

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

ELANE CRISTINA LOURENÇO DOS SANTOS

**PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE EFLUENTE DE SUI-
NOCULTURA SUPLEMENTADO COM SACAROSE**

Maceió, AL
2014

ELANE CRISTINA LOURENÇO DOS SANTOS

PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE EFLUENTE DE SUICULTURA SUPLEMENTADO COM SACAROSE

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Recursos Hídricos e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Maceió, AL
2014

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

S237p

Santos, ~~Elane~~ Cristina Lourenço dos.

Produção biológica de hidrogênio a partir de efluente de suinocultura suplementado com sacarose / ~~Elane~~ Cristina Lourenço dos Santos. – 2014.

84 f. : il.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2014.

Bibliografia: f. 78-84.

1. Hidrogênio – Produção. 2. Reator anaeróbico de leito fluidificado. 3. Tratamento biológico de efluentes. 4. Resíduos orgânicos – Suínos – Criação. I. Título.

CDU: 628.35:62-622



**PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE EFLUENTE DA
SUINOCULTURA SUPLEMENTADO COM SACAROSE**

ELANE CRISTINA LOURENÇO DOS SANTOS

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas e aprovada no dia 11 de abril do ano de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim
(PPGRHS /UFAL)
CPF: 039.540.354-56

Prof.ª Dr.ª Nélia Henriques Callado
(PPGRHS/UFAL)
CPF: 396.878.214-34

Prof.ª Dr.ª Ana Maria Queijeiro Lopez
(IQB/UFAL)
CPF: 057.628.118-24

Prof.ª Dr.ª Sália Gavazza dos Santos Pessoa
(UFPE)
CPF: 020.947.954-03

A Deus, por não permitir que eu desistisse quando tudo parecia não ter sentido, por ter me mostrado caminhos difíceis, mas que me levariam ao longe.

Ofereço.

Aos meus pais **Maria José** (*in memória*) e **José Amaro**, pelo amor oferecido, por me acompanharem sempre, mostrando-me meus erros para que eu pudesse crescer, ensinando-me a enfrentar obstáculos por mim, mas apoiando-me e estimulando-me permanentemente.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Alagoas (UFAL)**, pela realização do Curso de pós-graduação.

À **Coordenação do curso de pós-graduação em Recursos Hídricos e Saneamento**, na pessoa do professor Carlos Ruberto, e **a todos os demais professores**, pelos ensinamentos.

Ao **CNPq** (Conselho Nacional de Pesquisa e Tecnologia), pelo financiamento do projeto.

A **Capex**, (Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida.

Ao meu orientador, Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim, por aceitar a orientação, por ter acreditado em mim, por sua dedicação, pela oportunidade do trabalho, por seus ensinamentos profissionais, pela doação e reconhecimento.

Aos amigos do grupo de pesquisa em Hidrogênio, em especial **Pedro Herllyson e Livia Maria**, pelos ensinamentos, paciência e crescimento dentro da vida acadêmica. **Eric Avelino e Tays M. V. Siqueira (aluna de iniciação científica)** pelo apoio durante a realização do trabalho.

Ao **Laboratório de Saneamento Ambiental da UFAL (LSA)**, onde foram desenvolvidas todas as análises.

As técnicas de laboratório **Nadjane e Evelyne**, pelo apoio e ensinamentos.

Aos meus familiares, que apostaram e acreditaram em mim, sonharam comigo e, de uma maneira ou de outra, me deram suporte para não desistir. Em especial, aos meus irmãos, **Edneide, Evaneide e Emerson**, pelo apoio incondicional, que fizeram com que eu não desviasse do meu propósito e que estiveram sempre ao meu lado.

A **José Abelardo da Rocha**, pelo amor, pela paciência, incentivo e companheirismo.

As minhas **amigas Amanda Lys, Kelly Fernanda**, pela cumplicidade e torcida, e **Ana Maria Q. Lopez**, pela força disposição em ajudar em todas as horas e principalmente por ser minha grande incentivadora e responsável por meu ingresso no PPGRHS.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente me deram apoio ao longo desses dois anos.

RESUMO

Existem vários processos utilizados para a produção de hidrogênio, que tendem a consumir uma grande parte da energia que produzem e /ou dependem de consumo de combustíveis fósseis tornando-os ineficientes e prejudiciais ao meio ambiente. A produção biológica de hidrogênio, através da fermentação de matéria orgânica considerada resíduo é uma alternativa promissora, pois se trata de um processo ligado a degradação de matéria orgânica utilizada. Os resíduos orgânicos provenientes da atividade suinícola possuem alta concentração de matéria orgânica e vários podem ser utilizados como substrato para a produção de metano e hidrogênio. O objetivo da pesquisa foi avaliar a produção biológica de hidrogênio a partir de um substrato real, o efluente de suinocultura, suplementado com sacarose como co-substrato utilizando reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF). O material suporte para a aderência da biomassa foi argila expandida com diâmetro entre 2,80 e 3,35 mm. Adotou-se um período de adaptação onde o TDH variou de 8-4h e a suplementação foi de 10 g/L de sacarose. Em seguida se reduziu o TDH para 2h e se iniciou a variação da suplementação de 10 – 0g/L de sacarose. O reator foi operado durante 152 dias. Durante o experimento o pH não foi controlado, o pH efluente variou entre $7,85 \pm 0,22$ a $3,44 \pm 0,19$. Os resultados mostraram que na fase do TDH de 2h com 6g/L de sacarose ocorreu o rendimento máximo de hidrogênio ($HY_{m\acute{a}x.}$) de $4,90 \text{ molH}_2 \cdot \text{mol sacarose}^{-1}$ e a produção volumétrica máxima ($HPR_{m\acute{a}x.}$) de $1,62 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$. Os metabólitos solúveis produzidos durante a operação do RALF foram ácido acético (9,93 a 36,87 %), ácido butírico (1,92 a 52,70 %), ácido propiônico (6,63 a 29,11%), ácido caprótico (0,14 a 13,36%) e etanol (10,31 a 67,88%), sendo que o etanol foi o metabólito presente em maiores concentrações até o TDH 2h/6g. Os dados evidenciaram a necessidade da adição de uma fonte de carbono para uma melhor eficiência na produção biológica de hidrogênio ao utilizar efluente da suinocultura como substrato.

Palavra Chave: Hidrogênio, Reator anaeróbio de leito fluidificado, Efluente da suinocultura.

ABSTRACT

There are several processes used to produce hydrogen, which tend to consume a great part of the energy they produce and/or depend on fossil fuel consumption making them inefficient and harmful to the environment. Biological hydrogen production by fermentation of organic matter residue is considered a promising alternative because it is a process linked to the degradation of organic matter used. The organic waste from pig activity have high concentration of organic matter and can be used as a substrate for the production of methane and hydrogen. The research objective was to evaluate the biological production of hydrogen from a real substrate, the effluent from swine supplemented with sucrose as co - substrate using anaerobic fluidized bed reactor (AFBR). The support material for the biomass adhesion was expanded with a diameter between 2.80 and 3.35 mm clay. We adopted an adjustment period where the TDH 8-4h varied between and supplementation was 10 g/L sucrose. By reducing the TDH for 2h, began variation of supplementation 10-0g/L sucrose. The reactor was operated for 152 days. During the experiment the pH was not controlled, the pH effluent ranged from 7.85 ± 0.22 to 3.44 ± 0.19 . The results showed that the HRT during 2 hours with 6g / L sucrose maximum yield of hydrogen ($HY_{\text{m\acute{a}x.}$) 4.90 molH₂.mol sucrose and maximum volumetric production ($HPR_{\text{m\acute{a}x.}$) of 1.62 h⁻¹ occurred . 1.The L- soluble metabolites produced during operation Ralf were acetic acid (from 9.93 to 36.87 %) , butyric acid (1.92 to 52.70 %) , propionic acid (6.63 to 29.11 %) , caproic acid (0.14 to 13.36 %) and ethanol (10.31 to 67.88 %) , and ethanol was present in higher concentrations metabolite by the TDH 2h/6g . The data showed the need for adding a source of carbon for better efficiency in biological hydrogen production by using swine effluent as substrate.

Keyword: Hydrogen, anaerobic fluidized bed reactor, effluent from swine.

SÚMARIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE QUADROS	vii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	viii
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Bioenergia	19
3.2 Hidrogênio	20
3.3 Produção Biológica de Hidrogênio	21
3.3.1 Biofotólise:	21
3.3.2 Fotodecomposição	22
3.3.3 Fermentação	22
3.3.4 Enzimas Catalisadoras e suas Respectivas Reações no Processo de Fermentação	25
3.4 Rotas Fermentativas	26
3.5 Fatores que Influenciam a Produção de Hidrogênio	27
3.5.1 Fontes de Carbono	27
3.5.2 Produção Biológica de Hidrogênio utilizando reatores alimentados com sacarose	29
3.5.3 Microrganismos Envolvidos na Produção Biológica de Hidrogênio	30
3.5.4 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF)	31
3.5.5 Material Suporte	33
3.5.6 Produção Biológica de Hidrogênio a partir de Resíduos Agroindustriais	34
3.6 Atividade Suinícola	36
3.6.1 Atividade suinícola em Alagoas	38
3.6.2 Produção dos Dejetos de Suíno	38

3.6.3	Características Físico-químicas dos Dejetos de Suínos	40
3.7	Produção de Hidrogênio Utilizando como Substrato Resíduo da Suinocultura	41
3.8	Considerações Finais	44
4	METODOLOGIA	45
4.1	Água Residuária – Efluente de Suinocultura suplementado com sacarose (açúcar comercial)	45
4.2	Material Suporte	47
4.3	Reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF)	48
4.4	Operação do RALF	50
4.5	Análises Físico-Químicas	51
4.5.1	Hidrogênio	52
4.5.2	Determinação dos Ácidos Orgânicos Voláteis e Álcoois	53
4.5.3	Carboidratos	54
4.6	Cálculo dos Principais Parâmetros	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1	Caracterização do Efluente da Suinocultura Bruto	56
5.2	Produção de Hidrogênio	57
5.2.1	Determinação da Concentração de Carboidratos	59
5.2.2	DQO	61
5.2.3	Avaliação da Produção de Hidrogênio	63
5.2.4	Efeito da Concentração da Suplementação na Produção de Hidrogênio	65
5.3	Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos	68
5.4	Composição do Biogás	73
6	CONCLUSÕES	75
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 01-	Esquema do processo da digestão anaeróbia	24
Figura 02-	Estrutura molecular da sacarose	30
Figura 03-	Granja de criação de suíno situada no município de Viçosa-AL	45
Figura 04-	Coleta de efluente da suinocultura no município de Viçosa-AL	46
Figura 05-	Argila expandida para utilização como material suporte (a) sem tratamento e (b) com tratamento para a imobilização da biomassa	48
Figura 06-	Esquema da instalação do reator anaeróbio de leito fluidificado	49
Figura 07-	Reator Anaeróbio de Leito fluidificado.	49
Figura 08-	Medidor MilliGas-counter do fabricante Ritter	53
Figura 09-	Variação do pH em função das fases experimental	58
Figura 10-	Variação da concentração de carboidratos total afluente e efluente, e a eficiência da taxa de redução em função do TDH	60
Figura 11-	Variação de DQO afluente, efluente e a eficiência de conversão	62
Figura 12-	Rendimento da produção de hidrogênio (HY) em função da TCO aplicada no reator anaeróbio de leito fluidificado	65
Figura 13-	Produção volumétrica de hidrogênio (HPR) em função da suplementação e TDH	66
Figura 14-	Rendimento de hidrogênio (HY) em função da suplementação e do TDH	67
Figura 15-	Metabólitos solúveis orgânicos produzidos durante a operação do RALF em função do TDH, da suplementação e da TCO aplicada.	70
Figura 16-	Composição de H ₂ e CO ₂ gerado no biogás produzido no RALF em função da fase experimental	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 01-	Vantagens e desvantagens dos processos de produção biológica de hidrogênio	25
Tabela 02-	Estudos anteriores que avaliaram o uso de diferentes substratos na produção de hidrogênio	28
Tabela 03-	Bactérias fermentativas utilizadas na produção de gás hidrogênio	30
Tabela 04-	Produção de hidrogênio em processos biológicos por bactérias fermentativas	31
Tabela 05-	Caracterização do efluente de suinocultura	41
Tabela 06-	Estudos anteriores que avaliaram o uso do resíduo da suinocultura como substrato na produção de hidrogênio	43
Tabela 07-	Composição da água residuária suplementada utilizada na operação do reator	46
Tabela 08-	Características físico-químicas do efluente da suinocultura a 8% (v/v)	47
Tabela 09-	Características físicas da argila expandida (ciaanista)	47
Tabela 10-	Vazão, TDH e suplementação adotada em cada fase experimental do reator.	50
Tabela 11-	Análises físico-química	52
Tabela 12-	pH afluente médio e pH efluente médio em função do TDH	58
Tabela 13-	Carboidrato total médio afluente e efluente; Eficiência de conversão.	60
Tabela 14-	DQO média afluente e efluente; Eficiência de conversão.	62
Tabela 15-	Valores de produção de hidrogênio utilizando diferente taxas de carregamento orgânico e TDH, levando em consideração a produção de hidrogênio máxima de 8 mol H ₂ /mol sacarose adicionada	64
Tabela 16-	Produção Volumétrica (HPR), Rendimento de Hidrogênio (HY) e Eficiência de conversão em função do TDH e da Suplementação.	68
Tabela 17-	Metabólitos solúveis orgânicos produzidos durante a operação do RALF em função do TDH e da suplementação	69
Tabela 18-	Porcentagem de cada metabólito produzido durante a operação do RALF.	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 01-	Exigências de água por suíno, de acordo com a fase do ciclo produtivo	39
Quadro 02-	Produção média diária de dejetos nas diferentes fases produtivas dos suínos	40

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

AFLU	Afluente	
APHA	American Public Health Association	
AVT	Ácidoa Voláteis Total	
CTEC	Centro de Tecnologia	
CO₂		
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio	mg.L ⁻¹
DQO	Demanda Química de Oxigênio	mg.L ⁻¹
EFLU	Efluente	
EtOH	Etanol	
H₂	Hidrogênio	
HAc	Ácido Acético	
HBu	Ácido Butírico	
HPr	Ácido Propiônico	
HPR	Produção Volumétrica de Hidrogênio	L.h ⁻¹ .L ⁻¹
HY	Rendimento de Hidrogênio	mol H ₂ .mol glicose ⁻¹
PET	Politereftalato de etileno	
pH	Potencial Hidrogeniônico	
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado	
SMP	Metabólitos Totais Produzidos	mM
SST	Sólidos Suspensos Totais	mg.L ⁻¹
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis	mg.L ⁻¹
ST	Sólidos Totais	mg.L ⁻¹
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico	kg.m ⁻³ .d ⁻¹
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica	h
UFAL	Universidade Federal de Alagoas	
Vmf	Velocidade Mínima de Fluidificação	cm.s ⁻¹

1. INTRODUÇÃO

A industrialização e o rápido crescimento demográfico vêm contribuindo com o aumento significativo dos problemas ambientais, principalmente no que diz respeito à utilização de energia e geração de resíduos, sendo os processos industriais um dos maiores geradores de produtos e resíduos indesejáveis, os quais possuem potencial para produzir energia limpa.

Segundo a Agência Internacional de Energia (IEA, 2008), até 2030 ocorrerá um acréscimo no consumo de energia da ordem de 60%, e isso poderá causar problemas de ordem ambiental, relacionados à escassez de recursos energéticos fósseis e ao aquecimento global. Decorrente desta problemática surge necessidade de encontrar soluções na utilização e formas de produção de fontes alternativas de energia, principalmente as fontes renováveis de energia.

Atualmente os combustíveis fósseis são a principal fonte de energia (cerca de 80% da energia mundial). A utilização desse combustível também vem ocasionando mudanças do clima global, devido à emissão de poluentes (DAS & VEZIROGLU, 2001). Por esta razão, a comunidade científica tem expressado grande interesse em pesquisas acerca de fontes renováveis de energia e tem dado atenção especial à produção e utilização de hidrogênio (H_2), pois esse gás pode ser produzido a partir de combustíveis fósseis, da água e de biomassa. Contudo, para que essa tecnologia seja sustentável, a sua produção deve ser realizada a partir de fontes renováveis.

No Brasil é tradição o uso de fontes renováveis de energia, onde a energia hidrelétrica se destaca, sendo seu uso responsável pela maior parcela (80%) de toda geração de eletricidade. Por sua vez o etanol, produto proveniente da cana-de-açúcar, o qual é utilizado como mistura na gasolina ou puro, também se destaca no mercado de energia brasileiro. Por outro lado, existe ainda com pouco aproveitamento, um enorme potencial de fontes renováveis de energia, destacando-se entre elas a energia solar, eólica e biomassa sendo essa última definida como toda matéria orgânica animal ou vegetal (TREVISSAN, 2009).

Em termos energéticos, a utilização de gás hidrogênio apresenta vantagens sobre a utilização dos combustíveis fósseis convencionais como: a combustão do hidrogênio com o oxigênio produz somente vapor de água.

Para Junginger *et al.* (2006), a biomassa é uma fonte promissora de energia renovável, a qual inclui as plantas, algas, lodos, resíduos rurais e pecuários e esgotos domésticos, os quais têm o potencial de substituir ou complementar os combustíveis fósseis.

O hidrogênio é uma fonte complementar de energia muito promissora e tem recebido mais atenção em todo o mundo nos últimos anos. O hidrogênio pode ser produzido por meio

de métodos físico-químicos e biológicos. Existem vários processos para a produção de hidrogênio, mas os métodos biológicos são conhecidos por usar menos energia intensiva para que possa ser produzido a temperatura e pressão ambientes (KRAEMER & BAGLEY, 2007; NISHIO & NAKASHIMADA, 2004).

Dentre os resíduos agroindustriais, o de suinocultura é rico em matéria orgânica, sendo potencial substrato para a produção de metano e hidrogênio. Atualmente o Brasil é considerado o 4º maior produtor de carne suína, perdendo apenas para a China, União Européia e Estados Unidos e também o 4º exportador mundial, ficando atrás da União Européia, Estados Unidos e Canadá. (ABIPECES, 2006).

Segundo estudos realizados pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Fiesp) em parceria com o Instituto de Estudos do Comércio e Negociações Internacionais (Icone) a produção brasileira de carne suína tende a crescer em torno de 22% nos próximos dez anos. Em 2022, a suinocultura brasileira vai produzir 4,1 milhões de toneladas de carne suína. Desse total, 3,4 milhões de toneladas serão consumidas no mercado interno, cujo consumo deve saltar para 15,7 quilos por habitante ao ano e 700 mil toneladas serão direcionadas ao mercado internacional (www.asemg.com.br/novo/noticias/carne-suina-producao-brasileira).

O Brasil apresenta potencial para elevar cada vez mais sua produção de suínos, pois tem um clima favorável (tropical), mão de obra de baixo custo, facilidade para manejo e tratamento de dejetos, pelas grandes dimensões territoriais e topografia. Em se tratando da suinocultura, verifica-se que ela passou por profundas alterações tecnológicas nas últimas décadas, visando principalmente o aumento de produtividade e redução dos custos de produção.

As águas residuárias de suinocultura provocam impactos ambientais acentuados em várias regiões no Brasil e em outros países. O seu tratamento requer uma alternativa tecnológica simplificada, robusta, versátil e de baixo custo, características que têm sido verificadas com a aplicação de biodigestores e reatores de biomassa imobilizada. A adoção de sistemas confinados de produção de suínos, com uso intensivo de água para higienização, tem produzido grandes quantidades de dejetos líquidos e semissólidos. A inadequação dos sistemas de manejo e armazenamento destes dejetos induz o seu lançamento em cursos d'água sem tratamento, causando graves problemas de poluição, no Brasil e outros países, em virtude das altas concentrações de sólidos suspensos, matéria orgânica, nutrientes e patógenos.

O estado de Alagoas é carente em aproveitamentos de geração de energia descentralizada, dependendo fortemente das linhas de transmissão para levar energia aos diferentes pon-

tos longínquos do estado. Seria uma oportunidade para o estado desenvolver uma metodologia para geração de energia limpa e renovável, que é um grande tema de interesse social.

Visando contribuir com a geração de energia limpa, o presente trabalho buscou verificar a eficiência da produção de hidrogênio a partir do efluente da suinocultura suplementado com sacarose, utilizando um reator anaeróbio de leito fluidificado, o qual foi submetido à variação de TDH e da concentração do co-substrato (sacarose).

A presente pesquisa fez parte do projeto “Produção biológica de hidrogênio a partir de resíduo da suinocultura gerado no Estado de Alagoas”, desenvolvido na universidade Federal de Alagoas (UFAL), no Centro de Tecnologia (CTEC), financiado pelo CNPq.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficiência da produção de hidrogênio, em reator anaeróbio de leito fluidificado, a partir de resíduos da suinocultura, suplementado com sacarose.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Caracterização do resíduo da suinocultura, para definição das condições operacionais para otimização da produção biológica de hidrogênio;
- ❖ Avaliação do desempenho do reator anaeróbio de leito fluidificado para a produção de hidrogênio a partir de resíduo da suinocultura;
- ❖ Avaliação da influencia e da dosagem da sacarose como co-substrato produção de hidrogênio;
- ❖ Análise da composição dos metabólitos solúveis produzidos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Bioenergia

Segundo Badkoubi *et al.* (2004) a industrialização e o rápido crescimento demográfico vêm contribuindo com o aumento significativo dos problemas ambientais, principalmente no que se diz respeito à utilização de energia e geração de resíduo, sendo os processos industriais um dos maiores geradores de produtos e resíduos indesejáveis, os quais possuem potencial para produzir energia limpa.

Atualmente os combustíveis fósseis são a principal fonte de energia (cerca de 80% da energia mundial), o que acabará por levar ao esgotamento desse recurso energético. A utilização desse combustível também vem ocasionando mudanças do clima global, devido à emissão de poluentes como CO₂; NO₂; fuligem, C₂H₂, cinzas, gotas de alcatrão e outros (DAS & VEZIROGLU, 2001). A comunidade internacional tem expressado grande interesse em pesquisas acerca de fontes renováveis de energia e tem dado atenção especial à produção e utilização de hidrogênio (H₂), pois esse gás pode ser produzido a partir de combustíveis fósseis, da água e de biomassa. Contudo, para que essa tecnologia seja sustentável, a sua produção deve ser realizada a partir de fontes renováveis.

No Brasil é tradição o uso de fontes renováveis de energia, onde a energia hidrelétrica se destaca sendo seu uso responsável pela maior parcela, (80%), de toda geração de eletricidade. Por sua vez, o etanol produto proveniente da cana de açúcar, o qual é utilizado como mistura na gasolina ou puro, vem aparecendo em segundo lugar. Por outro lado, existe ainda com pouco aproveitamento, um enorme potencial de fontes renováveis de energia, destacando-se entre elas a energia solar, eólica e biomassa sendo essa última definida como toda matéria orgânica animal ou vegetal (TREVISSAN, 2009).

Para Junginger *et al.* (2006), a biomassa é uma fonte promissora de energia renovável, a qual inclui as plantas, algas, lodos, resíduos rurais e pecuários, esgotos domésticos, os quais têm o potencial de substituir os combustíveis fósseis.

Os resíduos rurais incluem todos, os quais são gerados através de atividades produtivas nas zonas rurais, são eles: resíduos agrícolas, florestais e pecuários. O resíduo da pecuária é constituído por esterco e outros produtos, os quais são resultados das atividades biológicas do gado bovino, suíno, caprino e outros, sendo sempre levada em consideração a sua relevân-

cia local, a qual justifica o seu aproveitamento energético. Esses resíduos são importante matéria prima para a produção de biogás, realizada pela digestão anaeróbia. (SOUZA *et al.* 2005)

O biogás, nada mais é que um combustível gasoso, que apresenta um conteúdo energético elevado, o qual se assemelha ao gás natural, o mesmo pode ser utilizado para a geração de energia elétrica, térmica ou mecânica em uma propriedade rural, podendo contribuir para a redução de custos de produção. (CHYNOWET, 1996).

Ao utilizarmos mecanismos biológicos apropriados podemos obter o hidrogênio como produto da digestão anaeróbia da biomassa, sendo a maior vantagem de obtenção dessa energia proveniente do hidrogênio o fato da mesma não emitir poluentes com sua combustão ou utilização em células combustíveis. (DAVILA- VAZQUEZ *et al.* 2008)

3.2 Hidrogênio

O Hidrogênio (H_2) é um combustível altamente energético e limpo, desde a sua utilização, pois produz apenas H_2O , em vez de CO_2 e outros gases, os quais são gerados durante a combustão de combustível fóssil (YASMIN *et al.* 2000).

O hidrogênio é uma fonte complementar muito promissora, como fonte de energia e tem recebido mais atenção em todo o mundo nos últimos anos. O H_2 pode ser produzido por meio de métodos físico-químicos e biológicos. Dentre todos os métodos de produção de hidrogênio, o método biológico vem se destacando por apresentar menos gastos de energia, para que possa ser realizado, bem como o uso de temperatura ambiente, sendo economicamente mais viável especialmente se é H_2 produzido por fermentação de matéria orgânica, tais como resíduos renováveis agroindustriais, que contêm carboidratos (WANG *et al.* 2009).

O hidrogênio pode ser facilmente utilizado em células combustível, pois se trata de um combustível limpo e sem emissão de CO_2 , além do ter um rendimento elevado de energia cerca de 122 kJ/g, o que significa que o mesmo é 2,75 vezes maior do que os combustíveis derivados de hidrocarbonetos. O hidrogênio não é só utilizado como uma fonte complementar de energia, mas também como matéria-prima para a produção de produtos químicos, hidrogenação de óleos e gorduras em alimentos, para a produção dos dispositivos eletrônicos da indústria, no processamento de aço, na dessulfurização e na reformulação da gasolina nas refinarias (KAPDAN *et al.* 2006).

3.3 Produção Biológica de Hidrogênio

Ao mesmo tempo em que a busca por energia renovável vem aumentando reservas de combustíveis fósseis vem diminuindo drasticamente. Muitas pesquisas estão voltadas para a produção de energia sustentável.

O principal problema na utilização de gás de hidrogênio como combustível é a sua inviabilidade na natureza, bem como a necessidade de uma produção de baixo custo. Devido à crescente necessidade de energia de hidrogênio, o desenvolvimento da produção de hidrogênio, o custo-eficaz e eficiência das tecnologias ganharam atenção significativa nos últimos anos (KAPDAN *et al.* 2006).

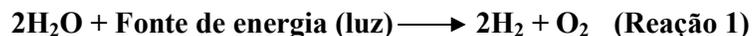
Para Peixoto (2008), a produção biológica de hidrogênio vem tendo destaque, pois consiste em uma alternativa menos agressiva ao ambiente, por utilizar matérias-primas renováveis no processo, as quais lhe conferem a vantagem de se realizar independentemente da disponibilidade de combustíveis fósseis que, quando são empregados, os mesmos contribuem para o aumento da concentração de gases do efeito estufa, devido à combustão.

A produção biológica de hidrogênio pode ocorrer de várias formas, por meio de biofotólise de água (algas verdes e cianobactérias), fotodecomposição de compostos orgânicos (bactérias fotossintetizantes) e fermentação de compostos orgânicos (bactérias fermentativas) (DAS & VERZIROGLU, 2001).

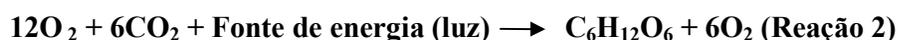
3.3.1 Biofotólise:

Barros (2009) destaca que a biofotólise da água consiste na conversão da energia solar para energia química armazenada, onde a água sofre decomposição através da ação da luz resultando na produção de hidrogênio, a mesma pode ser de forma direta ou indireta.

Biofotólise direta: É um método semelhante ao encontrado em plantas e processos de fotossíntese através de algas. No processo, a energia solar é diretamente convertida a hidrogênio através de reações fotossintéticas (Reação 1). O processo é considerado atrativo, pois a energia solar é utilizada para converter um substrato prontamente disponível, a água, para oxigênio e hidrogênio, mas depende de condições especiais, para que a produção de hidrogênio possa ser realizada, uma vez que a atividade da Fe-hidrogenase é extremamente sensível ao oxigênio (AMORIM, 2009).



Biofotólise indireta: O hidrogênio é produzido por cianobactérias unicelulares. O processo envolve a separação das reações de evolução do H_2 e O_2 em fases distintas, acoplado através da fixação/evolução do CO_2 . As cianobactérias utilizam o CO_2 do ar, como fonte de carbono, e a luz solar, como fonte de energia, onde as células utilizam primeiramente o CO_2 para produzir substâncias celulares Reação 2, as quais são posteriormente utilizadas para a produção de hidrogênio Reação 3 (AMORIM, 2009).



3.3.2 Fotodecomposição:

Das & Veziroglu (2001), relata que na fotodecomposição a produção de hidrogênio é feita na presença constante de luz, através de bactérias fotossintetizantes que têm capacidade de converter completamente a glicose a gás carbônico e hidrogênio (Reação 4). Essas bactérias vêm sendo consideradas em diversos estudos como o sistema microbiano promissor para a produção biológica de hidrogênio.

A vantagem desse processo, dentre muitos são os altos rendimentos de conversão teórica e capacidade de usar compostos orgânicos derivado de resíduos como substrato. (DAS E VEZIROGLU, 2001).



3.3.3 Fermentação:

O processo de digestão anaeróbia é considerado como de duas fases Acidogênese e Metanogênese, mas este pode ser subdividido em cinco fases principais:

- Hidrólise,
- Acidogênese,
- Acetogênese,

- Metanogênese e,
- Sulfetogênese.

Hidrólise: É a primeira fase do processo de digestão anaeróbia, consiste na hidrólise de materiais particulados complexos (polímeros), em materiais dissolvidos mais simples (moléculas menores), os quais podem atravessar as paredes celulares das bactérias fermentativas (CHERNICHARO, 1997).

Acidogênese: É a etapa fermentativa da digestão anaeróbia de resíduos e é o processo no qual o hidrogênio é produzido. Nessa etapa os microrganismos acidogênicos decompõem a matéria orgânica em hidrogênio, gás carbônico e ácidos graxos voláteis de cadeia curta (LEITE *et al.* 2008).

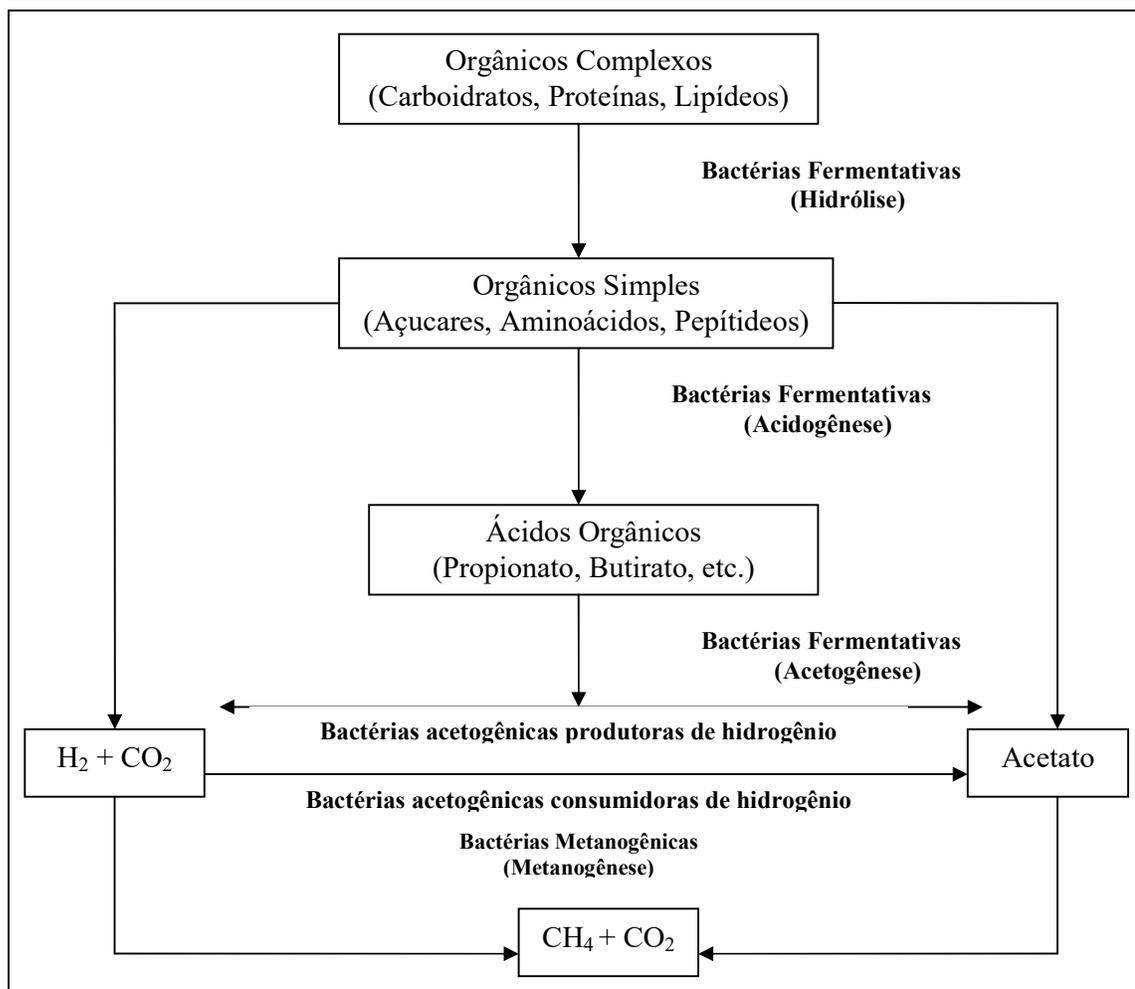
Acetogênese: bactérias fermentativas são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica em substratos apropriados para as arqueias metanogênica. Os produtos gerados pelas arqueias acetogênicas são o hidrogênio, dióxido de carbono e o acetato (CHERNICHARO, 1997).

Metanogênese: É a etapa final no processo global de degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono é efetuado pelas arqueias metanogênica. As arqueias metanogênica utilizam um limitado número de substrato, compreendendo ácido acético, hidrogênio/dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono (CHERNICHARO, 1997).

Sulfetogênese: É um processo no qual o sulfato e outros compostos a base de enxofre são utilizados como aceptores de elétrons durante a oxidação de compostos orgânicos. Durante esse processo sulfato, sulfito e outros compostos sulfurados são reduzidos a sulfeto através de um grupo de bactérias anaeróbias estritas, denominadas bactérias redutoras de sulfato. Essas bactérias utilizam uma ampla gama de substratos, incluindo toda a cadeia de ácido graxo voláteis, diversos ácidos aromáticos, hidrogênio, metano, entre outros (CHERNICHARO, 1997).

Contudo o processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em duas grandes etapas, a acidogênica e metanogênica. Sendo que, a produção de hidrogênio só poderá ser realizada se o processo for interrompido na primeira etapa, pois nesta etapa o hidrogênio é produzido e na segunda é consumido para favorecer a geração de gás metano, conforme mostra a Figura 1.

Figura 1. Esquema do processo da digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado, de Chernicharo(1997).

A produção biológica por fermentação de hidrogênio apresenta algumas vantagens em relação à fotodecomposição, como maior velocidade na produção de hidrogênio pelas bactérias fermentativas, a dispensabilidade de luminosidade e em alguns casos os microrganismos já se encontram condicionados para a geração de hidrogênio (LAY *et al.* 1999).

As vantagens e desvantagens dos processos de produção biológica de hidrogênio podem ser vista na tabela 1.

Tabela 1. Vantagens e desvantagens dos processos de produção biológica de hidrogênio.

Processo	Tipo de microrganismos	Vantagens	Desvantagens
Biofotólise direta	Alga verde	Produz H ₂ a partir de água e luz solar; Maior conversão de energia solar em comparação com árvores, culturas.	Requer alta intensidade de luz; O ₂ pode ser perigoso para o sistema.
Biofotólise indireta	Cianobactérias	Produz H ₂ a partir de água; Tem capacidade de fixar N ₂ da atmosfera	Baixa eficiência fitoquímica; O ₂ tem efeito inibitório sobre a nitrogenase.
Fotofermentação	Bactéria fotossintética	Um grande espectro de luz (energia) pode ser utilizado por estas bactérias; Pode utilizar diferentes substratos.	Eficiência de conversão é muito baixa entre 1-5%; O ₂ é um forte inibidor de nitrogenase.
Fermentação (sem luz)	Bactéria fermentativa	Pode produzir H ₂ o dia inteiro sem luz; Uma variedade de fonte de carbono pode ser utilizada como substratos; Produz metabólitos com valor agregado, tais como ácidos butírico, láctico e acético.	Relativamente mais baixos rendimentos de H ₂ são alcançados; Produto contém mistura de CO ₂ , que tem que ser separados.

Fonte: AMORIM (2009).

3.3.4 Enzimas Catalisadoras e suas Respectivas Reações no Processo de Fermentação

O processo de produção biológica de hidrogênio é totalmente dependente da presença de enzimas produtoras de hidrogênio. As enzimas têm o poder de catalisar a seguinte reação química $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftarrow \text{H}_2$ (Hydrogenase) e $\text{N}_2 + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- \leftarrow 2\text{NH}_3 + \text{H}_2$ (Nitrogenase). Existem três enzimas responsáveis pela realização dessa reação catalisadora são elas: A nitrogenase, a Fe-hydrogenase e a NiFe-hydrogenase (HALLENBECK & BENEMANN, 2002). Sendo que, essas enzimas são utilizadas em processos distintos da produção biológica de hidrogênio.

Na produção biológica de hidrogênio por fermentação, o H₂ é liberado pela ação de hidrogenases como meio de eliminar o excesso de elétrons gerados durante a degradação de hidratos de carbono.

Nesse trabalho o processo de produção biológica de hidrogênio escolhido foi o de fermentação de hidrogênio, pois emprega tecnologia simples, de baixo custo quando comparado aos demais processos biológicos.

3.4 Rotas Fermentativas

A produção biológica de hidrogênio ocorre através de rotas fermentativas e depende das condições operacionais do reator. Segundo Reis (2010) o processo de digestão anaeróbia é um conjunto de reações, as quais ocorrem simultaneamente através de uma comunidade microbiana. O processo de digestão anaeróbia pode ser resumido em três fases: a hidrólise, a acidogênese e a metanogênese. Sendo que, na fase acidogênica ocorre a geração de hidrogênio, por isso o processo de digestão anaeróbio deve ser interrompido nessa fase para que não ocorra o consumo de hidrogênio, o qual é produzido nas etapas anteriores.

Das & Veziroglu (2001) relata em seu trabalho que o ácido acético e o ácido butírico são os principais produtos resultantes do processo de fermentação, com um rendimento de 8 mol e 4 mol H₂. mol de sacarose⁻¹, respectivamente. Sendo que existem outros produtos intermediários como, ácido propiônico, ácido isobutírico e ácido capríco.

A conversão da sacarose em ácido acético e butírico podem ser observadas nas rotas metabólicas das reações 5 e 6.



No processo de fermentação da sacarose pode ocorrer a rota de produção do etanol, conforme pode ser visto na reação 7, a qual não ocorre produção de hidrogênio, e a rota do etanol, a qual ocorre com produção tanto de etanol como de hidrogênio (reação 8), com rendimento de 4 mol H₂. mol de sacarose⁻¹ (ZHU *et al.* 2009; ROGRIGUES, 2011).





Em trabalhos como o de Wu *et al.* (2007); Lin *et al.* (2008); Zhu *et al.* (2009) foram mostrados que mesmo existindo essa competição e um possível efeito inibitório causado pela produção de etanol, podem existir novas rotas de produção de hidrogênio, as quais dependem de vários fatores como: a inoculação, o tipo de cultura microbiana, o tipo de reator a ser operado, e a taxa de carregamento orgânico (REIS, 2010).

3.5 Fatores que Influenciam a Produção de Hidrogênio

Na produção biológica de hidrogênio diversos fatores podem influenciar para a eficiência na obtenção dos metabólitos como: o substrato, a fonte de carbono utilizada, o reator a ser operado e o material suporte adotado.

3.5.1 Fontes de Carbono

A fonte de carbono é de extrema importância na produção biológica de hidrogênio por via fermentativa, pois estão diretamente ligadas as condições nutricionais dos microrganismos.

Shida (2008) relata que diversos substratos vêm sendo utilizados em pesquisas relacionadas à produção de hidrogênio. Sendo que, ao decorrer dessas pesquisas diversas fontes de carbono vêm sendo testadas e as que apresentaram melhores resultados atualmente foram a glicose, onde podemos ver nos trabalhos de Amorim, (2009) e Fang & Liu, (2002), a sacarose (Chen *et al.* 2005; Chang & Lin, 2004; Chen *et al.* 2006; Rojas, 2010), as águas residuárias, destacando-se as derivadas da indústria alimentícia e de refrigerantes (Van Ginbel & Logan, 2005; Peixoto, 2008) e esgoto sanitário (Mohan *et al.* 2008).

Na Tabela 2 são apresentados alguns resultados obtidos em estudos anteriores, que utilizaram substratos diferentes para a produção de hidrogênio.

Tabela 2 Estudos anteriores que avaliaram o uso de diferentes substratos na produção de hidrogênio.

Referência	Inóculo	Material Suporte	Substrato Concentração	TDH Ph	HY*
Fang <i>et al.</i> (2006)	Lodo de ETE	–	Efluente de Arroz	36h	346 mL / g de hidratos de carbono
Amorim (2012)	Lodo de suinocultura	Argila expandida	32,1-96,4 kg VS/m ³ d Água Residuária – Manipueira	4,5 – 5,0 8 - 1 h	0,99 mol H ₂ .mol glucose-1
Shida (2008)	Lodo de Suinocultura	Argila expandida	4000 mg DQO.L ⁻¹ Glicose	5,0 8 – 1 h	1,84-2,29 mol H ₂ .mol glucose-1
			2 gDQO.L ⁻¹	3,5 – 4,39	
Lin <i>et al.</i> (2006)	Lodo de ETE	Gel de silicone	Sacarose	2,2 – 8,9 h	1,83-4,98 mol H ₂ .mol Sacarose-1
			5-40gDQO.L ⁻¹	–	
Xing <i>et al.</i> (2010)	–	–	Esterco de gado	120 – 168h	20,0 mL H ₂ / g de esterco de gado
				4,0 - 5,0	

HY*= Rendimento da produção de hidrogênio

3.5.2 Produção Biológica de Hidrogênio utilizando reatores alimentados com sacarose.

Nascimberri (2013) utilizou a sacarose como substrato para a produção biológica de hidrogênio em reatores de batelada. O rendimento máximo obtido foi de 1,68 mol H₂/ mol de sacarose.

Perera *et al.* (2011) em seu trabalho mostrou que a produção de hidrogênio a partir da fermentação da sacarose poderia ser melhorada ao ser suplementada com esterco de curral, pois os resultados mostraram que o rendimento de hidrogênio aumentou quase 10%. No trabalho foi utilizado reator em batelada.

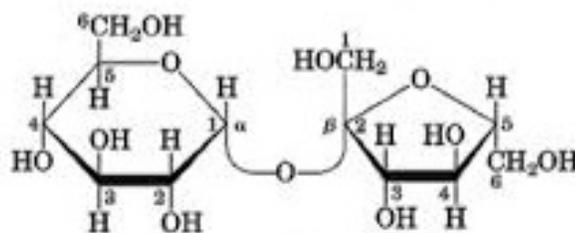
Lin *et al.* (2006) utilizou uma microflora mista enriquecida para a produção de hidrogênio a partir da fermentação da sacarose. O estudo teve por objetivo determinar a microflora e a atividade da hidrogenase e seus efeitos a partir da mudança do TDH (2-12h). Os resultados indicaram que a microflora mista pode ser usada para a produção por via fermentativa de hidrogênio. O conteúdo de gás hidrogênio, a produtividade e a taxa de produção de hidrogênio eram dependentes do TDH e seus valores variaram de 38,7-45,9%, 0,9-3,5 mol H₂/mol de sacarose e 263-408 mmolH₂/L^{-dia} respectivamente, com um TDH de 4h. Os principais metabólitos líquidos produzidos foram etanol, ácido acético, propiônico e butírico.

Fan *et al.* (2004) utilizaram em seu trabalho a sacarose como substrato numa concentração de (2, 3, 4, 5 e 6 g/L) respectivamente. O inóculo adotado foi proveniente do estrume de gado, o ensaio foi em batelada. Os resultados obtidos demonstraram que o pH ótimo e a concentração do substrato para os compostos gerados de gás hidrogênio foram de 5,0±0,2 e 4,0±0,5 g/L de sacarose. O rendimento foi de 900 mL H₂/g de sacarose.

No desenvolvimento desse trabalho foi adotado o efluente da suinocultura como fonte de carboidrato suplementado com a sacarose (açúcar comercial), como fonte de carbono na produção biológica de hidrogênio.

A sacarose (C₁₂H₂₂O₁₁) utilizada como fonte de carbono no presente trabalho, é um glicídio formado por uma molécula de glicose e uma de frutose. Esta substância encontra-se em abundância na cana –de –açúcar, frutas e beterraba (NASCIMBENI, 2013). A estrutura molecular da sacarose pode ser observada na figura 2.

Figura 2. Estrutura molecular da sacarose.



Fonte: Nelson & Cox (2011).

3.5.3 Microrganismos Envolvidos na Produção Biológica de Hidrogênio

Os microrganismos que participam na produção de hidrogênio podem ser classificados em quatro grupos: Anaeróbios Estritos, Anaeróbios Facultativos, Aeróbios e Fototróficos (Fang *et al*, 2006), são exemplos deles, algas verdes, cianobactérias, bactérias fototróficas e bactérias fermentativas. As principais bactérias fermentativas conhecidas para produção de hidrogênio são as espécies de *Enterobacter*, *Bacillus* e *Clostridium* (KAWAGOSHI, 2005).

Em diversos trabalhos podemos encontrar que o *Clostridium*, o qual é também conhecido como um microrganismo acidofílico, que vive em pH próximo de 4,0, e é Gram- positivo como responsável pela produção anaeróbia de hidrogênio (FANG *et al*. 2006).

Na Tabela 3 estão descritas as principais bactérias fermentativas envolvidas no processo biológico de produção de hidrogênio.

Tabela 3. Bactérias fermentativas utilizadas na produção de gás hidrogênio.

Classificação	Espécies
Bactérias fermentativas	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Clostridium acetobutyricum</i>
	<i>Clostridium butyricum</i>
	<i>Clostridium butylicum</i>
	<i>Clostridium Kluyveri</i>
	<i>Clostridium pasteurianum</i>
	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>
	<i>Megashaera elsdenii</i>
	<i>Citrobacter intermedius</i>
<i>Escherichia coli</i>	

Fonte: Das & Veziroglu (2001), Fang *et al*. (2006)

Os microrganismos anaeróbios têm a capacidade de fermentar substratos orgânicos e produzir hidrogênio, sendo que vários parâmetros podem influenciar na produção do gás hidrogênio. Nos processos biológicos como citado anteriormente, na tabela 4 podemos encontrar os principais microrganismos fermentativos, os quais estão relacionados, com diferentes substratos e produtos finais.

Tabela 4. Produção de hidrogênio em processos biológicos por bactérias fermentativas.

Bactérias Fermentativas	Substrato	H ₂ produzido (mmol H ₂ /g cél. seca)	Produtos finais
Anaeróbias estritas <i>Clostridium butyricum</i>	Meio com glicose	7,3	H ₂ e CO ₂ Concentrações elevadas de ácidos orgânicos, biomassa
Anaeróbias facultativas <i>Citrobacter intermedius</i>	Celulose, amido e glicose.	9,5	H ₂ e CO ₂ Concentrações elevadas de ácidos orgânicos, biomassa
<i>C. freundii</i>	Vinhaça	1,8	H ₂ e CO ₂ concentrações elevadas de ácidos orgânicos, biomassa
<i>Enterobacter erogenes</i> E82005	Cana-de-açúcar	17	H ₂ e CO ₂ Concentrações elevadas de ácidos orgânicos, biomassa
<i>Enterobacter cloacae</i> IIT BT-08	Meio com sacarose	29,63	H ₂ e CO ₂ Concentrações elevadas de ácidos clorídrico, biomassa

Fonte: Das & Veziroglu (2001)

3.5.4 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF)

Em diversos trabalhos podemos verificar que os produtos da fermentação dependem do tipo do substrato utilizado e das condições de funcionamento do reator. Como o Tempo de Detenção Hidráulica (TDH), a temperatura, o pH, o material suporte.

Segundo Chen *et al.* (2001), o TDH pode ser manipulado com o objetivo de observar o comportamento da produção de hidrogênio. TDHs em torno de 2 horas favorecem a produção de hidrogênio, já que, o mesmo impede a reprodução ou o equilíbrio dos microrganismos metanogênicos, eliminando-os do reator.

Para Fernandes (2008) a temperatura está diretamente ligada à atividade microbiana na produção de hidrogênio e com a solubilidade na fase aquosa. Em vários estudos sobre a influência da temperatura encontramos que a melhor faixa para a produção de hidrogênio é a mesófila (30 a 40°C).

O pH destaca-se por apresentar maior influência sobre a composição do efluente em reatores acidogênicos REN *et al.* 1997). Segundo Wang & Wan (2009), o pH influencia na produção de hidrogênio, porque pode afetar a atividade de hidrogenase, bem como a via metabólica.

O reator de leito fluidificado (RALF) corresponde ao sistema de alta taxa, onde o crescimento microbiano é aderido e consiste num tubo cilíndrico contendo material suporte inorgânico e inerte. O material suporte é fluidificado pela velocidade ascendente do líquido gerada pelas taxas de escoamento de alimentação e recirculação. No topo do reator encontra-se um separador que garante a separação do líquido, biogás e sólidos (AMORIM, 2009).

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

Wu *et al.* (2003) obteve uma taxa volumétrica máxima de hidrogênio de 0,93 L. h⁻¹. L⁻¹ e o rendimento máximo foi de 2,67 mols H₂/ mol de sacarose. Para a obtenção desses resultados o autor utilizou um reator de leito fluidificado, onde as células microbianas foram imobilizadas para produzir gás hidrogênio. A produção também foi realizada em várias velocidades ascensionais e TDH de 1h-6h.

No trabalho de Amorim (2009), o autor observou o comportamento de RALFs operados sem adição de alcalinidade e com diferentes concentrações de substratos a glicose 2000, 4000, 10000 e 25000 mg.L⁻¹. O melhor desempenho obtido na produção volumétrica de hidrogênio foi no reator operando com 10000 mg.L⁻¹ de glicose com adição de alcalinidade num TDH de 1 hora foi de (1,58 L. h⁻¹). Com relação ao rendimento foi observado no reator operado com 4000 mg.L⁻¹ de glicose com adição de alcalinidade no TDH de 2 horas (2,52 mol H₂.mol glicose⁻¹). A conversão de glicose nos reatores operados com e sem adição de alcalinidade variou entre 89,5-93,6% e 79,0-99,3%, respectivamente.

No presente trabalho optou-se pelo uso do RALF pela demonstração da eficiência em pesquisas anteriores e pelo fato de já haver estudos que utilizaram esse tipo de reator com a manipueira como substrato para produção de hidrogênio (AMORIM, 2012), onde foram obtidos resultados positivos na produção de hidrogênio.

3.5.5 Material Suporte

É importante o uso de material suporte que seja simultaneamente leve, barato, fáceis de comprar e que também podem contribuir para resolver os graves problemas ambientais causados pela geração e descarte inadequados de resíduos sólidos nos dias de hoje. Materiais suportes poliméricos, como o polietileno, poliestireno tereftalato (PET) e pneus triturados são leves, fáceis de comprar, e reutilizáveis e seu uso como meio suporte pode reduzir a quantidade de resíduos em aterros sanitários e minimizar a energia necessária para fluidificação no RALF. (BARROS, 2009).

As características que o material suporte deve apresentar para permitir boa aderência da biomassa anaeróbia sobre as partículas, aumentando a eficiência do processo, são: resistência física à abrasão, superfície porosa favorável à colonização de microrganismos, facilidade para alcançar a fluidificação e capacidade de favorecer a transferência de massa entre o meio e o biofilme (SPEECE, 1996 *apud* SHIDA, 2008).

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

Barros (2009) em seu trabalho avaliou três tipos de material suporte para produção biológica de hidrogênio em RALF polietileno, poliestireno tereftalato (PET) e pneus triturados, tratando água residuária sintética com (4000mg. L⁻¹de glicose), como fonte de carbono e tem-

peratura de 30°C, com controle de pH em torno de 5,5 e TDH variando de 8 a 1 hora. O reator que operou com pneu triturado apresentou melhor rendimento de hidrogênio (2,25 mol H₂.mol⁻¹ de glicose) no TDH de 2h e também um maior acúmulo de biomassa aderida na partícula do material suporte (1,3 mg biomassa/g. partícula). Os reatores com pneu e PET apresentaram uma melhor produção de etanol (400 mg.L⁻¹.L) no TDH de 6 horas.

No trabalho de Amorim (2009), o material suporte utilizado foi a argila expandida (cianista) para a adesão da biomassa, as mesmas passaram por ensaios de densidade e granulométrica. Através de análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da argila expandida ao final de cada fase de operação dos reatores, o autor concluiu que a argila expandida pode ser utilizada como material suporte para o desenvolvimento e formação do biofilme em RALF para a produção de hidrogênio.

Chang *et al.* (2002) testou três materiais suporte (carvão ativado, argila expandida e espuma de poliuretano) em ensaio em batelada e a argila expandida apresentou melhor desempenho, com relação à retenção de biomassa e produção de hidrogênio. O desempenho na produção de hidrogênio do reator de carvão ativado, argila expandida e espuma de poliuretano foi de 1.010,0 mL, 980,0 mL e 190,0 mL, respectivamente.

Barros *et al.* (2010) ao utilizar em seu trabalho a argila expandida e o poliestireno, obteve melhor desempenho na produção volumétrica de hidrogênio com a argila expandida em torno de (1,21 L.h.L⁻¹ e 1,90 L.h⁻¹.L⁻¹ respectivamente em um TDH de 2 horas) e o rendimento máximo foi de (2,59 mol H₂.mol glicose⁻¹ e 1,90 H₂.mol glicose⁻¹ respectivamente em um TDH de 1 hora).

Para o desenvolvimento desse trabalho foi adotada a argila expandida como material suporte, devido ao bom desempenho avaliado em trabalhos anteriores.

3.5.6. Produção Biológica de Hidrogênio a partir de Resíduos Agroindustriais

A produção de hidrogênio por métodos biológicos proporciona uma boa relação custo- benefício (Das & Verziroglu, 2001). Entre todas as abordagens de produção biológica de hidrogênio fermentação no escuro, onde o hidrogênio é produzido a partir de resíduos orgânicos por bactérias anaeróbias, foi considerado como um caminho mais viável economicamente porque as bactérias fermentativas são tecnicamente mais simples de operar ao contrário de bactérias fotossintéticas, e por existir uma gama mais vasta de

substrato orgânico (HALLENBECK & BENEMANN, 2002; NANDI & SENGUPTA, 1998).

A viabilidade de produção de hidrogênio a partir de resíduos orgânicos por fermentação no escuro tem sido extensivamente verificada por vários pesquisadores (KAPDAN & KARGI, 2006; CAI & LIU, 2005; MU & YU 2004) mas poucos estão relacionados com resíduos animais.

Lamaison (2009) observou a produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de batelada seqüencial com volume útil de 2 litros sob TDH de 48 horas. A DQO da manipueira variou entre 2352-3202 mg.L⁻¹. O rendimento da produção de hidrogênio foi de 1,82 mol de H₂.mol de glicose⁻¹ a produção diária de biogás foi de 470 mL, sendo que 51,5% do biogás foi constituído de hidrogênio e o restante de metano.

Já Cappelletti (2009), analisou o efeito da concentração da manipueira no crescimento celular e na produção de gás hidrogênio em um reator em batelada de 500 mL de volume útil. O autor concluiu que as menores concentrações (10, 7.5 e 5 g DQO. L⁻¹) resultaram nos maiores rendimentos. O melhor rendimento foi de 2,41 mols H₂. mol de glicose⁻¹, obtido na concentração de 5 g DQO. L⁻¹.

No trabalho de Amorim (2012), a autora trabalhou com manipueira do Estado de Alagoas. A autora utilizou um reator tipo RALF, o qual foi operado durante 165 dias, em 5 fases, sendo que cada fase teve um TDH correspondente, são eles 8(35 dias), 6 (47 dias), 4 (45 dias), 2 (27 dias), e 1 hora (10 dias), respectivamente. A mudança de fase foi realizada sempre que o reator alcançou a dinâmica aparente, onde se observou a estabilização na conversão de manipueira em hidrogênio, assim como a produção de hidrogênio. O controle do TDH de cada fase foi feito através do acompanhamento da vazão correspondente a cada TDH. O melhor desempenho do RALF foi com TDH de 2 horas, onde a conversão de glicose em hidrogênio foi de 48%, ou seja, 1,91 mols H₂.mol de glicose⁻¹.

Reis & Silva (2012), avaliaram a utilização da vinhaça para a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado utilizando glicose como substrato de partida. Os autores operaram dois reatores de leito fluidificado (Volume = 1492 cm) sob diferentes concentrações de substrato: R1 (5 g.DQO.L⁻¹) e R2 (10 g.DQO.L⁻¹) sob o tempo de detenção hidráulico de 6 h. O lodo de suíno foi utilizado para inoculação dos reatores e a argila expandida foi o material suporte para imobilização da biomassa. Foram desenvolvidas quatro etapas de acordo com a fonte de carbono: fase I (glicose 100%); fase II (glicose 75%, vinhaça 25%), fase III (glicose 25%, vinhaça 75%) e fase IV (vinhaça 100%). O biogás produzido foi composto por H₂ e CO₂. A produção volumétrica de hidrogênio atingiu um máximo de 0,58 L.h⁻¹

$1.L^{-1}$ no R1 ($5 g.L^{-1}$) e $0,94 L.h^{-1} .L^{-1}$ no R2 ($10 g.L^{-1}$) durante a segunda fase (glicose-75%,vinhaça 25%). Na fase máxima de produção de H_2 , ácido butírico, ácido acético e ácido propiônico foram os principais metabólitos gerados. Porém, na fase IV (vinhaça 100%), metanol, etanol, ácido butírico e ácido propiônico foram os principais metabólitos.

Os estudos mostraram que os resíduos agroindustriais têm um elevado potencial ao serem utilizados como substrato para a produção biológica de hidrogênio.

3.6 Atividade Suinícola

A atividade suinícola vem ganhando destaque, devido a sua qualidade técnica e elevada produtividade, pois está gerando boas relações econômicas na indústria, comércio, prestação de serviço e meio científico.

Segundo Sinotti (2005), desde os anos 70 a suinocultura passou de uma atividade meramente complementar, para uma atividade moderna da cadeia produtiva operando com altos índices de produtividade, a qual está integrada a um complexo industrial, isso se deve ao desempenho dos produtores que foi reforçado pelos avanços tecnológicos, principalmente no campo da genética, onde foram introduzidos animais produtores de carne magra, o que levou a atividade a produzir animais de maior eficiência na conversão alimentar, adquirindo potencial para ostentar indicadores de produtividade competitivos com os principais países produtores.

Atualmente o Brasil é considerado o 4º maior produtor de carne suína, perdendo apenas para a China, União Européia e Estados Unidos e também o 4º exportador mundial, ficando atrás da União Européia, Estados Unidos e Canadá. (ABIPECES, 2013).

Segundo estudos realizados pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Fiesp) em parceria com o Instituto de Estudos do Comércio e Negociações Internacionais (Icone) a produção brasileira de carne suína tende a crescer em torno de 22% nos próximos dez anos. Em 2022, a suinocultura brasileira vai produzir 4,1 milhões de toneladas de carne suína. Desse total, 3,4 milhões de toneladas serão consumidas no mercado interno, cujo consumo deve saltar para 15,7 quilos por habitante ao ano e 700 mil toneladas serão direcionadas ao mercado internacional (www.asemg.com.br/novo/noticias/carne-suina-producao-brasileira).

O Brasil possui condições de aumentar cada vez mais sua produção de suínos, pois tem um clima favorável (tropical), mão de obra de baixo custo, facilidade para manejo e tratamento de dejetos. Devido a disponibilidade de área e condições ambientais favoráveis a aplicação da digestão anaeróbia.

Devido ao alto consumo de água, acarretado com a geração de grandes volumes de dejetos é que a atividade suinícola tornou-se uma preocupação ambiental, pois esses dejetos apresentam valores elevados de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e de Demanda Química de Oxigênio (DQO), parâmetros esses que são utilizados para a quantificação da carga poluidora.

As águas residuárias da suinocultura apresentam altas concentrações de sólidos suspensos e provocam impactos ambientais acentuados em várias regiões do Brasil e em outros países. O seu tratamento requer uma alternativa tecnológica simplificada, robusta, versátil e de baixo custo, características que têm sido verificadas com a aplicação de biodigestores e reatores de biomassa imobilizada. A adoção de sistemas confinados de produção de suínos, com uso intensivo de água para higienização, tem produzido grandes quantidades de dejetos líquidos e semissólidos. A inadequação dos sistemas de manejo e armazenamento destes dejetos induz o seu lançamento em cursos d'água sem tratamento, causando graves problemas de poluição, no Brasil e outros países, e em virtude das altas concentrações de matéria orgânica, nutrientes, metais pesados e patógenos.

Segundo Linder (1999), a poluição ambiental por dejetos é um problema que vem se agravando na suinocultura moderna, pois através de diagnósticos recentes têm demonstrado um alto nível de contaminação dos rios e lençóis de água superficiais que abastecem tanto o meio rural como o urbano, sendo a capacidade poluente dos dejetos de suínos, em termos comparativos, muito superior a de outras espécies. Utilizando-se o conceito de equivalente populacional, um suíno, contribui com uma carga média poluidora equivalente a 3,5 pessoas. Devido ao avanço tecnológico, o qual foi alcançado pela suinocultura brasileira nos últimos anos, sistemas cada vez mais confinados e produção de grandes volumes de dejetos por unidade de área tem sido observado (PERDOMO, 1995).

As principais manifestações de degradação ambiental são as contaminações de águas superficiais e subterrâneas, alterações das características físicas, químicas e biológicas do solo, poluição atmosféricas pela emissão de gases prejudiciais e a proliferação de insetos (Oliveira, 1993; Backus *et al.* 1998; Belli Filho *et al.* 2001; Seganfredo, 2004).

A causa principal da poluição é o lançamento direto do esterco de suínos sem o devido tratamento nos cursos de água, que acarreta desequilíbrios ecológicos e poluição em função da redução do teor de oxigênio dissolvido na água, disseminação de patógenos e contaminação das águas potáveis com amônia, nitratos e outros elementos tóxicos.

3.6.1 Atividade suinícola em Alagoas

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), em Alagoas a produção de suínos no ano de 2010 foi de 154.808 cabeças, gerando emprego e renda para o estado (www.ibge.gov.br/estadosat/temas/pecuaria2010).

O município de viçosa é responsável por 20% da produção de suíno no Estado de Alagoas com seis produtores (três grandes e três pequenos).

3.6.2 Produção dos Dejetos de Suíno

A produção dos dejetos dos suínos é gerada desde a criação até o abate, pois se trata de uma atividade que envolve a agroindústria, a qual é desenvolvida em sistemas de confinamento, cujo manejo e higienização das instalações estão diretamente associados às fezes (esterco/estrupe/excremento) e urina dos animais, o que resulta em um efluente denominado dejetos de suíno. Por sua vez, o volume de dejetos produzido diariamente por suíno é muito variado e está relacionado basicamente em função de alguns fatores como:

- Peso do animal vivo,
- Consumo de água e produção de urina e
- Volume de água incorporado ao dejetos.

Segundo Taiganides (1977), *apud* Sinotti (2005), a produção diária de estrupe é um fator diretamente proporcional ao peso vivo do animal, representando cerca de 5%, com uma variação de até 20 %, o que é semelhante a valores encontrados na pesquisa de Silva (1973), que mostrou uma produção de 5 kg de estrupe fresco por dia para suínos de 100 kg, ou seja, 5 % do peso vivo do animal. Conrad & Mayrose (1971) evidenciaram em seus estudos que a produção de estrupe de suínos em crescimento e terminação varia de 5 a 8% do peso vivo. Loehr (1974) verificou que a produção de dejetos por dia é da ordem de 6% do peso vivo do animal, resultando em uma produção diária em torno de 2,7 kg de estrupe por suíno de 45 kg.

Segundo Jelinek (1977), o volume dos excrementos dos suínos produzido por dia varia de acordo com o desenvolvimento ponderal dos animais, em valores decrescentes de 8,5 a 4,9 % do seu peso vivo para a faixa de 15 a 100 kg. Já Konzen (1980), em seu trabalho de dissertação desenvolvido no Brasil, verificou uma produção média de 7,0 litros de dejetos por dia

para suínos nas fases de crescimento e terminação (25 a 100 kg), enquanto Oliveira (1993) apresenta uma média de 8,6 litros para suínos nas diversas fases do ciclo produtivo.

Para Barbari & Rossi, (1992), outro aspecto relevante que influencia no volume total de dejetos é a produção de urina, que está diretamente relacionada à quantidade de água ingerida, que por sua vez está associada às condições climáticas, conforme mostra o quadro 1.

Quadro 1. Exigências de água por suíno, de acordo com a fase do ciclo produtivo.

Fonte: Barbari & Rossi (1992).

CATEGORIA DO SUÍNO	LITROS DE ÁGUA SUÍNO⁻¹ DIA⁻¹
Leitão na maternidade	0,1 a 0,5
Leitão na creche (7 a 25 kg)	1,0 a 5,0
Suíno em crescimento (25 a 50 kg)	4,0 a 7,0
Suíno com (50 a 100 kg)	5,0 a 10,0
Suíno em engorda (100 a 150 kg)	7,0 a 15,0
Porca desmamada	5,0 a 10,0
Porca em gestação	10,0 a 20,0
Porca na maternidade	20,0 a 35,0
Cachaço	10,0 a 15,0

Estudos desenvolvidos por Conrad & Mayrose (1971) mostraram que o volume médio de água ingerida por suíno varia de 2 a 2,5 litros por dia por quilograma de matéria seca consumida, e que 30 a 40% do total das dejeções diárias nestas condições, eram representados por urina, o que foi compatível com os estudos desenvolvidos por Taiganides (1977), cuja a taxa foi de 37%. O mesmo autor cita que, pesquisas desenvolvidas por Mamede (1980) feitas no Brasil, com relação ao consumo de água e de ração para suínos entre 36 e 97 kg foi de 5,5 L suíno⁻¹ dia⁻¹, ou seja, a relação entre o consumo de água e ração de 2,1: 1 aumenta para 2,44: 1, isso em temperaturas acima de 25⁰C e uma umidade relativa abaixo de 65%.

O consumo de água é um dos fatores preponderantes para a geração dos dejetos de suínos. Para Bonett & Monticelli (1998), esse fator depende de inúmeros outros fatores, como temperatura, umidade relativa do ar, idade do animal, peso vivo, estágio ou ciclo reprodutivo, quantidade de ração consumida, teor de matéria seca, e composição da ração e sua palatabilidade. A ingestão de água é condicionada pelas exigências do organismo que são, por sua vez, influenciadas pela qualidade e temperatura da água, fluxo de água e tipo de bebedouros, modelo da instalação e estado de saúde dos animais.

No Brasil ainda são utilizados os dados do Quadro 2, para calcular o volume total de dejetos produzido na suinocultura em diferentes categorias, apesar da época que foram desenvolvidos, portanto, esses valores são nacionais.

Quadro2. Produção média diária de dejetos nas diferentes fases produtivas dos suínos.

Categoria	Esterco Kg dia⁻¹	Esterco + urina Kg dia⁻¹	Dejetos líquidos Li- tros dia⁻¹
25 – 100 kg	3,30	4,90	7,00
Cobrição e gesta- ção	3,60	11,00	16,00
Porca com leitões	6,40	18,00	27,00
Macho	3,00	6,00	9,00
Leitões	0,35	0,95	1,40
Média	2,35	5,80	8,60

Fonte: Dados de diversos autores adaptados por Oliveira (1993) e por Bonett & Monticelli (1998).

3.6.3 Características Físico-químicas dos Dejetos de Suínos

A caracterização química dos dejetos de suínos depende de vários fatores, entre eles destaca-se o mais importante o manejo hídrico da granja, pois ele pode ser o maior responsável pelas variações analíticas dos dejetos. Os fatores que interferem na caracterização química são:

- As condições locais do experimento, tais como clima,
- Tipo de alimentação associado ao desperdício de ração,
- Método de amostragem e
- Volume de água incorporado ao dejetos resultante dos desperdícios dos bebedouros e da água de higienização das instalações, as quais são responsáveis pela diluição do efluente final.

Hernández & Rodríguez (2013) o efeito das condições operacionais na produção de hidrogênio por digestão anaeróbia de dejetos de suíno, o mesmo utilizou como substrato esterco de suíno diluído com água de torneira, numa proporção de teor de sólidos de 8% a 10% (v/v). A caracterização físico-química desse efluente final pode ser observada na Tabela 5.

Tabela 5. Caracterização do efluente de suinocultura.

Parâmetros	Unidade	Valores
pH		6,1 - 7,0
DQO	g/L	62,7 - 78,1
Sólidos Totais	%	8,1 - 9,5
Sólidos voláteis	%	6,5 - 7,6
Nitrogênio amoniacal	g/L	0,65 - 2,92
Amônia	g/L	0,29 - 0,51
Sulfato	mg/L	40 - 70

Fonte: Hernández & Rodríguez (2013).

Devido a isso, a suinocultura foi enquadrada como uma atividade de alto potencial poluidor, pois os resíduos gerados na maioria dos casos são dispostos no solo causando problemas sanitários e ambientais. O processo mais utilizado para o tratamento desses efluentes é o de lagoas de estabilização, sendo assim o desenvolvimento do presente trabalho pode apresentar vantagens tanto de tratamento, como o de produzir H₂.

3.7 Produção de Hidrogênio Utilizando como Substrato Resíduo da Suinocultura

A produção de hidrogênio a partir da fermentação anaeróbia utilizando dejetos de suínos como substrato tem um enorme potencial para fornecer energia limpa a partir de biomassa renovável. Ele pode, não só produzir bioenergia a partir de um recurso inexplorado sustentável, mas também ajudar a melhorar a carga orgânica desperdiçada, a qual é disposta na lavoura. A produção de hidrogênio por fermentação no escuro é altamente dependente das condições do processo, incluindo pH, o que tem um forte efeito sobre a atividade hidrogenase (DABROCK *et al.* 1992).

Em alguns trabalhos podemos ver a utilização da água residuária da suinocultura como substrato, esses trabalhos tiveram por finalidade avaliar a produção de hidrogênio.

Li *et al.* (2010), em seu trabalho avaliou a influência do pH na produção contínua de biohidrogênio a partir de água residuária da suinocultura suplementada com glicose, o mesmo obteve resultados satisfatórios, para a realização do trabalho foi utilizando um reator anaeróbio. A temperatura foi de 37 ± 1 ° C e cinco valores de pH variando de 4,7 a 5,9, o tempo de detenção hidráulico (TDH) foi de 16 horas.

Os resultados mostraram que neste TDH, o pH ótimo para a produção de hidrogênio foi de 5,0, em que o biogás comporta 33,57 % de hidrogênio, com uma taxa de produção de 8,88 LH₂/dia e um rendimento de 1,48 LH₂/ L de esterco líquido de suínos.

Trevisan & Monteigga (2010) avaliaram a produção de biogás a partir de efluentes da suinocultura utilizando digestão anaeróbia em dois estágios, para isso foram utilizados reatores anaeróbios em bateladas, um acidogênico e outro metanogênico operados em série. O sistema apresentou eficiência de 60 a 69% na remoção da matéria orgânica para condição operacional estruturada. As concentrações de hidrogênio variaram de 7 a 9% no gás produzido no reator acidogênico, nos períodos de aumento da carga orgânica. Já no reator metanogênico a concentração de metano variou de 65 a 70%.

Zhu *et al.* (2009) avaliaram em seu trabalho a fermentação de dejetos de suínos para produção de hidrogênio. Os autores investigaram a utilização do esterco líquido de suíno, suplementado com glicose como substrato. As experiências foram conduzidas usando um fermentador semi-contínuo, foram avaliados diferentes pHs entre 4,7 e 5,9 ; a temperatura foi controlada (35±°C); e o tempo de detenção hidráulica testados foram de 16, 20 e 24h. Em duas condições de pH iguais a 5,0 e 5,3, o TDH de 12h também foi investigado.

O dileniamento experimental de Zhu *et al.* (2009) combinando TDH e pH forneceram uma visão sobre o desempenho do fermentador em termos de geração de hidrogênio. Os resultados indicaram que tanto o pH quanto o TDH tiveram influências significativa na produção fermentativa de hidrogênio. O melhor TDH foi o de 16h e o melhor pH que resultou em maior geração de hidrogênio foi de 5,0, com uma produção de biogás de (21,4-38,3 L d⁻¹) e concentração de H₂ no biogás de (35.8–37.6%) entre todos os pHs analisados. O conteúdo de metano no gás de combustão foi inferior a 2%.

Na Tabela 6 podemos observar alguns trabalhos, os quais utilizaram o resíduo de suinocultura como substrato para a produção de hidrogênio.

O potencial energético dos dejetos de suínos é de 0,50 m³ biogás. m⁻³ de dejetos (KONZEN, 1983), sendo que, 1 m³ de biogás equivale a 0,66 litros de óleo diesel ou 0,7 litros de gasolina (OLIVEIRA, 1993)

Os resultados dos trabalhos demosntram que o resíduo da suinocultura tem potencial para a produção de hidrogênio, mas novas pesquisas devem ser realizadas a fim de desenvolver estratégias tecnológicas que visem aumentar a produção de hidrogênio a partir desse substrato.

Tabela 6. Estudos anteriores que avaliaram o uso do resíduo da suinocultura como substrato na produção de hidrogênio.

Referência	Inóculo	Material Suporte	Substrato Concentração	TDH pH	HY*
Hernández <i>et al.</i> , (2013)	Lodo de reator metano- gênico (substrato dejetos de suíno)	–	Efluente de Suinocultu- ra	12-36h 5,0-6,0	31,8 mL de H ₂ / h,
Wu <i>et al.</i> , (2009)	Lodo de digestor	–	32,1-96,4 kg VS/m ³ d Efluente de Suinocultu- ra	8 - 24 h 5,0	1,18 - 1,63 mol H ₂ .mol glicose-1
Trevisan & Monteggia, (2009)	–	–	Efluente de Suinocultu- ra	48 h 5,0	7 - 9% de H ₂
Zhu <i>et al.</i> , (2009)	–	–	Efluente de suíno 6540 mg.DQO.L ⁻¹	12 - 24 h 4,7 – 5,9	21.4 – 38.3 L H ₂ .d ⁻¹
Li <i>et al.</i> , (2010)	Lodo de ETE	–	Esterco de suíno	12-24h 4,7-5,9	1,48 L-H ₂ / (L esterco líquido de suínos

HY*= Rendimento da produção de hidrogênio

3.8 Considerações Finais

Segundo Hernández & Rodríguez (2013) o resíduo da suinocultura é um substrato diferente dos substratos tradicionais utilizados na investigação da produção biológica de hidrogênio como a glicose e o amido, os quais são carboidratos. Esse substrato é vantajoso por apresentar uma fonte de carbono e azoto para a produção de hidrogênio.

Apesar da constatação do problema o efluente da suinocultura vem sendo bastante estudado para ser utilizado como substrato na produção biológica de hidrogênio, pois o mesmo apresenta potencial para fornecer energia limpa a partir da biomassa renovável.

O potencial energético dos dejetos de suínos é de 0,50 m³ de biogás. m³ de dejetos (KONZEN, 1983), sendo que deve-se levar em consideração a corrosão provocada pela presença de H₂S (gás Sulfídrico), o que suscita cuidados especiais, inclusive com a manutenção e concepção de sistemas de reaproveitamento (CAMPOS, 1999).

4 METODOLOGIA

4.1 Água Residuária – Efluente de Suinocultura suplementado com sacarose (açúcar comercial)

No presente trabalho foi utilizado o efluente da suinocultura como substrato, suplementado com sacarose como fonte de carbono para produção de hidrogênio, por ser um efluente agroindustrial e gerado, em vários municípios do Estado de Alagoas.

As amostras coletadas foram obtidas de uma propriedade rural de criação de suínos localizada no município de Viçosa (Coordenadas geográficas - 9°22'15,6'' de latitude sul e 36°14'27,6'' de longitude oeste (IBGE, 2012)) no Estado de Alagoas, conforme mostra a Figura 3 (a) e (b).

Figura 3. Granja de criação de suíno situada no município de Viçosa-AL.



As coletas das amostras foram realizadas a cada 30 dias. O efluente coletado (Figura 4) foi acondicionado em recipientes de 10 litros (previamente lavados com água e álcool 70%), e armazenado em freezer a -15°C até o uso, quando foi descongelada e diluída com água de torneira a uma proporção de 8% (v/v). A referida diluição foi estabelecida de acordo com o trabalho de Li *et al.*, (2010) objetivando evitar obstruções no sistema de bombas.

Figura 4. Coleta de efluente da suinocultura no município de Viçosa-AL.



A composição da água residuária suplementada utilizada na alimentação do reator é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7. Composição da água residuária suplementada utilizada na operação do reator.

Fase Experimental	Tempo de operação (Dias)	Efluente de suíno 8% (v/v)	TDH	Suplementação sacarose (açúcar comercial)
TDH8h/10g	15	8%	8h	10g/L
TDH6h/10g	15	8%	6h	10g/L
TDH4h/10g	15	8%	4h	10g/L
TDH2h/10g	20	8%	2h	10g/L
TDH2h/8g	15	8%	2h	8g/L
TDH2h/6g	15	8%	2h	6g/L
TDH2h/4g	15	8%	2h	4g/L
TDH2h/2g	15	8%	2h	2g/L
TDH2h/0g	15	8%	2h	0g/L

A característica básica da água residuária a 8% (v/v) utilizada nesse trabalho encontra-se discriminada na Tabela 8. Tal caracterização foi realizada com o efluente a 8% (v/v) sem suplementação

Tabela 8. Características físico-químicas do efluente da suinocultura a 8% (v/v).

Análises	Resultados
Turbidez (NTU)	262
Carboidrato (mg.L ⁻¹)	33,27
Carbono Orgânico Total (mg.L ⁻¹)	120,9
Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO (mg.L ⁻¹)	480
Demanda Química de Oxigênio – DQO (mg.L ⁻¹)	241,9
Nitrogênio Total (mg.L ⁻¹)	207,8
pH	7,8
Ácidos Voláteis (mgHAc.L ⁻¹)	350
SST (mg.L ⁻¹)	2.700,00
SSF (mg.L ⁻¹)	700,00
SSV (mg.L ⁻¹)	2.000,00

4.2 Material Suporte

O material suporte utilizado nesse trabalho foi a argila expandida (cianista) para a adesão microbiana e formação do biofilme, visto que, já foi verificado em trabalhos anteriores bom desempenho com este material suporte Amorim (2012), Barros (2010) a Tabela 9 mostra as características físicas da argila expandida.

Tabela 9. Características físicas da argila expandida (cianista)

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

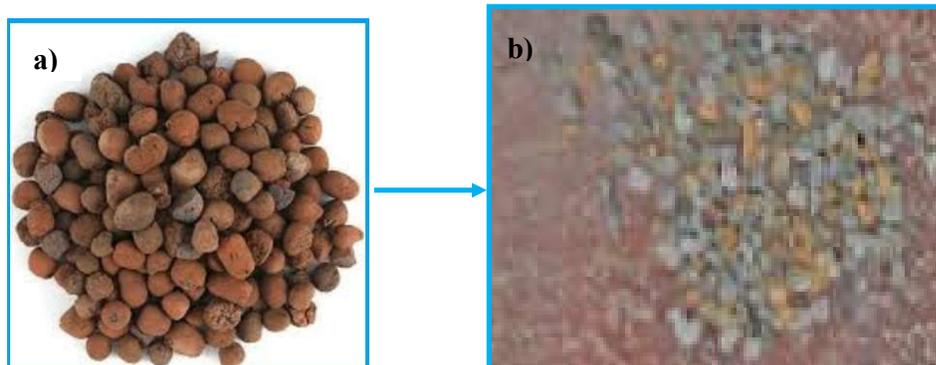
Fonte: Amorim (2012) - Adaptado de ORTEGA *et al.* (2001).

A argila expandida utilizada nesse estudo foi adquirida como pedras para serem utilizadas na jardinagem. As pedras de argila foram inseridas na água e foi observado que algumas afundavam e outras ficam na superfície (flutuando). A partir daí foram selecionadas as pedras a serem utilizadas no trabalho (as que afundaram), as mesmas foram submetidas ao tratamento para preparação do material suporte.

Após a pré-seleção as pedras passaram pelo um processo de trituração e peneiramento, as pedras foram classificadas numa faixa granulométrica compreendida entre 2,80 e 3,35 mm (Amorim, 2009). Em seguida as argilas classificadas segundo a faixa granulométrica foram submetidas a uma nova imersão em água e separadas as que afundaram para serem utilizadas como material suporte no RALF.

Na Figura 5 são apresentadas a argila expandida adquirida como pedra para jardinagem (Fig. 5a) e a utilizada como material suporte no reator (Fig. 5b).

Figura 5. Argila expandida para utilização como material suporte (a) sem tratamento e (b) com tratamento para a imobilização da biomassa.



Com relação a velocidade de fluidificação e a vazão de recirculação para a argila expandida os valores foram obtidos a partir de dados experimentais descritos no trabalho de Amorim (2009).

4.3 Reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF)

O reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) utilizado no presente trabalho foi construído em acrílico transparente com espessura de 5 mm, possuindo uma altura de 90 cm e 4,0 cm de diâmetro interno. O mesmo possui 5 saídas laterais ao longo do reator para coleta das amostras de partículas.

O volume útil do reator foi 900 mL e o seu preenchimento com o material suporte foi até a altura de 31 cm da base do reator, correspondendo a uma massa de 400 g, aproximadamente.

Para a alimentação do reator foi utilizada uma bomba DOSITEC modelo DLXMA/A e uma bomba de recirculação ECOSAN-bomba dosadora.

O reator foi operado em temperatura ambiente, a qual foi acompanhada por termômetro. O esquema da instalação e da operação do reator RALF pode ser observado nas Figuras 6 e 7.

Figura 6. Esquema da instalação do reator anaeróbio de leito fluidificado.

Fonte: Avelino (2013) - Adaptado de Barros (2009).

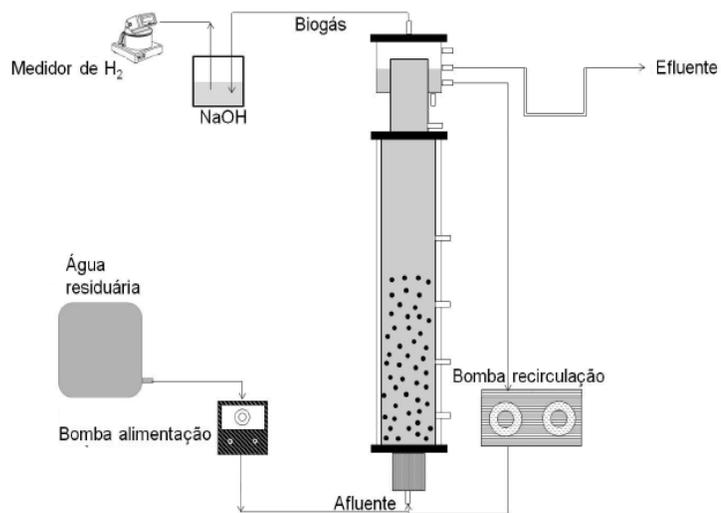


Figura 7. Reator Anaeróbio de Leito fluidificado.

Medidor
MilliGas-
counter

Bomba de ali-
mentação

Bomba de re-
circulação



4.4 Operação do RALF

O TDH foi modificado quando, atingia a estabilidade em relação a eficiência de conversão da glicose e a formação dos produtos, como os ácidos orgânicos e o hidrogênio.

Segundo Zhang *et al.* (2007) as condições do estado estacionário são atingidas quando as variações dos produtos e da concentração da biomassa são menores que 10%.

Nessa pesquisa foram estudadas nove fases experimentais em função do TDH e da concentração de suplementação, conforme apresentada na Tabela 10.

A vazão teórica de cada fase experimental foi determinada através da relação do TDH correspondente, sendo obtida pela razão entre o volume útil do reator (900 mL) e o TDH (8 h, 6 h, 4 h e 2 h), e a vazão aplicada foi determinada por medição direta com proveta e cronômetro, conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10. Vazão, TDH e suplementação adotada em cada fase experimental.

Fase experimental	Tempo de operação (Dias)	TDH (horas)	Suplementação (g/L)	Vazão teórica (mL.h ⁻¹)	Vazão média aplicada ± desvio padrão (mL.h ⁻¹)
1	15	8	10	136,5	143,8±17,8
2	15	6	10	180	179,7±5,6
3	15	4	10	264,5	270,5±14,5
4	20	2	10	542,08	538,8±20,7
5	15	2	8	542,08	534,1±12,4
6	15	2	6	542,08	543,5±23,3
7	15	2	4	542,08	552,4±42,8
8	15	2	2	542,08	545,1±21,2
9	15	2	0	542,08	547,8±18,8

O processo de inoculação do reator utilizado nesse trabalho foi o de fermentação natural, o qual água residuária suplementada foi colocada num recipiente aberto durante três dias ao ar livre, contendo efluente da suinocultura a 8% (v/v) suplementado com 10 g/L de sacarose (açúcar comercial). Em seguida esse efluente fermentado foi utilizado para dar partida no reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF). O afluente foi recirculado, durante um período de três dias, para que fosse possível a aderência microbiana e a formação de biofilmes no material suporte utilizado (argila expandida).

A argila expandida foi utilizada para aderência da população microbiana, a qual ocorreu no próprio reator. Para o ajuste das condições fluidodinâmicas do reator foram utilizados os dados de velocidade mínima de fluidificação (V_{mf}) para partículas de argila expandida (A-

MORIM, 2009). Esses dados serviram para a determinação da velocidade de recirculação necessária para que o reator atingisse as condições de fluidificação, ou seja, $(1,3 \times V_{mf})$.

De acordo com Amorim (2009) a velocidade mínima de fluidificação para a argila expandida foi de $1,24 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Essa velocidade foi utilizada através da regulação da vazão da bomba responsável pela recirculação. Após a definição da vazão de recirculação ($20,25 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), a bomba dosadora foi acionada e assim o sistema permaneceu em recirculação como se estivesse em batelada. Optou-se pelo sistema de recirculação entre o barrilete e o reator, objetivando otimizar a adaptação dos microrganismos no próprio reator, buscando realizar uma partida rápida. O reator foi operado de modo batelada (circuito fechado) durante 48 horas, objetivando a adesão microbiana na argila expandida e a adaptação da biomassa ao substrato.

Ao fim de 48 horas o reator passou a ser operado com uma alimentação contínua através de uma bomba dosadora DOSITEC com vazão de $143,8 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$, a qual correspondia ao TDH de 8 h. Ao longo do experimento a vazão foi sendo aumentada de acordo com a redução do TDH. O pH do afluente não foi ajustado durante o experimento.

Durante a operação do reator (152 dias) foi reduzida a concentração de sacarose, na suplementação a fim de avaliar o desempenho do reator e a eficiência na produção de hidrogênio.

4.5 Análises Físico-Químicas Para Monitoramento

Com relação às análises físico-químicas foram realizadas periodicamente, conforme mostra a Tabela 11.

As amostras foram filtradas em membrana $1,2 \mu\text{m}$ para a realização de todas as análises.

Tabela 11. Análises físico-química.

Parâmetro	Metodologia	Frequência
Vazão		Diariamente
Temperatura	Termômetro	Diariamente
Altura do leito		Diariamente
pH	Potenciométrico	Diariamente
DQO	APHA, (1998)	Duas vezes por semana
Sólidos totais (ST)	APHA, (1998)	Uma vez por semana
Sólidos suspensos totais (SST)	APHA, (1998)	Uma vez por semana
Sólidos suspensos voláteis (SSV)	APHA, (1998)	Uma vez por semana
Alcalinidade	APHA, (1998)	Duas vezes por semana
Ácidos voláteis totais	APHA, (1998)	Duas vezes por semana
Produção volumétrica de hidrogênio	Medidor Ritter	Diariamente
Ácidos voláteis e álcoois	Cromatografia gasosa	Duas vezes por semana

4.5.1 Hidrogênio

A produção volumétrica de hidrogênio foi medida por meio do medidor MilliGas-counter do fabricante Ritter. Ao medidor foi acoplado um recipiente contendo uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 5 mol. L⁻¹. Ao realizar as medições, o biogás entrou em contato com a solução de NaOH para que o CO₂ formado ficasse retido na solução e apenas o gás hidrogênio fosse medido (AMORIM et al., 2009).

A Figura 8 mostra o medidor MilliGas-counter utilizado para a medição volumétrica de hidrogênio.

Figura 8. Medidor MilliGas-counter do fabricante Ritter.



4.5.2 Determinação dos Ácidos Orgânicos Voláteis e Álcoois

As concentrações dos ácidos orgânicos voláteis e dos álcoois foram determinadas utilizando um cromatografo à gás GC-2010 do fabricante Shimadzu, com detector de ionização de chama o (FID).

As condições de operação foram as seguintes:

- Temperatura do injetor: 250°C, razão de Split 1.
- Temperatura do forno: 35°C (0') 2°C/min. 38°C (0') 10°C/min. 75°C (0') 35°C/min. 120°C (1') 10°C/min. 170°C (2'), gás de arraste: hidrogênio.
- Temperatura do detector: 280°C, gás auxiliar (N₂): 30 mL.min⁻¹; ar sintético: 300 mL. min⁻¹ e hidrogênio: 30 mL.min⁻¹.

A metodologia para extração das amostras pelo método de “headspace” utilizada na determinação dos ácidos orgânicos voláteis e Álcoois foi desenvolvida no laboratório de processos biológicos – Setor de Cromatografia do departamento de hidráulica e saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) (MAINTINGUER et al., 2008).

Para a extração das amostras pelo método de “headspace” foram adotadas algumas condições:

Para a injeção das amostras:

- Seringa de 2,5mL;
- A temperatura da seringa foi de 90°C;
- O volume injetado foi de 400 µL
- Temperatura de incubação da amostra foi de 100°C;
- Tempo de incubação da amostra (banho Maria) foi de 13 minutos.

4.5.3 Carboidratos

Para a determinação da concentração de carboidratos em mg.L^{-1} de glicose foi utilizada a metodologia descrita por Dubois *et al.* (1956). Essa metodologia é baseada no fato de que açúcares simples e complexos e seus derivados, incluindo metil-ésteres com grupos redutores livres ou potencialmente livres, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado dão coloração amarelo alaranjado com uma reação sensível e coloração estável (DUBOIS *et al.* 1956).

4.6 Cálculo dos Principais Parâmetros

Para os cálculos dos principais parâmetros foram adotadas as seguintes equações descritas abaixo:

$$\text{HY} = \frac{\text{Quantidade (mol) de H}_2 \text{ produzido}}{\text{Quantidade (mol) de glicose consumida}}$$

HY = Rendimento de hidrogênio

$$\text{HPR} = \frac{\text{Quantidade (L) de H}_2 \text{ produzido}}{(\text{Tempo (h)} \cdot \text{Volume (L) de trabalho do reator})}$$

HPR = Produção volumétrica de hidrogênio

$$\text{Conversão de glicose} = 100 \cdot \frac{\text{Glicose Afluente} - \text{Glicose Efluente}}{\text{Glicose Afluente}}$$

$$\text{TCO real aplicada} = \frac{\text{DQO}_{\text{afluente}}}{\text{TDH}}$$

TCO = Taxa de carregamento orgânico

AVT = Ácidos Voláteis Totais e SMP = Metabólitos Totais Produzidos foram baseados na concentração molar.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados os resultados obtidos na presente pesquisa. Os mesmos serão apresentados por meio de gráficos e tabelas. As análises correspondem a cada fase experimental do reator e o comportamento dos parâmetros observados em função da concentração de sacarose.

5.1 Caracterização do Efluente da Suinocultura Bruto

Os dejetos de suínos são constituídos de proteínas, carboidratos e lipídeos. A literatura não indica um valor específico de carboidratos no efluente da suinocultura. O efluente bruto coletado, o qual foi utilizado na presente pesquisa, apresentou uma concentração de carboidratos de $417,13 \text{ mg.L}^{-1}$, depois de filtrado. A partir dessa análise verificou-se a necessidade da adoção de uma suplementação com uma fonte de carbono, pois o efluente da suinocultura apresentou baixo potencial em termos de carboidratos em comparação a outros substratos utilizados para a produção de hidrogênio.

A concentração de ácidos voláteis (AVT) é um parâmetro de extrema importância para a digestão anaeróbia. Os ácidos voláteis devem estar em equilíbrio com a alcalinidade do sistema. A inibição do processo anaeróbio por ácidos voláteis está associada ao pH. Baixos valores de pH estão geralmente associados a altas concentrações de ácidos voláteis, e consequentemente, à falência do processo (PEREIRA *et al.* 2009).

A concentração de ácidos voláteis encontrada no efluente de suinocultura bruto utilizado nessa pesquisa foi de 4.375 mg.L^{-1} , para a análise desse parâmetro a mostra nem foi filtrada, nem diluída. Santana & Oliveira (2005) obtiveram uma variação de 1.648 a 142 mg.L^{-1} . A presença de ácidos voláteis indica a possível produção de ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico, dentre outros, os quais são metabólitos formados na fermentação de glicose e pode interferir na produção de hidrogênio tanto positivamente (ácido acético e ácido butírico) quanto negativamente (ácido propiônico) (AMORIM, 2012).

A DQO filtrada obtida no efluente de suinocultura bruto estudado foi de $22.719,68 \text{ mg.L}^{-1}$. Hernández & Rodríguez (2013) em seu trabalho encontrou DQO de $78,1 \text{ g.L}^{-1}$. Souza (2001) realizou o levantamento das características físico-químicas de efluente de suinoculturas de várias granjas de Jaboticabal-SP e encontrou DQO variando de 61.972 a 94.000 mg.L^{-1} . Tal diferença entre as DQOs encontradas, pode ser explicada pelo fato de que as amostras

analisadas foram coletadas de granjas diferentes, onde foram detectados sistemas de manejos diferentes, os quais contribuem diretamente na diluição final do efluente coletado.

O valor de pH apresentou-se em torno de 7,8, próximo ao valor médio encontrado por Hernández & Rodríguez (2013), que foi de 7,0 e dentro da variação encontrada no trabalho de Santana & Oliveira (2005). O pH ótimo para a produção de hidrogênio ainda não foi definido, mas a literatura relata valores de pH entre 5,5 e 6,0 Chen *et al.* (2005).

O dejetos da suinocultura é classificado como de alto potencial poluidor, pois é um resíduo que possui demanda bioquímica de oxigênio (DBO_{5, 20}) elevada. A DBO₅ encontrada foi de 6.000 mg.L⁻¹, através desse parâmetro foi possível confirmar o potencial poluidor desse resíduo.

A capacidade poluidora dos dejetos de suínos, em termos comparativos, é muito superior à de outras espécies, pois enquanto a DBO_{5,20} per capita de um suíno, com 85 kg de peso vivo varia de 189 a 208 g/animal/dia, a doméstica é de apenas 45 a 75 g/habitante/dia (PERDOMO & LIMA, 1998)

Os dejetos da suinocultura também são ricos em nitrogênio, o mesmo foi caracterizado quanto a concentração de nitrogênio total e carbono orgânico total, sendo os valores encontrados de 2.597,5 mg.L⁻¹ e 1.511,25 mg.L⁻¹ respectivamente.

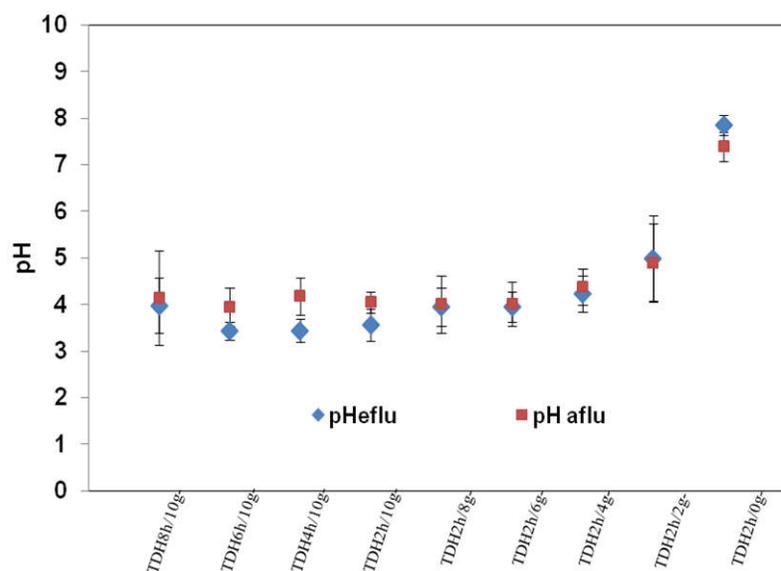
A composição do efluente da suinocultura está associada ao sistema de manejo, o qual é adotado por cada propriedade rural, podendo apresentar grandes variações em termos de suas características físico-químicas, dependendo da diluição e da modalidade como são manuseados e armazenados.

5.2 Produção de Hidrogênio

A produção de hidrogênio no reator anaeróbio de leito fluidificado, a partir do efluente da suinocultura suplementado com sacarose, foi monitorada por 152 dias. Nesse período foram operadas 9 fases experimentais. Durante todo o experimento não houve controle do pH tanto afluente como o efluente. O pH efluente variou entre 7,85±0,22 e 3,44±0,19. A variação do pH está apresentada na Tabela 12 e na Figura 9.

Tabela 12. pH afluente médio e pH efluente médio em função das fases experimental.

Fases	pH Afluente	pH Efluente
TDH8H/10g	4,14 ± 1,01	3,98±0,60
TDH6H/10g	3,95±0,40	3,44±0,19
TDH4H/10g	4,18±0,40	3,62±0,25
TDH2H/10g	4,05±0,23	3,56±0,34
TDH2H/8g	4,01±0,61	3,82±0,40
TDH2H/6g	4,01±0,47	3,95±0,33
TDH2H/4g	4,38±0,38	4,23±0,38
TDH2H/2g	5,13±0,83	5,27±0,93
TDH2H/0g	7,39±0,31	7,85±0,22

Figura 9. Variação do pH em função das fases experimental.

O pH afluente médio foi de 4,56 e o efluente foi de 4,37. O pH afluente variou entre 4,14 ± 1,01 (TDH 8h/10g), 3,95±0,40 (TDH 6h/10g), 4,18±0,40 (TDH 4h/10g), 4,05±0,23 (TDH 2h/10g), 4,01±0,61 (TDH 2h/8g), 4,01±0,47 (TDH 2h/6g), 4,38±0,38 (TDH 2h/4g), 5,13±0,83 (TDH 2h/2g), 7,39±0,31 (TDH 2h/0g), enquanto que o pH efluente variou entre 3,98±0,60 (TDH 8h/10g), 3,44±0,19 (TDH 6h/10g), 3,62±0,25 (TDH 4h/10g), 3,56±0,34 (TDH 2h/10g), 3,82±0,40 (TDH 2h/8g), 3,95±0,33 (TDH 2h/6g), 4,23±0,38 (TDH 2h/4g), 5,27±0,93 (TDH 2h/2g), 7,85±0,22 (TDH 2h/0g). Conforme os dados apresentados de pH foi possível verificar que os mesmos encontram-se dentro de uma faixa compatível de pH favorável a produção de hidrogênio, segundo os dados da literatura (Chen *et al.* 2005; Khanal *et al.* 2004; Mu *et al.* 2006). Na última fase, a qual a sacarose foi retirada observou-se um aumento,

tal fato pode ser explicado pelo fato do efluente puro, ou seja, sem suplementação ter perdido o potencial de fermentação.

Observou-se na Figura 9 que o pH efluente apresentou-se dentro da faixa compatível de pH para a produção de hidrogênio na fase do TDH8h/10g (3,98) a fase do TDH2h/4g (4,23) o que indica a geração de ácidos orgânicos e por consequência geração de hidrogênio. Já na fase do TDH2h/2g (5,27) a fase do TDH2h/0g (7,85), verificou-se que o pH efluente apresentou-se fora da faixa compatível para a produção de hidrogênio, o que pode indicar baixa produção da atividade acidogênica.

5.2.1 Determinação da Concentração de Carboidratos

A Tabela 13 apresenta a variação da concentração de carboidratos total afluente e efluente em função do TDH.

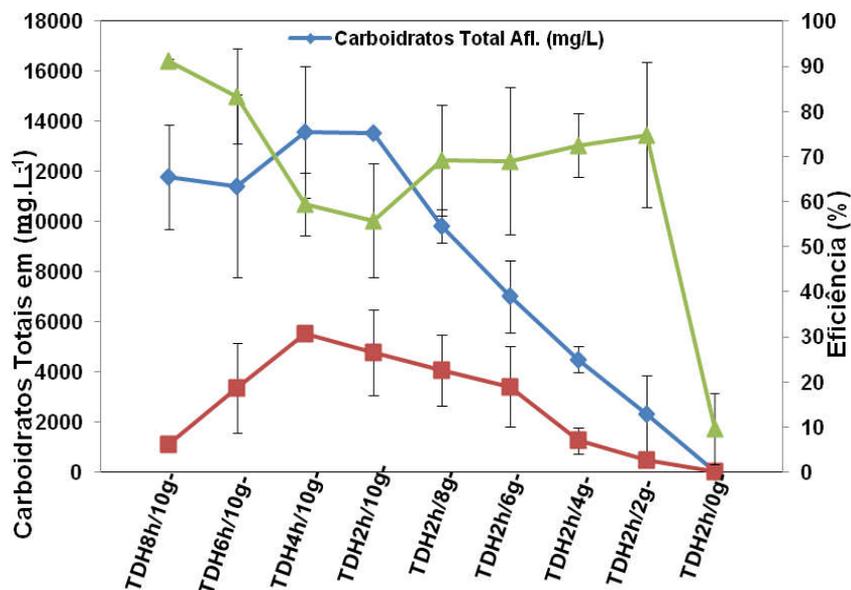
As concentrações afluente e efluente variaram de 13.590,76 a 50,10 mg.L⁻¹ e 5.508,76 a 16,29 mg.L⁻¹, respectivamente.

A eficiência máxima na conversão de carboidrato foi de 91,21% no TDH de 8h/10g e a menor foi de 47,99% no TDH de 2h/0g. Nas fases TDH8h/10g, TDH6h/10g, TDH4h/10g, TDH2h/10g, TDH2h/8g, TDH2h/6g, TDH2h/4g, TDH2h/2g, TDH2h/0g, as conversões alcançaram 91,21%, 83,38%, 59,45%, 55,83%, 69,05%, 69%, 72,48%, 74,77% e 47,99%, respectivamente.

Tabela 13. Carboidrato total médio afluente e efluente; Eficiência de conversão.

Fases	Carboidrato Total Afluente (mg/L)	Carboidrato Total Efluente (mg/L)	Eficiência (%)
TDH8H/10g	11.782,14±2065,63	1.126,90±135,168	91,21±0,39
TDH6H/10g	11.409,63±3646,04	3.361,95±1802,22	83,38±10,48
TDH4H/10g	13.590,76±2627,09	5.508,76±124,77	59,45±6,92
TDH2H/10g	13.536,84±69,32	4.778,45±1691,32	55,83±12,72
TDH2H/8g	9.826,89±658,50	4.077,76±1408,85	69,05±12,26
TDH2H/6g	7.020,84±1438,31	3.418,52±1590,81	69,00±16,31
TDH2H/4g	4.494,31±518,43	1.262,47±518,43	72,48±6,99
TDH2H/2g	2.325,40±1528,57	463,53±11,18	74,77±16,10
TDH2H/0g	18,16±3,08	16,29±1,35	9,59±7,91

A Figura 10 apresenta a variação da concentração carboidratos total em forma de glicose afluente e efluente, e a eficiência da taxa de redução em função do TDH.

Figura 10. Variação da concentração de carboidratos total afluente e efluente, e a eficiência da taxa de conversão em função do TDH.

As conversões de carboidrato obtidas no RALF estão de acordo com as obtidas em diversos estudos que utilizaram o reator anaeróbico de leito fluidificado para a produção de hidrogênio (ZHANG *et al.* 2007; AMORIM, 2009; BARROS & SILVA, 2012; SHIDA *et al.* 2012; REIS & SILVA, 2011). Zhang *et al.* (2007) obtiveram em seu trabalho uma conversão de glicose variando entre 75,44% e 99,47%. Amorim (2009) obteve uma conversão global

média para todas as etapas do experimento de 36%. Barros & Silva (2012) obtiveram uma conversão de glicose semelhante para os reatores operados com material suporte diferentes e uma concentração de 4000 mg.L^{-1} de glicose. No RALF contendo partículas de polietileno a conversão de glicose foi de 91% a 60% em função da redução do TDH de 8h para 1h. No RALF contendo pneu triturado a variação na conversão de glicose foi de 80% a 70% e no RALF contendo pet a conversão de glicose foi de 74% a 82% com a redução do TDH de 8h para 1h. Shida *et al.* (2012) verificaram em seu trabalho a conversão de glicose em dois reatores operados em condições diferentes. No reator operado sem adição de um tampão de pH a conversão de glicose foi de aproximadamente 91% e no reator operado com um tampão de pH a conversão de glicose foi de 94% a 79%, com redução do TDH de 8h a 1h. Já Reis & Siva (2011) verificaram em trabalho que a conversão de glicose foi em torno de 80% nos dois reatores operados em TDH diferentes de 1-9h.

Chang & Lin (2004) obtiveram resultados semelhantes 91,8% a 93,4% , sendo que a sacarose foi utilizada como fonte de carbono, a conversão de sacarose variou em função da redução do TDH de 4-24h.

5.2.2 DQO

A Tabela 14 mostra a variação da DQO afluente, efluente e a sua conversão em todas as fases do experimento.

A DQO afluente variou entre $13.504,50$ e $1.817,57 \text{ mg O}_2. \text{ L}^{-1}$ e a efluente variou entre $13.242,24$ e $1.365,15 \text{ mg O}_2. \text{ L}^{-1}$ com uma eficiência de conversão variando entre 45,59 a 1,71%.

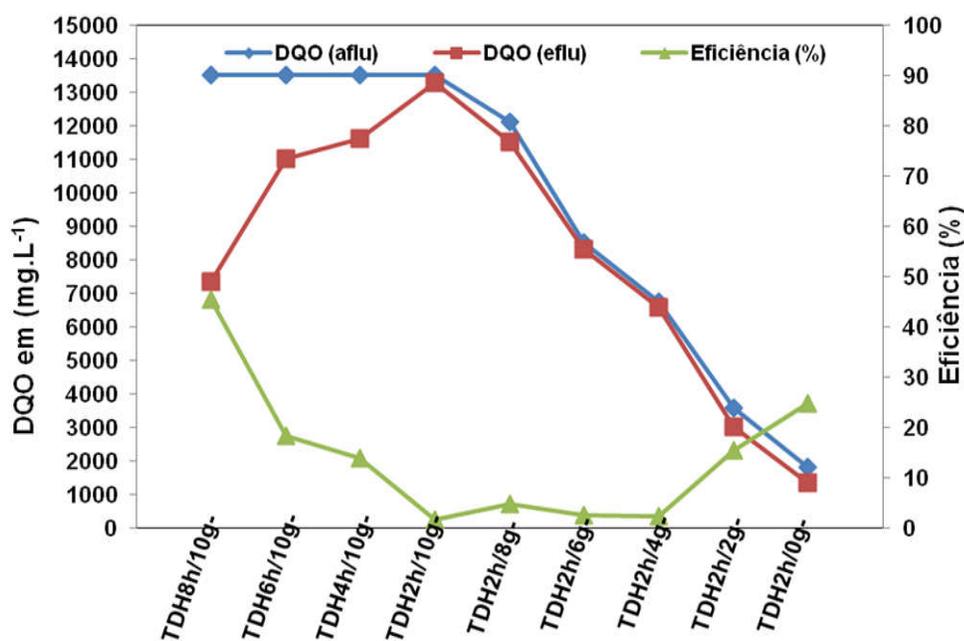
A eficiência máxima na conversão de matéria orgânica foi de 45,59% para o TDH de 8h/10g e a menor foi de 1,71% no TDH2h/10g. Nas fases TDH8h/10g, TDH6h/10g, TDH4h/10g, TDH2h/10g, TDH2h/8g, TDH2h/6g, TDH2h/4g, TDH2h/2g, TDH2h/0g, as eficiências de conversão da matéria orgânica alcançada foram 45,59%, 18,03%, 14,04%, 1,71%, 4,81%, 2,56%, 2,48%, 15,43% e 24,89%, respectivamente.

Tabela 14. DQO média afluente e efluente; Eficiência de conversão.

Fase Experimental	DQO (afllu)	DQO (eflu)	Eficiência (%)
TDH8h/10g	13504,50	7347,46	45,59
TDH6h/10g	13504,50	11031,78	18,31
TDH4h/10g	13504,50	11607,84	14,04
TDH2h/10g	13504,50	13273,24	1,71
TDH2h/8g	12105,03	11522,29	4,81
TDH2h/6g	8537,57	8318,99	2,56
TDH2h/4g	6764,50	6596,99	2,48
TDH2h/2g	3590,65	3036,66	15,43
TDH2h/0g	1817,57	1365,15	24,89

A Figura 11 apresenta a variação da DQO afluente, efluente e a eficiência de conversão em função das fases experimentais.

Figura 11. Variação de DQO afluente, efluente e a eficiência de conversão.



Os desvios padrões elevados da DQO afluente podem ser atribuídos ao resíduo utilizado, pois o mesmo trata-se de um substrato real e diretamente dependente das condições de processamento da propriedade rural, onde ocorre a produção de suínos. A DQO está diretamente ligada às condições de manejo hídrico da granja, ao tipo de alimentação dos animais, e ao volume de água, o qual é incorporado ao dejetos que resulta dos desperdícios dos bebedouros e da água de higienização, as quais são responsáveis pela diluição final do efluente.

As características desse resíduo são difíceis de controlar, mesmo com todo o cuidado com o armazenamento e caracterização. As amostras do efluente da suinocultura possuem características que podem ter influenciado no controle da concentração de matéria orgânica, como por exemplo, a fermentação.

A melhor eficiência de conversão da DQO foi à fase TDH8h/10g (45,59%). Em todos os TDH houve uma redução na conversão, sendo que a fase de menor desempenho do RALF foi a TDH2h/10g (1,71%).

Chernicharo (1997) sugere em seu trabalho um limite de DQO de 30% de remoção na fase acidogênica. Cardoso (2013) trabalhando com manipueira para a produção biológica de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado verificou 22,14% de remoção de DQO nas fases pós adaptação.

5.2.3 Avaliação da Produção de Hidrogênio

A avaliação da eficiência de conversão de um resíduo para a produção de hidrogênio é um critério bastante utilizado por diversos pesquisadores. O mesmo foi utilizado por Amorim (2012), o qual é baseado no número de moles de hidrogênio produzido em função da quantidade teórica de hidrogênio, o qual poderia ser obtido se caso houvesse a conversão de todo o substrato em hidrogênio.

Na reação (5), pode-se observar que a produção teórica máxima de hidrogênio é de 8 mol H₂.mol sacarose⁻¹.



A Tabela 15 apresenta a eficiência de conversão do efluente da suinocultura suplementado com sacarose em hidrogênio. Na mesma tabela também pode-se observar a TCO real aplicada, a qual foi obtida pela razão entre a DQO medida e o TDH real, correspondente a cada fase experimental.

Tabela 15. Valores de produção de hidrogênio utilizando diferente taxas de carregamento orgânico e TDH, levando em consideração a produção de hidrogênio máxima de 8 mol H₂/mol sacarose adicionada

Fase Experimental	TCO Aplicada (kg.m⁻³.d⁻¹)	Hidrogênio Produzido HY* (mol H₂/mol sacarose)	Eficiência de Conversão (%)
TDH8h/10g	40,51	2,96	37,0
TDH6h/10g	54,02	3,42	42,8
TDH4h/10g	81,03	1,68	19,8
TDH2h/10g	162,05	3,22	49,0
TDH2h/8g	145,26	1,83	22,8
TDH2h/6g	102,45	4,90	61,3
TDH2h/4g	81,17	3,39	42,4
TDH2h/2g	43,09	1,06	13,3
TDH2h/0g	21,81	0,81	10,1

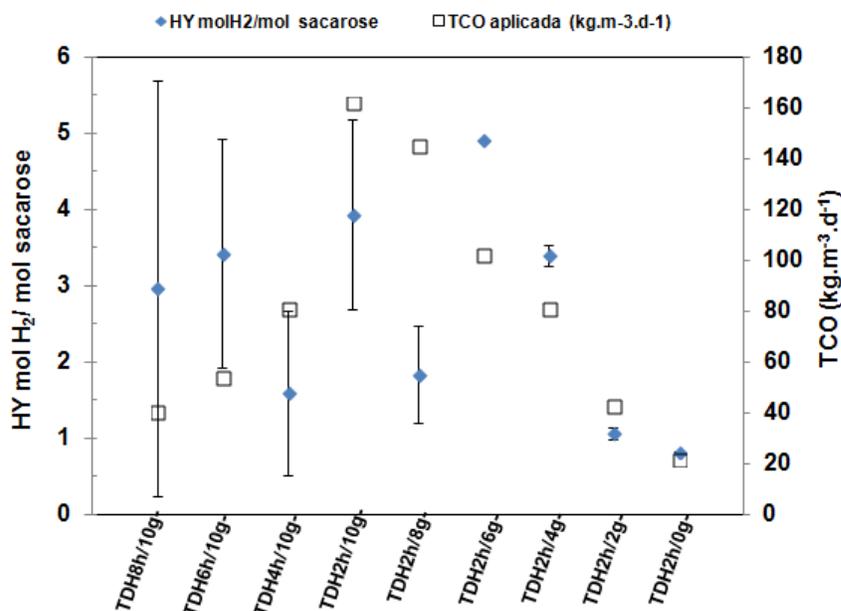
Observou-se na Tabela 15 que no TDH de 2h/6g ocorreu o melhor desempenho do reator, o qual foi obtido 61,3% de conversão. Porém no geral, o desempenho do reator foi em média 33,2%, sendo que na ultima fase onde a suplementação foi totalmente retida a eficiência de conversão foi bastante reduzida apresentado 10,1%.

Amorim (2012) ao trabalhar com a manipueira para a produção biológica de hidrogênio obteve uma eficiência de conversão de 48% num TDH de 2h, mas em geral o reator apresentou uma conversão média de 25% de manipueira em hidrogênio.

A Figura 12 apresenta a variação do rendimento de hidrogênio em função da TCO aplicada.

Com relação ao rendimento de hidrogênio sofreu variação em função da variação da TCO (Figura 12). Observou-se uma instabilidade do rendimento de hidrogênio em função da TCO no período de adaptação (TDH de 8h/10g ao TDH de 2h/10g), sendo que o maior rendimento da produção de hidrogênio foi de 4,90 mols H₂. mol⁻¹ de sacarose com uma TCO aplicada de 102,45 kg.m⁻³. d⁻¹.

Figura 12 Rendimento da produção de hidrogênio (HY) em função da TCO aplicada no reator.



5.2.4 Efeito da Concentração da Suplementação na Produção de Hidrogênio

Nessa pesquisa uma das principais variáveis analisadas foi a eficiência da produção biológica de hidrogênio, a partir da variação da suplementação com o co-substrato sacarose, em função do TDH. A produção volumétrica de hidrogênio (Figura 13) aumentou com a redução do TDH e uma redução em função da diminuição da suplementação com sacarose. Quando a suplementação com sacarose passou de 10g. L⁻¹ para 0g. L⁻¹, ambas em TDH de 2h, observou-se que a produção volumétrica de hidrogênio reduziu de 1,62 para 0,08 L. h⁻¹.L⁻¹. Com relação à redução do TDH de 8h para 2h, ambas com uma suplementação de 10g. L⁻¹ observou-se que a produção volumétrica sofreu um significativo aumento de 0,073 para 1,62 L. h⁻¹. L⁻¹.

Com relação ao rendimento de hidrogênio este também sofreu variação em função da suplementação e do TDH (Figura 14). Foi observado um acréscimo no rendimento de hidrogênio quando o TDH passou de 8h/ 10g. L⁻¹ (2,96 mol H₂ mol sacarose⁻¹) para 6h/10g. L⁻¹ (3,42 mol H₂ mol sacarose⁻¹) e um decréscimo quando passou para o TDH de 4h/10g. L⁻¹ (1,58 mol H₂ mol sacarose⁻¹) e um acréscimo quando passou para o TDH de 2h/10g. L⁻¹ (3,22 mol H₂ mol sacarose⁻¹), sendo que esse período foi considerado como o período de adaptação microbiana.

A partir do momento em que fixou-se o TDH em 2 horas e a concentração de suplementação foi sendo reduzida ocorreu novamente um decréscimo no rendimento de hidrogênio no TDH de 2h/8g. L⁻¹ (1,83 mol H₂ mol sacarose⁻¹), mas no TDH de 2h/6g. L⁻¹ (4,90 mol H₂ mol sacarose⁻¹), o rendimento voltou a subir, já no TDH 2h/4g. L⁻¹ (3,39 mol H₂ mol sacarose⁻¹), 2h/2g. L⁻¹ (1,06 mol H₂ mol sacarose⁻¹) e 2h/0g. L⁻¹ (0,81 mol H₂ mol sacarose⁻¹) os rendimentos sofreram um decréscimo.

Essas constatações com relação à produção volumétrica e ao rendimento de hidrogênio podem está atribuídas à taxa de carregamento orgânico e ao aumento da vazão.

Segundo Chen *et al.* (2001), o aumento da vazão pode promover condições favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos acidogênicos e condições desfavoráveis para a produção de arqueias metanogênicas, as quais são eliminadas do reator.

Figura 13. Produção volumétrica de hidrogênio (HPR) em função da suplementação e do TDH.

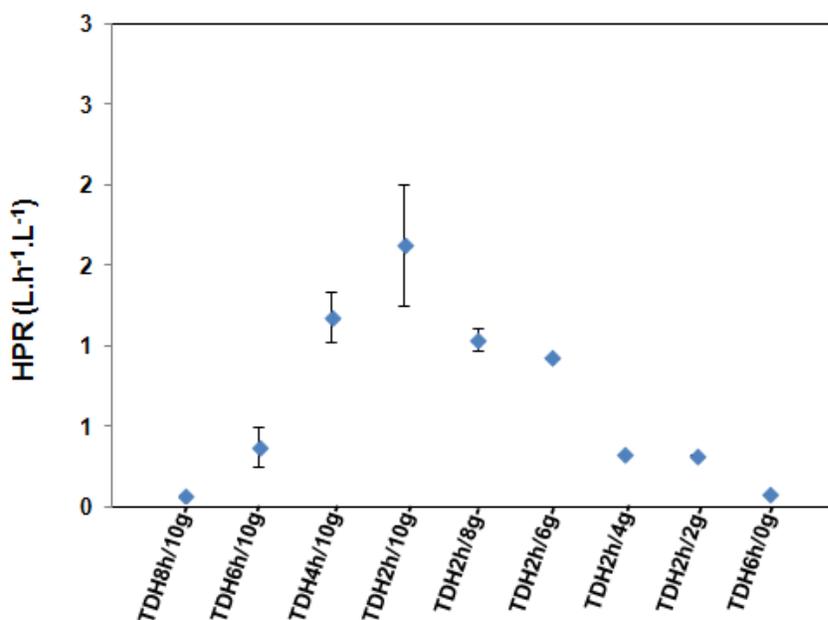
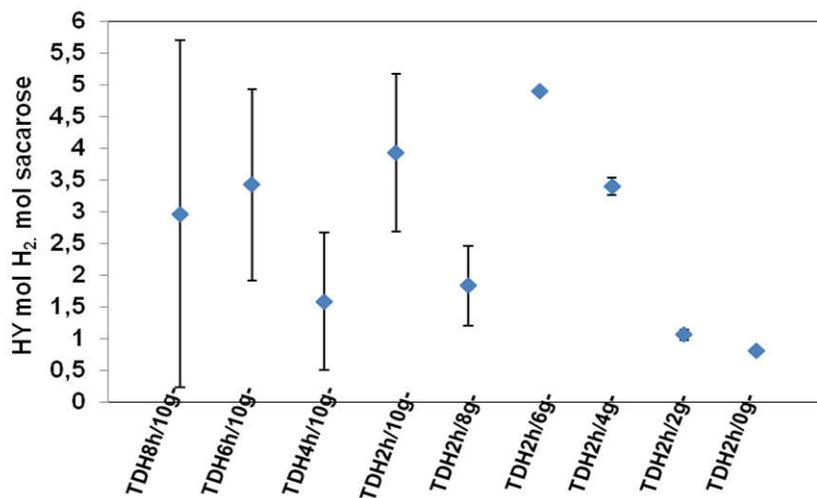


Figura 14. Rendimento de hidrogênio (HY) em função da suplementação e do TDH.



Reis & Silva (2011) observaram em seu trabalho um aumento na produção de hidrogênio (HY) em função da redução do TDH. Quando o TDH foi reduzido à média do HY aumentou nos dois reatores operados no trabalho, variando entre 0,9 e 2,6 mol H₂ mol⁻¹ de glicose para um TDH de 2 h.

Barros & Silva (2012) operando três reatores com materiais suporte diferentes também encontraram o melhor rendimento para o TDH de 2 h de 2,11 mols H₂ mol⁻¹ de glicose.

Nascimbeni (2013) analisou em seu trabalho o rendimento de hidrogênio em função da concentração de suplementação com sacarose e obteve rendimentos de 0,48; 0,60; 1,68 e 1,49 mol H₂ mol⁻¹ de sacarose com uma suplementação de 0,6; 1,2; 2,1 e 5,5 g/L de sacarose. Observou-se que à medida que a suplementação foi sendo retirada o rendimento de hidrogênio foi diminuindo

Na Tabela 16, se observam os valores obtidos para a produção volumétrica e rendimento de hidrogênio.

Tabela 16. Produção Volumétrica (HPR), Rendimento de Hidrogênio (HY) e Eficiência de conversão em função do TDH e da Suplementação.

Fase Experimental	HPR (L.h⁻¹.L⁻¹)	HY mol H₂/mol saca- rose
TDH8H/10g	0,07±0,01	2,96±2,73
TDH6H/10g	0,37±0,13	3,42±1,51
TDH4H/10g	1,18±0,16	1,58±1,07
TDH2H/10g	1,62±0,37	3,22±1,24
TDH2H/8g	1,04±0,07	1,83±0,63
TDH2H/6g	0,93±0,00	4,90±0,01
TDH2H/4g	0,33±0,00	3,39±0,13
TDH2H/2g	0,32±0,00	1,06±0,08
TDH2H/0g	0,08±0,00	0,81±0,02

Foi possível observar que o rendimento da produção de hidrogênio diminuiu conforme a diminuição da concentração de suplementação.

5.3 Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos

O rendimento máximo de H₂ a partir da sacarose só é possível quando os produtos são os gases carbônicos e o ácido acético. Porém outros ácidos foram produzidos, o que pode ter comprometido o rendimento máximo de produção de hidrogênio. Isso deve estar provavelmente associado às populações heterogêneas de microrganismos, os quais se desenvolveram no RALF.

A Tabela 19 mostra os valores dos metabólitos quantificados no RALF. Verificou-se que a rota fermentativa predominante foi a do etanol na maioria das fases experimentais analisadas. Nota-se que nas fases dos TDHs de 8h/10g; 6h/10g; 4h/10g; 2h/10g; 2h/8g e 2h/2g verificou-se o etanol em maior concentração 42,42 mM; 138,76 mM; 254,45 mM; 61,08 mM; 60,44 mM e 9,22mM respectivamente. Já nas fases dos TDHs de 2h/6g e 2h/4g verificou-se maior concentração de ácido butírico 21,66 mM e 17,16 respectivamente e no TDH de 2h/0g ocorreu a maior concentração de ácido acético 2,34 mM.

Tabela 17. Metabólitos solúveis orgânicos produzidos durante a operação do RALF em função do TDH e da suplementação.

Fases	Ácido acético (mM)	Ácido butírico (mM)	Ácido propiônico (mM)	Ácido capróico (mM)	Etanol (mM)	Relação Ác. But./ác. Acét. (mM)
TDH8/10g	39,80	9,53	9,00	0,26	42,42	0,24
TDH6/10g	38,05	15,71	15,61	0,55	138,77	0,41
TDH4/10g	16,75	11,04	10,48	87,79	254,45	0,66
TDH2/10g	17,54	31,91	10,18	0,29	61,08	1,82
TDH2/8g	9,26	12,97	7,26	0,13	60,44	1,40
TDH2/6g	17,64	21,66	8,34	0,18	5,50	1,23
TDH2/4g	3,07	17,16	3,78	0,19	8,38	5,59
TDH2/2g	4,58	1,66	5,72	0,22	9,22	0,36
TDH2/0g	2,34	1,22	1,84	0,19	1,40	0,52

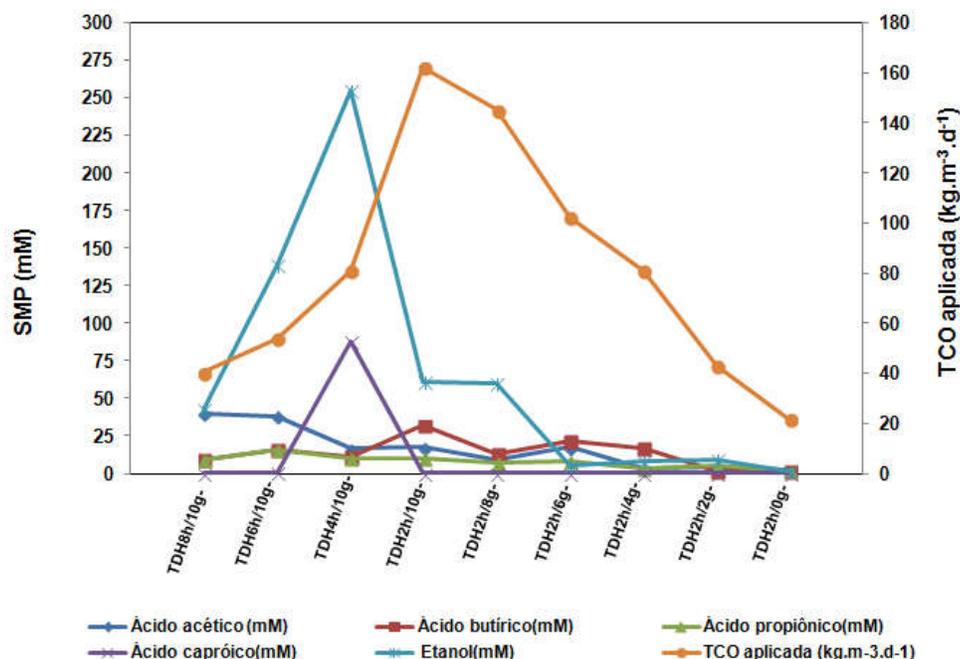
Foi possível observar que há uma heterogeneidade na produção dos ácidos, que variou significativamente, com relação à concentração no tempo de operação do RALF. De acordo com Lay *et al.* (1999), o metabolismo fermentativo da bactéria produtora de hidrogênio *Clostridium* Sp. que é o microrganismo mais comumente encontrado e identificado como produtor de hidrogênio em reatores anaeróbios, gera como produtos da fermentação solventes, como o metanol e o etanol. Segundo esses autores essa espécie produz ácidos de cadeia longa durante a fase de crescimento exponencial e na última fase do crescimento, o metabolismo do microrganismo muda para a produção de solventes.

A taxa de carregamento orgânico variou acompanhando as variações de DQO afluente e TDH.

Na Figura 15 também foi possível observar a produção dos ácidos e álcoois em função da taxa de carregamento orgânica aplicada (TCO). Nas maiores concentrações do co-substrato a sacarose observou-se a produção do solvente etanol no reator em maiores concentrações.

No estudo realizado por Amorim (2009) o autor observou característica similar, pois nos reatores operados com concentrações de glicose (10000 e 25000 mg.L⁻¹) o autor detectou a maior quantidade de solventes a exemplo do etanol e do metanol.

Figura 15. Metabólitos solúveis orgânicos produzidos durante a operação do RALF em função do TDH da suplementação e da TCO aplicada.



A presença do etanol em maiores concentrações em todas as fases desse experimento pode indicar a possibilidade de produção de hidrogênio por meio da rota metabólica, que produz etanol e hidrogênio simultaneamente (Reação 8).



No que diz respeito a relação ácido butírico/ ácido acético no TDHs de 8h/10g; 6h/10g; 4h/10g; 2h/10g e 2h/0g apresentaram relações semelhantes com valores baixos, mas foi observado que nessas fases os metabólitos em maiores concentrações foram o etanol e o ácido acético, respectivamente. Sabe-se que a rota do etanol favorece o consumo do substrato que provavelmente seria consumido pelo processo da rota do ácido acético e ou/ do ácido butírico.

Na Figura 15, nota-se que a distribuição de etanol no efluente foi produzida em maiores concentrações na fase experimental do TDH de 8h/10g; 6h/10g; 4h/10g; 2h/10g; 2h/8g e 2h/2g.

Foi possível destacar que na fase experimental do TDH de 2h/10g, a qual se observou o segundo melhor rendimento na produção de hidrogênio, que ocorreu a maior concentração

de etanol (61,08 mM). Já na fase experimental do TDH de 2h/6g, a qual apresentou o maior rendimento de hidrogênio, foi possível observar que os metabólitos predominantes nessa fase foram o ácido butírico com (21,66 mM), seguido pelo ácido acético com (17,64 mM). Este resultado não era o esperado na pesquisa, já que a rota com a maior conversão de sacarose a hidrogênio é a com produção de ácido acético (Reação 5).



O ácido butírico foi o segundo metabólito mais presente durante o experimento. A maior produção desse ácido ocorreu na fase experimental do TDH de 2h/6g (21,66 mM). Assim quando o ácido butírico é o produto da fermentação, o rendimento máximo teórico da produção biológica de hidrogênio é a metade do observado na produção do ácido acético, conforme pode-se observar na (Reação 6).



Com relação ao ácido propiônico observou-se um pico mais acentuado, mas não em relação à produção dos outros ácidos no TDH de 6h/10g, onde a produção do ácido propiônico foi de (15,61 mM). Na fase do TDH de 2h/2g (5,72 mM) esse valor foi mais elevado que a produção de ácido acético, butírico e etanol.

A produção de ácido acético foi observada em todas as fases do experimento. No TDH de 2h/10g foi observada a maior produção (39,80 mM). Já na fase do TDH de 2h/0g foi detectada a menor produção do ácido acético (2,34 mM).

Nascimbeni (2013) ao trabalhar com a sacarose com substrato para a produção de hidrogênio observou que em todos os ensaios realizados em sua pesquisa, ocorreu a produção de ácido acético e etanol, sendo que, ao contrário dos resultados obtidos nessa pesquisa o autor obteve na menor concentração de sacarose (0,6 g/L) a maior produção de ácido acético (128,02 mg/L), seguido pelos ensaios de (1,2 g/L) de sacarose e (49,17 mg/L) de ácido acético, (2,1 g/L) de sacarose e (21,8 mg/L) de ácido acético. Contudo deve-se ressaltar que o autor trabalhou apenas com sacarose como substrato enriquecido com um consórcio microbiano.

Li *et al.* (2010) obteve como produto final da fermentação para a produção biológica de hidrogênio utilizando efluente da suinocultura suplementado com glicose, o ácido acético, butírico, propiônico e o etanol, mas a sua distribuição foi altamente dependente do pH. A me-

nor produção de ácido acético (88,8 mg/L) foi observada no pH de 5,0 e a maior produção (598,6 mg/L) foi observada no pH de 5,9.

Na Tabela 18 é apresentada a porcentagem de cada metabólito produzido pelo RALF. Para o cálculo da porcentagem de cada metabólito produzido em relação ao total, baseou-se na fração molar de cada produto, visto que cada composto possui um peso molecular diferente.

Tabela 18. Porcentagem de cada metabólito produzido durante a operação do RALF.

Fase Experimental	Ácido Acético %	Ácido Butírico %	Ácido propiônico %	Ácido Caprótico %	Etanol %	Hidrogênio Produzido HY* (mol H ₂ /mol sacarose)
TDH8H/10g	36,87	10,03	8,90	0,26	43,93	2,96
TDH6H/10g	21,97	8,71	8,40	0,29	60,62	3,42
TDH4H/10g	10,22	1,92	6,63	13,36	67,88	1,68
TDH2H/10g	14,56	26,38	8,45	0,24	50,37	3,22
TDH2H/8g	10,28	14,40	8,06	0,14	67,12	1,83
TDH2H/6g	33,07	40,62	15,65	0,34	10,31	4,90
TDH2H/4g	9,43	52,70	11,60	0,59	25,68	3,39
TDH2H/2g	21,37	7,78	26,69	1,02	43,14	1,06
TDH2H/0g	27,95	18,00	29,11	1,99	22,95	0,81

De acordo com a Tabela 18, observou-se que a produção de etanol nas nove fases experimentais, variou de 43,93 (TDH 2h/10g) a 10,31% (TDH 2h/6g). Na fase experimental do TDH 2h/4g ocorreu a maior produção de ácido butírico 52,70%. No caso do ácido acético a sua maior produção foi no TDH de 8h/10g 36,87%, não coincidindo com a fase de maior rendimento na produção de hidrogênio que foi a do TDH de 2h/6g, onde ocorreu maior produção do ácido butírico.

Com base na fração molar o etanol e os ácidos acéticos e butírico apresentaram as maiores porcentagens. No reator os produtos em ordem crescente foram acetato (9,43 a 36,87%), butirato (1,92 a 52,70%), propionato (6,63 a 29,11%), caprótico (0,14 a 13,36%) e etanol (10,31% a 67,88%).

De acordo com a revisão bibliográfica realizada a manipulação de alguns parâmetros operacionais, como o TDH, pode contribuir para o carregamento das arqueias metanogênicas nos reatores. Tal fato pode ser comprovado através dos valores de pH efluente obtidos nas fases do TDH2h/2g (5,27) e no TDH2h/0g (7,85), onde foi observada baixa produtividade da atividade acidogênica. Segundo Chen *et al.* (2001) o carregamento desses microrganismos

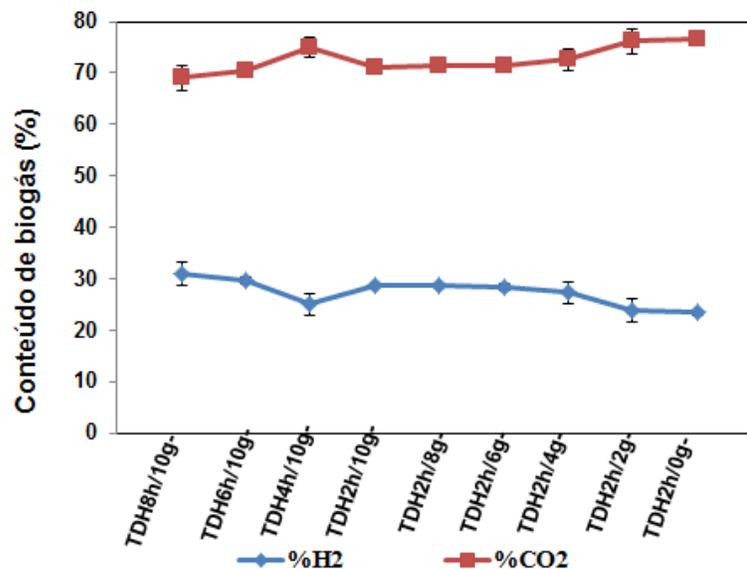
pode se dar pelo fato da velocidade específica máxima de crescimento das arqueias metanogênicas ($\mu_{\text{máximo}} = 0,0167 \text{ h}^{-1}$) ser significativamente inferior a velocidade máxima de crescimento dos microrganismos acidogênicos ($\mu_{\text{máximo}} = 0,083 \text{ h}^{-1}$). Essa comparação nos mostra que os microrganismos metanogênicos são incapazes de se reproduzirem ou manterem-se em equilíbrio em tais condições, contribuindo para que os mesmos sejam eliminados do reator.

Com relação aos resultados obtidos dos metabólitos solúveis produzidos nesse estudo e os dados de produção de rendimento de hidrogênio, observou-se que as concentrações dos ácidos individualizados sofreram influencia da redução do TDH e da concentração de suplementação. Os resultados encontrados nesse estudo e nos demais citados revelam a necessidade de se controlar a manutenção das populações acidogênicas, prevenindo a contaminação de outros microrganismos não produtores de hidrogênio evitando assim a competição de diversos microrganismos pelo substrato utilizado.

5.4 Composição do Biogás

A composição do biogás também revela que o melhor desempenho do RALF foi na fase experimental do TDH de 2h/10g (29,77%) de hidrogênio e reforça a teoria que ocorreu rotas metabólicas diferentes nas nove fases do experimento. No biogás ao analisar o H_2 e o CO_2 que correspondem a praticamente a totalidade do mesmo verificou-se que na fase do TDH de 2h/2g apresentou a menor porcentagem de hidrogênio na composição do biogás (22,32%), conforme mostra Figura 16.

Figura 16. Composição de H₂ e CO₂ gerado no biogás produzido no RALF em função da fase experimental.



Trevisan & Monteggia (2009) ao utilizar a digestão anaeróbia em dois estágios para a produção de biogás a partir do efluente da suinocultura, obteve concentrações de hidrogênio variando de 7 a 9% no gás produzido no reator acidogênico, nos períodos de aumento da carga orgânica.

Hernández & Rodríguez. (2013) obteve concentrações de hidrogênio entre 23,6 e 26,9% num TDH de 12 e 24 h respectivamente, ao utilizar dejetos de suínos como substrato para a produção de hidrogênio.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram a viabilidade de melhorar a produção de hidrogênio a partir de produção biológica por fermentação de efluente de suinocultura suplementado com sacarose. O presente estudo mostrou a aplicabilidade do RALF para a produção de hidrogênio.

Os resultados indicaram que, a sacarose como suplemento pode proporcionar não só nutrientes, mas tem a capacidade de manter o pH ideal para a produção de hidrogênio, enquanto que serve como co-substrato para aumentar o rendimento de hidrogênio.

Conforme os resultados obtidos na realização desta pesquisa, com as condições operacionais aplicadas, foi possível detectar a produção de hidrogênio a partir de efluentes da suinocultura suplementado com sacarose em reator anaeróbio de leito fluidificado. As seguintes conclusões foram observadas:

- A fase com TDH de 2h e 10g/L de sacarose apresentou maior produção volumétrica ($1,62 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$) e o maior rendimento de hidrogênio foi observado na fase do TDH 2h/6g ($4,90 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ sacarose).
- Durante as fases com TDH de 2h e suplementação de 2 e 0 g/L de sacarose observou-se que ao reduzir a suplementação com sacarose ocorreu uma significativa redução da produção volumétrica e do rendimento de hidrogênio.
- Os metabólitos solúveis detectados no efluente ao longo da operação do reator foram: Ácido Acético (9,93% a 36,87%), Ácido Butírico (1,92% a 52,70%), o Ácido Propiônico (6,63% a 29,11%), o capróico (0,14% a 13,36%) e o Etanol (10,31% a 67,88%).
- Observou-se que a distribuição dos metabólitos solúveis presentes no reator pode ter sido influenciada pela suplementação e TDH.
- Na fase experimental do TDH de 6h/10g ocorreu à produção mais elevada de ácido butírico, a qual coincidiu com o maior rendimento da produção de hidrogênio.

- Na fase experimental do TDH de 2h e 10 g/L de sacarose ocorreu o predomínio da rota do etanol (67,88 %).

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros têm-se:

- Realizar a estimativa de faixas mais próximas do TDH ótimo para buscar melhores resultados na produção de hidrogênio;
- Avaliar a influência do controle do pH;
- Estudar o efeito do pré-tratamento do resíduo na produção de hidrogênio a partir do efluente de suinocultura suplementado com sacarose;
- Avaliar a configuração de outros reatores para a produção de hidrogênio a partir de efluente da suinocultura;
- Avaliar a adoção de outros tipos de co-substratos na suplementação de efluente da suinocultura para a produção de hidrogênio;
- Aplicar técnicas de biologia molecular, que permitiram identificar os gêneros de bactérias presentes por fase do experimento.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. Site corporativo. Disponível em <http://www.abipecs.org.br>. Acessado em 17 de outubro de 2013.

AMORIM, E. L. C. Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidificado. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

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

AMORIM, N. C. S. Produção de Hidrogênio a partir da Manipueira em Reator Anaeróbico de Leito Fluidificado. 2012 107 f. Dissertação (Mestrado em recursos hídricos e saneamento) - Universidade federal de Alagoas, Maceió, 2012.

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

AVELINO, N. J. Produção biológica de hidrogênio a partir da manipueira e esgoto sanitário. 2013. 56 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) –Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2013.

BACKUS, G. B. C.; VAGENBERG, C. P. A. V; VERDOES, N. Environmental impact of pig meta production. *Meat Science*, v. 49, p. 65-72. 1998.

BARBARI M.; ROSSI, P. Risparmiari acqua conviene: meno liquami da Smaltire. *Suplemento a l'Informatore Agrário*, Verona, v. 18, p. 11-17, 1992.

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

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

_____, A. R; SILVA, E. L. Hydrogen and ethanol production in anaerobic fluidized bed reactors: Performance evaluation for three support materials under different operating conditions. *Biochemical Engineering Journal*.v. 61, p. 59-65, 2012.

BELLI FILHO, P. *et al.* Tecnologias para o tratamento de dejetos de Suínos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 5, n. 1, p. 166-170, 2001.

BONETT, L. P.; MONTICELLI, C. J. (Ed.). Suínos: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI; Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1998. 243 p. (Coleção 500 Perguntas 500 Respostas).

CAI, M. L., & Liu, J. X. Factors effecting hydrogen production from anaerobic fermentation of excess sewage sludge. *Environmental Science*, v. 26, p.98–101, 2005.

CAMPOS, C. M. M.; HARDOIM, P. C.; BOTELHO, C. G. SEVERO, J. C. A. Programa computacional para simulação e dimensionamento de sistemas de tratamento de dejetos suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA (CONBEA), 28., 1999, Pelotas, RS. Anais...Pelotas: SBEA, 1999. p. 165.

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

CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Biohydrogen Production with Fixed-Bed Bioreactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 27, p. 1167–1174, 2002.

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

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.

_____, C. C.; LIN, C. Y. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen producing reactor. *Advances in Environmental Research*, v.7, p. 695-699, 2004.

CHEN, W-M. *et al.* Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 30, p. 1063-1070, 2005.

CHEN, X.; SUN, Y.; XIU, Z.; LI, X.; ZHANG, D. Stoichiometric analysis of biological hydrogen production by fermentative bacteria. In: *International Journal of Hydrogen Energy*, v.31, p.539-549, 2006.

CHERNICHARO, C. A. de L. *Reatores anaeróbios*. Belo Horizonte: UFMG, 1997. 246 p.

CHYNOWETH, D.P., Environmental impact of biomethanogenesis. *Envir Monitoring and Assessment*. V.42, p.3-18, 1996.

CONRAD, J. H., MAYROSE, V. B. Animal waste handling and disposal in confinement production of swine. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v. 32, n. 4, p. 811-815, 1971.

DABROCK. B, Bahl H, Gottschalk G. Parameters affecting solvent production by *Clostridium pasteurium*. *Appl Environ Microbiol.* v. 58, p.1233–1239, 1992.

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

DAVILA-VAZQUEZ, G.; ARRIAGAS, S.;ALATRISTE-MONDRAGO'N, F.; LEO'N-RODRIGUEZ, A.; ROSALES-COLUNGA, L. M.; RAZO-FLORES, E. Fermentative biohydrogen production: trends and perspectives. *Revista Environ Sei Biotechnol*, v. 7, p. 27-45, 2008.

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

FAN, Y. et al. Optimization of initial substrate and pH levels for germination of sporing hydrogen-producing anaerobes in cow dung compost. *Bioresource Technology*, v. 91, p. 189-193, 2004.

FANG, H. H. P.; LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed cultura. In: *Bioresouce Tecnology*, v. 82, p. 87-93, 2002.

_____, H.H.P.; LI, C.; ZHANG T. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry. *International journal of Hydrogen Energy*, v.31, p. 683-692, 2006.

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

HALLENBECK, P. C., & BENEMANN, J. R. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.27, p. 1185–1193, 2002.

HERNANANDEZ, M. RODRIGUEZ, M. Hydrogen production by anaerobic digestion of pig manure: Effect of operating conditions. *Renowable Energy*, v. 53, p. 187-192, 2013.

<http://www.asemg.com.br/novo/noticias/carne-suina-producao-brasileira>. Acessado em 25 de março de 2012.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa da pecuária Estadual Disponível em www.ibge.gov.br/. Acessado em setembro de 2012.

JELINEK, T. Collection, storage and transport of swine wastes. In: TAIGANIDES, E. P. *Animal wastes*. Essex, England Applied Science, p. 165–174, 1977.

JUNGINGER, M.; VISSERA, E.; HJORT-GREGERSEN, K.; KOORNNEEFA, J.; RAVENC, R; FAAIJA, A.; TURKENBURGA, W. Technological learning in bioenergy systems. *Energy Policy*, v. 34, p. 4024-4041, 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.

KRAEMER, J.T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. *Biotechnol Lett*, v. 29, p. 685–95, 2007.

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

KAWAGOSHI, Y.; HINO, N; FUJIMOTO, A.; NAKAO, M.; FUJITA, Y.; SUGIMURA, S.; FURUKAWA.; K. Effect of seed sludge conditioning on hydrogen fermentation and pH effect on bacterial community relevant to hydrogen production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 100, n. 5, p. 524-530, 2005.

KONZEN, E. A. Avaliação quantitativa e qualitativa dos dejetos de suínos em crescimento e terminação, manejados de forma líquida. 1980. 56 f.. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1980.

_____, E. A. Manejo e utilização dos dejetos suínos. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1983. 32 p. (Circular técnica, 6).

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

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.

LEITE, J.A.C.; FERNANDES, B. S.; BARBOZA, M.; ZIAT, M. Application of an Anaerobic Packed Bed Bioreactor for the Production of Hydrogen and Organic Acids. In: *International journal of Hydrogen Energy*, v. 33, p. 579-586, 2008.

LI, Y.; ZHU, J.; WU, X.; MILLER, C.; WANG, L. The Effect of pH on Continuous Biohydrogen Production from Swine Wastewater Supplemented with Glucose. *Appl Biochem Biotechnol*, v. 162, p. 1286–1296, 2010.

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

LIN, 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.

LINDER, S. "Coming to Terms with the Public -Private Partnership. A Grammar of Multiple Meanings" *American Behavioral Scientist*, V., 43, n. 1, p. 35-51, 1999.

LOEHR, R. C. *Agricultural waste management: problems, processes and approaches*. New York: Academic Press, 576 p., 1974.

MOHAN, S. V.;BABU, V. L.; SARMA, P. N. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate. In: *Biouresource Technology*, v.99, p. 59-67, 2008.

MU, Y., & YU, H. Q. Biohydrogen production from sucrose-rich wastewater by anaerobic granules, Proc. 2nd International Workshop on Innovative Anaerobic Technology. Sendai, Japan, p. 22–31, 2004.

_____; _____; Wang, Y. The Role of pH in the Fermentative H₂ Production from an Acidogenic Granule-Based Reactor. *Chemosphere*, v.64, p. 350–358, 2006.

NANDI, R., & SENGUPTA, S. Microbial production of hydrogen: An overview. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 24, p. 61–84, 1998.

NASCIMBENI, F. A. Avaliação da produção biológica de hidrogênio em reator em batelada sob condições termófila. 2013. 74 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 5ª ed, p. 1274. Porto Alegre, 2011.

NISHIO, N.; NAKASHIMADA, Y. High rate production of hydrogen/methane from various substrates and wastes. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, v. 90, p. 63–87, 2004.

OLIVEIRA, P. A. V. (coord.) Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1993. 188 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 27).

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

PERDOMO, C. C.; LIMA, G. J. M. M.; NONES, K. Produção de suínos e meio ambiente. In: ANAIS do 9º Seminário Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura, Gramado-RS. p. 8-24, 2001.

PERERA, K. R. J; NIRMALAKHANDAN, N. Evaluation of dairy cattle manure as a supplement to improve net energy gain in fermentative hydrogen production from sucrose. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 8688-8695, 2011.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M.M.; MONTERAMI, F. Efeitos do pH, acidez, e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) tratando efluente da suinocultura. *Revista Ambiental & Águas*, v. 4, n.3, p. 157-168, 2009.

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

_____, C. M; SILVA, E. L. Effect of upflow velocity and hydraulic retention time in anaerobic fluidized-bed reactors used for hydrogen production. *Chemical Engineering Journal*, v. 172, p. 28-36, 2011.

_____, C. M. SILVA, E. L. Avaliação da produção de hidrogênio a partir da vinhaça em reator anaeróbio de leito fluidizado utilizando glicose como substrato de partida. In: ANAIS

DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Produção de bioenergia no tratamento de águas residuárias e adequação ambiental dos efluentes e resíduos gerados. 2012, São Carlos. Anais...São Carlos: EESC/USP, p.195-203.

REN, N.; WANG, B.; HUANG, J. C. Ethanol-Type Fermentation from Carbohydrate in High Rate Acidogenic Reactor. In: *Biotechnology and Bioengineering*, v.54, p. 428-433, 1997.

RODRIGUES, J.A.R. Do Engenho a Biorrefinaria. A usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. *Química Nova*, v, 34, n.7, p.1242-1254, 2011.

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

SANTANA, A. M.; OLIVEIRA, R.A. de. Desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo em dois estágios tratando águas residuária de suinocultura. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.25, n.3, p.817-830, 2005.

SEGANFREDO, M. A. A questão ambiental na utilização de dejetos de suínos como fertilizantes do solo. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. 35 p. (Embrapa Suínos Aves. Circular Técnica, 22)

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

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

SILVA, P. R. Lagoas de estabilização para tratamento de resíduos de suínos. 1973. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1973.

SINOTTI, A. P. S. Avaliação do volume de dejetos e da carga de poluentes produzidos por suíno nas diferentes fases do ciclo criatório. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SOUZA, C.F. *Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos*: obtenção de dados e aplicação no desenvolvimento de um modelo dinâmico de simulação da produção de biogás. 2001. 140 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

_____, C. F.; JÚNIOR, J. L.; FERREIRA, W. P.M. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato-considerações sobre a partida. *Revista Engenharia Agrícola*, v. 25, n. 2, p. 530-539, 2005.

TREVISAN, V.; MONTEGGIA, L.O. Produção de biogás a partir de efluente da suinocultura utilizando digestão anaeróbia em dois estágios. In: ANAIS do I Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos de Animais. Geração de Energia a partir de Resíduos Animais, 2009 – Florianópolis, SC – Brasil, p. 264-268.

_____, V. Proposta de metodologia para a produção da atividade hidrogênica específica, 2010, 187 f. Tese (Doutorado em recursos hídricos e saneamento ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. Inhibition of hydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. In: Environmental science and Technology, v. 39, p. 9351-9356, 2005.

WANG, J.L; Wan W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. Int J Hydrogen Energy; v. 34, n. 2, p. :799-811, 2009.

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.

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

YASMIN J; GUPTA H; BANSAL B; SRIVASTAVA O. Effect of combustion duration on the performance and emission characteristics of a spark ignition engine using hydrogen as a fuel. Int Journal Hydrogen Energy; v. 25, p. 581-589, 2000.

XING, Y.; LI, Z.; FAN, Y.; HOU, H. Biohydrogen production from dairy manures with acidification pretreatment by anaerobic fermentation. Environ Sci Pollut Res v, 17, p.392–399, 2010.

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

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