25% de remoção da

taxa de carregamento orgânico. A discrepância entre as eficiências pode ocorrer devido a diferença entre a composição da água residuária (substrato), o TDH utilizado, o pH e outras variáveis que são fundamentais para a produção de hidrogênio.

A Tabela 16 mostra os valores da TCO real aplicada, o rendimento de hidrogênio e a taxa de produção de hidrogênio concomitante em cada fase.

Tabela 16 - TCO real aplicada, rendimento de hidrogênio e produção de hidrogênio no RALF 1

Fases	TCO real aplicada (kg DQO.m^{-3}.d^{-1})	HY (mol H_2.mol glicose^{-1})	HPR (L.h^{-1}.L^{-1})
F10M3G	37,26 ± 3,9	0,14 ± 0,09	0,045 ± 0,0
F40M2G	25,82 ± 18,6	0,55 ± 0,3	0,050 ± 0,01
F50M1G	34,61 ± 9,88	1,11 ± 0,22	0,055 ± 0,0
F50M	20 ± 5,52	0,86 ± 0,31	0,050 ± 0,0
F75M	49,29 ± 0,3	0,42 ± 0,02	0,057 ± 0,0
F75M3h	41 ± 12,3	0,58 ± 0,28	1,69 ± 0,79

Fonte: Autora (2013)

O rendimento de hidrogênio foi baseado na soma dos metabólitos solúveis produzidos (ácidos acético, butírico e propiônico). De acordo com a Tabela 16 o rendimento de hidrogênio sofreu pouca variação com o aumento da TCO. Entretanto, foi observado um aumento significativo no rendimento quando a TCO passou de 25,82 kg DQO.m^{-3}.d^{-1} na fase F40M2G (0,55 mol H_2.mol glicose^{-1}) para 34,61 kg DQO.m^{-3}.d^{-1} na fase F50M1G (1,11 mol H2.mol glicose^{-1}). Porém, esse comportamento não foi observado nas demais fases quando a TCO também aumentou.

A taxa de produção de hidrogênio (HPR) foi medida teoricamente através da razão entre o volume de hidrogênio obtido teoricamente e o volume útil do reator tanto no RALF 1 como no RALF 2, pois, não foi possível detectar a produção de hidrogênio nos reatores através do medidor específico, com exceção da fase F75M3h do RALF 1, onde foi detectado hidrogênio através do medidor.

A Tabela 17 mostra a TCO real aplicada, o rendimento de hidrogênio e a taxa de produção de hidrogênio no RALF 2.

Tabela 17 - TCO real aplicada, rendimento de hidrogênio e produção de hidrogênio no RALF 2

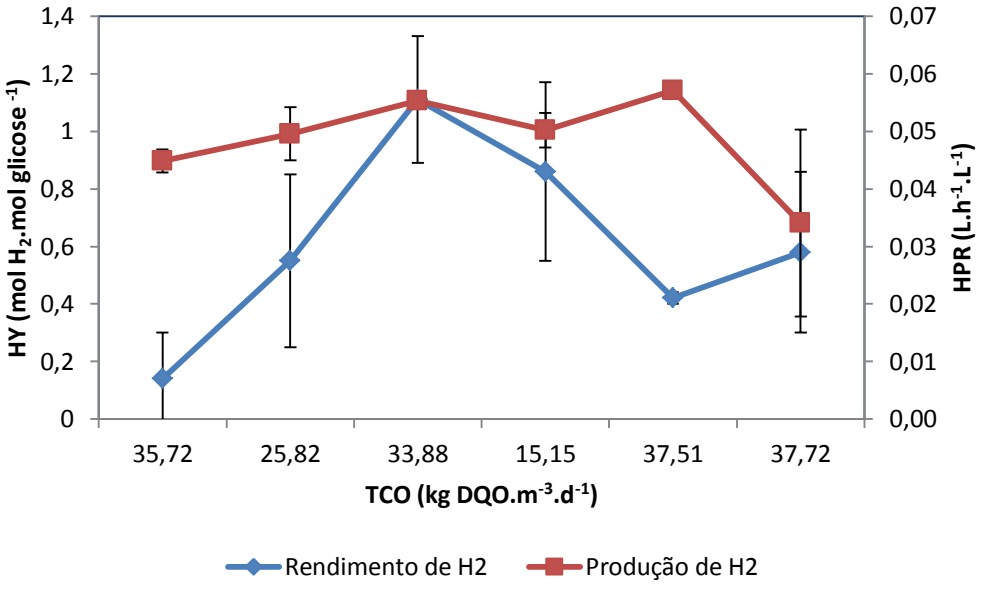
Fases	TCO real aplicada ($kg\ DQO.m^{-3}.d^{-1}$)	HY ($mol\ H_2.mol\ glicose^{-1}$)	HPR ($L.h^{-1}.L^{-1}$)
F10M10G	24 ± 0,0	1,89 ± 0,29	0,099 ± 0,14
F25M5G	37 ± 0,0	0,34 ± 0,03	0,166 ± 0,03
F50M2G	49 ± 0,0	0,76 ± 0,16	0,984 ± 0,32
F100M	71 ± 0,0	2,03 ± 1,30	0,176 ± 0,02

Fonte: Autora (2013)

O comportamento da TCO real aplicada em relação ao rendimento de hidrogênio foi significativo. O rendimento de hidrogênio nas fases F10M10G e F100M apresentaram valores maiores em relação às demais fases mesmo com um valor maior de TCO. Isso pode ter ocorrido pela influência de vários fatores como o TDH constante, a DQO e o pH que se encontraram praticamente estáveis nessas fases. A fase F75M foi excluída da Tabela 17, visto que, essa fase teve um rendimento de hidrogênio pouco significativo.

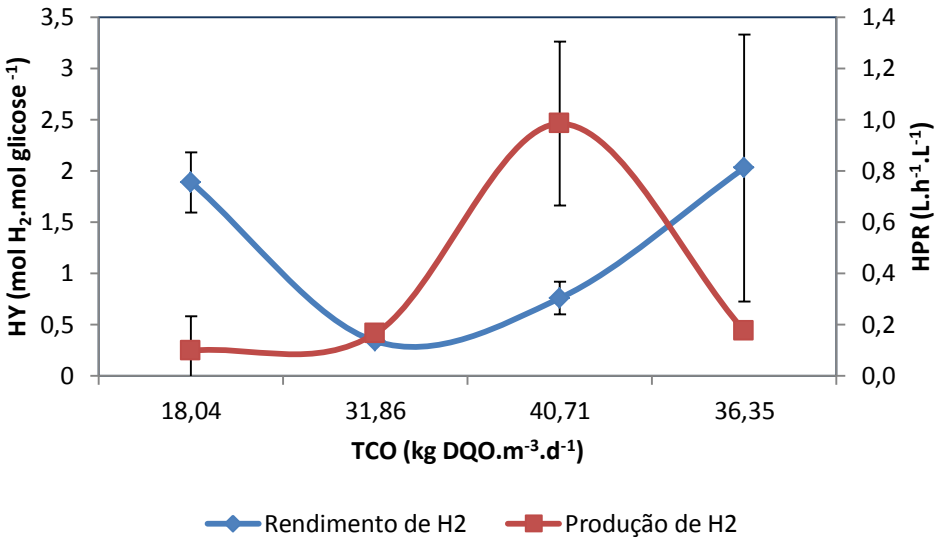
As Figuras 15 e 16 mostram o comportamento entre a TCO real removida, o rendimento de hidrogênio e sua taxa de produção.

Figura 15 – Comportamento da TCO em relação ao rendimento e produção de H_2 no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

Figura 16 – Comportamento da TCO em relação ao rendimento e produção de H_2 no RALF 2



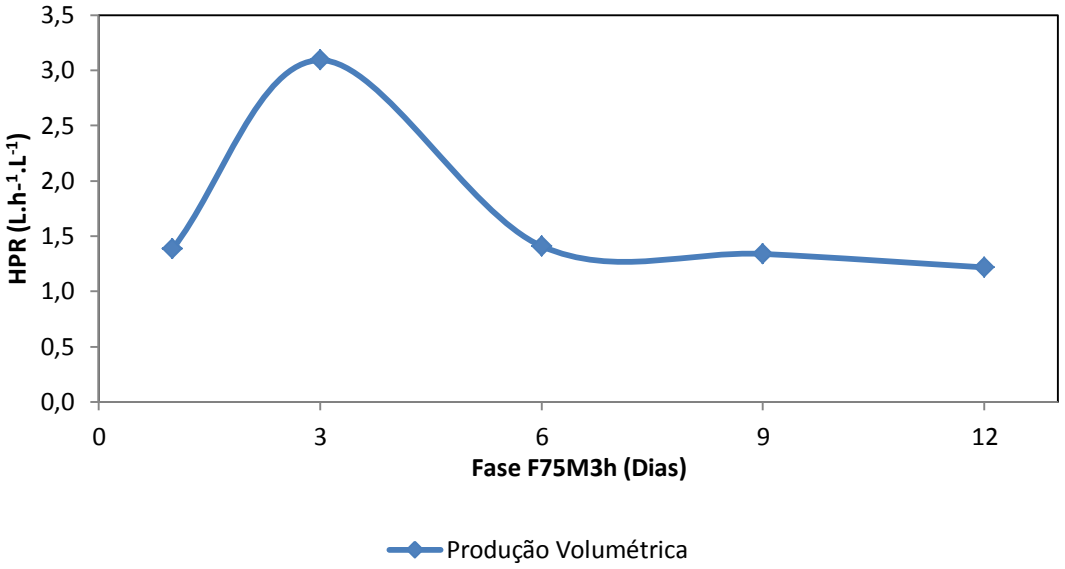
Fonte: Autora (2013)

A TCO apresentou oscilações ao longo das fases, já que a mesma não foi controlada. Isso pode ter interferido na produção e rendimento de hidrogênio, visto que estudos como Van Ginkel e Logan (2005), Amorim *et al.* (2009) e Barros (2009) verificaram o aumento linear da TCO interferindo positivamente no rendimento de hidrogênio. Ren *et al.* (2006) verificaram declínio no rendimento de hidrogênio quando a TCO alcançou os 68,21 $kg.m^{-3}.d^{-1}$ devido ao acúmulo de ácidos orgânicos voláteis no sistema. Porém, todos esses estudos utilizaram substrato sintético para alimentar o sistema, tendo assim um melhor controle sobre a TCO aplicada. Entretanto, a atual pesquisa utilizou substrato real na composição da água residuária, onde foi avaliada a influência das porcentagens da água residuária na produção de hidrogênio, não tendo assim total controle sobre a real carga orgânica aplicada ao sistema, apesar da DQO afluente ter sido medida.

De maneira geral, estudos realizados (REIS, 2010; ZHANG et al., 2007; LIN et al., 2006) tem mostrado que o rendimento de hidrogênio e a taxa de produção de hidrogênio aumenta quando a taxa de carregamento orgânico aumenta, porém, altas TCOs podem acarretar sobrecarga pelo substrato e levar o reator a limitações cinéticas e consequentemente redução do rendimento de hidrogênio.

A Figura 17 mostra a produção volumétrica de hidrogênio detectada no RALF 1.

Figura 17 – Produção volumétrica na fase F75M3h em função dos dias de produção no RALF 1



Fonte: Autora (2013)

De acordo com a Figura 17, a produção volumétrica máxima de hidrogênio foi detectada em meados da fase F75M3h e atingiu o valor máximo de 3,09 $L.h^{-1}.L^{-1}$ durante o experimento. A menor produção de 1,22 $L.h^{-1}.L^{-1}$ ocorreu na mesma fase.

Na fase F75M3h, o TDH foi ajustado para 3h objetivando-se a produção de hidrogênio através da influência da velocidade específica máxima dos microrganismos consumidores de hidrogênio ($u_{máx}$=0,0167 h^{-1}) que apresentam velocidades menores de reprodução que as bactérias acidogênicas ($u_{máx}$=0,083 h^{-1}), favorecendo assim a instabilidade da produção de microrganismos metanogênicos acabando por serem eliminados do reator (CHEN *et al.* 2001). A diminuição do TDH pode ter influenciado positivamente na produção volumétrica de hidrogênio nesta fase. Outro fator que pode ter favorecido a produção de hidrogênio foi a exclusão da adição de esgoto sanitário na composição da água residuária na fase F75M3h.

Os principais constituintes orgânicos do esgoto sanitário são as proteínas, açúcares, óleos e gorduras, microrganismos, sais orgânicos e componentes dos produtos saneantes (VON SPERLING, 1996) e essa composição pode ter interferido negativamente para a produção de hidrogênio, além de possuir baixa concentração de carboidratos e significativo teor de nitrogênio amoniacal, comprometendo a relação carbono nitrogênio e dificultando a reprodução de microrganismos específicos produtores de hidrogênio. A média da produção volumétrica de

hidrogênio durante o experimento foi de 1,69 $L.h^{-1}.L^{-1}$. O rendimento médio foi de 0,61 mol H_2.mol $glicose^{-1}$, no RALF 1.

5.9 Concentração dos Metabólitos Solúveis

Os metabólitos solúveis detectados durante as fases de operação dos RALFs foram os ácidos acético, butírico e propiônico, além do etanol. A Tabela 18 apresenta os metabólitos líquidos produzidos durante a operação do RALF 1.

Tabela 18 - Concentração dos metabólitos líquidos produzidos no RALF 1

Fases	Ác. Acético (mM)	Ác. Butírico (mM)	Ác. Propiônico (mM)	Ác. Capróico (mM)	Etanol (mM)	HAc/HBu
F10M3G	18±0,89	5,5±0,32	13,2±1,12	0,47±0,03	1211±169	3,3±0,46
F40M2G	19±1,96	5,9±0,43	10,9±1,21	0,47±0,02	970±462	3,2±0,11
F50M1G	23±0,67	5,8±0,24	15,1±1,43	0,46±0,08	996±39	4±0,56
F50M	18±0,56	6,4±0,29	11,1±1,08	0,46±0,05	7,35±4	2,9±0,24
F75M	20±0,93	8,3±0,89	11,9±0,95	0,52±0,4	543±50	2,4±0,37
F75M3h	17±0,34	5,1±0,22	11,8±1,68	0,44±0,00	1511±83	3,4±0,08

Fonte: Autora (2013)

A concentração média do etanol no RALF 1 variou entre 337,92 $mg.L^{-1}$ (7,35 mM) na fase F50M, até 72186,17 $mg.L^{-1}$ (1511 mM), na fase F75M3h. No RALF 1, a maior razão HAc/HBu pode ser observada na fase F50M1G (4,02) e a segunda maior ocorreu na fase F75M3h (3,42). Segundo Reis (2010) quanto maior essa relação, maior o rendimento na produção de hidrogênio, tendo em vista que a rota de produção do ácido acético rende quatro moles de hidrogênio ao invés de dois moles gerados pela rota butírica. Coincidentemente, a fase F50M1G obteve o maior rendimento de hidrogênio, tendo a maior relação HAc/HBu.

A Tabela 19 dispõe as concentração dos metabólitos líquidos produzidos no RALF 2.

Tabela 19 - Concentração dos metabólitos líquidos produzidos no RALF 2

Fases	Ác. Acético (mM)	Ác. Butírico (mM)	Ác. Propiônico (mM)	Ác. Capróico (mM)	Etanol (mM)	HAc/HBu
F10M10G	19,55±3,47	5,25±0,27	12,54±0,55	0,48±0,02	1355±73	3,7±0,5
F25M5G	18,72±1,87	5,03±0,21	11,69±0,41	0,46±0,02	1,74±0,41	3,7±0,4
F50M2G	17,39±0,61	5,02±0,17	10,69±0,95	0,47±0,02	1012±15	3,5±0,1
F75M	17,21±1,24	4,46±0,31	9,36±0,89	0,46±0,02	1197±51	3,6±0,3
F100M	18,33±1,34	5,92±1,63	10,52±1,24	0,47±0,01	1340±69	3,2±0,6

Fonte: Autora (2013)

O RALF 2 apresentou concentração média de etanol entre 80,21 $mg.L^{-1}$ (1,74 mM) na fase F25M5G até 64697,91 $mg.L^{-1}$ (1355 mM) na fase F10M10G.

O RALF 2 apresenta maior razão HAc/HBu nas fases F10M10G e F25M5G (3,7), coincidentemente. Porém, o maior rendimento de hidrogênio ocorreu na fase F100M.

O etanol foi o metabólito que predominou em todas as fases de operação dos RALFs 1 e 2 e teve maior concentração na maioria das fases, possivelmente por ser um álcool e estar contido em processos fermentativos.

A presença do etanol em todas as fases de ambos os RALFs pode indicar a possibilidade de produção de hidrogênio através da rota metabólica que produz etanol e hidrogênio ao mesmo tempo, como mostra a Equação 14.

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow C_2H_5OH + CH_3COOH + 2H_2 + 2CO_2 \quad \Delta G = -201\ kJ/mol \quad \text{(Eq.14)}$$

De acordo com a reação de formação do etanol a partir da glicose, a sua produção não influencia nem na geração nem no consumo de hidrogênio. Entretanto, o consumo de substrato para a formação do etanol, talvez interfira na possibilidade de obter maiores rendimentos de produção de hidrogênio, pois ele atua competindo pela disposição dos elétrons positivos presentes (REIS, 2010). A Equação 15 mostra o consumo de substrato na formação do etanol.

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2OH + 2CO_2 \quad \text{(Eq.15)}$$

Outros trabalhos como Wu et al. (2007) e Zhu et al. (2009) tem relatado produções consideráveis de hidrogênio apesar da competição causada pelo etanol,

além disso, diversos outros parâmetros podem estar envolvidos na diversidade e distribuição dos metabólitos formados.

Para o RALF 1, o segundo maior metabólito produzido foi o ácido acético, onde poderia justificar um maior favorecimento da produção de hidrogênio, visto que, sua rota metabólica é a que mais favorece a formação do gás hidrogênio (Equação 16). Porém, o ácido propiônico teve uma produção concomitante a do ácido acético, podendo ter interferido na produção de hidrogênio (Equação 17). A maior concentração média de ácido acético foi obtida na fase F50M1G (23,17 mM), ocorrendo a maior concentração de ácido propiônico também na mesma fase. Para cada mol de ácido propiônico produzido, são consumidos dois moles de hidrogênio, sendo por esta razão, tão indesejada a presença de tal metabólito para a produção de hidrogênio.

O RALF 2, teve um comportamento semelhante ao RALF 1 no que diz respeito ao ácido acético, sendo também a segunda maior produção de metabólito, à produção de ácido propiônico. A média maior de produção de ácido acético foi na fase F10M10G (19,55 mM). Também ocorreu a produção de ácido propiônico na mesma fase (12,54 mM).

O ácido propiônico possui a rota metabólica mais favorecida em relação às demais, já que a energia livre de Gibbs é superior (AMORIM, 2012).

$$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2 \qquad \Delta G = -215{,}69\ kJ/mol \qquad \text{(Eq.16)}$$

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + H_2O \qquad \Delta G = -358\ kJ/mol \qquad \text{(Eq.17)}$$

A concentração de ácido butírico foi inferior a do ácido acético nos dois reatores, porém, não menos importante, pois, de acordo com a rota do ácido butírico, para cada mol de glicose consumido dois moles de hidrogênio são produzidos.

A Tabela 20 apresenta a porcentagem de cada metabólito produzido pelo RALF 1. Para calcular as porcentagens de cada metabólito produzido em relação ao total, o cálculo foi baseado na concentração em mM de cada produto para os dois reatores.

Tabela 20 – Média da porcentagem de cada metabólito produzido na operação do RALF 1

Fases	Ác. Acético (%)	Ác. Butírico (%)	Ác. Propiônico (%)	Ác. Capróico (%)	Etanol (%)
F10M3G	1±0,52	0±0,02	1±0,21	0±0,02	97±0,56
F40M2G	2±1,56	1±0,47	1±0,91	0±0,04	96±2,98
F50M1G	2±0,21	1±0,09	1±0,84	0±0,03	96±0,24
F50M	42±4,89	15±1,98	25±2,56	1±0,08	17±0,43
F75M	3±0,13	1±0,28	2±0,02	0±0,01	93±0,44
F75M3h	1±0,04	0±0,00	1±0,15	0±0,00	98±0,19

Fonte: Autora (2013)

De acordo com a Tabela 20, é possível afirmar que a produção de etanol foi predominante em todas as fases, com exceção da F50M onde teve o predomínio de ácido acético (42%). O etanol variou de 17% na fase F50M a 98% na fase F75M3h, coincidindo com a maior produção volumétrica de hidrogênio nesta última fase, que foi de 3,09 $L.h^{-1}.L^{-1}$. Uma produção significativa de ácido capróico foi identificada apenas na fase F50M (1%).

No RALF 1, verificou-se que na fase F50M houve uma predominância na porcentagem de ácido acético (42%), propiônico (25%), e em seguida de etanol (17%) e ácido butírico (15%). Entretanto, a rota de ácido propiônico possivelmente prevaleceu sobre a rota de ácido acético de acordo com a produção teórica máxima de hidrogênio, consumindo os 4 mol H_2.mol $glicose^{-1}$ através dos 2 mol H_2.mol $glicose^{-1}$ consumidos, restando apenas a produção de hidrogênio pelas rotas do etanol e ácido butírico, respectivamente.

Comportamento semelhante foi identificado no RALF 2 quando na fase F25M5G a contribuição das porcentagens dos ácidos acético (50%) e propiônico (31%) para a produção de hidrogênio possivelmente anularam-se, restando as porcentagens do ácido butírico (13%) e etanol (5%) para a geração de hidrogênio.

A Tabela 21 refere-se à média da porcentagem de cada metabólito produzido na operação do RALF 2.

Tabela 21 – Média da porcentagem de cada metabólito produzido na operação do RALF 2

Fases	Ác. Acético (%)	Ác. Butírico (%)	Ác. Propiônico (%)	Ác. Capróico (%)	Etanol (%)
F10M10G	1±0	0±0	1±0	0±0	97±0,44
F25M5G	50±24	13±4	31±8	1±0	5±0,02
F50M2G	2±0	0±0	1±0	0±0	97±0,63
F75M	1±0,31	0±0	1±0	0±0	97±0,56
F100M	1±0	0±0	1±0	0±0	97±0,17

Fonte: Autora (2013)

No RALF 2, pode-se observar que a produção de etanol foi semelhante a do RALF 1, pois na maioria das fases houve maior porcentagem de etanol, com exceção da fase F25M5G (5%). A porcentagem de ácido capróico foi identificada apenas na fase F25M5G (1%).

Pode-se observar também que nas fases de ambos os reatores a rota de ácido acético também pode ter sido anulada através da produção de ácido propiônico, não havendo, portanto, produção volumétrica de hidrogênio detectada através do medidor de H_2.

Através dos resultados dos metabólitos solúveis foi possível verificar as rotas que prevaleceram sobre a produção e rendimento de hidrogênio, sendo constatado que a rota do etanol foi a principal responsável pela formação do hidrogênio nos reatores anaeróbios de leito fluidificado. Pode-se perceber que vários fatores podem ter influenciado tanto positivamente quanto negativamente a produção de hidrogênio, tais como a variação da TCO, a composição da água residuária, o pH, o tipo de inóculo e seu pré tratamento, temperatura e outros.

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se afirmar que a produção de hidrogênio através da associação entre a manipueira e o esgoto sanitário ocorreu em ambos os reatores, variando de acordo com cada fase.

Pode-se afirmar que a produção volumétrica e o rendimento de hidrogênio foram obtidos através da rota predominante do etanol em ambos os reatores.

No RALF 1, houve produção volumétrica de hidrogênio na fase F75M3h, atingindo o valor máximo de 3,09 $L.h^{-1}.L^{-1}$. A produção mínima ocorreu na mesma fase com 1,22 $L.h^{-1}.L^{-1}$. Enquanto que no RALF 2, não houve produção volumétrica detectável pelo medidor de hidrogênio (abaixo de $1mL.h^{-1}$), tendo sido calculada teoricamente com valor máximo de 0,98 $L.h^{-1}.L^{-1}$ na fase F50M2G.

O maior rendimento de hidrogênio (2,03 mol H_2.mol $glicose^{-1}$) foi obtido no RALF 2 na fase F100M.

A produção e o rendimento de hidrogênio não sofreram uma variação significativa de acordo com a TCO, pois a mesma sofreu variações em ambos os reatores a partir da água residuária utilizada.

Os metabólitos solúveis detectados e quantificados durante a operação dos RALFs foram: ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, ácido capróico e etanol. No RALF 1, a fase com maior porcentagem de metabólitos foi a F50M com 42% de ácido acético, 15% de ácido butírico, 25% de ácido propiônico, com exceção do etanol (17%), tendo sua maior porcentagem (98%) na fase F75M3h. No RALF 2, a maior produção foi detectada na fase F25M5G com 50% de ácido acético, 13% de ácido butírico, 31% de ácido propiônico, exceto etanol (5%) e nas demais fases o etanol foi produzido em 97%.

Diante do que foi exposto, sugestões para futuros trabalhos foram propostas, tais como:

- Verificar o efeito da relação carbono/nitrogênio na produção de hidrogênio em águas residuárias compostas por esgoto sanitário, iniciando o experimento com baixas cargas do mesmo.
- Realizar o acompanhamento microbiológico a cada fase verificando os microrganismos específicos na produção biológica de hidrogênio.
- Verificar a produção de metabólitos solúveis no processo de produção de hidrogênio não identificados no presente estudo e suas respectivas rotas

fermentativas, no que diz respeito à influência desta na produção do referido biogás.

- Utilizar outras fontes de substratos ricas em carboidratos associadas a efluentes de origem animal como suinocultura, ou efluentes industriais como vinhaça, glicerol que são subprodutos da indústria do etanol e biodiesel, bem como água residuária da produção de arroz e outros.

REFERÊNCIAS

AMORIM, E. L. C.; SADER, L. T.; SILVA, E. L. Effect of substrate concentration on Dark Fermentation Hydrogen Production Using an Anaerobic Fluidized Bed Reactor. **Applied Biochemistry *and* Biotechnology**, v. 166, p. 1248–1263, 2012.

_____. **Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito Fluidificado.** 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2009.

_____. **Desempenho de reator anaeróbio de leito fluidificado operado sob condições de aumento progressivo da carga orgânica no tratamento de fenol.** 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

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

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 9648/86: **Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário – Procedimento**. Rio de Janeiro, 1986.

BARROS, A.R., ADORNO, M.A.T., SAKAMOTO, I.K., MAINTINGUER, S.I.,VARESCHE, M.B.A., SILVA, E.L. Performance evaluation and phylogenetic characterization of anaerobic fiuidized bedreactors using ground tire and pet as support materials forbiohydrogen production. **Bioresource Technology**; v. 102, p.3840-7, 2011.

_____., AMORIM, E. L. C., REIS, C. M., SHIDA, G. M., SILVA, E. L. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydaulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 3379-3388, 2010.

BARANA, A. C. **Avaliação de tratamento de manipueira em Biodigestores fase acidogênica e metanogênica.** 2000. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia) –

Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2000.

BARROS, A. R. **Influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado.** 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

BISAILLON, A., TURCOT, J., HALLENBECK, P.C., The effect of nutrient limitation on hydrogen production by batch cultures of Escherichia coli. **International Journal of Hydrogen Energy.** v. 31, p. 1504–1508, 2006.

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

_____. **Efeito da concentração inicial da água residual do processamento da mandioca na produção de biohidrogênio por *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824.** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CASAL (COMPANHIA DE SANEAMENTO DE ALAGOAS). **Esgotamento sanitário**. Disponível em: <http://www.casal.al.gov.br/atuacao/esgotamento-capital/>. Acesso em 18 de março de 2013.

CEREDA, M. P. *et al*. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** São Paulo. Fundação Cargill. 320p., 2001.

CHANG, F. Y. LIN, C. Y.; Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 29, p. 33 – 39, 2004.

CHAGANTI, S.R, KIM, D.H, LALMAN, J.A. Impact of oleic acid on the fermentation ofglucose and xylose mixtures to hydrogen and other byproducts. **Renewable Energy.** v. 42, p. 60-5, 2012.

CHEN, W. H., SUNG, S., CHEN, S. Y. Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. **International Journal of Hydrogen Energy.** v. 34, p. 227-234, 2009.

CHEN C.C., LIN CY. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen producing reactor. **Advances in Environmental Research**. v. 7, p. 695–9, 2003.
CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 57, p. 56–64, 2001.

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.

COLLET, C., ADLER, N., SCHWITZGUEBEL, J.P, PERINGER, P. Hydrogen productionby Clostridium thermolacticumduring continuous fermentation oflactose. **International Journal Hydrogen Energy**; v. 29, p. 1479–85, 2004.
CONAMA (CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE). Resolução N° 430/2011. Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/>. Acesso em: 20 junho, 2013.

CORDEIRO, G. Q. **Tratamento de manipueira em reator anaeróbio compartimentado.** 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas; Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto. 2006.

DAS, D.; VEZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **International Journal Hydrogen Energy**, v. 26, p. 13–28, 2001.

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

FANG, H.H.P.; ZHANG T, LIU, H. Microbial diversity of mesophilic hydrogen producing sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology** ; v.58,p.112–8,2002.

GEBARA, DIB. **Desempenho de um reator anaeróbio de leito fluidizado no tratamento de esgoto sanitário**. Tese (Engenharia Hidráulica e Sanitária) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Ed. Rev. São Paulo, 400 p. 2006.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Banco de dados agregados.** Disponível em: < http://www.sidra.ibge.gov.br/ >. Acesso em: 2 junho de 2013.

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

KHANAL, S.K.; CHEN, W.H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 1123-1131, 2004.

KIM, D.H., HAN, S.K., KIM, S.H., SHIN, H.S. Effect of gas sparging on continuousfermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy,** v.31, p. 2158-2169,2006.

KOTHARI, R.; SINGH, D.P., TYAGI, V.V., TYAGI, S.K. Fermentative hydrogen production – An alternative clean energy source. Renewable and Sustainable **Energy Reviews.** v. 16, p. 2337– 2346, 2012.

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

METCALF; EDDY. **Wastewater Engineering: treatment, disposal, reuse**. 3 ed. New York: McGraw-Hill, p. 1335, 1991.

LABIB, F., FERGUSON, J. F., BENJAMIN, M. M., MERIGH, M., RICKER, N. L. Anaerobic butyrate degradation in fluidized-bed reactor. Effects of increased concentration of H2 and acetate. **Environ. Sci. Technol**., v.26, p.369-76, 1992.

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

LEE, K. S.; WU, J. F.; LO, Y. S.; LO, Y. C.; LIN, P. J.; CHANG, J. S. Anaerobic hydrogen production with an efficient carrier-induced granular sludge bed bioreactor. **Biotechnol Bioeng**., v. 87, p. 648–657, 2004.

LEVIN, D. B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application**. International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 173-185, 2004.

LIN, C-Y.; WU, C-C.; HUNG, C-H. Temperatures effects on fermentative hydrogen production from xylose using mixed anaerobic cultures. **Science Direct**, v. 33, p. 43-50, 2008.

_____. LAY C.H. Carbon/nitrogen ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. **International Journal Hydrogen Energy**, v. 29, p.41–5,2004.

LIN, C.N., WU, S.Y., CHANG, J.S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicon-gelimmobilized anaerobic sludge. **InternationalJournal of Hydrogen Energy**, v. 31, 2006.

LI CL, FANG HHP. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. Critical Reviews in **Environmental Science and Technology.** v. 37, p.01–39,2007.

LUO, G., XIE, L., ZOU, Z., ZHOU, Q., WANG, J.Y. Hydrogen production from anaerobic of fermentation vinhaça of cassava by mixed microflora: Effects of temperature and pH. **Applied Energy**, v. 87, p.3710-3717, 2010.

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

MAINTINGUER, S.I.; FERNANDES, B.S.; DUARTE, I.C.S.; SAAVEDRA, N.C.; ADORNO, M.A.T.; VARESCHE, M.B. Fermentative Hydrogen Production by Microbial Consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4309 - 4317, 2008.

OLIVEIRA, M. A.; REIS, E. M.; NOZAKI, J. Biological Treatment of Wastewater from the Cassava Meal Industry. **Environmental Research Section**. v. 85, p. 177-183, 2001.

OLIVEIRA NETTO, A.P. **Reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo em escala piloto, com recirculação da fase líquida, aplicado ao tratamento de esgoto sanitário.** 195f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2011.

OZTEKIN, R., KAPDAN, I. K., KARGI, F., ARGUN, H. Optimization of media composition for hydrogen gas production from hydrolyzed wheat starch by dark fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 33, p. 4083-4090, 2008.

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

REIS, C. M. **Efeito da velocidade ascensional de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2010.

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

ROJAS, M. D. P. A. **Influência da relação C/N na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo.** Dissertação (Mestrado-Programa de Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2010.

SÁ, L. R. V.; OLIVEIRA, T. C.; MATOS, A.; OLIVEIRA, E. M. M. ; CAMMAROTA, M. C.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos do**

inóculo para produção de H2 por bactérias fermentativas anaeróbias, Rio de janeiro, 2011.

SALERNO, M. B., PARK, W., ZUO, Y., LOGAN, E. B. Inhibition of biohydrogen production by ammonia. **Water Research**. v. 40, p. 1167 – 1172, 2006.

SEDLAK, R. I. **Phosphorus and nitrogen for municipal wasterwater**: Principles and practice. 20 ed. Ed, Lewis Publishers, p. 239, 1991.

SHIDA, G. M. **Produção de Hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fluidificado.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2008.

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

SILVA, J. L. **Desempenho do reator anaeróbio horizontal com chicanas no tratamento da manipueira em fases separadas e estabilização do pH com conchas de sururu.** 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.

STERLING, M.C.J..; LACEY, R.E.; ENGLER, C.R., RICKE, S.C. Effects of ammonia nitrogen on H2 and CH4 production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. **Bioresource Technology**. v. 77, p. 9-18, 2001.

VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodo ativado**: Teoria e aplicações para projetos em operação. Campina Grande-PB. EPGRAF, p.471,1999.

VAN GINKEL, S., SUNG, S., LAY, J.J. Biohydrogen production asa function of pH and substrate concentration. **Environmental Science Technology**;v. 35, p. 4726-4730,2001.

VAN GINKEL, S. LOGAN, B.E. Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p 9351-9356, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243p.

WANG C.C., CHANG C.W., CHU, C.P., LEE, D.J., CHANG B.V., LIAO, C.S. Producing hydrogen from wastewater sludge by Clostridum bifermentans. **Journal Biotechnology** ;v. 102, p. 83–92,2003.

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

WANG, B., WAN, W., WANG, J. Effect of ammonia concentration on fermentative hydrogen production by mixed cultures. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 1211–1213, 2009.

_____; _____. Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 5392–5397, 2008.

WHO – World Health Organization. Hydrogen Cyanide and Cyanides Human Health Aspects. Geneva, 2004. 73p. Disponível em <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad61.pdf>. Acesso em: 15 de julho, 2013.

WOO, J-H, SONG,Y-C. Influence of temperature and duration of heat treatmentused for anaerobic seed sludge on biohydrogen fermentation. **Journal of Civil Engineering**. v. 14, p.141-7, 2010.

WU, K-J.; CHANG, C-F.; CHANG, J-S. Simultaneous production of biohydrogen and bioethanol with fluidized-bed and packed-bed bioreactors containing immobilized anaerobic sludge. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1165-1171, 2007.

ZHANG, T.; LIU, H.; FANG, H. H. P. Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic condition. **Journal of Environmental Management**. v. 69, p. 149–156, 2003.

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

ZHU, J. et al. Swine manure fermentation for hydrogen production. Bioresource Technology, v. 100, p. 5472-5477, 2009.