

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO - SHS

GESSIA MOMOE SHIDA

**Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator
anaeróbico de leito fluidificado**

São Carlos
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

GESSIA MOMOE SHIDA

**Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator
anaeróbio de leito fluidificado**

Dissertação apresentada ao Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento.


Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

**São Carlos
2008**


FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharel **GESSIA MOMOE SHIDA**

Dissertação defendida e julgada em 28/04/2008 perante a Comissão Julgadora:



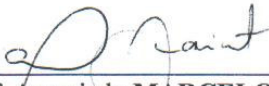
Prof. Dr. **EDSON LUIZ SILVA (Orientador)**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar) Aprovada.



Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) Aprovada



Prof. Dr. **CARLOS OSAMU HOKKA**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar) APROVADA



Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia (Hidráulica e Saneamento)



Prof. Associado **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

S555p Shida, Gessia Momoe
Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por
fermentação acidogênica em reator anaeróbico de leito
fluidificado / Gessia Momoe Shida ; orientador Edson Luis
Silva. -- São Carlos, 2008.

Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área
de Concentração em Hidráulica e Saneamento) -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2008.

1. Hidrogênio. 2. Processos anaeróbios. 3. Ácidos
orgânicos. 4. Acidogênese. 5. Reator anaeróbico de leito
fluidificado. I. Título.

DEDICATÓRIA

A Deus por conceder sabedoria e força, aos meus pais pela educação, ensinamentos e esforços em tornar meu sonho realidade. À toda a minha família.

A todos os amigos que contribuíram para o meu aprendizado e pela convivência durante esses bons anos.

“A leitura faz o homem completo. A conversação o torna ágil. E o escrever o leva a ser preciso”

Francis Bacon

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Edson Luiz Silva por toda a confiança, ensinamentos teóricos e de vida, amizade e orientação.

À equipe do Laboratório de Controle Ambiental II, Laura, Sylvia, Aruana, Eduardo, Jorge, Gilberto e Alexandre, por toda a colaboração, aprendizado, companheirismo, paciência e momentos descontraídos.

Ao grupo do Laboratório de Processos Biológicos por toda a colaboração, carinho e comprometimento com as atividades.

Ao Professor Marcelo Zaiat pela gentileza em permitir a utilização de equipamentos essenciais para a realização desse trabalho, pelos ensinamentos, pelas contribuições e sugestões no exame de qualificação.

À Professora Maria Bernadete Amâncio Varesche pelos ensinamentos, co-orientação, convivência em sala de aula, atenção e carinho.

Ao Professor Eugênio Foresti pela convivência em sala de aula, ensinamentos teóricos e de vida, pelas sugestões de pesquisa.

À Maria Ângela Talarico Adorno (Janja) pelo carinho, colaboração, ensinamentos e utilização do cromatógrafo.

À Dra. Eloísa Pozzi pelo carinho, atenção e colaboração com a parte da microbiologia.

Às pós-doutorandas Nora Kátia e Tininha pela ajuda nas técnicas de Biologia Molecular.

À doutoranda Daniele Vital Vich pela amizade, momentos de descontração e pela ajuda na parte experimental.

À Márcia Damianovic pelo carinho, pelas contribuições e sugestões apresentadas no exame de qualificação.

Ao Professor Carlos O. Hokka pelas contribuições e sugestões apresentadas no exame de qualificação.

Ao técnico Oscar da Silva, profissional e artista, pela montagem do reator e serviços prestados.

Ao Senhor Nelson Gallo pela contribuição nas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Técnico Amadeus pelos ensinamentos sobre a metodologia da glicose-oxidase.

Às funcionárias da limpeza dos laboratórios do Departamento de Engenharia Química.

À Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Hidráulica e Saneamento em nome de todos os professores, pelo excelente nível de educação oferecido durante a pós-graduação.

A todos os funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento, principalmente, Pavi e Sá pelo auxílio.

A CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro e pelo investimento no Laboratório de Controle Ambiental II do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos.

A todos os colegas de turma, pelo aprendizado, conversas, risadas, pelos momentos de descontração.

Ao Professor Clóvis Wesley de Souza, do Departamento de Morfologia e Patologia da Universidade Federal de São Carlos, amigo e orientador, me apresentou a microbiologia, as suas dificuldades, a disciplina, a precisão e a sua importância.

A todos os amigos que convivi, com todo o meu prazer, durante todos esses anos. Com eles, tive a oportunidade de aprender, superar desafios, reconhecer os erros, respeitar as limitações e as diferenças. A vocês devo muito: Dani, Paulinhas, Plantinha, Carol Paulista, Gil,

Caratinga, Morfo, Carolzinha, Carolzona, Fers, Jus, Thaís, Marinão, Carioca, Paty, Cíntia, Paulito, Lissa, Andrey, Joel, Jorge, Laura, Aruana e Sylvia.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	vi
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo geral.....	5
2.2 Objetivos específicos	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1 Digestão Anaeróbia	6
3.2 Acidogênese	11
3.3 Estratégias para a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos.....	15
3.3.1 Culturas puras.....	17
3.3.2 Tratamento do inóculo	18
3.3.3 Controle do pH.....	22
3.3.4 Influência do TDH.....	26
3.3.5 Influência da Velocidade de Carregamento Orgânico (TCO) e Concentração de substrato	32
3.3.6 Influência da Temperatura	36
3.6 Reator anaeróbio de leito fluidificado	37
3.6.1 Meio suporte para aderência microbiana.....	41
MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Inóculo	43
4.2 Água Residuária Sintética.....	43
4.3 Material Suporte	45

4.4 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado.....	46
4.5 Descrição geral do experimento.....	49
4.6 Métodos analíticos.....	52
4.6.1 Determinação da glicose.....	52
4.6.2. Determinação de ácidos voláteis e solventes.....	52
4.6.3. Determinação de hidrogênio	53
4.7 Avaliação da comunidade microbiana.....	54
4.8 Estimativa da concentração de biomassa aderida ao suporte	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1 Produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes em reator anaeróbio de leito fluidificado sob os diferentes TDHs.....	56
5.2 A influência do pH sobre a produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes. ..	75
5.3 Avaliação do tratamento térmico e período de adaptação empregado nesse estudo para o enriquecimento de bactérias acidogênicas produtoras de hidrogênio	80
5.4 Influência da Taxa de Carregamento Orgânico (TCO) na produção de Hidrogênio	84
5.5 Sólidos suspensos voláteis (SSV) e perfil da biomassa nas diferentes alturas do reator	87
5.6 DQO e Balanço de Carbono.....	90
CONCLUSÕES.....	94
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
SUGESTÕES DE CONTINUIDADE.....	97
REFERÊNCIAS.....	98

RESUMO

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

A matéria orgânica presente nas águas residuárias representa uma matéria prima barata para integrar o processo de digestão anaeróbia e gerar fontes de energia alternativas, como o hidrogênio. O hidrogênio pode substituir os combustíveis fósseis não renováveis e diminuir as emissões de gases do efeito estufa responsável por grande parte da mudança climática global. A combustão do hidrogênio com o oxigênio produz somente vapor d'água e representa 2,75 vezes mais conteúdo de energia que qualquer hidrocarboneto. Além disso, os ácidos orgânicos gerados no processo podem ser utilizados como fonte de carbono para a produção de metano, hidrogênio por organismos fototróficos e biopolímeros e, para a remoção de nutrientes biológicos. A produção de hidrogênio tem sido estudada em reatores de crescimento suspenso e de crescimento imobilizado como o reator anaeróbio de manta de lodo (UASB), reator anaeróbio de leito fixo e reator anaeróbio de leito fluidificado. O objetivo desse estudo foi avaliar a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em um reator anaeróbio de leito fluidificado contendo argila expandida como material suporte. O reator tinha 190 cm de altura, 5 cm de diâmetro interno e um volume de 4192 cm³. O reator foi inoculado com lodo pré-tratado termicamente a 90°C por 10 minutos para o enriquecimento do inóculo acidogênico. O sistema foi operado com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8, 6, 4, 2 e 1 h e foi alimentado com água residuária sintética contendo 2000 mg.L⁻¹ de glicose. A operação contínua teve duração de 178 dias, e em cada TDH o reator foi operado durante, aproximadamente, 30 dias. A 30°C e pH de 3,8, cerca de 91 a 98% da glicose foi removida. A diminuição do TDH de 8 para 1 h conduziu a um aumento na velocidade média de produção de hidrogênio volumétrico de 0,27 para 1,03 L.h⁻¹.L⁻¹, respectivamente. A máxima velocidade de produção de hidrogênio, de 1,28 L.h⁻¹.L⁻¹, foi obtida em TDH de 1 h. Em geral, o rendimento de produção de hidrogênio diminuiu com o TDH, de 3,29 mols H₂.mol glicose⁻¹ em TDH de 8 h para 2,40 mols H₂.mol glicose⁻¹ em TDH de 1 h. O biogás não continha metano e o conteúdo máximo de hidrogênio foi de 37% em TDH de 2 h. Foi observada uma correlação linear entre a velocidade de produção de hidrogênio e a taxa de carregamento orgânico (TCO). Ainda, a TCO máxima de 104 kg.m⁻³.d⁻¹ não inibiu a produção de hidrogênio. Os maiores metabólitos solúveis foram o ácido butírico (41,72-53,63%) e o ácido acético (34,09-49,99%) com insignificante concentração de etanol (menor do que 9,0%). A produção de hidrogênio estável e a porcentagem de ácido butírico sobre o ácido acético indicam que o tratamento térmico do lodo foi efetivo e uma típica fermentação do tipo ácido butírico pode ser assegurada por *Clostridium*. Além disso, foram alcançados bons desempenhos de produção de hidrogênio sob condições de pH em torno de 4,0.

Palavras-chave: Hidrogênio. Processos anaeróbios. Ácidos orgânicos. Acidogênese. Reator anaeróbio de leito fluidificado.

ABSTRACT

SHIDA, G.M. (2008). Hydrogen and volatile fatty acids production by acidogenic fermentation in anaerobic fluidized bed reactor. Dissertation – School of Engineering of Sao Carlos, Department of Hydraulics and Sanitation, University of Sao Paulo, Sao Carlos

Organic materials in the wastewater can be an inexpensive raw material for integrating fermentation process and supplying renewable energy source such as hydrogen. Nevertheless hydrogen can replace fossil fuels and reduce greenhouse gases responsible for global climate change. The hydrogen combustion with oxygen produces only water vapor and hydrogen gas has 2.75 times the energy content of any hydrocarbons. Furthermore, the volatile fatty acids production can be used as carbon source for methane, photosynthetic hydrogen, bioplastics production and biological nutrients removal. The hydrogen production was carried out in suspend cell system, anaerobic sludge blanket reactor, fixed bed reactors and fluidized bed reactors. The objective of this study was to evaluate the hydrogen and volatile fatty acids production in an anaerobic fluidized bed reactor containing expanded clay like a material to immobilize acclimated anaerobic sludge. The reactor has presented 190 cm high, 5 cm in internal diameter and volume of 4192 cm³. The reactor was seeded with a heat treated sludge at 90°C for 10 minutes for enriching H₂ producing inoculum and suppressing methanogens. The system was operated at hydraulic retention time (HRT) of 8, 6, 4, 2 and 1 h and was fed with syntetic wastewater containing 2.000 mg glucose.L⁻¹. The continuous operation lasted 178 days, and in each TDH the reactor was operated for approximately 30 days. At 30 °C and pH 3.8, about 91-98% of glucose was removed. The decrease of HRT from 8.0 to 1.0 led to a marked increase in the mean volumetric hydrogen production rate from 0.27 to 1.03 L.h⁻¹.L⁻¹, respectively. The maximum volumetric hydrogen production rate, 1.28 L.h⁻¹.L⁻¹, was obtained at HRT of 1.0 h. In general, the hydrogen yield decrease with HRT from 3.29 mol H₂.mol glucose⁻¹ at 8.0 h to 2.40 mol H₂.mol glucose⁻¹ at HRT of 1.0 h. The biogas was free methane and the hydrogen content accounted for 37% at HRT of 2.0 h. There was a linear correlation between the hydrogen production rate and the organic loading rate (OLR) and the maximum OLR, 104 Kg.m⁻³.d⁻¹, is not expected to inhibit hydrogen production. The major soluble products were butyric acid (41.72- 53.63%) and acetic acid (34.09-49.99%) further ethanol was relatively insignificant (less than 9.0%). The stable hydrogen production and the percentagen of butyric acid over acetic acid indicated the heat treated sludge was effective and a typical butyrate type fermentation was achieved by *Clostridium*. In addition, hydrogen production could be performed under pH conditions near 4,0.

Key-words: Hydrogen. Anaerobic Process. Volatile fatty acids. Acidogenic. Anaerobic fluidized bed reactor.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 3.1.</i> Ecologia microbiana do processo de digestão anaeróbia. Fonte: Mosey, 1983.....	3
<i>Figura 3.2.</i> Caminhos metabólicos dentro das bactérias formadoras de ácido. Fonte: Mosey 1983).....	12
<i>Figura 4.1.</i> Fluxograma do trabalho experimental.....	47
<i>Figura 4.2.</i> Partículas de cinasita sem (esquerda) e com (direita) tratamento para utilização como suporte para aderência das populações microbianas.....	48
<i>Figura 4.3.</i> Esquema da instalação do reator anaeróbio de leito fluidificado: (1) Reator de leito fluidificado, (2) entrada do afluente, (3) amostradores, (4) recirculação, (5) saída do efluente, (6) bomba de alimentação, (7) bomba de recirculação, (8) reservatório de alimentação, (9) banho termostaticado, (10) bexigas com nitrogênio, (11) encamisamento para o banho, (12) reservatório do efluente, (13) medidor de biogás, (14) câmara de captação de gás, (15) distribuidor da alimentação.....	49
<i>Figura 4.4.</i> Fotografia do reator anaeróbio de leito fluidificado utilizado nesse estudo sob operação.....	52
<i>Figura 5.1.</i> Comportamento da vazão medida durante os dias de operação.....	58
<i>Figura 5.2.</i> Comportamento da concentração de glicose no afluente e efluente, e a eficiência de consumo durante os dias de operação.....	59
<i>Figura 5.3.</i> Comportamento dos ácidos acético e butírico produzidos durante todo o experimento.....	61
<i>Figura 5.4.</i> Comportamento do ácido capróico produzido durante todo o experimento.....	62
<i>Figura 5.5.</i> Comportamento das concentrações dos ácidos acético e butírico em função do TDH.....	65
<i>Figura 5.6.</i> Comportamento das concentrações de etanol produzido durante todo o experimento.....	66
<i>Figura 5.7.</i> Comportamento das concentrações de etanol em função do TDH.....	67
<i>Figura 5.8.</i> Porcentagem dos principais metabólitos solúveis presentes no efluente do reator em função do TDH.....	68
<i>Figura 5.9.</i> Porcentagem de hidrogênio, dióxido de carbono e metano no biogás em função do TDH.....	70
<i>Figura 5.10.</i> Média de vazão de hidrogênio em função do TDH.....	72

<i>Figura 5.11.</i> Velocidade média de produção de hidrogênio em função do TDH.....	74
<i>Figura 5.12.</i> Rendimento de produção de hidrogênio por mol de glicose consumida em função do TDH.....	75
<i>Figura 5.13.</i> Comportamento do pH afluente e efluente durante os dias de operação.....	76
<i>Figura 5.14.</i> Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com biomassa aderida coletada na etapa I. 3000 e 5000x.....	83
<i>Figura 5.15.</i> Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com biomassa aderida coletada na etapa III. 5000x.....	83
<i>Figura 5.16.</i> Microscopia de contraste de fase da biomassa aderida de amostras de material suporte da etapa V.....	84
<i>Figura 5.17.</i> Variação temporal da taxa de carregamento orgânica aplicada e removida durante todo o experimento.	85
<i>Figura 5.18.</i> Velocidade de produção volumétrica de hidrogênio como uma função da taxa de carregamento orgânico ($y = 0,008x + 0,1524$, $R^2 = 0,9595$).....	86
<i>Figura 5.19.</i> Rendimento de produção de hidrogênio como uma função da taxa de carregamento orgânico ($y = 6,4288x^{-0,2356}$, $R^2 = 0,8533$).....	87
<i>Figura 5.20.</i> Comportamento dos sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) no efluente durante as etapas III, IV e V.....	88
<i>Figura 5.21.</i> Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com a formação de polímeros e biomassa aderida na etapa V. 5000x.....	89
<i>Figura 5.22.</i> Microscopia eletrônica de varredura das amostras de material suporte dos pontos P1, P2 e P3. 5000x.....	90
<i>Figura 5.23.</i> Comportamento da DQO afluente, efluente e eficiência de remoção durante as etapas do experimento.....	91

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 4.1.</i> Composição de água residuária sintética segundo Del Nery (1987).....	45
<i>Tabela 4.2.</i> Características físicas da argila expandida (cinasita) segundo Ortega <i>et al.</i> (2001).....	46
<i>Tabela 4.3.</i> Dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidificação para as partículas de cinasita.....	47
<i>Tabela 5.1.</i> Média e desvio padrão da vazão medida, altura média do leito, volume reacional do leito e TDH baseado no volume útil para 8, 6, 4, 2 e 1 h.....	58
<i>Tabela 5.2.</i> Concentração média de glicose no afluente e efluente, e eficiência de consumo de glicose das etapas do experimento.....	60
<i>Tabela 5.3.</i> Média e desvio padrão das concentrações dos ácidos acético, butírico, propiônico, isobutírico, capróico e totais para as etapas I, II, III, IV e V.....	62
<i>Tabela 5.4.</i> Média das concentrações dos solventes totais, etanol, acetona e n butanol para cada etapa.....	66
<i>Tabela 5.5.</i> Porcentagem de hidrogênio no biogás, velocidade de produção volumétrica, e rendimento de produção de hidrogênio em função do TDH.....	71
<i>Tabela 5.6.</i> Variação mínima e máxima do pH afluente e efluente em cada etapa do experimento.....	77
<i>Tabela 5.7.</i> Média e desvio padrão das TCOs aplicada e removida das etapas I, II, III, IV e V.....	85
<i>Tabela 5.8.</i> Média e desvio padrão dos sólidos suspensos voláteis nas etapas III, IV e V.....	88
<i>Tabela 5.9.</i> Média e desvio padrão da DQO afluente e efluente, e eficiência de remoção para as etapas do experimento.....	91
<i>Tabela 5.10.</i> Média das concentrações de glicose, ácido acético, butírico, capróico e etanol no efluente, soma desses metabólitos e biomassa.....	92
<i>Tabela 5.11.</i> Média das DQOs teóricas dos metabólitos, DQO da biomassa e DQO efluente medida.....	94

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AVTs	Ácidos Voláteis Totais
ADP	Adenosina bifosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BESA	2- bromoetanosulfônico
CSTR	Continuous Stirred Tank Reactor
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
DQO	Demanda Química de Oxigênio
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NAD	Nicotinamida adenina dinocleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinocleotídeo fosfato
RALF	Reator Anaeróbico de Leito Fluidificado
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TRS	Tempo de retenção celular
UASB	Reator Anaeróbico de Manta de Lodo
V_{mf}	Velocidade de Mínima Fluidificação
Φ	Dimensão da partícula
ρ	Densidade da partícula

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A digestão anaeróbia é considerada uma tecnologia de boa aceitação e disseminação para o tratamento biológico de águas residuárias no Brasil devido às condições climáticas favoráveis (clima tropical), ao baixo custo de implantação e de operação, ao baixo consumo de energia, a baixa geração de lodo biológico e pela tolerância a elevadas cargas orgânicas (CHERNICHARO, 1997; FORESTI *et al.*, 1999).

Além de contribuir com o tratamento biológico de águas residuárias, a digestão anaeróbia pode gerar fontes de energia alternativa, como hidrogênio e metano, a partir da matéria orgânica presente nas águas residuárias que pode representar uma matéria prima barata.

O emprego de energias alternativas pode substituir os combustíveis fósseis não renováveis em risco de escassez e contribuir para a diminuição das emissões dos gases responsáveis pelo efeito estufa e por grande parte da mudança climática global.

Em termos energéticos, a utilização de gás hidrogênio apresenta vantagens sob a utilização dos combustíveis fósseis convencionais como: a combustão do hidrogênio com o oxigênio produz somente vapor de água, a combustão de hidrogênio em automóveis é 50% mais eficiente do que a gasolina, o hidrogênio apresenta maior rendimento de energia (122 kJ.g^{-1}), o que representa 2,75 vezes mais conteúdo de energia que qualquer hidrocarboneto (VAN GINKEL *et al.*, 2001).

Além disso, o gás hidrogênio pode ser empregado como um reagente para a produção de compostos de baixo peso molecular e compostos saturados, para o processo de “cracking” de hidrocarbonetos, para a remoção de compostos de nitrogênio, enxofre e quantidades traço de oxigênio que previnem a oxidação e corrosão, e como combustíveis para foguetes (DAS & VEZIROGLU, 2001).

Se o passo final da digestão anaeróbia, ou metanogênese for inibida, somente a acidogênese ocorrerá para produzir os gases hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos orgânicos.

Estudos anteriores demonstraram que a operação em baixos pHs e os procedimentos de enriquecimento microbiano, como os diversos tipos de tratamento térmico do inóculo, inibem ou eliminam os organismos não formadores de esporos que consomem o hidrogênio, como as arqueias metanogênicas, e enriquecem as bactérias acidogênicas formadoras de esporos (YU e FANG *et al.*, 2001; LIU *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2003; IYER *et al.*, 2004; VAN GINKEL e LOGAN, 2005; LIN *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2006; SANO *et al.*, 2006).

Muitos organismos, tais como *Enterobacter* (CONVERTI e PEREGO, 2002), *Bacillus* (KOTAY *et al.*, 2007) e *Klebsiella* (CHEN *et al.*, 2006) são capazes de produzir hidrogênio e ácidos orgânicos a partir de carboidratos. Porém, técnicas moleculares têm permitido identificar espécies de clostrídios (IYER *et al.*, 2004; LIN *et al.*, 2007). Segundo Noike e Mizuno (2000), os clostrídios são as bactérias acidogênicas mais promissoras uma vez que são caracterizadas por um rápido metabolismo e altos rendimentos de produção hidrogênio.

Os altos rendimentos de produção de hidrogênio são acompanhados pela produção dos ácidos acético e butírico, metabólitos solúveis gerados na acidogênese. Esses ácidos orgânicos no efluente podem ser empregados como substrato e fonte de carbono para processos de produção de metano (COHEN *et al.*, 1979), produção de hidrogênio em reatores fotossintéticos (FASCETTI *et al.*, 1998; TAKABATAKE *et al.*, 2004; SHI *et al.*, 2006), para a produção de biopolímeros (HASSAN *et al.*, 1997; YU, 2001; YU *et al.*, 2002, DU *et al.*, 2004), e em processos de remoção de nutrientes biológicos tais como fósforo e nitrogênio (LIM *et al.*, 2000; ELEFSINIOTIS *et al.*, 2004).

Além disso, esses ácidos orgânicos podem ser extraídos e empregados em indústrias químicas, farmacêuticas, plásticas e de alimentos. Liu *et al.* (2006) apresentaram uma

diversidade de aplicações do ácido butírico nas indústrias químicas para a fabricação de polímeros de butiril, na indústria de alimentos para realçar o sabor como o da manteiga, e nas indústrias farmacêuticas para tratar câncer de colo e de reto e patologias da hemoglobina. O ácido butírico pode ser empregado, também, em indústrias de bebidas e em laticínios na forma do ácido puro (ZIGOVÁ & STURDÍK, 2000). Os ésteres do ácido propiônico são utilizados nas indústrias de perfumes, o propionato de celulose é usado como um importante termoplástico na indústria plástica, o ácido propiônico se apresenta como um agente fungistático natural quando incorporado na ração ou outros produtos alimentícios e os sais de Na, Ca, K do ácido propiônico pertencem à categoria dos aditivos seguros em alimentos (GOSWAMI & SRIVASTAVA, 2000; RODRIGUES *et al.*, 2007).

O desempenho da produção de hidrogênio e ácidos orgânicos é influenciado pelos diversos parâmetros operacionais de um sistema, cada qual com suas características próprias. Os parâmetros operacionais correspondem ao tempo de detenção hidráulica (TDH), tipos e concentração de substrato, pH, temperatura e pressão parcial e foram estudados em diversos reatores, tanto em sistemas de crescimento suspenso (FANG e LIU, 2002; HORIUCHI *et al.*, 2002; LIU e FANG, 2002; YU *et al.*, 2003; VAN GINKEL e LOGAN, 2005; GAVALA *et al.*, 2006; ZHANG *et al.* 2006) como em sistemas de crescimento imobilizado como o reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) (GAVALA *et al.*, 2006), reator anaeróbio de leito fixo (CHANG *et al.*, 2002) e reator anaeróbio de leito fluidificado (WU *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2006, ZHANG *et al.*, 2007).

Segundo Lin *et al.* (2006), devido à dificuldade em manter uma suficiente quantidade de populações bacterianas em um reator de crescimento suspenso em baixos TDHs, diversas pesquisas juntaram esforços para aumentar a retenção de biomassa por meio da utilização de células de imobilização biológica e física. Além disso, alguns estudos demonstraram que a retenção de biomassa em sistemas contínuos assegura altas velocidades de produção de

hidrogênio (WU *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2006; GAVALA *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007).

Os reatores anaeróbios de leito fluidificado com biofilme aderido têm sido extensivamente estudados no campo do tratamento de águas residuárias por muitos anos devido ao seu potencial para oferecer vantagens de acumulação de grande quantidade de biomassa sobre o meio suporte, possibilidade para altas taxas de carregamento orgânico, baixos TDHs e boas características de mistura (WU *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2006, ZHANG *et al.*, 2007).

Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do tempo de detenção hidráulica e do aumento da taxa de carregamento orgânico (TCO) sobre produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em reator anaeróbio de leito fluidificado utilizando como material suporte, a argila expandida (cinasita) e, como substrato, água residuária sintética com uma concentração de 2000 mg.L⁻¹ de glicose como a fonte de carbono.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho de pesquisa teve como principal objetivo o estudo da produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em reator anaeróbio de leito fluidificado alimentado com água residuária sintética com concentração de 2000 mg.L^{-1} de glicose como fonte de carbono. O material suporte para a aderência da biomassa escolhido foi a cinasita.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) na produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes.
- Avaliar a influência da taxa de carregamento orgânica (TCO) na produção de hidrogênio.
- Avaliar a pertinência do uso de uma forma de tratamento térmico (temperatura e tempo de exposição) para o enriquecimento de bactérias acidogênicas produtoras de hidrogênio.
- Avaliar o desempenho de produção de hidrogênio sob condições de pH em torno de 4,0.

CAPÍTULO 3

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Digestão Anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia é um processo biológico natural e consiste da atuação de uma comunidade de microrganismos que cooperam entre si para formar uma fermentação estável e auto-reguladora. No tratamento de águas residuárias, esse processo converte a matéria orgânica em uma mistura dos gases dióxido de carbono e metano por meio de processos metabólicos complexos que ocorrem em etapas seqüenciais. A maioria dos controles do processo é realizada diretamente pela sintrofia desses organismos (MOSEY, 1983).

A Figura 3.1 apresenta, de forma simplificada, o esquema da digestão anaeróbia proposto por Mosey (1983). Segundo o autor, existem 4 grupos principais de microrganismos envolvidos na conversão de glicose para gás carbônico e metano. O grupo consiste de bactérias acidogênicas, bactérias acetogênicas, arqueias metanogênicas acetoclásticas e arqueias metanogênicas hidrogenotróficas.

Harper e Pohland (1986) reconhecem nove etapas do processo, cada uma mediada por um grupo específico de microrganismos. As etapas consistem de: (a) hidrólise de polímeros orgânicos a monômeros como os açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos; (b) conversão de monômeros orgânicos a hidrogênio, bicarbonato, ácido acético, propiônico, butírico, etanol e ácido láctico; (c) oxidação de produtos orgânicos reduzidos a hidrogênio, bicarbonato e ácido acético por bactérias acetogênicas produtora de hidrogênio; (d) respiração homoacetogênica do bicarbonato pelas bactérias homoacetogênicas; (e) oxidação de produtos orgânicos reduzidos a acetato pelas bactérias redutoras de nitrato e sulfato; (f) oxidação de acetato a

bicarbonato pelas bactérias redutoras de nitrato e sulfato; (g) oxidação de hidrogênio pelas bactérias redutoras de nitrato e sulfato; (h) fermentação metanogênica acetoclástica; (i) respiração metanogênica do hidrogênio.

As etapas devem ser mantidas em equilíbrio dinâmico para que a metanogênese ocorra a uma velocidade máxima. A manutenção desse equilíbrio está relacionada com a remoção contínua de hidrogênio no meio para assegurar que a produção de ácido acético não seja interrompida ou diminuída drasticamente (HARPER e POHLAND, 1986).

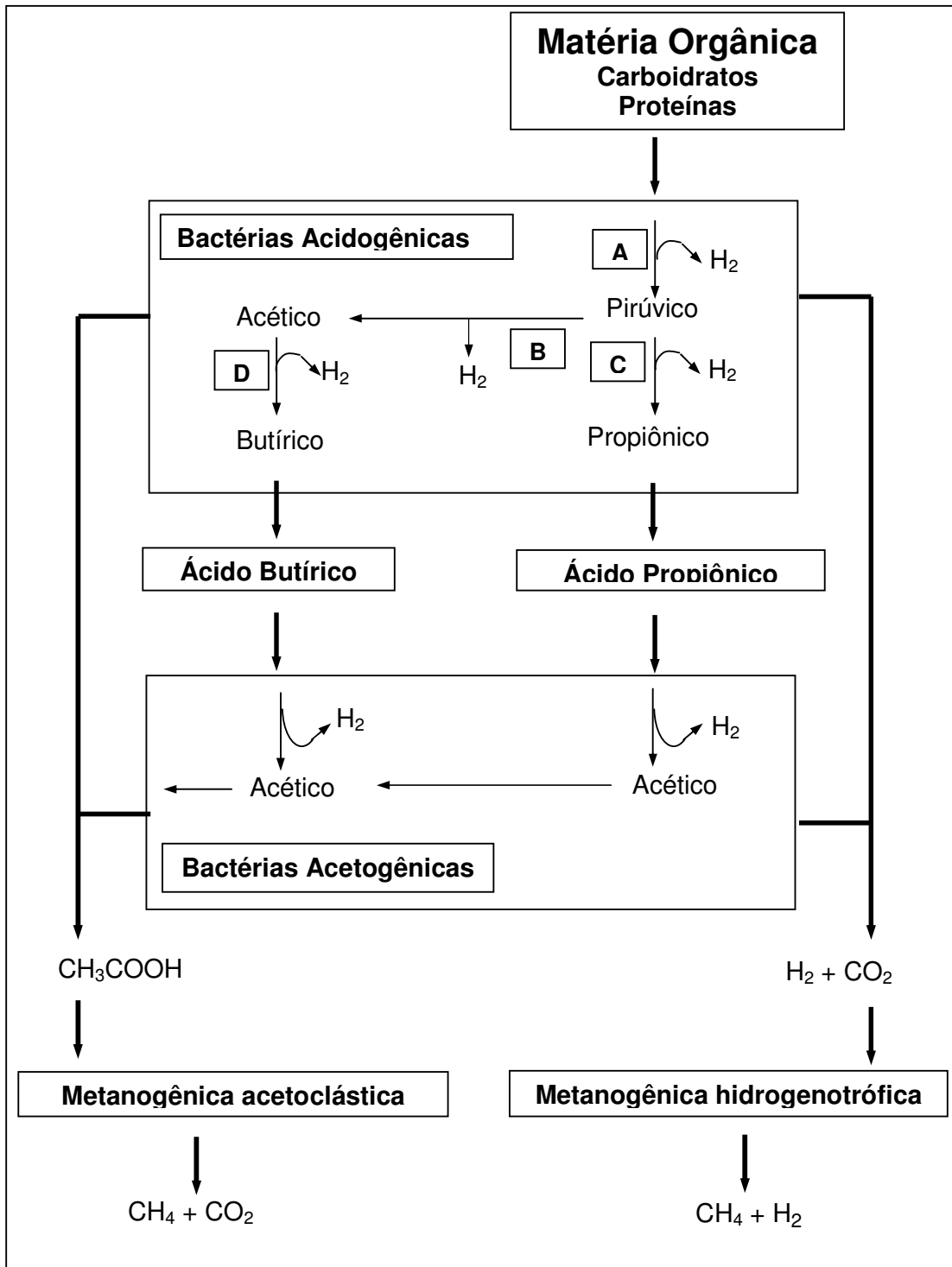
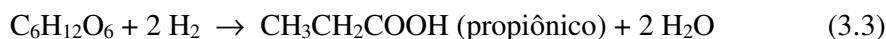
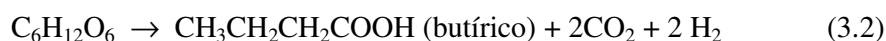
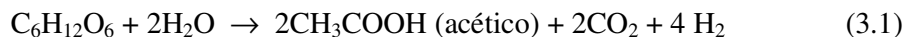


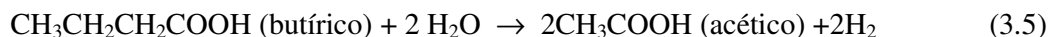
Figura 3.1. Ecologia microbiana do processo de digestão anaeróbica.
Fonte: Mosey, 1983.

A geração de ácido acético e hidrogênio, necessários para o equilíbrio da fermentação metanogênica, ocorre no primeiro estágio da digestão anaeróbia, denominado de acidogênese. A hidrólise da glicose pelas bactérias acidogênicas, de mais rápido crescimento, geram os ácidos acético, propiônico e butírico, de acordo com as reações:

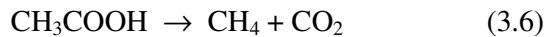


Segundo Mosey (1983), a reação de conversão de glicose para ácido acético ocorre preferencialmente, uma vez que essa reação fornece às bactérias acidogênicas um maior rendimento de energia para o crescimento, além de prover substrato ao grupo posterior, das arqueias metanogênicas acetoclásticas, para a produção de metano. As demais reações, de formação de ácido butírico e propiônico são as respostas das bactérias à acumulação de hidrogênio durante sobrecargas. O desvio do metabolismo da glicose em direção ao ácido butírico reduz tanto a produção de hidrogênio quanto o teor ácido no sistema. A formação de ácido propiônico requer o consumo de hidrogênio e, assim há o controle do potencial redox durante as sobrecargas.

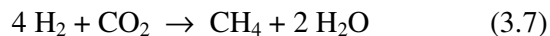
Os ácidos butírico e propiônico produzidos na etapa anterior, são convertidos em ácido acético, por meio das bactérias acetogênicas, de acordo com as equações:



O ácido acético gerado é, então, convertido em gás carbônico e metano por meio das arqueias metanogênicas acetoclásticas, de acordo com a reação:



As arqueias metanogênicas acetoclásticas operam conjuntamente com as bactérias formadoras de ácidos no controle da concentração de ácido acético e do pH da fermentação. As velocidades de crescimento das arqueias metanogênicas acetoclásticas são relativamente baixas (tempo de duplicação de 2-3 dias a 35°C) comparadas às velocidades de crescimento das formadoras de ácido (tempo de duplicação de 2-3 horas a 35°C). Portanto, essa forma é relativamente inoperante à sobrecarga de ácidos quando ocorre sobrecarga orgânica. Concomitantemente, uma forma mais efetiva de controle opera através das arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (MOSEY, 1982):



As arqueias metanogênicas hidrogenotróficas removem quase todo o hidrogênio do sistema, crescem rapidamente com um tempo de geração mínimo de 6 horas e controlam o potencial redox do processo de digestão. Os traços de hidrogênio que elas deixam para trás regulam a velocidade total de produção de ácidos e a mistura de ácidos que é produzida pelas bactérias acidogênicas. O hidrogênio também controla as velocidades de conversão de ácido propiônico e butírico a ácido acético (MOSEY, 1983).

3.2 Acidogênese

O modelo matemático proposto por Mosey (1983) sobre o processo de digestão anaeróbia e seus mecanismos reguladores de produção de ácidos orgânicos a partir de glicose sugeriu que as bactérias acidogênicas produzem os ácidos acético, propiônico e butírico de acordo com os níveis de hidrogênio no biogás.

Como foi verificado no item 3.1, a reação 3.1 permitiu formar dois mols de ácido acético por mol de glicose. A reação 3.2 permite que o sistema absorva parcialmente a sobrecarga orgânica, derivando parte da produção de ácido acético a butírico, na proporção de um mol de ácido por mol de glicose, o que diminui o abaixamento do pH do sistema. Além disso, a produção de hidrogênio cai pela metade, reduzindo a velocidade de acúmulo deste no meio. Na reação 3.3, a pressão parcial de hidrogênio é aliviada pela transferência de hidrogênio às bactérias produtoras de propiônico (FORESTI, 1999).

A Figura 3.2 fornece a principal via metabólica para a conversão de glicose para ácidos orgânicos (MOSEY, 1983).

As bactérias acidogênicas usam essa via para obter energia da oxidação da glicose para ácido acético. Durante o curso dessa oxidação, átomos de hidrogênio removidos da glicose são transferidos primeiramente para moléculas de NAD^+ (forma oxidada de transportadores de elétrons) convertendo-as para NADH (forma mais reduzida) e então são liberados para a solução como gás hidrogênio dissolvido (MOSEY, 1983).

Sob condições iniciais de operação, a concentração de hidrogênio no digestor é muito baixa (tipicamente 5-50 ppm) e o metabolismo da glicose é direcionado quase inteiramente em direção a formação de ácido acético. Como a concentração de hidrogênio aumenta, a falta de formas oxidadas de NAD^+ desacelera a velocidade global de fermentação (lado A na Figura 3.1 e 3.2) e uma abundância de formas reduzidas de NADH acelera as reações para os

lados C e D na mesma figura. O efeito global do aumento na concentração de hidrogênio no digestor reduz a velocidade global de formação de ácido acético e muda a mistura de ácidos produzidos, diminuindo a proporção de glicose convertida para acético e aumenta a proporção convertida para propiônico e butírico (MOSEY, 1983).

Além disso, Harper e Pohland (1986) afirmam que o acúmulo de hidrogênio, em quantidade acima da capacidade assimilativa coletiva desses organismos, torna necessária a presença de um método alternativo de disposição de elétrons que possibilite a regeneração do NADH. Essa necessidade, segundo os autores, é preenchida pela fermentação de piruvato a propionato, lactato e etanol ou pela fermentação do Acetil-Coa a ácido butírico.

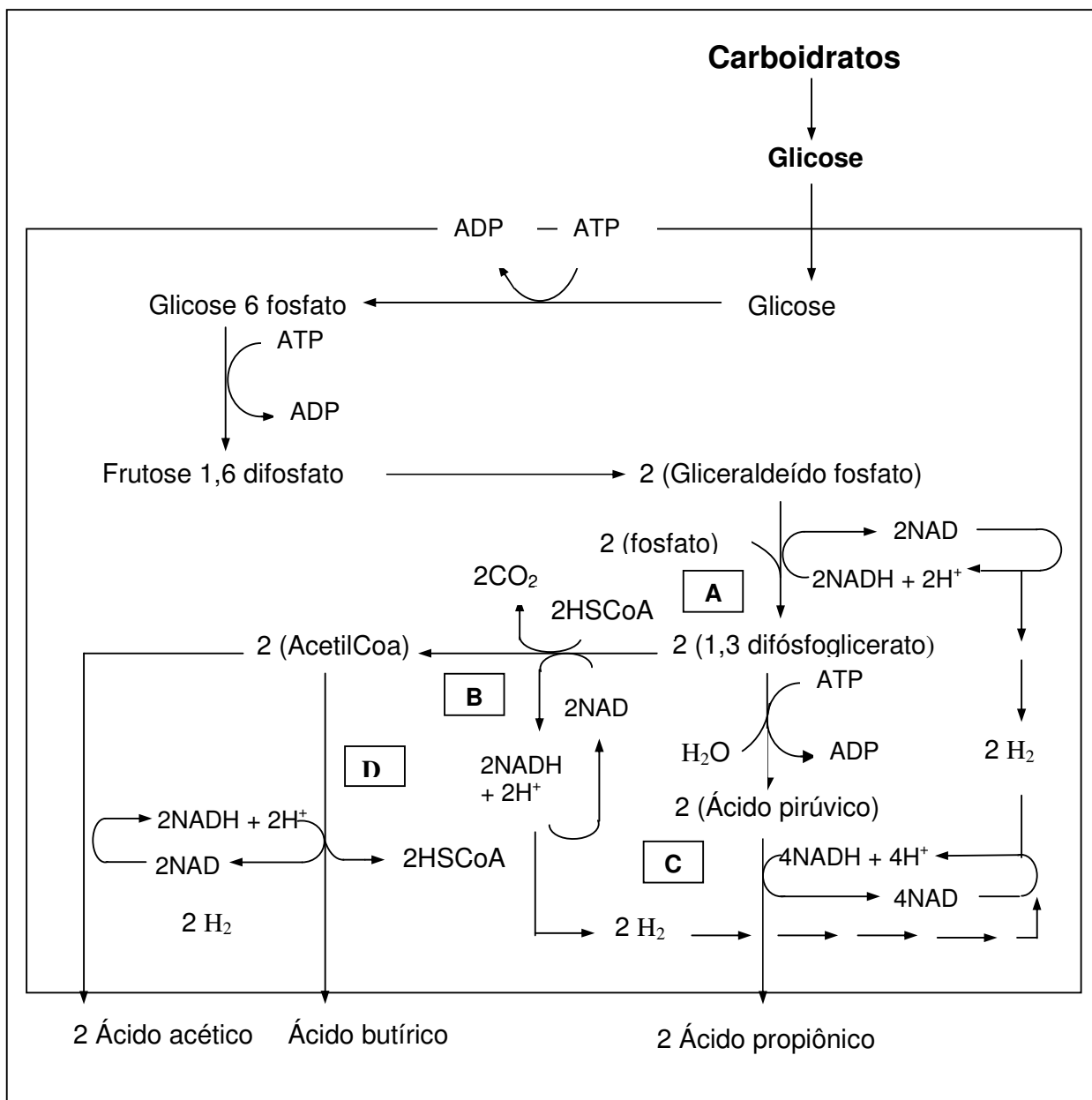
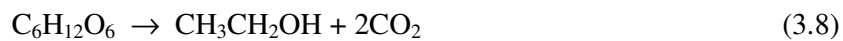


Figura 3.2. Caminhos metabólicos dentro das bactérias formadoras de ácido.

Fonte: Mosey (1983).

Na formação de etanol, nenhum hidrogênio é consumido ou produzido. A equação 3.8 mostra a reação de formação do etanol.



Para *Clostridium acetobutyricum*, a troca do metabolismo acidogênico para solventogênico ocorre em pH abaixo de 5,0. Isso é explicado pela presença de concentrações de 40-45 mM de ácidos acético e butírico não dissociados no interior das células (TERRACINO & KASHKET, 1986).

Grupe e Gottschalk (1992), verificaram que a diminuição do pH de 5,6 para 4,3 de uma cultura de *Clostridium acetobutyricum* ocasionou a troca do metabolismo de formação de ácido acético e butírico para acetona e etanol. Antes da troca, foi observado um aumento de 440 mM na concentração de ácido dentro das células concomitante a um excesso de ácido butírico não dissociado. Em seguida houve um declínio na produção de ácido e subseqüentemente o consumo desse. A diminuição do pH ou adição de vários ácidos orgânicos acarreta em um aumento na concentração interna de ácidos, notavelmente, o ácido butírico, e isto resulta na formação de acetona e butanol.

Além disso, Grupe e Gottschalk (1992) afirmam que a inibição de hidrogênio por monóxido de carbono ou limitação de ferro causa um aumento nos níveis de NADH nas células, e butanol é produzido exclusivamente.

Durre (1998) sugere que os ácidos são formados exclusivamente durante o crescimento exponencial dos microrganismos e que a solventogênese é iniciada na transição da fase de crescimento estacionário.

Van Ginkel *et al.* (2005) observaram que, utilizando 40g glicose.L⁻¹, a concentração de ácidos não dissociados alcançou um limite crítico de 13 mM, ocasionando baixos rendimentos de produção de hidrogênio e uma mudança na formação de ácidos para solventes.

A energia para o crescimento bacteriano é obtida pela conversão de adenosina difosfato (ADP) em adenosina trifosfato (ATP) e geralmente os coeficientes de rendimento de biomassa são calculados pela relação de Bauchop em que um mol de ATP fornece suficiente energia para a formação de aproximadamente 10g de biomassa (MOSEY, 1983).

O rendimento de ATP a partir da glicose varia de acordo com a mistura de ácidos formados. Para um mol de ácido acético, butírico e propiônico, o rendimento de ATP é respectivamente, 2, 2 e 1 mol.

As bactérias acidogênicas usam glicose não somente como fonte de energia, mas também como fonte de carbono para o metabolismo de novas células (MOSEY, 1983).

A equação empírica (3.9) para a síntese de biomassa a partir da glicose é



Pode ser deduzido que 1,15 mg de glicose são necessários como fonte de carbono para a síntese de cada miligrama (peso seco) de biomassa formada.

3.3 Estratégias para a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos

As estratégias para assegurar uma efetiva produção de hidrogênio e ácidos orgânicos consistem em garantir que um sistema contenha, essencialmente, organismos produtores de hidrogênio, e otimizar as condições operacionais para assegurar as melhores produções de hidrogênio e ácidos orgânicos.

Uma vez que a produção de hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos orgânicos ocorre em uma fase intermediária da digestão anaeróbia, é necessário que o processo seja interrompido nessa fase para que os produtos gerados não sejam consumidos na etapa posterior da metanogênese.

As diferenças fisiológicas entre as acidogênicas e arqueias metanogênicas representam a base fundamental para o desenvolvimento de estratégias para o acúmulo de hidrogênio e ácidos orgânicos.

Bactérias acidogênicas como *Clostridium* e *Bacillus* podem formar esporos internos de proteção, os endósporos, quando são expostos a condições ambientais desfavoráveis tais como altas temperaturas, condições ácidas e alcalinas extremas e dessecação. Ainda, podem crescer sob uma ampla variação de pH e apresentam um tempo de geração rápido, de 2 a 3 h.

As arqueias metanogênicas não são capazes de formar endósporos, a maioria é limitada por uma estreita variação de pH (aproximadamente 7 e 8) e apresentam tempo de geração de 2 a 3 dias.

Considerando a capacidade em produzir endósporos, as bactérias acidogênicas podem ser selecionadas a partir de fontes naturais como o solo (VAN GINKEL *et al.*, 2001; IYER *et al.*, 2004), de sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes (ZHANG *et al.*, 2006; LIN *et al.*, 2006) e de sistemas produtores de hidrogênio com uma população acidogênica já selecionada (FANG e LIU, 2002.).

O lodo de sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes pode ser submetido à diversos tratamentos que possibilitarão o enriquecimento das bactérias acidogênicas e também o isolamento e purificação de culturas. Diversos estudos utilizaram culturas puras e culturas mistas de bactérias anaeróbias para converter carboidratos em hidrogênio (WU *et al.*, 2003; IYER *et al.*, 2004; LIN *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2006; SANO *et al.*, 2006).

Ainda, aliado à tecnologia de tratamento do inóculo, diversos autores operaram seus sistemas em condições de pH ácido para inibir a atividade metanogênica durante os experimentos (YU e FANG *et al.*, 2001; LIU *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2003).

Além disso, a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos é grandemente influenciada pelos parâmetros operacionais como o pH (VAN GINKEL *et al.*, 2001; FANG e LIU, 2002; HORIUCHI *et al.*, 2002), TDH (WU *et al.*, 2003; VAN GINKEL e LOGAN, 2005; LIN *et al.*, 2006), concentração de substrato (FANG e LIU, 2002; FAN *et al.*, 2004; VAN GINKEL e LOGAN, 2005) e temperatura (GAVALA *et al.*, 2005).

3.3.1 Culturas puras

A produção de hidrogênio por fermentação de carboidratos tem sido estudada por vários grupos de culturas puras, tais como *Clostridium* (CHEN *et al.*, 2006; LIN *et al.*, 2007), *Bacillus* (KOTAY *et al.*, 2007), *Klebsiella* (CHEN *et al.* 2006) e *Enterobacter* (CONVERTI & PEREGO, 2002). No entanto, segundo Noike e Mizuno (2000), os clostrídios são as bactérias acidogênicas mais promissoras uma vez que esses são caracterizados por um rápido metabolismo e altos rendimentos na produção de hidrogênio.

O isolamento e purificação de uma cultura requerem a seleção de uma fonte natural de bactérias e a submissão dessa fonte a um tratamento, que possibilitará o enriquecimento e adaptação dessas aos substratos específicos ao cultivo microbiano.

Maintinger *et al.* (2007) purificaram culturas de bactérias acidogênicas com inóculo anaeróbio proveniente do lodo granular de reator UASB usado no tratamento de dejetos de suinocultura. As autoras realizaram um pré-tratamento do inóculo à 90°C por 10 minutos, seguido de purificação com diluições seriais com água residuária sintética acrescida de uréia, sacarose, peptona e solução de vitaminas com relação DQO: N:P: de 500:5:1. Nas concentrações de sacarose utilizadas, de 629,8 mg.L⁻¹ a 4127 mg.L⁻¹, as autoras verificaram a produção de hidrogênio e nenhuma geração de metano. Análises de biologia molecular revelaram que a produção biológica de hidrogênio ocorreu devido a presença de espécies de *Enterobacter cloacae*, *Clostridium sp* e *Clostridium acetobutyricum*.

Chen *et al.* (2006) verificaram que o rendimento de produção de hidrogênio a partir de glicose por *Clostridium butyricum* (3,26 mol.mol⁻¹) é maior do que o rendimento de produção de hidrogênio por *Klebsiella pneumoniae* quando todo o acetil-Coa é utilizado para a via metabólica de produção de ácido acético.

Lin *et al.* (2007), examinando o metabolismo da fermentação da glicose e do desempenho da produção de hidrogênio por quatro grupos de espécies de *Clostridium*,

verificaram que todas as linhagens fermentaram a glicose, reduzindo o pH do meio de 7,2 para valores entre 4,6 e 5,0, e produzindo como os principais metabólitos solúveis, os ácidos butírico e acético. *Clostridium beijerinckii* obteve os maiores rendimentos de produção de hidrogênio de 2,81 mmol H₂.mmol glicose⁻¹, enquanto que *C. butyricum* ATCC19398 foi incapaz de produzir hidrogênio apesar do fornecimento adicional de glicose devido, provavelmente, à mudança metabólica de produção de acetato e butirato para a produção de lactato e etanol.

3.3.2 Tratamento do inóculo

A maioria dos estudos para a produção de hidrogênio realiza o pré-tratamento do lodo para selecionar bactérias acidogênicas formadoras de endósporos para um bom desempenho do sistema.

Vários métodos para preparação de um inóculo acidogênico têm sido citados, no entanto, o tratamento térmico é o mais utilizado (IYER *et al.*, 2004; VAN GINKEL e LOGAN, 2005; LIN *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2006; SANO *et al.*, 2006).

Foi encontrado que a produção de hidrogênio pode ser acentuada a partir de lodo submetido ao tratamento térmico combinado com tratamento ácido (ZHANG *et al.*, 2006), por tratamento ácido (WU *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2007), tratamento alcalino (CAI *et al.*, 2004), tratamento aerado (REN *et al.*, 2006) e tratamento com compostos inibidores da metanogênese como 2-bromoetanosulfônico (BESA), iodopropano (ZHU *et al.*, 2006) e clorofórmio (HU e CHEN, 2007).

O estudo realizado por Mu *et al.* (2007) demonstrou que os métodos de tratamento térmico, ácido e alcalino foram efetivos para a eliminação de arqueias metanogênicas e para o enriquecimento de inóculos acidogênicos a partir de lodo anaeróbio misto. O maior rendimento de produção de hidrogênio, de 2,0 mols H₂.mol glicose⁻¹ foi assegurado com o

tratamento térmico, enquanto o menor rendimento, de 0,48 mols H_2 .mol $glucose^{-1}$ foi obtido com o lodo com tratamento alcalino. Uma fermentação do tipo ácido butírico foi observada quando as maiores concentrações dos produtos no efluente foram compostas de ácido butírico e acético para o lodo com tratamento térmico e alcalino. A concentração de ácido butírico foi maior que a do ácido acético para o tratamento térmico, enquanto uma concentração similar de ácido butírico e acético foi encontrada para o tratamento alcalino. Para o lodo com tratamento ácido, as concentrações de ácido acético, butírico, propiônico e valérico apresentaram níveis similares sugerindo uma fermentação do tipo mista. Essas diferenças devem ser atribuídas a diversidade da população microbiana nos inóculos depois dos enriquecimentos.

No tratamento térmico anaeróbio do lodo, *Clostridium* foi identificado ser dominante e o responsável pela fermentação tipo ácido butírico (IYER *et al.*, 2004; REN *et al.*, 2006).

Segundo a literatura, os parâmetros do tratamento térmico variam de acordo com a fonte do lodo e dos pesquisadores envolvidos, com temperaturas variando de 90 a 105°C, e tempos de exposição de 10 minutos a 2 horas.

Kim *et al.* (2006) realizaram um pré-tratamento à 90°C por 10 minutos para selecionar bactérias acidogênicas. Análises dos perfis de DGGE mostraram que todas as bactérias acidogênicas estavam relacionadas com *Clostridium*. Esses resultados foram consistentes às altas velocidades de produção de hidrogênio e razão ácido butírico-ácido acético na faixa de concentração de sacarose testada (10 a 60 g DQO. L^{-1}). O pré-tratamento foi suficiente para excluir arqueias metanogênicas em longos tempos de operação. No entanto, algumas acetogênicas e produtoras de lactato sobreviveram, pois constituem bactérias formadoras de esporo.

Para aumentar o desempenho na produção de hidrogênio, Lin *et al.* (2006) submeteram uma cultura acidogênica a um tratamento térmico com quatro temperaturas

diferentes. O tratamento térmico a 50 e 60°C pareceu não ser eficiente na restauração do desempenho das produtoras de hidrogênio. Porém, o tratamento térmico com altas temperaturas de 70 e 80°C permitiu um significativo aumento no conteúdo de hidrogênio no biogás, rendimento de produção de hidrogênio e velocidade de produção. Segundo os autores, o tratamento térmico a 70 e 80°C parece ser muito efetivo na eliminação da competição das bactérias não produtoras de hidrogênio pelo substrato, e possibilitou um rápido restabelecimento das populações acidogênicas.

Sano *et al.* (2006) trataram termicamente um lodo granular convencional metanogênico variando a temperatura de 60 a 90°C, o tempo de aquecimento de 0 a 60 minutos, e o pH durante o choque térmico, entre 3,3 e 9,6, para avaliar os efeitos dessas condições sobre a produção de hidrogênio. Os experimentos foram conduzidos em modo batelada a 35°C e alimentado com glicose. Considerando os resultados, foi encontrado que o rendimento e seletividade do hidrogênio é máxima a 70°C, 30 minutos e pH 6 e que acima dessa condição ótima, as arqueias metanogênicas são destruídas e as acidogênicas são danificadas.

Zhu *et al.* (2006) verificaram baixa produção de hidrogênio em lodos tratados termicamente comparado aos outros métodos de tratamento de lodo, sugerindo que é possível que o tratamento térmico tenha destruído outras bactérias não formadoras de esporos resultando na redução do consumo de oxigênio que diminuiu a conversão de substrato para hidrogênio.

Além do tratamento térmico, que é o tratamento mais comum observado em estudos de produção de hidrogênio, outros tratamentos foram realizados em estudos recentes.

Estudos para a comparação de diversos métodos de tratamento mostraram que os maiores rendimentos de produção de hidrogênio ocorreram em bateladas com lodo submetido a tratamento químico com BESA e iodopropano. A efetiva produção de hidrogênio pode ser

atribuída a uma inibição seletiva da atividade metanogênica sem afetar as acidogênicas. A BESA parece inibir a coenzima M presente apenas nas arqueias metanogênicas, enquanto que o iodopropano impede o funcionamento da enzima B12 com o grupo metil (ZHU *et al.*, 2006; MOHAN *et al.*, 2008).

Wu *et al.* (2003) realizaram um pré-tratamento ácido, onde o pH foi ajustado para cerca de 3 com HCl por 24 h e em seguida reajustado para pH 7 com NaOH, para aumentar a produtividade de acidogênicas em um reator anaeróbio de leito fluidificado.

O tratamento térmico a 98°C por 2 h seguido por um tratamento ácido ajustando o pH para 2 durante 24 h, mostrou ser bastante efetivo no estudo de Zhang *et al.* (2006) para avaliar o efeito do tempo de detenção hidráulica sobre a produção de hidrogênio.

Hu e Chen (2007) verificaram que o tratamento térmico, ácido e com clorofórmio mostraram a mesma efetividade para eliminar a metanogênese em lodos anaeróbios. Porém, o tratamento com clorofórmio foi mais efetivo para o grânulo metanogênico do que os tratamentos ácido e térmico, uma vez que a estrutura granular serve como uma proteção contra o calor e a acidez. Em altas concentrações, o clorofórmio pode também inibir a produção de hidrogênio. O clorofórmio causa eliminação irreversível na atividade metanogênica, mas a produção de hidrogênio pode ser recuperada depois que a adição de clorofórmio é cessada.

Cohen *et al.* (1979) inocularam um reator ácido esterilizado com um lodo pasteurizado para verificar se a fermentação da glicose pode ser assegurada, principalmente, por bactérias acidogênicas formadoras de esporo. Os autores verificaram que as condições foram similares, com os mesmo resultados obtidos às condições verificadas com a inoculação com lodo ativado de uma estação de tratamento de esgoto.

Em estudo de Zhu *et al.* (2006), os autores verificaram uma maior produção de hidrogênio em lodo não tratado do que em lodos com tratamento com aeração, ácido, térmico

e alcalino. A atividade metanogênica foi somente observada nas bateladas com lodo com tratamento alcalino, aerado e não tratado com números indicativos de baixa atividade metanogênica. A baixa atividade metanogênica no lodo não tratado mostrou que outros fatores que não seja o pré-tratamento podem também inibir o crescimento das arqueias metanogênicas. A diminuição natural do pH também inibe a atividade metanogênica.

Partindo dessa premissa, outros estudos utilizaram lodos ativados, lodos estabilizados anaeróbios e sedimentos como fonte de inóculos para reatores produtores de hidrogênio sem qualquer tratamento (FANG e LIU, 2002; FANG *et al.*, 2002; MIZUNO *et al.*, 2002).

3.3.3 Controle do pH

Geralmente, o que se verifica, quando há a necessidade de inibir as atividades metanogênicas, são estudos que controlam suas operações em condições de pH abaixo de 6. Segundo Cohen *et al.* (1980), as arqueias metanogênicas e acetogênicas são mais sensíveis à variação de pH quando comparadas às acidogênicas. Dessa forma, a acumulação de ácidos orgânicos ocorre juntamente com a redução do pH, o que dificulta o crescimento metanogênico.

Liu *et al.* (2002) monitoraram e avaliaram a dinâmica de um lodo granular metanogênico inoculado em um reator em condições mesofílicas. A eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) para populações de *Bacteria* e *Archaea* mostraram significativas mudanças a partir do 13^o dia quando foi observada a queda do pH para 5,5 no sistema. Os autores observaram que essa mudança da comunidade foi acompanhada por um aumento na produção de ácidos orgânicos, diminuição na produção de metano e rápida desintegração do lodo.

O pH não só atua sobre a inibição de atividades metanogênicas, mas também nos teores de produção de hidrogênio e ácidos orgânicos.

De acordo com Fang e Liu (2002), o controle de pH é essencial para a produção de hidrogênio, uma vez que o pH exerce efeito sobre a atividade da hidrogenase e nas vias metabólicas de geração de ácidos. Um fermentador de 3L (Biostat B, B Braun Biotech) foi operado a 36°C, com tempo de retenção hidráulica de 6 h e alimentado com 7000 mg.L⁻¹ de glicose. Os autores verificaram que a degradação de glicose aumentou de 90,3 ± 1,0 % em pH 4 para 99,3 ± 0,9 % em pH 5,5, e permaneceu constante (98,8-99,5%) em pH entre 5,5 e 7. O conteúdo de hidrogênio no biogás aumentou de 40 ± 2% em pH 4 para 64 ± 2% em pH 5,5, em correspondência a degradação de glicose. Em pH 5,5, o rendimento de produção de hidrogênio alcançou o máximo, representando 2,1 ± 0,1 mols H₂.mol glicose⁻¹ e uma velocidade de produção específica de 4,6 L H₂., g SSV⁻¹. dia⁻¹.

Já Mu *et al.* (2006), exploraram o desempenho da produção de hidrogênio em um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) variando o pH de 3,4 para 6,3. Os autores verificaram que a pressão parcial de hidrogênio, a velocidade de produção de hidrogênio e o rendimento de produção de hidrogênio foram todos dependentes do pH. A máxima pressão parcial de hidrogênio, 5,3x10⁴ Pa, foi observada em pH 3,4. A máxima velocidade de produção de hidrogênio, de 145 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹, e o máximo rendimento de produção de hidrogênio, de 1,61 mol H₂. mol glicose⁻¹, foram obtidos em pH 4,2.

Outros estudos também verificaram a influencia do pH sob a produção dos metabólitos solúveis.

Fang e Liu (2002) também verificaram que o aumento do pH de 4 para 7 resultou na diminuição das concentrações de ácido butírico e aumentou na concentração do ácido acético. Em pH entre 4 e 6, o efluente continha, principalmente, ácido butírico (41,4 e 32,4%) seguido por ácido acético (15,3 e 29,5%). Em pH 6,5 e 7, as concentrações de ácido acético e o ácido butírico tornaram-se similares. O etanol foi o terceiro metabólito mais abundante. A produção máxima de 4,6% e 10,1% ocorreu em pH entre 5 e 6.

Horiuchi *et al.* (2002) examinaram a produção seletiva de ácidos orgânicos em reator M-10, Tóquio-Rika Kikai de 2L a 37°C alimentado com 8000 mg.L⁻¹ de glicose. Segundo os autores, a população microbiana no reator acidogênico depende mais do pH da cultura do que da pressão parcial de hidrogênio. O conteúdo de hidrogênio no reator ácido foi mais alto (16 a 48%) do que comparado à pressão de hidrogênio crítica (10⁻⁴ atm) que causa a mudança dos caminhos metabólicos como apontou Harper e Pohland (1986). Para verificar a influência do pH na acidogênese sob condições dinâmicas, a resposta do sistema para as trocas de pH foi investigada. O reator acidogênico foi operado em pH 6 e obteve como principal produto o ácido butírico. Em seguida, o pH do reator foi aumentado de 6 para 8 e, os autores verificaram uma diminuição na concentração de ácido butírico, enquanto as concentrações de ácido acético e propiônico aumentaram. A fim de examinar se o fenômeno de transição que ocorreu foi reversível, o pH da cultura foi então retornado para 6 a partir de 8. As concentrações dos ácidos acético e propiônico diminuíram e a concentração de ácido butírico retornou como principal produto. Baseado nas observações do comportamento dinâmico foi considerado que a mudança na formação dos produtos ocorreu pela mudança das populações microbianas dominantes no reator acidogênico. Segundo os autores, a mudança na população microbiana ocorreu porque o pH ótimo foi diferente para os grupos de organismo que produzem cada ácido orgânico.

Yu *et al.* (2003) estudaram o efeito da variação de pH sobre a produção de ácidos orgânicos e a degradação de carboidrato, proteínas e lipídeos. Os autores verificaram que para pH 4, a degradação de carboidrato, proteína e lipídeo foi 31%, 20%, 13%, respectivamente. Em pH 5,5, a degradação de carboidrato aumentou 50% e em pH 6,5, a degradação aumentou para 65%. Seus resultados mostraram também que os ácidos acético e butírico foram os produtos dominantes para pH maior que 5,5. Em pH 6,5, as frações de ácido acético e butírico no efluente foram 37% e 9% e em pH 4, as frações diminuíram para 23% e 10%.

respectivamente. Por outro lado, frações de ácido propionico diminuíram com o aumento do pH.

Os resultados do estudo de Zheng *et al.* (2006) mostraram que as velocidades específicas de produção de ácidos orgânicos em pH 6, 6,5 e 7 foram consideradas mais altas do que em pH 5,5. Os autores sugeriram que a produção de ácidos orgânicos pode ser inibida em condições operadas em pH 5,5.

Yuan *et al.* (2006), em estudos sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em reatores em batelada com excesso de lodo, testaram diferentes valores de pH (4 a 11). Os autores verificaram que durante os 8 primeiros dias de fermentação, a produção total de AGCC foi muito maior em pH 9 e 10 do que em pH ácido ou neutro. O rendimento máximo de 256,2 mg AGCC-DQO/g SSV em pH 10 foi 5 vezes maior que em pH 5. Os autores sugeriram que a produção de AGCCs, em condições alcalinas, foi favorecida pelo baixo ou nenhum consumo desses ácidos pelas arqueias metanogênicas, bem como pela alta solubilidade de proteínas e carboidratos em pH alcalino.

Mu *et al.* (2006) verificaram que a distribuição dos metabólitos solúveis também foi dependente do pH. Ácido butírico, acético e etanol foram dominantes nos pHs testados. A concentração dos metabólitos solúveis não mudou significativamente quando o pH aumentou de 3,4 para 5,3 (variação de 3454 mg. L⁻¹ para 3880 mg. L⁻¹). Porém, as concentrações dos metabólitos solúveis aumentaram para 4145 mg.L⁻¹ em pH 5,7 e diminuíram para 2498 mg.L⁻¹ em pH 6,3. A porcentagem de ácido acético diminuiu de 22,7% em pH 3,4 para 13,7% em pH 4,2 e então aumentou para 17,6 em pH 6,3. A porcentagem de etanol apresentou tendência similar à porcentagem do ácido acético. A porcentagem de ácido butírico aumentou de 21,6% em pH 3,4 para 52,1% em pH 4,2, então diminuiu para 23,0% em pH 6,3.

3.3.4 Influência do TDH

A influência do TDH sobre a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos foi estudada em diversos reatores de crescimento suspenso (LIU e FANG, 2002; VAN GINKEL e LOGAN, 2005; GAVALA *et al.*, 2006; ZHANG *et al.* 2006) e em reatores de crescimento imobilizado como UASB (GAVALA *et al.*, 2006), reatores de leito fixo (CHANG *et al.*, 2002) e reatores de leito fluidificado (WU *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007). Os estudos demonstram que o TDH exerce influência na produção de hidrogênio e ácidos orgânicos.

Liu e Fang (2002) operaram um fermentador de 3L (Biostat B, B Braun Biotech) operado a 26°C em pH de 5,5 e alimentado com 7000 mg.L⁻¹ de glicose para avaliar o efeito do aumento concomitante do TDH de 4,6 para 28,8 h, e da concentração de sacarose de 4800 a 29800 mg.L⁻¹ sobre a produção de hidrogênio e ácidos. A conversão de sacarose aumentou de 92,9% em TDH de 4,6 h (4800 mg.L⁻¹) para 98,9% em TDH de 13,7 h (14300 mg.L⁻¹), e então diminuiu para 88,2 % quando o TDH aumentou para 28,8 h (29800 mg.L⁻¹), sugerindo uma inibição devido às altas concentrações dos produtos. A composição de gás não foi influenciada pelo TDH e concentração de sacarose. A quantidade de hidrogênio variou de 57% a 68% do biogás. O rendimento de produção de hidrogênio variou de 0,19 para 0,27 L.g sacarose⁻¹ com um rendimento máximo ocorrendo em TDH de 13,7 h e 14300 mg.L⁻¹. A distribuição dos ácidos orgânicos e solventes no efluente variou com o TDH. Os ácidos butírico e acético foram os dois compostos mais abundantes no efluente. O aumento do TDH de 4,6 h para 28,6 h (ou concentração de sacarose de 4800 mg.L⁻¹ para 29800 mg.L⁻¹) resultou em um aumento de ácido butírico no efluente de 58,7% para 68,4%. O ácido acético apresentou porcentagem de 14,3% do total do carbono orgânico total no efluente em TDH de 4,6 h (4800 mg. L⁻¹ de sacarose), e aumentou para 25,2% em TDH de 13,7 h (14300 mg.L⁻¹ de

sacarose). Com o aumento do TDH e concentração de sacarose, a concentração de ácido acético no efluente diminuiu para 10,2%.

Chang *et al.* (2002) operaram continuamente dois biorreatores de leito fixo, um contendo carvão ativado e o outro contendo argila expandida como materiais suporte. Sob condições de pH de 6,7 e 35°C e alimentação com 20 g DQO.L⁻¹ de sacarose, a velocidade de produção de hidrogênio foi monitorada de acordo com a redução do TDH de 5 para 0,5 h. A máxima velocidade de produção de hidrogênio para os biorreatores contendo argila expandida e carvão ativado foram, respectivamente de 0,420 L.h⁻¹.L⁻¹ em TDH de 2 h, e 1,32 L.h⁻¹.L⁻¹ em TDH de 1 h. O reator contendo carvão ativado pareceu ser a melhor escolha para a fermentação de hidrogênio, uma vez que permitiu maior rendimento de biomassa, exibiu maior velocidade de produção de hidrogênio e também mostrou mais estabilidade quando foi operado em baixos TDHs de 0,5 h. Quando os reatores foram operados em um TDH menor do que seus valores ótimos, uma baixa produção de hidrogênio foi observada devido a competição com populações não produtoras de hidrogênio pelo substrato.

Yu *et al.* (2003) operaram um reator anaeróbio de agitação contínua, modificado com um separador interno de 3 fases e um agitador, para investigar o efeito do tempo de detenção hidráulica (TDH) na produção de ácidos orgânicos. O TDH foi diminuído de 24 a 4 h sob condições acidogênicas de pH 5,5 e temperatura de 35°C. O sistema foi alimentado com uma água residuária obtida de uma estação de tratamento de esgoto com um valor ajustado de 5 g.L⁻¹ de sólidos totais, e inoculado com lodo adaptado em 5 g.L⁻¹ de glicose, entre 20 e 25°C, pH 5,5, 12 h de TDH em 40 dias a fim de suprimir as arqueias metanogênicas. Os autores verificaram que o TDH de 16 h deve ser o mais adequado para a acidogênese da água residuária nesse tipo de reator, uma vez que o aumento de TDH de 16 para 24 h não apresentou nenhum efeito significativo na acidogênese. A degradação de carboidrato, proteína e lipídeo aumentaram com o TDH, dentre esses, o carboidrato foi o mais facilmente

degradado. A degradação de carboidrato, proteína e lipídeo em TDH de 4 e 24 h foram, respectivamente, 32% e 64%, 27% e 40%, 15% e 24%. Os principais metabólitos solúveis encontrados no efluente foram os ácidos acético, propiônico, butírico e isobutírico. A distribuição desses ácidos não foi significativamente influenciada pela variação de TDH. Em TDH de 4 h, os produtos foram compostos de 32% de ácido acético, 25% de propiônico, 18% de butírico, 9% de isobutírico, mais 16% de outros metabólitos. Em TDH de 24 h, acético, propiônico, butírico e isobutírico compuseram 34%, 29%, 19% e 10% mais 8% de outros metabólitos, respectivamente, do total de ácidos orgânicos produzidos. Os autores sugeriram que a instalação de um separador gás-líquido-sólido no reator reteve uma alta concentração de biomassa, possibilitando uma alta capacidade para a hidrólise e acidogênese.

Van Ginkel e Logan (2005) operaram reatores (New Brunswick BioFlo 110) de 2L alimentado com 5 g DQO.L⁻¹ à 30°C para avaliar quatro diferentes TDHs (10, 5, 2,5 e 1 h) sobre a produção de hidrogênio. Os autores verificaram que o rendimento de produção de hidrogênio aumentou com o aumento do TDH, de 1,9 para 2,4 mols H₂. mol glicose⁻¹ quando o TDH aumentou de 1 para 10 h. Nesse estudo, os autores concluíram que a concentração de glicose apresenta maior efeito sobre o rendimento de produção de hidrogênio do que o TDH.

Leite (2005) operou um reator acidogênico de leito fixo para avaliar a influência do TDH sobre a produção de ácidos graxos voláteis, a 30 ±1°C. Uma água residuária de fácil degradação, com baixo teor de matéria orgânica e composta de glicose como fonte de carbono foi utilizada. O sistema não foi inoculado, porém realizou-se uma operação intermitente para o desenvolvimento de uma biomassa acidogênica, durante uma semana. Os principais metabólitos solúveis no efluente foram os ácidos acético e butírico seguido pelo ácido propiônico, e a eficiência de degradação do substrato foi acima de 89,8%. Com relação à influência do TDH na produção dos ácidos orgânicos, foi verificado que a produção de ácido butírico diminuiu com a mudança do TDH de 2 para 0,5 h, correspondendo às concentrações

de 600 e 386 mg. L⁻¹, respectivamente. As concentrações de ácido acético para os TDHs de 2 e 0,5 h foram, respectivamente, 480 e 448 mg.L⁻¹.

Um reator de fluxo contínuo foi alimentado com água residuária de uma indústria de cerveja com uma concentração de, aproximadamente, 50 g DQO.L⁻¹ e operado em pH 5,5 a 37 ± 1°C para avaliar o efeito da redução do TDH de 48 para 8 h. Os resultados mostraram que todos os parâmetros foram afetados pelo TDH. Segundo os autores, 18 h foi o TDH ótimo para a maior concentração de hidrogênio no biogás (47%) e para a produção de hidrogênio de 4,24 mL.min⁻¹. Nos maiores TDHs, a produção foi significativamente reduzida, provavelmente devido a inibição dos subprodutos. Para todos os experimentos, o ácido acético e butírico foram os principais ácidos, com exceção do TDH de 18 h, onde a concentração de ácido acético foi mais alta. A concentração de ácido butírico inicialmente aumentou com a redução do TDH e alcançou um pico máximo de 1700 mg.L⁻¹ em TDH de 18 h. Depois, sua concentração diminuiu com a redução do TDH até 8 h. A concentração dos ácidos totais aumentou com o TDH e alcançou 2700 mg.L⁻¹ em TDH de 48 h, enquanto que os solventes totais diminuíram significativamente em TDH de 24 h. Etanol correspondeu a maior fração dos solventes e as maiores concentrações ocorreram nos menores TDHs, aproximadamente de 2700 a 2800 mg.L⁻¹ nos TDHs de 8 a 18 h. Em seguida, as concentrações diminuíram nos maiores TDHs, de 24 e 48 h. Esses resultados claramente indicam que o sistema estava em uma fase solventogênica devido a concentração de álcool ser maior do que a dos ácidos em TDHs menores (FAN *et al.*, 2006).

Gavala *et al.* (2006) compararam o desempenho entre um reator de agitação contínua (CSTR) e um reator de manta de lodo (UASB) sobre a produção de hidrogênio quando o TDH foi reduzido de 12 para 2 h. O rendimento de produção de hidrogênio no reator UASB foi quase estável para todos os TDHs com valor médio de 0,7 ± 0,1 mmol H₂.mmol glicose⁻¹, e foi menor do que no CSTR mesofílico, com 1,7 ± 0,3 mmol H₂.mmol glicose⁻¹. A velocidade

de produção de hidrogênio no reator UASB aumentou significativamente, de 5,2 para 19 mmol H₂.h⁻¹.L⁻¹ quando o TDH diminuiu para 2 h, enquanto que a velocidade de produção de hidrogênio permaneceu quase o mesmo no CSTR. A velocidade de produção de hidrogênio no UASB excedeu mais do que duas vezes o CSTR em TDH de 2h. Isto implica que o UASB é mais adequado para a produção biológica de hidrogênio em baixos TDHs comparado ao CSTR. A eficiência do UASB para o consumo de glicose foi muito maior que o do CSTR com uma remoção máxima de 100% e a menor porcentagem de 87% em TDH de 2h. Isto pode ter ocorrido, provavelmente, devido aos maiores tempos de retenção de sólidos (TRS) no UASB comparado ao CSTR. A acumulação de biomassa ativa no UASB resultou em um completo consumo de substrato e conseqüentemente as maiores velocidades de produção de hidrogênio em baixos TDHs comparado com o CSTR onde TRS é igual ao TDH. A concentração de hidrogênio no biogás diminuiu com o TDH e esteve entre 38% e 29%. Os ácidos acético e butírico foram os principais produtos solúveis e, a concentração desses ácidos foi duas a quatro vezes maior comparada com o CSTR. As concentrações de ácido acético e butírico e o valor do pH no UASB permaneceram estáveis com o TDH.

Lin *et al.* (2006) operaram um reator de leito fluidificado com tubo draft contendo partículas de silicone gel com células imobilizadas para a produção de hidrogênio. Os autores avaliaram a influência de TDH de 8,9, 6,0, 3,0, 2,2 h sobre a produção de hidrogênio. O lodo proveniente de uma estação de tratamento de águas residuárias foi submetido a um pré-tratamento a 100°C por 1 h e depois foi misturado em carvão ativado (10:1) e silicone gel (1:10) para a formação de discos de partículas com células imobilizadas com peso de 0,2 cm, diâmetro de 0,3 cm, densidade de 1,14 g.cm⁻³, e conteúdo de biomassa de 3,75 g SSV.kg⁻¹ de matriz de silicone gel. Aproximadamente, 912 g de partículas com células imobilizadas foram colocadas no reator para alcançar um volume de sólidos de 10%. A temperatura foi controlada em 40°C e a vazão de recirculação do líquido foi ajustada em 6 L.min⁻¹ para manter a

circulação das partículas no leito fluidizado. Com uma concentração de 20 g DQO.L⁻¹, a velocidade de produção de hidrogênio aumentou de 1,4 a 1,9 vezes com a redução do TDH de 8,9 para 3 h, enquanto que em TDH de 3 e 2,2 h as velocidades de produção de hidrogênio foram similares. O rendimento de produção de hidrogênio estava entre 2,62 e 4,28 mol H₂.mol sacarose⁻¹ em TDH de 8,9 a 3 h e depois caiu para 1,9 mol H₂.mols sacarose⁻¹ em TDH de 2,2 h. Ao contrário do rendimento de produção de hidrogênio e velocidade de produção de hidrogênio, o conteúdo de hidrogênio no biogás e a conversão de sacarose não sofreram variação com o TDH. O conteúdo de hidrogênio foi mantido entre 40% e 44% e a média de conversão de sacarose foi de 92% a 99%, sugerindo estável e eficiente utilização do carbono pelas bactérias acidogênicas. Os metabólitos solúveis consistiram, principalmente, de ácido butírico e acético, variando de 62% a 73% e 17% a 23% do total dos produtos metabólicos formados, respectivamente. A produção de ácido propiônico e etanol foram, relativamente, insignificantes, com valores menores do que 19% do total dos produtos metabólicos formados. A razão ácido butírico-ácido acético (B/A), frequentemente utilizada como indicador de desempenho para a fermentação escura de hidrogênio estava dentro da variação de 2,9 a 4,3, sugerindo que as culturas direcionam o seus caminhos metabólicos a favor da produção de hidrogênio.

Zhang *et al.* (2007) operaram um reator anaeróbico de leito fluidificado preenchido com carvão ativado como material suporte para imobilização da biomassa para avaliar a redução do TDH de 4 para 0,5 h em uma concentração de glicose de 10 g.L⁻¹. Sob condições ácidas de pH 4,0 a 37°C, a velocidade de conversão de glicose diminuiu aparentemente, de 99,47% em TDH de 4 h para 71,44% em TDH de 0,5 h. A composição de hidrogênio diminuiu lentamente de 61,2% para 57,2% quando o TDH foi diminuído. Um rendimento de produção de hidrogênio de 0,94 mol H₂.mol glicose⁻¹, foi encontrado em TDH de 4 h e estabilizou em 1,12-1,19 mol H₂.mol glicose⁻¹ (média 1,16 ± 0,03) entre o TDH de 0,5 e 2 h. Ambos

velocidade de produção volumétrica e específica de hidrogênio aumentaram significativamente com a diminuição do TDH, com um valor máximo em TDH de 0,5 h de 2,22 L.h⁻¹.L⁻¹ e 4,18 mmol H₂. g SSV⁻¹.h⁻¹, respectivamente. Além disso, a biomassa aderida foi altamente correlacionada com o TDH, de 8,1 g SSV.L⁻¹ em TDH de 4 h para 21,5 g SSV.L⁻¹ em TDH de 0,5 h. Em geral, os metabólitos solúveis consistiram de ácido acético (43 a 46%), ácido butírico (20 a 31%), etanol (14 a 21%), ácido capróico (7 a 10%), seguida por uma insignificante quantidade de ácido propiônico (0 a 3%). Os metabólitos diminuíram lentamente quando o TDH foi diminuído com a exceção do ácido butírico que inicialmente aumentou, mas diminuiu com a diminuição do TDH de 1 para 0,5 h.

3.3.5 Influência da Velocidade de Carregamento Orgânico (TCO) e Concentração de substrato

A Taxa de Carregamento Orgânico (TCO), combinação dos valores de TDH e concentração de substrato, pode representar um parâmetro para a produção de hidrogênio e ácidos.

Yu e Fang (2001) operaram um reator de fluxo ascendente para investigar a influência da concentração de substrato na acidificação de água residuária contendo complexos orgânicos como proteínas, carboidratos e lipídeos. A DQO de uma água residuária sintética preparada com leite em pó foi aumentada de 2 para 4, 8, 12, 20 e 30 g.L⁻¹ em condições acidogênicas mantida em pH 5,5 ± 0,1, com temperatura constante de 37°C e TDH de 12 h. O sistema foi inoculado com lodo de reator tratando a mesma água residuária com uma concentração de sólidos suspensos voláteis igual a 9,5 g.L⁻¹. Entre os três maiores constituintes da água residuária, o carboidrato foi acidificado mais eficientemente, de 99% para a concentração de 2 g DQO.L⁻¹, para 91,5% para a concentração de 30 g DQO.L⁻¹. A eficiência de degradação de proteína e lipídeo para as concentrações de 2 e 30 g DQO.L⁻¹

foram, respectivamente de 85-59% e 12-42%. Os resultados desse estudo mostraram que a DQO da água residuária tem um considerável efeito na distribuição dos produtos de acidificação. Os ácidos acético e butírico diminuíram com o aumento da DQO e mantiveram-se constantes nas concentrações de 20 e 30 g.L⁻¹, correspondendo a 14 e 4% dos produtos no efluente. O ácido propiônico aumentou com a DQO até alcançar o máximo de 24% e então, gradualmente, diminuiu para 18% em 30 g.L⁻¹. O etanol permaneceu na variação de 10 a 12% e, propanol e butanol não foram detectados no efluente com 2 g DQO.L⁻¹, mas alcançou 15 e 20% em 30 g.L⁻¹, respectivamente. O nítido aumento de propanol e butanol concomitante à diminuição de ácido acético e butírico, indica que os caminhos metabólicos foram significativamente influenciados pela concentração do substrato. Os autores sugerem que a troca parece ser capaz de atuar como um mecanismo contra a intoxicação o qual permite que as células evitem os efeitos inibitórios que ocorreriam quando os ácidos orgânicos alcançam níveis tóxicos.

Leite (2005), examinando o efeito da concentração de matéria orgânica sobre a produção de ácidos graxos voláteis, verificou que o aumento da concentração de glicose no substrato promoveu o aumento dos ácidos voláteis, inclusive com a presença de ácido capríco. Em concentração de glicose de 2000 e 4000 mg.L⁻¹, as concentrações de ácido acético, butírico, propiônico e capríco foram, 448,0 mg.L⁻¹ e 906,0 mg.L⁻¹, 386,0 mg.L⁻¹ e 828,0 mg.L⁻¹, 29,0 mg.L⁻¹ e 72,0 mg.L⁻¹, 76,0 mg.L⁻¹ e 156,0 mg.L⁻¹, respectivamente.

Van Ginkel e Logan (2005) verificaram que quando a TCO aumentou de 0,012 para 0,453 kg.dia⁻¹, a velocidade de produção de hidrogênio aumentou linearmente. No entanto, com o aumento da TCO, foi verificada a diminuição do rendimento de produção de hidrogênio de 2,8 mol H₂.mol glicose⁻¹ para 1,7 mol H₂.mol glicose⁻¹. O maior rendimento de produção de hidrogênio foi obtido em TCOs abaixo de 0,067 kg.dia⁻¹, porção dos dados correspondentes a uma concentração de glicose de 2,5, 5,0 e 7,5 g DQO.L⁻¹, para um TDH de

10 h. Esses resultados demonstram que, em condições com altas TCOs, há um acúmulo de gás hidrogênio na fase líquida que provoca a inibição da hidrogenase e baixos rendimentos de hidrogênio. Os autores verificaram que o aumento da concentração de glicose tem um maior efeito sobre o rendimento de produção de hidrogênio do que o TDH. Além disso, a diminuição da concentração de glicose de 10 para 2,5 g DQO.L⁻¹ aumentou o rendimento de produção de hidrogênio de 1,9 para 2,4 mols H₂.mol glicose⁻¹. As medidas do headspace do reator mostraram alta concentração de gás hidrogênio no reator em todas as condições, variando de 60 a 72% (média de 63,3 ± 3,5%). As maiores concentrações de hidrogênio foram obtidas na menor concentração de glicose, com média de 69,3 ± 2,5% em 2,5 g DQO.L⁻¹. A remoção de glicose foi maior do que 90% em todos os experimentos e foi acima de 97% para uma afluente contendo 2,5 g DQO.L⁻¹.

Lin *et al.* (2006) avaliando a produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidificado verificaram que com o aumento da TCO de 24 kg.m⁻³.dia⁻¹ para 480 kg.m⁻³.dia⁻¹, as velocidades de produção de hidrogênio volumétrica e específica aumentaram inicialmente e depois aumentaram lentamente quando a TCO alcançou seu valor mais alto. Ao contrário das velocidades de produção de hidrogênio, o rendimento de produção de hidrogênio não apresentou limites universais quando correlacionado com a TCO. O rendimento tendeu a aumentar com a TCO para TDHs mais altos (6 e 8,9 h), mas tornou-se independente da TCO em TDHs mais baixos (2,2 e 3 h).

Lin *et al.* (2006) também verificaram que a concentração de substrato afeta a velocidade de produção de hidrogênio. O aumento na concentração de sacarose de 5 para 40 g DQO. L⁻¹ resultou em um aumento de 7 para 10,9 vezes para a velocidade de produção volumétrica de hidrogênio e de 1,7 a 3,4 vezes para a velocidade de produção específica de hidrogênio. A máxima velocidade de produção volumétrica de hidrogênio, de 2,27 ± 0,13 L.h⁻¹.L⁻¹, aconteceu em uma concentração de 40 g DQO.L⁻¹ e TDH de 2,2 h. Além disso, a

velocidade de produção de hidrogênio volumétrica e específica aumentaram inicialmente com a TCO e, em seguida aumentaram lentamente quando a TCO alcançou um valor maior, sugerindo que existe uma TCO ótima para assegurar as melhores velocidades de produção de hidrogênio.

Zhang *et al.* (2007) observaram em um reator anaeróbio de leito fluidificado que a concentração de sólidos voláteis imobilizados no suporte e as velocidades de produção de hidrogênio volumétrica e específica parecem ser fortemente influenciadas pela TCO. Os resultados estatísticos mostraram que a velocidade de produção de hidrogênio volumétrica e específica foram linearmente correlacionados com a TCO. A biomassa imobilizada aumentou significativamente, mas não linearmente com a TCO, indicando que o aumento da TCO nem sempre estimula o aumento da concentração de biomassa imobilizada.

Zhang *et al.* (2007) avaliaram a influência do aumento da concentração de 10 para 30 g glicose.L⁻¹ em TDH de 1 h. A conversão de glicose diminuiu significativamente com a concentração de glicose e somente 54,15% da glicose foi utilizada em 30 g.L⁻¹ quando comparado com 89,52% em 10 g.L⁻¹. Um conteúdo constante de hidrogênio no biogás de 59,2% foi observado durante todo o experimento, indicando que a composição do biogás é independente da concentração de alimentação. O rendimento de produção de hidrogênio diminuiu lentamente de 1,19 para 1,10 mols H₂.mol glicose⁻¹ quando a concentração de glicose no afluente aumentou, com uma média de 1,16 ± 0,05 mols H₂.mol glicose⁻¹. A velocidade de produção de hidrogênio volumétrica e específica aumentaram com o aumento da concentração e alcançou um máximo de 2,36 L.h⁻¹.L⁻¹ e 4,34 mmol H₂. g SSV⁻¹.h⁻¹, respectivamente. A concentração da biomassa aderida aumentou lentamente de 18,7 g SSV. L⁻¹ em 10 g.L⁻¹ para 21,6 g SSV.L⁻¹ em 20 g.L⁻¹, mas não variou quando a concentração de glicose aumentou. Os metabólitos solúveis consistiram de ácido acético (43-47%), ácido butírico (30-31%), etanol (14-15%), ácido capróico (5-10%) e ácido propiônico

(2-3%). Ácido acético, butírico e etanol aumentaram inicialmente, mas não variaram quando a concentração aumentou, enquanto que os ácidos capríco e propiônico não variaram durante todo o período.

3.3.6 *Influência da Temperatura*

Temperaturas similares às da digestão anaeróbia mesofílica são rotineiramente utilizadas e a temperatura ótima pode corresponder a 30°C. Além disso, a operação termofílica de reatores contínuos tem sido citados. Isso deve reduzir a concentração de hidrogênio dissolvido, no entanto requer grande requerimento de energia que deve somente ser permitido se o processo de aquecimento for econômico (HAWKES *et al.*, 2002).

O estudo de Maharaj e Elefsiniotis (2001) investigou os efeitos das baixas temperaturas na acidogênese. As concentrações de ácidos orgânicos foram mais altas a 25°C, em TDH de 30 h, e diminuí a 16°C e 8°C em ambos os reatores. A queda na concentração não foi devida a SSV. Os níveis de SSV permaneceram relativamente estáveis considerando as mudanças de temperatura. A diminuição provavelmente apareceu devido aos efeitos debilitantes das baixas temperaturas sobre as bactérias acidogênicas.

Yu e Fang (2003) realizaram um experimento contínuo em um reator de fluxo ascendente de 2,8 L para avaliar o efeito da temperatura sobre a acidogênese. Uma água residuária sintética com proteína foi preparada usando gelatina como fonte de carbono em uma concentração de 4 g DQO.L⁻¹. O reator foi operado em TDH de 12 h, pH de 5,5 e as temperaturas foram aumentadas de 20 para 25, 30, 37, 45, 50 e 55°C. Em todas as corridas, a eficiência de degradação da gelatina excedeu 90%, indicando que a gelatina foi rapidamente degradada sobre as condições testadas e que a temperatura teve pouca influência sobre a degradação da gelatina. O grau de acidificação lentamente aumentou com a temperatura, de 56,4% em 20°C para 72,6% em 55°C. Os resultados mostraram que a temperatura não teve

um significativo efeito sobre a distribuição dos produtos. Os principais metabólitos solúveis foram ácido acético, propiônico, butírico, isobutírico. A pressão parcial de hidrogênio diminuiu quando a temperatura aumentou de 5 kPa em 20°C para 1,5 kPa em 55°C. A pressão parcial de metano teve um comportamento oposto a pressão parcial de hidrogênio com exceção em 37°C, enquanto que a pressão parcial de dióxido de carbono variou de 60 para 82 kPa. O rendimento do lodo aumentou quando a temperatura diminuiu, de 0,286 g.SSV⁻¹.g DQO⁻¹ em 55°C para 0,298 g.SSV⁻¹.g DQO⁻¹ em 37°C e para 0,322 g.SSV⁻¹.g DQO⁻¹ em 20°C. Os resultados demonstram que altas temperaturas resultam em baixo rendimento de biomassa, que é atribuído ao aumento da lise celular e dos maiores requerimentos em altas temperaturas.

Gavala *et al.* (2006) comparou o desempenho de dois reatores de agitação contínua (CSTR) um a 35°C e outro 55°C quanto a produção de hidrogênio. O CSTR termofílico exibiu um maior rendimento do que o mesofílico. A velocidade de produção de hidrogênio específica foi 5 a 10 vezes maior no CSTR termofílico do que no mesofílico. Isto foi devido ao menor rendimento de biomassa sob condições termofílicas, atribuído a maior demanda de energia para a manutenção das atividades metabólicas dos organismos em altas temperaturas. A concentração de hidrogênio na fase gasosa foi maior sob condições termofílicas (46 a 37%) do que no mesofílico (44 a 34%). Os produtos metabólicos dominantes sob condições mesofílicas foram os ácidos butírico e acético com a produção de ácido butírico sendo o dobro do ácido acético. Já sob condições termofílicas, a distribuição dos produtos metabólitos consistiu dos ácidos acético e butírico com quantidades similares.

3.6 Reator anaeróbico de leito fluidificado

Devido a grande demanda de pesquisas na área de tratamento anaeróbico verificado nos

últimos anos, foram desenvolvidos os “sistemas de alta taxa”. Estes se caracterizam, basicamente, pela capacidade em reter grandes quantidades de biomassa, de elevada atividade, mesmo com a aplicação de baixos tempos de detenção hidráulica. Dessa forma, consegue-se manter um elevado tempo de retenção de sólidos, mesmo com a aplicação de elevadas cargas hidráulicas no sistema. O resultado é a obtenção de reatores compactos, com volumes bastante inferiores aos reatores anaeróbios de crescimento suspenso, mantendo-se, no entanto, elevado grau de estabilização do lodo (CHERNICHARO, 1997).

Os reatores anaeróbios de alta taxa podem ser classificados em dois grandes grupos de acordo como tipo de crescimento de biomassa no sistema, crescimento microbiano disperso e crescimento microbiano aderido (CHERNICHARO, 1997).

O reator anaeróbio de leito fluidificado está inserido no grupo dos sistemas de alta taxa com crescimento bacteriano aderido.

A técnica de leito fluidificado envolve a suspensão do sólido finamente dividido numa corrente ascendente de fluido a uma velocidade suficientemente elevada para causar a flutuação e movimentação vigorosa das partículas. O sistema fluidificado é uma suspensão que possui a maioria das características normalmente apresentadas pelos fluidos verdadeiros, e suas características de transferência de calor e massa são muito melhores, o que permite eliminar a multiplicidade de estágios para se conseguir um dado resultado, reduzindo assim o custo do investimento.

O sistema fluidificado oferece vantagens sobre outros sistemas no que se refere à maior área específica do sólido exposta ao fluido o que favorece as transferências de calor e massa e altas velocidades de reação, quando comparados aos leitos fixos. No entanto, atenção deve ser dada aos leitos fluidificados pois, a grande agitação do leito pode produzir atrito severo, geração de pó e desintegração do sólido, necessitando de reposição do sólido.

Hickey e Owens (1981) relataram alguns fatores que podem aumentar a eficiência no

processo do leito fluidificado. São eles, a mínima resistência difusional devido ao movimento das partículas e velocidade do líquido, a minimização de problemas de canais preferenciais, de empacotamento e da retenção de gás, e a habilidade de controlar e otimizar a espessura do biofilme.

Já Buffiere *et al.* (1998) verificaram que a produção de gás é responsável pela contração do leito que reduz o contato entre o líquido e as biopartículas, podendo reduzir a eficiência do reator. Além disso, foi mostrado que o desempenho do reator pode ser afetado de 10 a 15%, dependendo do modo de operação e razão de reciclo utilizada, e que em altas taxas de carregamento orgânico o desempenho do reator é sensível aos efeitos da efervescência do gás.

O estudo realizado por Wu *et al.* (2003) demonstraram que em resposta a operação da velocidade do líquido, o sistema de leito fluidificado apresentou três regimes de fluxo nomeado de “plug flow”, “slug flow” e “free bubbling”. Com uma velocidade de produção de biogás (U_G) de $0,196 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, um estado de transição ocorreu em uma velocidade líquida (U_0) de $0,85 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Quando o U_0 foi menor que $0,85 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, o sistema apresentou um leito fluidificado não homogêneo, enquanto o leito tornou-se homogêneo quando o U_0 foi maior que $0,85 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Segundo os autores, a hidrodinâmica dos biorreatores estava intimamente relacionada com a produção de biogás e hidrogênio. As três fases (sólido, líquido e gás) no leito foram afetadas pela formação, expansão e coalescência de bolhas de biogás bem como a velocidade entre as bolhas e a fase líquida. A interação entre esses fatores parece determinar os regimes de fluidificação do biorreator.

O reator anaeróbio de leito fluidificado foi utilizado para o tratamento de águas residuárias de indústrias alimentícias (AKUTSU, 1985) e doméstica (MENDONÇA *et al.* 2004; NICIURA, 2005), para tratamento de efluentes com compostos tóxicos, especificamente, o fenol (AMORIM, 2007), para o tratamento da vinhaça de cana de açúcar

(SIQUEIRA e SILVA, 2007) e para a produção de hidrogênio (WU *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2006, ZHANG *et al.*, 2007).

Mendonça *et al.* (2004) avaliaram o desempenho, a produção de lodo e as características de um reator anaeróbio de leito fluidificado de escala real sobre o tratamento de água residuária doméstica. O sistema apresentou eficiências de remoção de DQO e SST de 71 e 78%, respectivamente. A velocidade de produção de lodo e a idade do lodo foram, respectivamente, de 0,116 kg SSV.kg DQO⁻¹ e 12 dias. O biofilme apresentou dois padrões diferentes; um no início da colonização e outro no biofilme maduro. Os diferentes padrões foram devidos à estratificação do leito causado pela diferença nas velocidades de dissipação de energia local ao longo do reator.

Niciura (2005) avaliou o uso da banda de rodagem de pneus inservíveis triturada (BPIT) como suporte para o desenvolvimento de biofilmes em reator anaeróbio de leito expandido em escala plena para o emprego no tratamento de esgoto sanitário. A remoção média de matéria orgânica foi de 70% em TDH de 3,2 h, com velocidade ascensional média de 5,7 m.h⁻¹ e carga orgânica volumétrica média de 5,4 kg DQO.m⁻³.dia⁻¹. A remoção média de sólidos suspensos no sistema foi de 65%, a porcentagem de metano no biogás manteve-se próxima a 65% e a remoção de nitrogênio e fósforo foi inferior a 10%.

Amorim (2007) avaliou a viabilidade do reator anaeróbio de leito fluidificado sob condições de aumento progressivo da carga orgânica no tratamento de água residuária sintética contendo fenol com concentração de até 700 mg.L⁻¹ como fonte de carbono. O autor constatou eficiências de remoção de fenol e DQO superiores a 90% e 88%, respectivamente.

Siqueira e Silva (2007) verificaram a robustez do reator anaeróbio de leito fluidificado na degradação de compostos recalcitrantes, especificamente a vinhaça de cana de açúcar. Os autores verificaram que em TDH de 24 h, as eficiências de remoção de DQO de 53%, 67%,

59%, 66% e 67% corresponderam, respectivamente, ao tratamento da vinhaça em concentrações de 2240 mg.L⁻¹, 4944 mg.L⁻¹, 8070 mg.L⁻¹, 10276 mg.L⁻¹, e 16051 mg.L⁻¹.

3.6.1 Meio suporte para aderência microbiana

A escolha do material empregado como suporte deve apresentar 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).

Diversos materiais podem ser utilizados como suporte em reatores anaeróbios, dentre eles: areia, antracito, carvão ativado (MENDONÇA, 2004), banda de rodagem de pneus inservíveis triturada (NICIURA, 2005), poliestireno (AMORIM, 2007; OMENA e SILVA, 2007; SIQUEIRA e SILVA, 2007), carvão vegetal (OLIVEIRA *et al.*, 2007), anéis e espuma de poliuretano (NOCKO e FORESTI, 2007) e argila expandida (cinasita) (LEITE, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Segundo estudo de Ortega *et al.* (2001) para avaliar quais microrganismos aderiam preferencialmente sobre vários tipos de suporte verificaram que a quantidade de biomassa imobilizada foi maior em suportes mais porosos e com maior tamanho de poros. Os autores verificaram que a argila expandida foi o suporte menos eficaz na retenção celular da maioria dos organismos envolvidos na degradação do esgoto como os metanogênicos uma vez que houve predominância de bactérias filamentosas no material.

Além disso, a fim de selecionar os melhores materiais suporte para a produção de hidrogênio em um reator de leito fixo, Chang *et al.* (2002) examinaram três materiais suporte pelas suas eficiências na retenção de biomassa e na produção de hidrogênio. Depois de um período de um ciclo de cultivo, as colunas empacotadas com carbono ativado, argila expandida e espuma acumularam apresentaram cerca de 5,53 g SSV.L⁻¹, 1,85 g SSV.L⁻¹ e

0,94 g SSV.L⁻¹ de biomassa, respectivamente. A produção de hidrogênio cumulativo no final da operação foi 1010,0 e 980,0 mL para o reator contendo carvão ativado e argila expandida, respectivamente, enquanto que o reator contendo espuma gerou somente 190,0 mL de hidrogênio. Os resultados parecem indicar que a espuma foi menos eficiente para ambos a imobilização da biomassa e geração de hidrogênio.

O estudo de produção de ácidos orgânicos em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) realizado por Leite *et al.* (2005) mostrou que a argila expandida (cinasita) é adequada como suporte de imobilização de biomassa para o sistema estudado. A argila expandida (cinasita) permitiu boa aderência da biomassa anaeróbia sobre as partículas, principalmente em tempos de retenção hidráulica baixos. Além disso, o mesmo autor sugere o emprego desse material como meio suporte uma vez que seu custo é baixo.

CAPÍTULO 4

MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Inóculo

O inóculo consistiu de um lodo anaeróbio proveniente de um reator UASB que trata água residuária de atividade de suinocultura, fornecido pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (UNESP), Campus Jaboticabal.

O lodo foi submetido a um pré-tratamento térmico de acordo com a metodologia de Kim *et al.* (2006).

Um volume de 1,5 L do lodo foi aquecido até 90°C por 10 minutos. Durante o aquecimento, o lodo foi homogeneizado constantemente e a temperatura foi controlada por meio de um termômetro. Em seguida, o lodo foi mantido em banho de gelo até que a temperatura atingisse 25°C.

4.2 Água Residuária Sintética

A água residuária sintética foi composta por glicose como principal fonte de carbono e preparada de acordo com Del Nery (1987). As características da água residuária estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Composição de água residuária sintética segundo Del Nery (1987).

Composto	Composição (mg.L ⁻¹)
Glicose	2000,0
Uréia	125,0
Sulfato de Níquel	1,0
Sulfato ferroso	5,0
Cloreto férrico	0,5
Cloreto de cálcio	47,0
Cloreto de cobalto	0,08
Oxido de selênio	0,07
Fosfato de potássio monobásico	85,0
Fosfato de potássio dibásico	21,7
Fosfato de sódio dibásico	33,4

Nesse estudo, a escolha da glicose com concentração de 2000 mg.L⁻¹ como principal fonte de carbono foi baseada no estudo de Leite (2005). Optou-se, também, em retirar o bicarbonato de sódio da composição da água residuária para manter um pH ácido no sistema e suprimir a atividade metanogênica.

A água residuária foi armazenada em um barrilete de 50 L e seu volume foi substituído diariamente. Para garantir a anaerobiose no interior do reator, gás nitrogênio (100%) foi fluxionado no barrilete a cada troca da água residuária sintética. Duas bexigas foram acopladas no barrilete e preenchidas com nitrogênio (100%) para que, à medida que o volume do substrato fosse diminuindo, o mesmo não seria contaminado com a atmosfera ambiente, evitando assim, a contaminação do reator pelo oxigênio.

A partir da etapa IV, o barrilete de armazenamento de água residuária foi substituído por uma caixa d'água adaptada devido ao grande volume de água residuária necessária para os TDHs entre 2 e 1 h.

4.3 Material Suporte

O reator foi preenchido com partículas não uniformes de argila expandida (cinasita) para a imobilização da biomassa. As características físicas da argila expandida segundo Ortega *et al.* (2001) são apresentadas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Características físicas da argila expandida (cinasita) segundo Ortega *et al.* (2001).

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

A cinasita foi adquirida como pedras para uso de jardinagem. Inicialmente, as pedras foram lavadas e foi observado que algumas pedras afundavam enquanto outras boiavam. Apenas as pedras com densidade maior que a da água foram submetidas ao tratamento para a preparação do material suporte. Essas pedras foram, então, lavadas novamente, quebradas e separadas por tamanho. À medida que as pedras foram quebradas, essas foram peneiradas e separadas numa faixa granulométrica de 2,8-3,35 mm.

Para o preenchimento do reator, as partículas de cinasita foram novamente lavadas e aquelas partículas que flutuaram na água foram descartadas.

Na Figura 4.1(a) estão as pedras de cinasita adquiridas para o tratamento e, na Figura 4.1(b), a cinasita pronta como material suporte para a imobilização da biomassa.



(a)

(b)

Figura 4.1. Partículas de cinasita para utilização como suporte para aderência das populações microbianas. (a) sem tratamento, (b) com tratamento.

As condições fluidodinâmicas do reator, tais como velocidade de mínima fluidificação e vazão de recirculação para a cinasita, foram calculadas a partir de dados experimentais de velocidade superficial e perda de carga. As características como dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidificação são apresentadas na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidificação para as partículas de cinasita.

Partícula	Φ (mm)	ρ (g.cm ⁻³)	V_{mf} (cm.s ⁻¹)
Cinasita	2,8 x 3,35	1,50	1,24

4.4 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado

O reator anaeróbio de leito fluidificado foi confeccionado com acrílico transparente de 5 mm de espessura. Esse reator apresentou 190 cm altura, 5,3 cm de diâmetro interno, volume total de 4192 cm³ e amostradores intermediários ao longo do comprimento do reator localizados a 20, 40, 70, 110 e 160 cm da sua base.

O reator foi acoplado a uma bomba de alimentação modelo DL MA C/LIVELLO com vazão máxima de 10 L.h⁻¹ e pressão máxima de 10 bar, e por uma bomba de recirculação

(ECOSAN-Bomba dosadora) com vazão entre 10 a 200 L.h⁻¹ e pressão de 5,8 bar.

A temperatura foi mantida a 30 ± 1 °C por meio de encamisamento do reator em banho ultratermostatizado Marconi modelo 184.

A Figura 4.2 ilustra o esquema da instalação piloto do reator anaeróbio de leito fluidificado que foi utilizado nesse trabalho.

A Figura 4.3 o reator utilizado nesse estudo em operação. Pode ser verificado o preenchimento do reator com a cinasita, material suporte para a imobilização da biomassa.

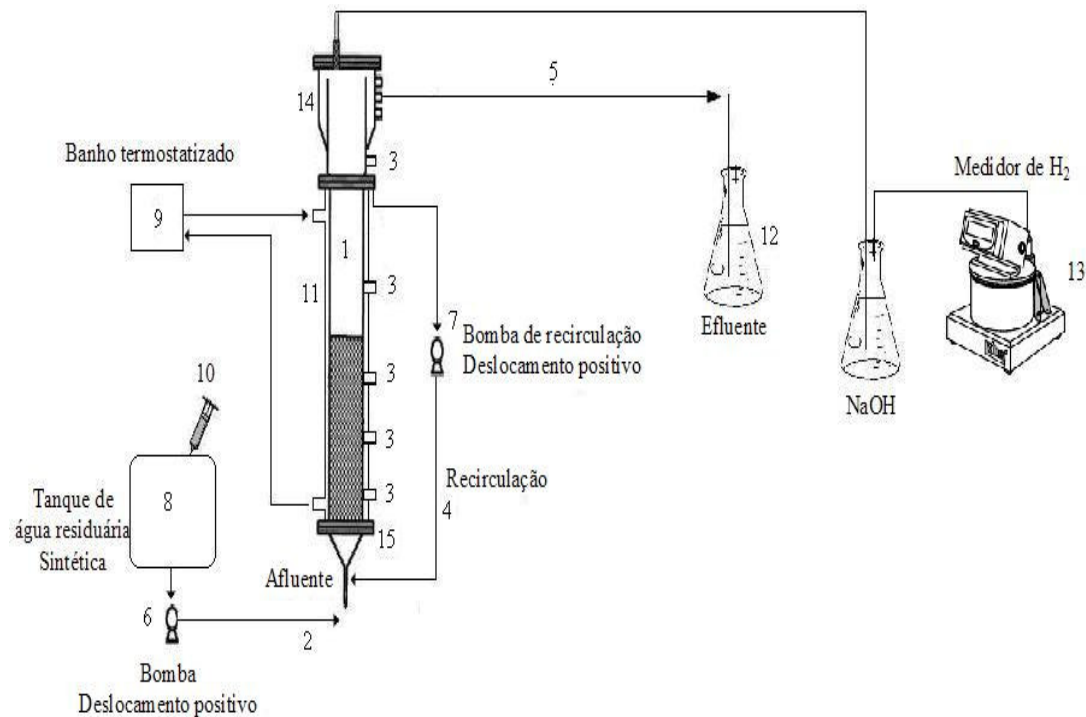


Figura 4.2. Esquema da instalação do reator anaeróbio de leito fluidificado: (1) Reator de leito fluidificado, (2) entrada do afluente, (3) amostradores, (4) recirculação, (5) saída do efluente, (6) bomba de alimentação, (7) bomba de recirculação, (8) reservatório de alimentação, (9) banho termostatizado, (10) bexigas com nitrogênio, (11) encamisamento para o banho, (12) reservatório do efluente, (13) medidor de H₂, (14) câmara de captura de gás, (15) distribuidor da alimentação.

A vazão de recirculação necessária para que o reator atingisse as condições de fluidificação foi de 1,3 V_{mf}. Considerando as dimensões do reator citadas no item 4.5 acima, e

o valor da V_{mf} de $1,24 \text{ cm.s}^{-1}$, a vazão de recirculação encontrada foi de $128,03 \text{ L.h}^{-1}$. Com o uso de um medidor de vazão acoplado ao reator, a bomba foi regulada.

Para a partida, o reator foi preenchido com as partículas de cinasita até uma altura de 90 cm, no qual a massa correspondente foi de aproximadamente 1295 g.



Figura 4.3. Fotografia do reator anaeróbio de leito fluidificado utilizado nesse estudo sob operação.

A partida do sistema foi iniciada com um período de adaptação do lodo, onde 1,5 L de lodo pré-tratado, de acordo com o item 4.4, foram homogeneizados em 15,0 L da água residuária contendo 2000 mg.L^{-1} de glicose. A mistura foi armazenada em um barrilete para alimentar o reator. Um sistema de recirculação entre o barrilete e o reator foi mantido durante 2 dias a fim de promover a adaptação da biomassa ao substrato, iniciar as atividades metabólicas da células e a posterior aderência da biomassa ao material suporte. Uma bomba

dosadora da ECOSAN permitiu que o sistema se mantivesse, hidrodinamicamente, em mistura completa com vazão de $128,03 \text{ L.h}^{-1}$. A altura de fluidificação atingida foi de 113,0 cm.

Após um período de 48 h em modo batelada para a adaptação e aderência da biomassa ao material suporte, o sistema foi aberto, o que possibilitou a alimentação contínua de água residuária para o reator. As condições iniciais de operação foram: TDH de 8 h com vazão de alimentação de $524,0 \text{ mL.h}^{-1}$, e concentração de glicose de 2000 mg.L^{-1} . As mudanças no TDH de 8, 6, 4, 2 e 1 h ocorreram em aproximadamente 30 dias e à medida que o sistema alcançava um estado estacionário, considerado nesse estudo como a não variação da eficiência de consumo de glicose.

4.5 Descrição geral do experimento

A Figura 4.1 apresenta o esquema geral do presente experimento.

Uma configuração de reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) foi operada continuamente a fim de avaliar a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos sob o efeito da diminuição do tempo de detenção hidráulica (TDH). A operação do sistema foi iniciada com TDH de 8 h, e à medida que a eficiência de consumo de glicose tornava-se estável, o TDH foi diminuído para 6, 4, 2 e 1 h. A escolha do TDH de 8 para 1 h foi definida de acordo com estudo de Lin *et al.* (2006).

A vazão de cada TDH foi calculada dividindo-se a volume total do reator (4192 ml) pelo TDH testado em horas.

O RALF foi preenchido por partículas de argila expandida (cinasita) com faixa granulométrica de 2,8-3,35 mm, totalizando uma massa de aproximadamente 1295 g, com altura de preenchimento de 90 cm.

O sistema foi alimentado com água residuária sintética, de acordo com Del Nery

(1987), contendo 2000 mg.L^{-1} de glicose como principal fonte de carbono, similar ao estudo de Leite (2005). Optou-se por uma concentração baixa de glicose para assegurar um bom crescimento da biomassa e para aprofundar os efeitos desse parâmetro sobre a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em um posterior estudo.

O inóculo consistiu de um lodo anaeróbio proveniente de reator UASB que trata águas residuárias de atividade de suinocultura. Antes da inoculação, o lodo foi submetido a um tratamento térmico a 90°C por 10 minutos para eliminar células de organismos não formadores de esporos e selecionar os organismos formadores de esporos, como as acidogênicas.

A temperatura do sistema foi mantida a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por meio do encamisamento externo do reator acoplado a um banho ultratermostizado.

Foram realizadas medidas diárias da vazão e do pH afluente e efluente, e as determinações analíticas de DQO, sólidos suspensos, ácidos voláteis totais e alcalinidade, glicose, ácidos orgânicos e solventes individualizados e hidrogênio foram medidas 3 vezes por semana.

Foram coletadas amostras da biomassa aderida no material suporte para a análise da morfologia das células por meio de microscopia de contraste de fase e eletrônica de varredura (MEV). Amostras de partículas suporte foram coletadas em condição de operação de TDH de 2 h para a realização da caracterização e identificação da comunidade microbiana.

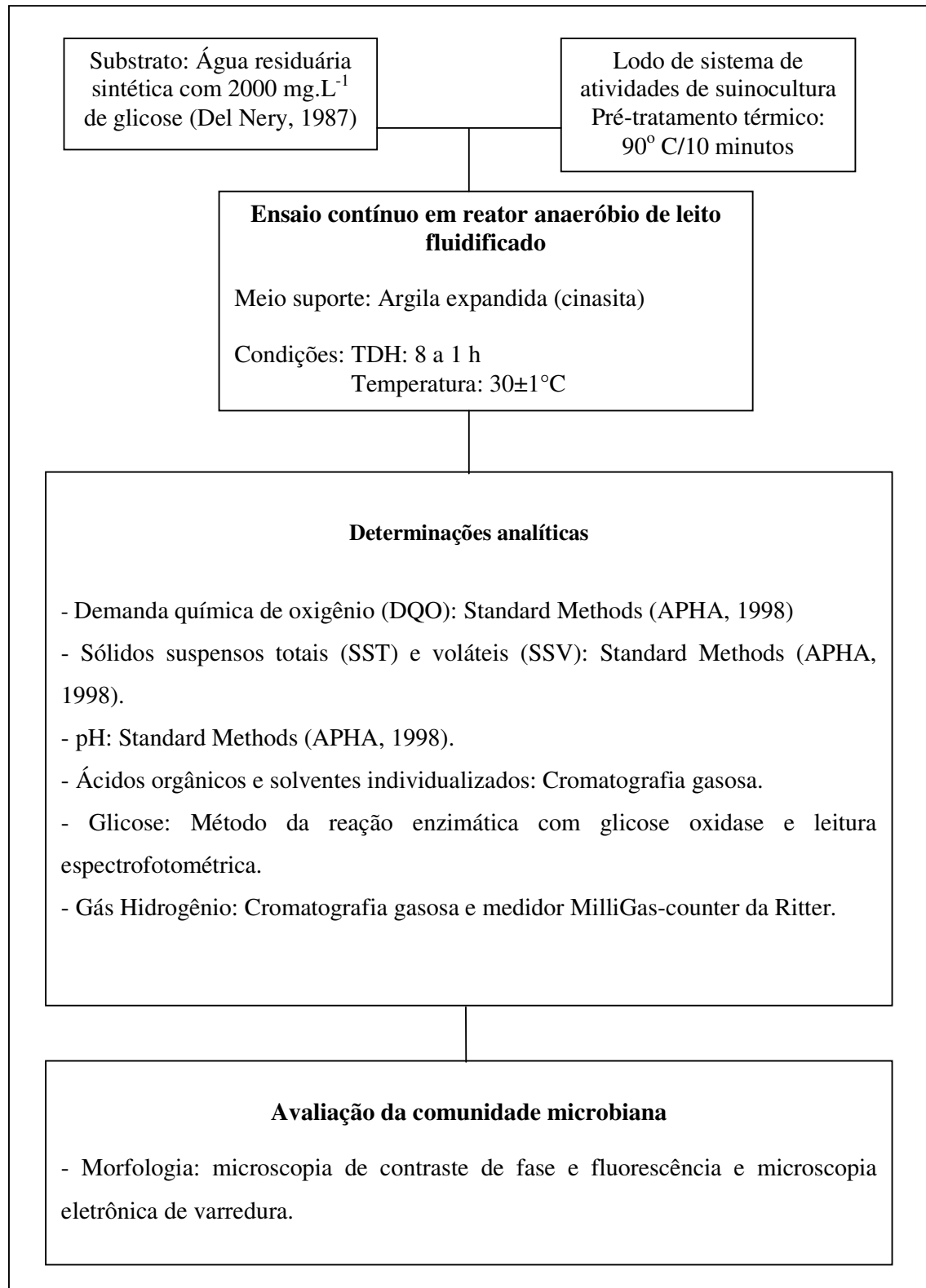


Figura 4.4. Fluxograma do trabalho experimental.

4.6 Métodos analíticos

As determinações analíticas de pH, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram realizadas de acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998).

As medidas de vazão, pH afluente e efluente foram coletadas diariamente, enquanto que as demais determinações analíticas foram coletadas 3 vezes por semana.

4.6.1 Determinação da glicose

As determinações de glicose na solução do substrato afluente e efluente do reator foram realizadas pelo método da reação enzimática com glicose oxidase, fornecida pela LABORLAB.

Alíquotas de 50 μL de amostra foram adicionadas em tubos contendo 5 mL de reativo de trabalho. O reativo de trabalho foi composto de reativo enzimático contendo glicose oxidase (≥ 3000 U) e peroxidase (≥ 400 U), 0,0015 mol de reativo de cor (1) contendo 4 aminofenazona $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ e tampão TRIS $0,92 \text{ mol.L}^{-1}$, e 0,00275 mol de reativo (2) contendo fenol $0,055 \text{ mol.L}^{-1}$. Os tubos foram incubados a 37°C durante 10 minutos em banho-maria. Em seguida, as amostras foram lidas em espectrofotômetro (aparelho Hatch, modelo DR 2010) a 505 nm, zerando o aparelho em absorvância com um branco.

4.6.2 Determinação de ácidos voláteis e solventes

A análise cromatográfica para determinação de ácidos voláteis e solventes foi desenvolvida no Laboratório de Processos Biológicos – Setor Cromatografia do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos

(EESC) da Universidade de São Paulo (USP). Foi utilizado o cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2010, equipado com detector de ionização de chama e amostrador automático para “headspace” COMBI-PAL, modelo AOC 5000 e coluna HP-INNOWAX, de 30m x 0,25mm x 0,25µm de espessura de filme. Para a determinação dos ácidos voláteis e dos solventes as condições cromatográficas foram:

- 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): 30mL/min; ar sintético: 300mL/min. e hidrogênio: 30mL/min.

As condições do amostrador automático de “headspace” COMBI-PAL, AOC 5000 para a injeção das amostras foram:

- Seringa de 2,5mL;
- Temperatura da seringa: 90°C;
- Volume injetado: 400µL;
- Temperatura de incubação da amostra: 100°C;
- Tempo de incubação da amostra: 13 minutos.

4.6.3. Determinação de hidrogênio

A determinação do gás hidrogênio foi efetuada por meio da retirada de 0,1 mL de amostra da fase gasosa, utilizando seringa “gastight” com trava. Foi utilizado cromatógrafo a gás, Shimadzu GC-2010, equipado com detector de condutividade térmica. A coluna utilizada foi a Supelco Carboxen 1010 Plot (30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,53 mm) e detector de condutividade térmica e, o gás de arraste foi o argônio sob fluxo de 21,9 cm.s⁻¹.

As temperaturas do forno, da coluna e do detector foram 30°C, 200°C e 230°C, respectivamente. A produção de hidrogênio foi medida por meio do MilliGas-counter da Ritter.

O procedimento de medida de produção de hidrogênio com o MilliGas-counter Ritter consistiu de um intervalo de 5 minutos depois que o aparelho foi acoplado à saída coletora de gás localizada na parte superior do reator, para a passagem de gás pelo aparelho e assegurar uma vazão constante. Em seguida, as medidas foram coletadas em intervalos de 1 em 1 minuto durante 10 minutos.

4.7 Avaliação da comunidade microbiana

O acompanhamento das morfologias celulares foi realizado por exame microscópico de contraste de fase e fluorescência utilizando microscópio Leica DMLB, com sistema de captura de imagem Optronics e software *Image Pro-Plus*, e realizado no Laboratório de Processos Biológicos.

A imobilização da biomassa ao material suporte foi acompanhada por meio de exame de microscopia eletrônica de varredura, marca Zeiss DSM 960, realizada no Departamento de Física da Escola de Engenharia de São Carlos.

4.8 Estimativa da concentração de biomassa aderida ao suporte

A estimativa da biomassa aderida nas partículas de cinasita em três pontos do reator foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Chen e Chen (2000). Os pontos amostrais corresponderam a alturas de 23,0, 73,0, e 112,5 cm da base do reator por onde o fluxo de alimentação e recirculação entra no sistema.

Aproximadamente 15 mL de biopartículas a serem analisadas foram colocadas em uma cápsula de porcelana de 50mL. Em seguida essas amostras foram levadas à estufa para secar sob temperatura de aproximadamente 110°C durante 24 h. Posteriormente, as amostras foram retiradas da estufa e levadas para o dessecador para resfriamento. Depois de resfriadas, as amostras foram pesadas (P1) em balança analítica com precisão de 0,1 mg. Depois disso, adicionou-se às amostras solução de NaOH 4N, sob temperatura de cerca 110°C por 2 h. Depois de finalizado o período de 2 h, as amostras foram agitadas por 20 min. Após isso, as amostras foram lavadas cinco vezes com água deionizada quente, e levadas novamente a estufa sob temperatura de 110°C durante 24 h. Após 24 h, as amostras foram retiradas da estufa e levadas para o dessecador para resfriamento. Depois de resfriadas, as amostras foram pesadas (P2) em balança analítica. A concentração de biofilme aderido ao suporte pode ser estimada pela diferença entre as massas antes e depois da lavagem.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados dos parâmetros analisados durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidificado.

Os símbolos I, II, III, IV, V utilizados nos gráficos dos resultados representam as etapas onde o reator foi operado sob condições de TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h, respectivamente.

5.1 Produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes em reator anaeróbio de leito fluidificado sob os diferentes TDHs.

O reator anaeróbio de leito fluidificado foi operado por 178 dias e, durante esse período, a produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes foi avaliada à medida que o sistema operava em condições de TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h.

À medida que o sistema alcançou um estado estacionário definido como a estabilidade na eficiência de consumo de glicose, o TDH foi alterado.

Nesse estudo, a eficiência de consumo de glicose não foi um bom parâmetro para determinar um estado estacionário, uma vez que a concentração de glicose estudada foi baixa e possivelmente poderia ser parcialmente consumida pela população bacteriana presente no reator. De fato, para assegurar resultados mais precisos, foi necessário assegurar que os produtos formados, especificamente, gás hidrogênio apresentassem valores com baixa variação, e assim estaria definido que o sistema teria alcançado um estado estacionário.

As condições do estado estacionário no estudo de Zhang *et al.* (2007) foram consideradas alcançadas quando as variações dos produtos e da concentração da biomassa

foram menores do que 10%. Somente os dados obtidos sobre as condições de estado estacionário foram relatados.

O experimento foi iniciado a partir de um período de adaptação da biomassa a uma nova condição, que consistiu na operação do reator em modo de batelada durante 48 h. Em seguida, o sistema foi aberto em modo contínuo com TDH inicial de 8 h.

A variação do TDH foi aplicada sobre o sistema a partir de mudanças de vazão de entrada da água residuária.

Os valores de vazão foram calculados dividindo-se o volume total do reator (4192 L) pelo tempo, em horas, de cada TDH estabelecido. Assim, para os TDHs de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h, os valores de vazão foram, respectivamente de, 524,0 mL.h⁻¹, 717,0 mL.h⁻¹, 1048,0 mL.h⁻¹, 2096,0 mL.h⁻¹ e 4192,0 mL.h⁻¹.

A Figura 5.1 apresenta o comportamento da vazão medida durante os dias de operação. Para o controle das medidas de vazão, foi estabelecida uma faixa de tolerância, 10% acima e abaixo do valor teórico da vazão, representado no gráfico por duas linhas horizontais.

A maioria dos pontos medidos encontra-se dentro da faixa de tolerância e aqueles fora da faixa ocorreram, provavelmente, devido à sensibilidade da bomba de vazão ou às oscilações na rede elétrica que contribuíram para a alteração na vazão da bomba de alimentação.

Observa-se, portanto que, durante todo o experimento, a vazão foi controlada e a operação manteve-se estável.

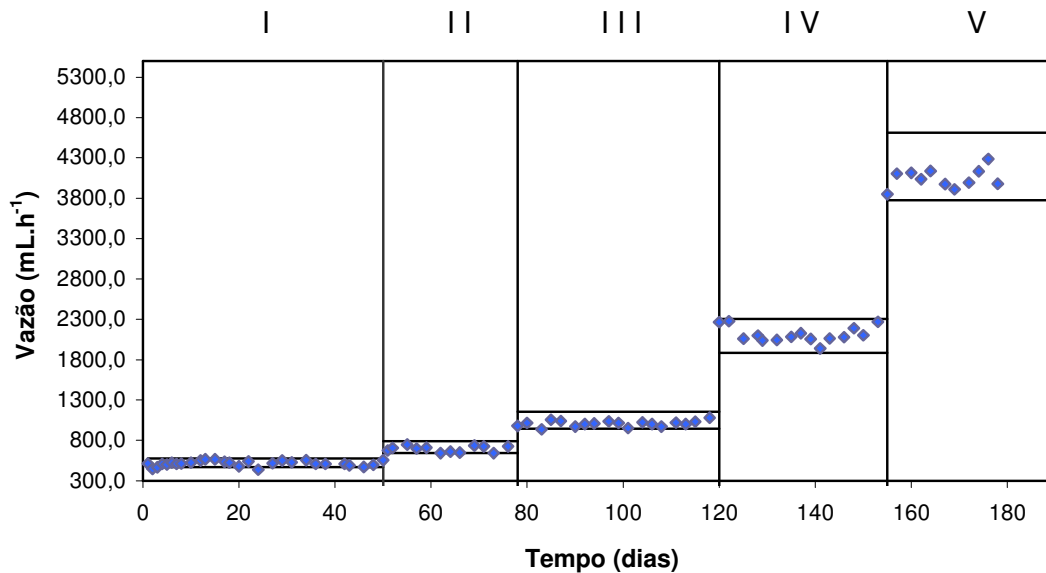


Figura 5.1. Comportamento da vazão medida durante os dias de operação.

A Tabela 5.1. apresenta as médias e desvio padrão das vazões medidas para cada etapa do processo. Pode ser observado que, as médias ficaram bem próximas do valor calculado da vazão, confirmando a estabilidade na operação.

Tabela 5.1. Média e desvio padrão da vazão medida, altura média do leito, volume reacional do leito e TDH baseado no volume útil para 8, 6, 4, 2 e 1 h.

TDH teórico(h)	Vazão média (mL.h ⁻¹)	Altura média do leito (m)	Volume reacional do leito (mL)	TDH baseado no volume útil (h)
8	511,29 ± 32,08	1,15	2258,0	4,41
6	692,5 ± 38,06	1,17	2297,0	3,38
4	1003,91 ± 32,09	1,19	2344,0	2,33
2	2112,34 ± 96,78	1,19	2336,0	1,11
1	4047,59±122,79	1,34	2625,0	0,65

Ainda, a Tabela 5.1 apresenta os valores médios do TDH baseado no volume útil que foi calculado a partir da altura do leito, volume reacional e vazão medida. Para os TDHs calculados de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h, 1 h, as médias dos TDHs baseado no volume útil foram, respectivamente, de 4,41 h, 3,38 h, 2,33 h, 1,11 h e 0,65 h. Os volumes reacionais do leito

correspondem, aproximadamente, à metade do volume total do reator, e por isso os valores dos TDHs baseados no volume útil foram, aproximadamente, a metade do TDH calculado.

A Figura 5.2 apresenta o comportamento da eficiência de consumo de glicose e suas concentrações no afluente e efluente durante os dias de operação.

As altas eficiências de consumo de glicose atribuída aos baixos valores de glicose verificados no efluente demonstram que desde o início da operação contínua o sistema mostrou-se bastante estável.

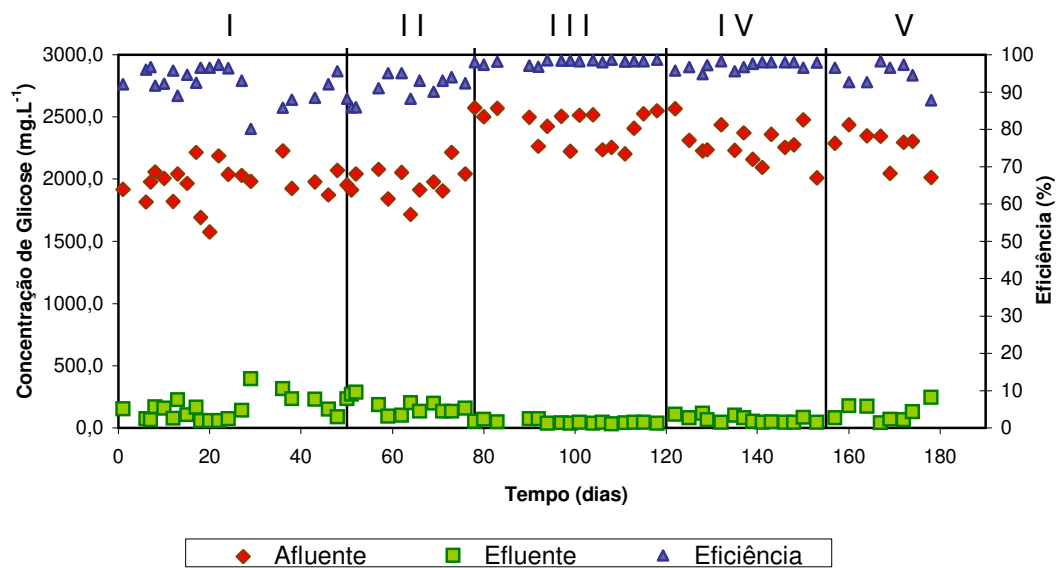


Figura 5.2. Comportamento da concentração de glicose no afluente e efluente, e a eficiência de consumo durante os dias de operação.

A Tabela 5.2 apresenta os valores das médias e desvios padrão da concentração de glicose no afluente e efluente e a eficiência de consumo da glicose durante os dias de operação.

Tabela 5.2. Concentração média de glicose no afluente e efluente, e eficiência de consumo de glicose das etapas do experimento.

Etapa	TDH (h)	Média e desvio padrão para glicose no afluente (mg.L ⁻¹)	Média e desvio padrão para glicose no efluente (mg.L ⁻¹)	Eficiência média (%)
I	8	1969,26 ± 162,19	149,45 ± 92,30	92,51 ± 4,44
II	6	1970,08 ± 128,55	176,78 ± 63,08	90,98 ± 3,30
III	4	2422,04 ± 137,70	46,59 ± 13,43	98,07 ± 0,56
IV	2	2286,05 ± 149,41	68,07 ± 26,70	97,04 ± 1,10
V	1	2258,46 ± 148,69	122,48 ± 71,52	94,51 ± 3,43

Os valores médios das concentrações de glicose no afluente em todas as etapas ficaram em torno de 2000 mg.L⁻¹. A concentração média de glicose no afluente variou de 1970,08 mg.L⁻¹ a 2286,059 mg.L⁻¹ nas etapas II e IV, respectivamente.

A concentração de glicose no efluente, que representa a glicose não consumida, variou de 46,59 mg.L⁻¹ a 176,78 mg.L⁻¹ nas etapas IV e V, respectivamente. O TDH de 4 h apresentou a menor concentração de glicose no efluente de 46,59 ± 13,43 mg.L⁻¹, enquanto que o TDH de 6 h apresentou a maior concentração de glicose no efluente, de 176,78 ± 63,08 mg.L⁻¹.

A média de eficiência de consumo de glicose para todas as etapas do processo foi superior a 90%. Em TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h, as eficiências alcançaram 92,51%, 90,98%, 98,07%, 97,04% e 94,51%, respectivamente.

As eficiências de consumo de glicose alcançadas nesse estudo estão de acordo com outros estudos com reator anaeróbico de leito fluidificado. Wu *et al.* (2003) e Lin *et al.* (2006) obtiveram eficiência de consumo de substrato acima de 90% e entre 92 e 99%, respectivamente. No entanto, Zhang *et al.* (2007) verificaram que a eficiência de conversão de glicose diminuiu de 99,47% para 71,44% quando o TDH diminuiu de 4 para 0,5 h.

A alta eficiência de consumo de glicose observada nesses sistemas pode ser atribuída aos elevados tempos de retenção de sólidos devido ao sistema de crescimento aderido que proporciona maior acúmulo de biomassa no sistema (GAVALA *et al.*, 2006).

A Figura 5.3. apresenta o comportamento dos principais ácidos produzidos durante os

178 dias de operação. O efluente foi composto, principalmente, dos ácidos acético e butírico em todas as etapas. Na etapa I, a concentração de ácido acético foi maior que a concentração de ácido butírico e, a partir da etapa II, a concentração de ácido butírico passou a predominar sobre a concentração do ácido acético até o final do experimento. As concentrações dos ácidos acético e butírico variaram entre 200 mg.L^{-1} e 1000 mg.L^{-1} .

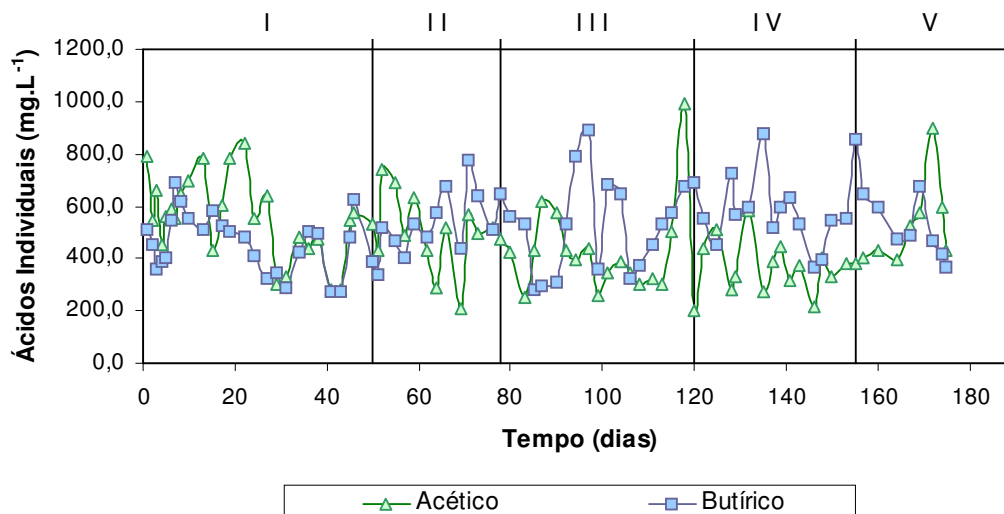


Figura 5.3.. Comportamento dos ácidos acético e butírico produzidos durante todo o experimento.

Além do ácido butírico e acético, o ácido capróico também foi produzido em concentrações mais baixas. A Figura 5.4 apresenta o comportamento do ácido capróico durante os 178 dias de operação. Nas etapas iniciais I e II, as concentrações de ácido capróico estiveram abaixo do limite de detecção. A partir da etapa III, o ácido capróico foi detectado e apresentou concentrações de até 160 mg.L^{-1} .

As concentrações dos ácidos isobutírico e propiônico estiveram sempre abaixo do limite de detecção.

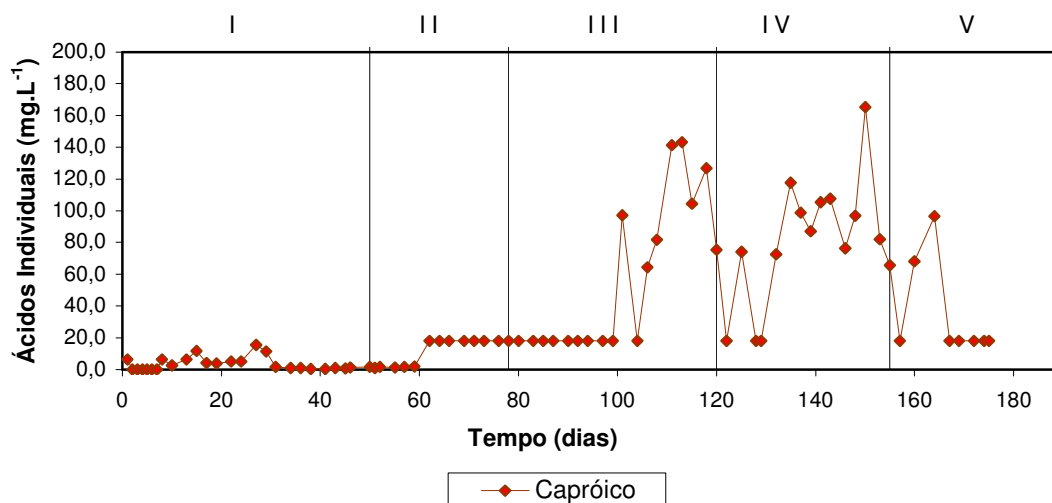


Figura 5.4. Comportamento do ácido caprónico produzido durante todo o experimento.

A Tabela 5.3. apresenta as médias e desvio padrão das concentrações dos ácidos individualizados produzidos em cada etapa do experimento.

Tabela 5.3. Média e desvio padrão das concentrações dos ácidos acético, butírico, propiônico, isobutírico, caprónico e totais para as etapas I, II, III, IV e V.

TDH (h)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	Ac. Totais (mg.L ⁻¹)
	Ac. Acético (mg.L ⁻¹)	Ac. Butírico (mg.L ⁻¹)	Ac. Propiônico (mg.L ⁻¹)	Ac. Isobutírico (mg.L ⁻¹)	Ac. Caprónico (mg.L ⁻¹)	
8	553,61±159,17	462,02±112,48	< LD ₃	< LD ₄	< LD ₅	1015,62±235,40
6	495,76±136,92	529,83±119,55	< LD ₃	< LD ₄	< LD ₅	1025,59±193,30
4	431,69±182,97	515,67±186,63	< LD ₃	< LD ₄	57,61±50,06	1004,97±279,07
2	364,57±103,92	573,50±126,46	< LD ₃	< LD ₄	80,87±40,02	1018,95±146,79
1	514,90±164,24	554,93±153,16	< LD ₃	< LD ₄	37,64±30,58	1107,46±178,66

^(a) LD₁ (48,03 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido acético;

^(b) LD₂ (201,18 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido butírico;

^(c) LD₃ (10,57 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido propiônico;

^(d) LD₄ (18,17 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido isobutírico;

^(e) LD₅ (6,44 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido caprónico.

A distribuição dos ácidos orgânicos individualizados foi significativamente influenciada pela variação do TDH.

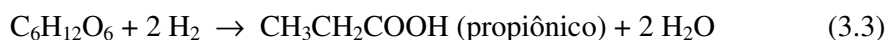
As concentrações de ácido acético diminuíram quando o TDH foi reduzido de 8 h para 2 h e aumentou em 1 h. Em TDH de 8 h, a concentração de ácido acético foi de 553,61 mg.L⁻¹ e em TDH de 2h correspondeu a 364,57 mg.L⁻¹, e em TDH de 1 h a concentração média aumentou para 514,90 mg.L⁻¹.

Além disso, foi observado que a concentração de ácido butírico aumentou quando o TDH diminuiu de 8 h para 1 h. Em TDH de 8 h, a concentração do ácido butírico foi de 462,02 mg.L⁻¹, e em TDH de 1 h alcançou, aproximadamente 554,93 mg.L⁻¹. A maior média de concentração de ácido butírico ocorreu em TDH de 2 h e correspondeu a 573,50 mg.L⁻¹.

A concentração do ácido capríco aumentou com a diminuição do TDH de 4 h para 2 h, e diminuiu quando o TDH foi diminuído para 1 h. Em TDH de 4 h, a concentração do ácido capríco foi de 57,61 mg.L⁻¹, em TDH de 2 h correspondeu a 80,87 mg.L⁻¹, e em 1 h diminuiu para 37,64 mg.L⁻¹.

Os ácidos propiônico e isobutírico apareceram abaixo do limite de detecção durante todas as etapas, com a redução do TDH estes ácidos não foram detectados.

A insignificante quantidade de ácido propiônico nas etapas I e II e a sua ausência nas demais etapas sugerem que a atividade das bactérias formadoras de ácido propiônico deve ser inibida em condições de baixo pH e ser sensíveis a baixos TDHs. Além disso, a ausência de produção de ácido propiônico garante maior produção de hidrogênio em decorrência do menor consumo desse para formação de ácido propiônico (Equação 3.3).



A concentração dos ácidos totais correspondeu a aproximadamente 1000 mg.L⁻¹ em

TDH entre 8 e 2 h e de aproximadamente 1100 mg.L^{-1} em TDH de 1 h.

Lin *et al.* (2006), estudando a produção de hidrogênio em reator de leito fluidificado com um tubo draft, não verificaram mudança significativa na produção dos ácidos orgânicos totais e na distribuição dos ácidos individualizados, quando variou o TDH de 8,9 h a 2,2 h.

Já Zhang *et al.* (2007) verificaram que as concentrações dos ácidos acético e butírico e de etanol diminuíram lentamente quando o TDH foi diminuído. Com exceção, a concentração de ácido butírico aumentou inicialmente, mas diminuiu com a diminuição do TDH de 1 h para 0,5 h.

O estudo de Yu *et al.* (2003) com um reator de fluxo ascendente modificado com um agitador e separador de 3 fases mostrou que com o aumento do TDH de 4 para 24 h, a concentração de ácidos totais aumentou, porém a distribuição dos ácidos individualizados não foi afetada pela variação do TDH.

Os resultados médios para cada ácido demonstram que, nesse estudo, as concentrações dos ácidos individualizados foram influenciadas pela redução do TDH. Porém, com relação aos ácidos totais, podemos verificar uma baixa variação na concentração média em função da redução do TDH.

A Figura 5.5 apresenta o comportamento da concentração dos ácidos acético e butírico em função dos TDHs testados.

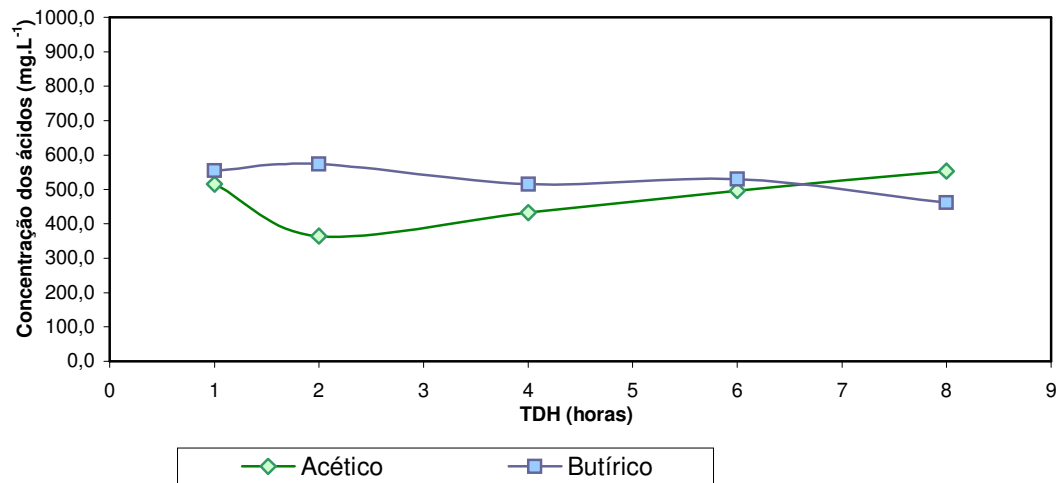
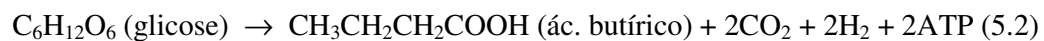


Figura 5.5. Comportamento das concentrações dos ácidos acético e butírico em função do TDH.

É observada uma diminuição da produção de ácido acético, concomitante ao aumento na produção de ácido butírico com a redução do TDH de 8 h para 2 h. Mosey (1983) sugeriu que a reação de conversão da glicose para ácido acético ocorre inicialmente, uma vez que essa reação fornece às bactérias acidogênicas um maior rendimento de energia para o crescimento celular (Equação 5.1).



Em seguida ocorre uma troca para a formação de ácido butírico e propiônico em decorrência das respostas das bactérias à acumulação de hidrogênio durante sobrecargas. O desvio do metabolismo da glicose em direção a ácido butírico reduz tanto a produção de hidrogênio quanto o teor ácido no sistema (Equações 5.2 e 5.3).



A Figura 5.6. apresenta o comportamento do etanol produzido durante todo o experimento.

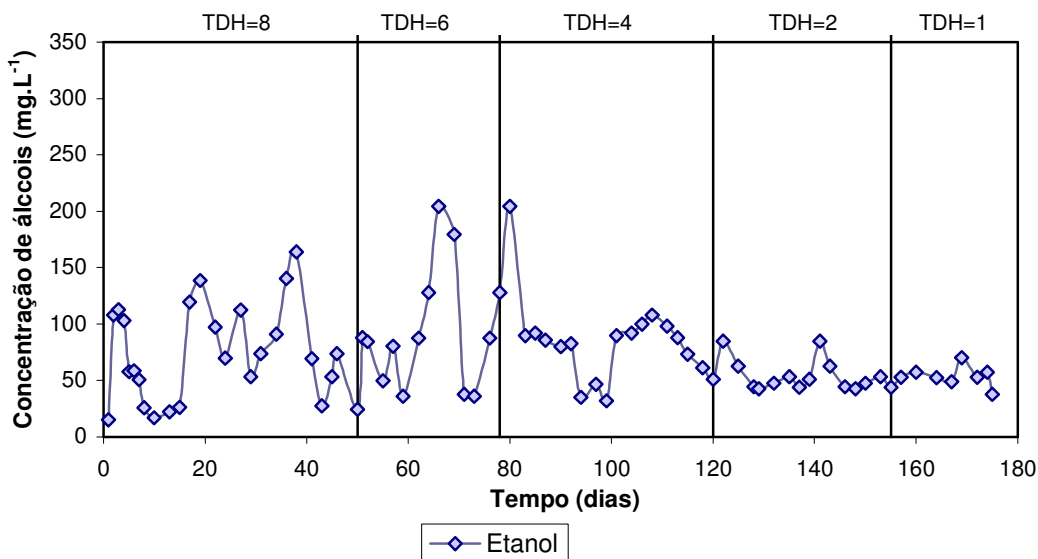


Figura 5.6. Comportamento das concentrações de etanol produzido durante todo o experimento.

Nesse estudo, os solventes foram produzidos em concentrações abaixo de 200,00 mg.L⁻¹. O etanol foi o principal álcool produzido em todas as etapas do processo. Verificou-se que as concentrações de acetona e n-butanol foram inferiores ao limite de detecção em todas as etapas do experimento.

A Tabela 5.4. apresenta as médias das concentrações dos solventes totais, etanol, acetona e n-butanol em cada etapa do processo.

Tabela 5.4. Média das concentrações dos solventes totais, etanol, acetona e n butanol para cada etapa.

Etapa	TDH (h)	(a) Etanol (mg.L ⁻¹)	(b) Acetona (mg.L ⁻¹)	(c) n-Butanol (mg.L ⁻¹)	Totais (mg.L ⁻¹)
I	8	75,25±42,16	< LD ₇	< LD ₈	75,25±42,77
II	6	97,06±60,30	< LD ₇	< LD ₈	97,06±60,16
III	4	76,77±23,11	< LD ₇	< LD ₈	76,77±22,43
IV	2	54,73±14,38	< LD ₇	< LD ₈	54,73±14,07
V	1	52,66±9,06	< LD ₇	< LD ₈	52,66±12,36

^(a) LD₆ (14,28 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do etanol;

^(b) LD₇ (4,40 mg.L⁻¹) – Limite de detecção da acetona;

^(c) LD₈ (1,89 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do n-butanol.

Em TDH de 8 h, a concentração de etanol correspondeu a $75,25 \text{ mg.L}^{-1}$ e em TDH de 1 h, a concentração média foi de $52,66 \text{ mg.L}^{-1}$. A maior média de concentração de etanol foi encontrada em TDH de 6 h e correspondeu a $97,06 \text{ mg.L}^{-1}$.

As concentrações de acetona e n-butanol estiveram sempre abaixo do limite de detecção para todas as etapas do experimento.

A Figura 5.7. apresenta o comportamento das médias das concentrações do etanol em função do TDH.

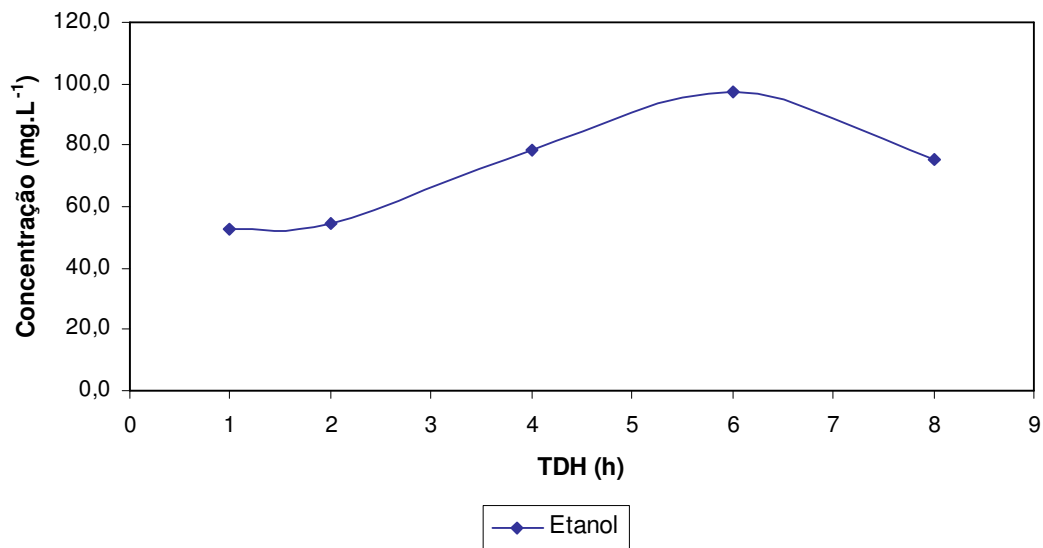


Figura 5.7. Comportamento das concentrações de etanol em função do TDH.

Em geral, as concentrações de etanol diminuíram com a redução do TDH. Além disso, as concentrações de acetona e n-butanol não foram influenciadas pela diminuição do TDH, pois não foram superiores em nenhuma etapa ao limite de detecção.

A Figura 5.8. apresenta as porcentagens dos principais metabólitos solúveis formados durante a produção de hidrogênio.

Os principais metabólitos consistiram do ácido butírico, acético e etanol. Os ácidos butírico e acético apresentaram as maiores porcentagens. O ácido butírico predominou sobre o ácido acético em todas as etapas com exceção da etapa I e apresentou porcentagens entre 42%

a 57% do total de metabólitos solúveis. As porcentagens de ácido acético variaram entre 36% e 50% do total dos metabólitos solúveis.

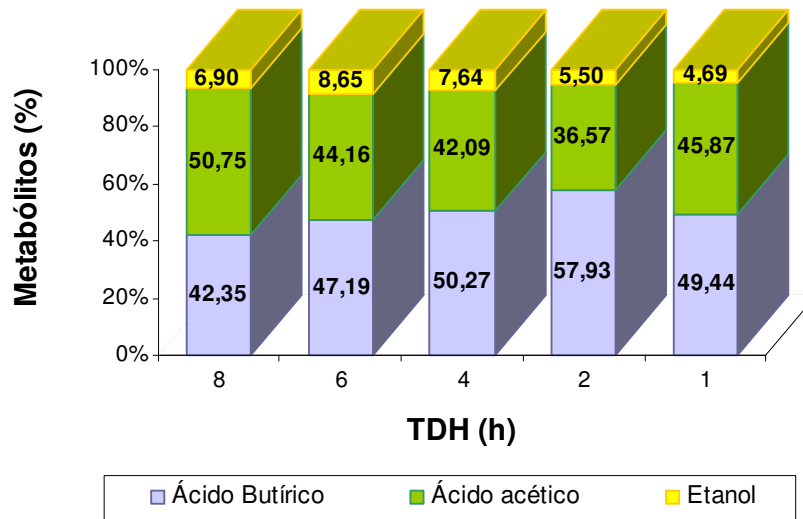
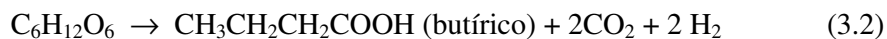
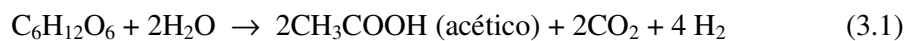
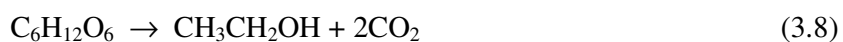


Figura 5.8. Porcentagem dos principais metabólitos solúveis presentes no efluente do reator em função do TDH.

A produção de ácido acético e butírico representa bons metabólitos solúveis para a produção de hidrogênio, uma vez que na geração desses produtos ocorre a produção de hidrogênio (Equação 3.1 e 3.2).



O etanol foi relativamente insignificante para todas as etapas, representando porcentagens inferiores a 9,0% do total de metabólitos produzidos. A produção de etanol é considerada como metabólitos desfavoráveis para a produção de hidrogênio, uma vez que nenhum hidrogênio é consumido ou produzido (Equação 3.8).



A produção de ácido butírico e acético como os principais metabólitos solúveis, bem como o predomínio do ácido butírico sobre o ácido acético também foi verificado em outros trabalhos (WU *et al.*, 2003; LEITE, 2005; LIN *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2006).

Lin *et al.* (2006) verificaram que os maiores metabólitos solúveis consistiram de ácido butírico e acético, correspondendo a 62 a 73% e 17 a 23% dos metabólitos solúveis totais, respectivamente. A produção de ácido propiônico e etanol foram relativamente insignificantes, correspondendo a 19% dos metabólitos solúveis totais.

Wu *et al.* (2006) verificaram que ácido butírico (43% a 56%) e ácido acético (20% a 27%) foram os principais metabólitos solúveis encontrados em reator anaeróbico de leito fluidificado com carvão ativado e silicone gel. O etanol apareceu em 8% a 23% para o reator contendo carvão ativado e 9% a 19% dos metabólitos solúveis totais para o reator com silicone gel.

A Figura 5.9 apresenta o comportamento dos principais gases presentes no biogás durante a fermentação da glicose nas etapas I, II, III, IV e V.

O biogás foi composto dos gases hidrogênio e dióxido de carbono durante todas as fases do experimento.

Nenhum conteúdo de metano foi encontrado no biogás. Certamente, a associação de um tratamento térmico do lodo com o controle do pH em condições acidogênicas, inibiram a atividade metanogênica responsável pelo consumo de hidrogênio no sistema.

Pode ser observado que durante todo o experimento o comportamento dos gases variaram de acordo com as mudanças no TDH. A maior porcentagem média de hidrogênio no biogás ocorreu quando o sistema foi operado em TDH de 2 h.

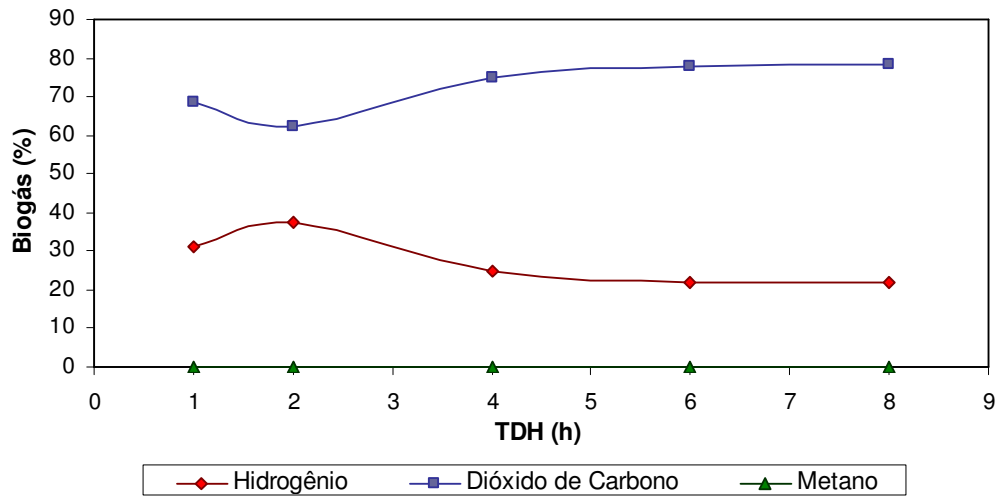


Figura 5.9. Porcentagem de hidrogênio, dióxido de carbono e metano no biogás em função do TDH.

A Tabela 5.5 mostra que a porcentagem média nesse TDH correspondeu a 37,55% de hidrogênio no biogás. Em TDH de 8 h, 6 h, e 4 h, as porcentagens médias corresponderam a 21,84%, 22,04% e 24,96%. A porcentagem média de hidrogênio em TDH de 1 h foi de 31,27%, porém na primeira coleta de dados após 9 dias da mudança do TDH de 2 h para 1 h, a porcentagem de hidrogênio alcançou um máximo de 59,47%, diminuindo para faixa dos 27%, o que resultou na média de 31,27%. A redução na porcentagem foi observada juntamente à formação de uma camada branca de biofilme sobre a superfície do material suporte.

Wu *et al.* (2003) observaram um comportamento semelhante quando mudaram o TDH de 2 h para 1 h. Como o dióxido de carbono não diminuiu, como diminuiu o hidrogênio, foi provável que algumas bactérias não produtoras de hidrogênio começaram a dominar o sistema sob baixos TDHs e converter o carbono do substrato em dióxido de carbono sem a produção de hidrogênio. Os autores confirmaram a hipótese restaurando a produção de hidrogênio por meio da exposição da cultura a um tratamento térmico que inativou as populações não produtoras de hidrogênio. Após o tratamento térmico a porcentagem de hidrogênio no biogás aumentou de 28% para 38%.

Em geral, o conteúdo de hidrogênio no biogás aumentou com a redução do TDH de 8 h para 1 h, de 31,27% para 21,84%.

Gavala *et al.* (2005) verificaram uma diminuição da porcentagem de hidrogênio de 38% para 29% quando o TDH foi reduzido de 12 h para 2 h. A porcentagem máxima alcançada foi de 37% em um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) operado em TDH de 2 h sob condições mesofílicas.

Zhang *et al.* (2007) verificaram que a composição do hidrogênio diminuiu lentamente de 61,2% para 57,2% quando o TDH foi reduzido de 4 h para 0,5 h.

Já Lin *et al.* (2006) obteve porcentagens de hidrogênio no biogás dentro da variação de 39% a 47% em reator anaeróbico de leito fluidificado.

A diferença encontrada nesse estudo e nos demais estudos relatados demonstra a necessidade para controlar a manutenção de populações acidogênicas e prevenir a contaminação de outros organismos não produtores de hidrogênio no sistema que competirão pelo substrato.

Tabela 5.5. Porcentagem de hidrogênio no biogás, velocidade de produção volumétrica, e rendimento de produção de hidrogênio em função do TDH.

Etapa	TDH (h)	H ₂ no biogás (%)	Vazão de H ₂ (mL.minuto ⁻¹)	Velocidade de produção de H ₂ específica (L.h ⁻¹ .L ⁻¹)	Rendimento de H ₂ (mol H ₂ .mol glicose ⁻¹)
I	8	21,84 ± 1,60	9,38 ± 2,31	0,27 ± 0,07	3,29 ± 0,72
II	6	22,04 ± 8,96	11,51 ± 1,92	0,32 ± 0,05	3,32 ± 0,57
III	4	24,96 ± 1,00	16,58 ± 1,48	0,45 ± 0,04	2,91 ± 0,25
IV	2	37,55 ± 8,03	20,13 ± 5,11	0,53 ± 0,12	2,15 ± 0,62
V	1	31,27 ± 16,04	47,97 ± 4,53	1,03 ± 0,20	2,40 ± 0,47

Durante as etapas I e II, a coleta diária de medidas de vazão de hidrogênio apresentou alguma variação. Foi observada uma pequena diminuição da vazão em função do tempo de medição. No entanto, as medidas de vazão de hidrogênio para cada dia de operação foram similares. É provável que durante o período de coleta, tenha ocorrido no sistema uma ligeira

oscilação. Sendo assim, os resultados apresentados foram calculados a partir dos valores constantes observados a cada medida.

A Figura 5.10. apresenta o comportamento da vazão de hidrogênio medida quando o sistema foi operado em TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h. Pode ser observado que a vazão aumentou em função da redução do TDH.

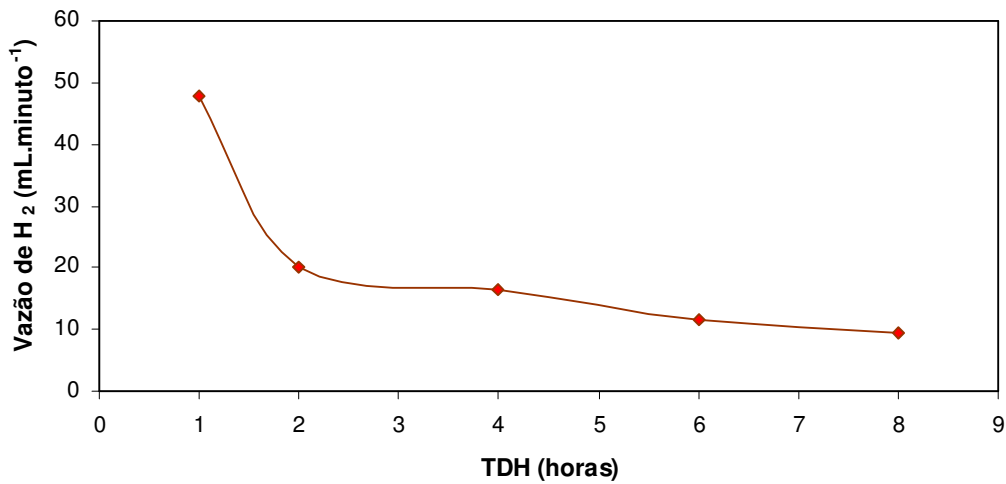


Figura 5.10. Média de vazão de hidrogênio em função do TDH.

Para as etapas operadas sob TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h, e 1 h, as vazões médias de hidrogênio corresponderam a, aproximadamente, 8,47 mL. minuto⁻¹, 10,80 mL. minuto⁻¹, 16,41 mL. minuto⁻¹, 18,84 mL. minuto⁻¹ e 47,97 mL. minuto⁻¹, respectivamente.

Van Ginkel e Logan (2005) operando um fermentador em condições semelhantes a esse estudo, em TDH de 2,5 h e com 2500 mg.L⁻¹ de glicose, obtiveram uma velocidade de fluxo de hidrogênio de 9 mL.min⁻¹. Nesse estudo, sob TDH de 2,0 h e concentração de glicose de 2000 mg.L⁻¹, a velocidade de fluxo de hidrogênio encontrada foi de 20,13 mL.min⁻¹.

A Figura 5.11 apresenta as médias das velocidades de produção de hidrogênio volumétrica em função dos TDHs estudados, calculada por meio da divisão da vazão de hidrogênio pelo volume reacional do leito preenchido pelo material suporte com a biomassa

imobilizada.

A velocidade de produção de hidrogênio volumétrica também aumentou com a diminuição do TDH. Em TDH de 8 h, 6 h, 4 h, 2 h e 1 h, as velocidades médias de produção de hidrogênio foram, respectivamente de $0,27 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$, $0,32 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$, $0,45 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$, $0,53 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $1,03 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$. O valor máximo de produção de hidrogênio foi verificado no 155º dia de operação em TDH de 1 h e correspondeu a $1,28 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$.

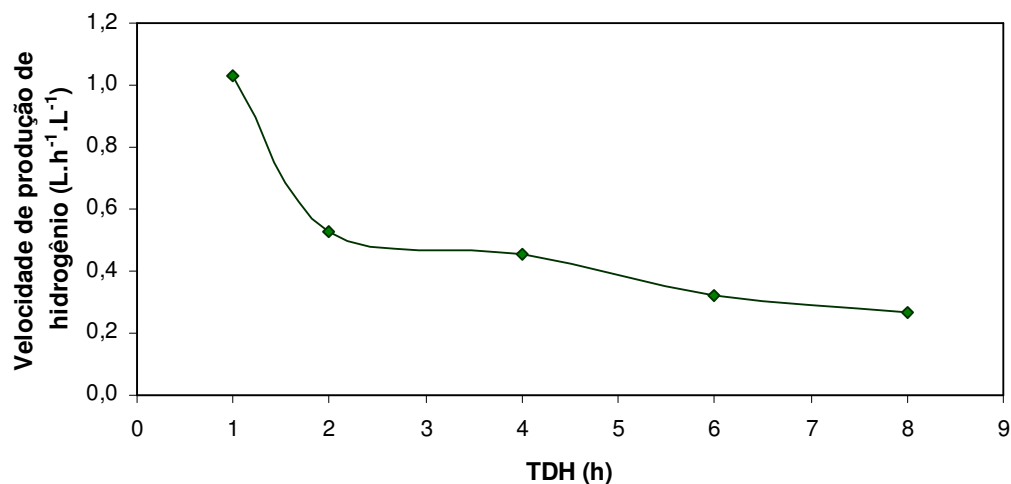


Figura 5.11. Velocidade média de produção de hidrogênio em função do TDH.

O aumento na velocidade de produção volumétrica de hidrogênio acompanhada à diminuição do TDH foi demonstrado em outros estudos (WU *et al.*, 2003; GAVALA *et al.*, 2005; VAN GINKEL & LOGAN, 2005; LIN *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007).

Em estudos para produção de hidrogênio com reator anaeróbio de leito fluidificado Wu *et al.* (2003), Lin *et al.* (2006) e Zhang *et al.* (2007) verificaram velocidades máximas de produção de hidrogênio de $0,93 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 2 h e concentração de 20 g sacarose. L^{-1} , de $2,27 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 2,2 h e concentração de 40 g DQO. L^{-1} , e de $2,22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 0,5 h e concentração de 10 g glicose. L^{-1} , respectivamente.

Os resultados observados nesse estudo e nos estudos realizados por Wu *et al.* (2003), Lin *et al.* (2006) e Zhang *et al.* (2007) demonstram que a produção volumétrica de hidrogênio

é influenciada não apenas pela variação do TDH, como também pela variação na concentração de substrato.

A Figura 5.12 apresenta o comportamento dos rendimentos médios de hidrogênio para cada mol de glicose consumida nos TDHs testados.

Em geral, o rendimento de produção de hidrogênio diminuiu com a redução do TDH. O maior rendimento médio de hidrogênio, de 3,32 mols H_2 .mol glicose⁻¹, ocorreu em TDH de 6 h, enquanto que o menor rendimento, de 2,15 mols H_2 .mol glicose⁻¹ apareceu em TDH de 2 h. Para TDH de 8 e 4 h os rendimentos médios corresponderam a 3,29 e 2,91 mols H_2 .mol glicose⁻¹ e para o TDH de 1 h, correspondeu a 2,40 mols H_2 .mol glicose⁻¹.

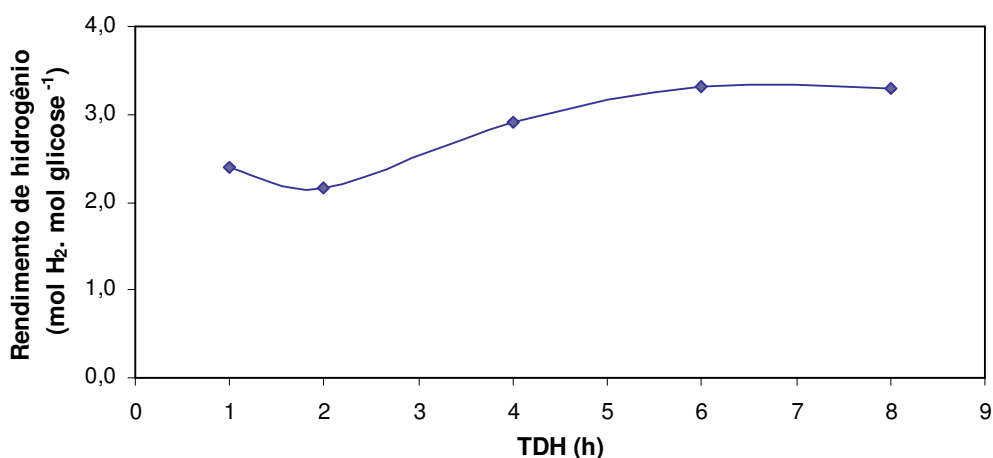


Figura 5.12. Rendimento de produção de hidrogênio por mol de glicose consumida em função do TDH.

Van Ginkel e Logan (2005), Lin *et al.* (2006) e Antonopoulo *et al.* (2008) também verificaram esse comportamento do rendimento de produção de hidrogênio em função do TDH. Van Ginkel e Logan (2005) sugeriram que a concentração de glicose tem mais efeito sobre os rendimentos de hidrogênio do que o TDH. Enquanto a mudança de 10 para 2,5 g DQO.L⁻¹ afetou o rendimento de 1,8 para 2,6 mols H_2 .mol glicose⁻¹, quando o TDH mudou de 1 para 10 h, o rendimento aumentou de 1,9 para 2,4 mols H_2 .mol glicose⁻¹.

Esses resultados indicam que houve uma troca do fluxo de metabolismo quando o TDH diminuiu de 8 h para 1 h, onde mais substrato foi desviado para o crescimento e manutenção da biomassa do que para a reação dos produtos finais (ZHANG *et al.*, 2007).

Além disso, pode ser verificado que o rendimento de produção de hidrogênio observado nesse estudo de 3,32 mols H₂.mol glicose⁻¹ foi maior que os resultados encontrados em outros estudos que utilizaram a glicose como principal fonte de carbono para a produção de hidrogênio. Van Ginkel e Logan (2005) obtiveram um rendimento máximo de 2,8 mols H₂.mol glicose⁻¹. Já Zhang *et al.* (2007) operando um reator anaeróbio de leito fluidificado verificaram um rendimento de produção de hidrogênio de 1,19 mols H₂.mol glicose⁻¹. Nos estudos de Wu *et al.* (2003) e Lin *et al.* (2006) utilizando a sacarose como fonte de carbono verificaram rendimentos máximos de hidrogênio de 2,67 e 4,28 mol H₂.mol sacarose⁻¹, respectivamente. Esses rendimentos correspondem a 33,75 e 53,5%, respectivamente, do rendimento máximo teórico para a sacarose que é de 8 mols H₂.mol sacarose⁻¹. Considerando que o rendimento máximo teórico para a glicose é de 4 mols H₂.mol glicose⁻¹, os resultados encontrados nesse estudo corresponderam a 79,5%.

5.2 A influência do pH sobre a produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e solventes.

A Figura 5.13 mostra o comportamento dos valores de pH do afluente e do efluente em cada etapa do processo, durante os dias de operação.

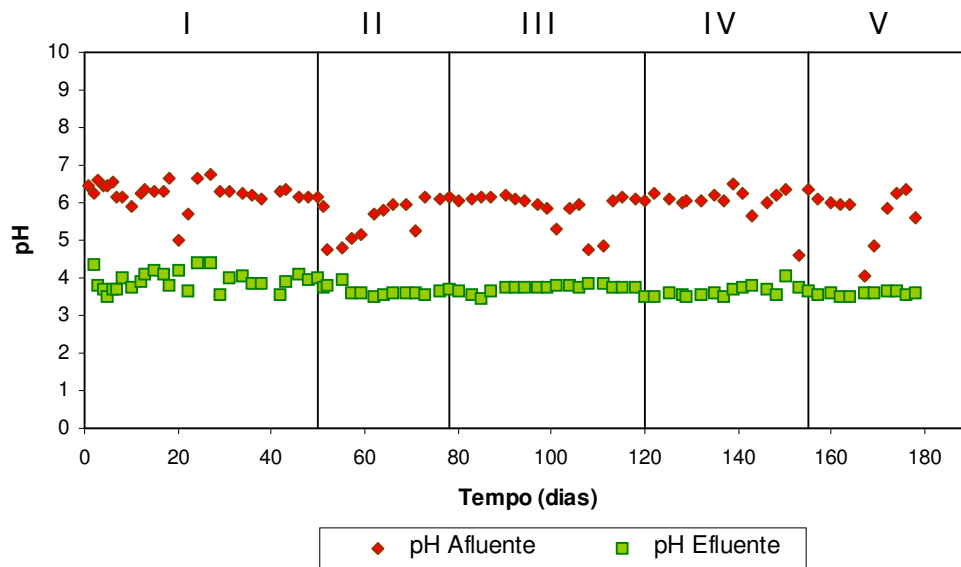


Figura 5.13.. Comportamento do pH afluente e efluente durante os dias de operação.

A maioria dos pontos do pH afluente correspondeu a acima 6,0. No entanto, o pH afluente apresentou pontos com pH abaixo da média, durante o período de operação. O baixo pH no afluente ocorreu, provavelmente, devido à degradação da glicose dentro do reservatório em função da presença de organismos oportunistas. Nesses pontos, a glicose apresentou concentração inferior que 2000 mg.L^{-1} . Para assegurar uma alimentação contínua de glicose com concentração próxima de 2000 mg.L^{-1} , a água residuária passou a ser preparada diariamente. Ao mesmo tempo, o barrilete foi lavado com álcool 70% e enxaguado com água de torneira em abundância para eliminar organismos fermentativos.

A dificuldade em controlar o pH do afluente é justificada pela não adição de compostos alcalinizantes na composição da água residuária.

O afluente apresentou um pH máximo de 6,7 e mínimo de 4,07, com média de 5,95 (Tabela 5.6).

Em resposta a produção de ácidos orgânicos, o efluente apresentou valores de pH abaixo de 4,5. Além disso, pode ser observado que os valores do pH não variaram ao longo do

tempo de operação e variação do TDH.

O efluente apresentou um valor máximo de 4,39 e mínimo de 3,5 com média de 3,77 (Tabela 5.6).

Tabela 5.6. Variação mínima e máxima do pH afluente e efluente em cada etapa do experimento.

Etapa	TDH (h)	pH afluente	pH efluente
I	8	5,01-6,70	3,47-4,39
II	6	4,77-6,16	3,49-3,77
III	4	4,76-6,20	3,47-3,86
IV	2	4,59-6,49	3,48-4,04
V	1	4,07-6,37	3,50-3,66

Diversos estudos utilizaram compostos alcalinizantes, como bicarbonato de amônia e bicarbonato de sódio, para assegurar que a entrada da água residuária no sistema apresentasse um pH na faixa entre 6,0 e 7,0, para favorecer a produção de hidrogênio (CHANG *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2003; YUNG e LIN, 2003; CHANG e LIN, 2004; LIN *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2006; MOHAN *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2007).

No entanto, a diminuição do pH no efluente verificada nesse estudo (Tabela 5.3), também foi observada em outros estudos, mesmo utilizando compostos alcalinizantes para tamponar o sistema (CHANG e LIN, 2004; LEITE, 2005; MOHAN *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2007).

Mohan *et al.* (2007) verificaram que a produção de ácidos orgânicos gradualmente reduz a capacidade tamponante (alcalinidade) resultando no declínio concomitante do pH do sistema. Os autores verificaram que a queda do pH de 6,0 para 4,5 foi ideal para o funcionamento das bactérias acidogênicas e ao mesmo tempo para a inibição da atividade das arqueias metanogênicas.

Além disso, em outros estudos, o pH do efluente foi mantido numa faixa entre 6,0 e 7,0 com a adição de bicarbonato de amônia e bicarbonato de sódio na água residuária

(CHANG *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2003; YUNG e LIN, 2003; LIN *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2006).

Dentre os estudos que utilizaram compostos alcalinizantes para manter o pH favorável a produção de hidrogênio, aqueles realizados por Wu *et al.* (2003), Lin *et al.* (2006) e Wu *et al.* (2006) utilizaram configurações de reator anaeróbio de leito fluidificado.

Wu *et al.* (2003) mantiveram o pH do efluente entre 5,8 e 6,8 e obtiveram uma velocidade de produção de hidrogênio de $0,93 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 2 h e 20 g DQO.L^{-1} de sacarose.

Wu *et al.* (2006), avaliando o desempenho de um reator anaeróbio de leito fluidificado com carvão ativado e um reator anaeróbio de leito fluidificado com tubo draft com silicone gel, controlaram o pH do efluente entre 6,4 e 7,0 e apresentaram velocidades máximas de produção de hidrogênio de $1,23 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 2 h e 20 g DQO.L^{-1} de sacarose e, $2,33 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 0,5 h e 20 g DQO.L^{-1} , respectivamente.

Lin *et al.* (2006) obtiveram uma velocidade máxima de produção de hidrogênio de $2,27 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 2,2 h e 40 g DQO.L^{-1} .

Já Zhang *et al.* (2007) operando um reator anaeróbio de leito fluidificado sem adicionar de compostos alcalinizantes, observaram que o pH do efluente apresentou valor de 4,0. A máxima produção de hidrogênio obtida foi de $2,22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em TDH de 0,5 h e 10 g DQO.L^{-1} .

Os resultados obtidos nesse estudo e de Zhang *et al.* (2007) para a velocidade de produção de hidrogênio em pHs abaixo de 4,0 foram próximos aos resultados obtidos nos estudos de Wu *et al.* (2003), Wu *et al.* (2003) e Lin *et al.* (2006) em condições de pH favoráveis a produção de hidrogênio como relatado por Fang e Liu (2002).

Ainda, Mu *et al.* (2006) operando um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) para a produção de hidrogênio observaram produções de hidrogênio em pH entre 3,4 e 6,3, com a

máxima pressão parcial de hidrogênio em pH de 3,4, e máxima velocidade de produção de hidrogênio e rendimento de produção de hidrogênio em pH de 4,2.

O baixo pH nesses estudos pareceu não afetar as populações acidogênicas produtoras de hidrogênio presentes no sistema.

Fang e Liu (2002) relataram a importância do controle do pH na produção de hidrogênio devido aos efeitos do pH na atividade da hidrogenase e dos caminhos metabólicos.

É possível que, o pH nas camadas mais internas do biofilme, onde as bactérias acidogênicas produtoras de hidrogênio estão presentes, pode apresentar valores maiores do que nas regiões externas onde o pH é ácido. Por tanto, sugere-se estudos que avaliem um perfil de pH nas camadas do biofilme acidogênico.

Com relação aos metabólitos solúveis, Fang e Liu (2002) demonstraram que o efluente de sistemas operados próximos aos pHs encontrado nesse estudo, contém, principalmente, ácido butírico (41,4 %) seguido do ácido acético (15,3 %).

No entanto, Zhang *et al.* (2007) utilizando a glicose como substrato verificaram o predomínio de ácido acético (43 a 46% dos metabólitos solúveis totais) sobre o ácido butírico (20 a 31%) e considerável produção de etanol no efluente (14 a 21%).

Essa falta de consistência na distribuição dos metabólitos solúveis indica que outros parâmetros operacionais tais como a população microbiana pode influenciar a distribuição dos metabólitos solúveis.

Ainda, embora o experimento tenha ocorrido em condições ácidas, de pH abaixo de 4,0 não houve, nesse estudo, o predomínio de solventes como metabólito solúvel, como relatado nos estudos de Terracino e Kashket (1986) e Grupe e Gottschalk (1992). Segundo os autores, *Clostridium acetobutyricum*, são capazes de trocar o metabolismo de acidogênico para solventogênico em condições de pH abaixo de 5,0.

5.3 Avaliação do tratamento térmico e período de adaptação empregado nesse estudo para o enriquecimento de bactérias acidogênicas produtoras de hidrogênio

A produção de ácidos orgânicos e hidrogênio bem como a ausência de metano no biogás desde o início do experimento demonstram que o procedimento de tratamento térmico do lodo realizado nesse estudo foi efetivo para o enriquecimento de bactérias acidogênicas produtoras de hidrogênio e para a inibição dos organismos consumidores de hidrogênio como as arqueias metanogênicas.

Além disso, a alta eficiência de consumo de glicose mostrou que o período de 48 h em modo batelada foi adequado para a adaptação e desenvolvimento das atividades metabólicas da população acidogênica.

Estudos em batelada demonstraram que inóculos pré-tratados termicamente possuem fase lag entre 17 a 50 horas (VAN GINKEL *et al.*, 2001; MU *et al.*, 2006; ZHU e BÉLAND, 2006). A fase lag representa o período de adaptação dos microrganismos do inóculo a um novo ambiente quando eles são transferidos de uma condição extremamente desfavorável para uma condição favorável.

Van Ginkel *et al.* (2001) obtiveram um inóculo por tratamento térmico com fase lag de 50 h, correspondente a uma fase de germinação que necessitou da presença de fonte de carbono e nutrientes minerais.

Os principais metabólitos solúveis encontrados no efluente foram os ácidos orgânicos, principalmente os ácidos butírico e acético, com predomínio do butírico sobre o acético.

A produção de altas quantidades de ácido butírico e ácido acético, bem como a produção de gás carbônico e hidrogênio, compõem produtos semelhantes aos produtos formados na fermentação de carboidrato por espécies de *Clostridium* (COHEN *et al.*, 1979).

Mu *et al.* (2007) demonstraram que lodos submetidos a tratamento térmico e que

geraram um efluente contendo, principalmente, os ácidos acético e butírico, com o predomínio do butírico sobre ao acético, caracterizaram-se por apresentar uma fermentação do tipo ácido butírico. Ainda, os autores relataram que, o que determina o tipo de fermentação é a diversidade da população microbiana nos inóculos depois dos enriquecimentos.

No tratamento térmico anaeróbio do lodo, *Clostridium acetobutylicum* foi identificado ser a espécie dominante, que foi responsável pela fermentação tipo ácido butírico (IYER *et al.*, 2004).

Lin *et al.* (2007) mostraram que a fermentação da glicose por diferentes espécies de *Clostridium* produz ácido acético, ácido butírico, dióxido de carbono, hidrogênio e biomassa como os principais produtos. *C. beijerinckii* L9, *C. butyricum* ATCC19398 produziram mais ácido butírico do que ácido acético e *C. acetobutylicum* M121 produziu ácido butírico sobre o ácido acético com baixas concentrações de etanol. Já *C. tyrobutyricum* FYa102 produziu concentrações equivalentes de ácido butírico e acético.

Segundo Wood (1961)¹ *apud* Cohen *et al.* (1979), a fermentação do tipo ácido butírico pode ser realizada por *Clostridium butyricum*, *Clostridium tyrobutyricum* e *Clostridium lactoacetophilum*.

Ren *et al.* (2006) determinaram as condições ótimas de produção de hidrogênio para diferentes tipos de fermentação. Para a fermentação do tipo ácido butírico com *Clostridium sp.*, os autores concluíram que, as condições ótimas para a maximização de produção de hidrogênio são pH maior que 6 com potencial de redox de -1000 mV.

As Figuras 5.14 e 5.15 ilustram, por meio de microscopia eletrônica de varredura, as morfologias das populações bacterianas aderidas no material suporte nas etapas I e III, respectivamente.

¹ Wood, W.A (1961). Fermentation of carbohydrates and related compounds. In: The Bacteria, vol. II (edited by .C. Gunsalus and R.V. Stainer) pp.59-151. Academic

A Figura 5.14 mostra que a morfologia das células bacterianas na etapa I consistiu de bacilos retos e ovalados com vários comprimentos, semelhantes a *Clostridium*. Além disso, podem ser observados alguns endósporos, caracterizados por um arredondamento em uma das extremidades.

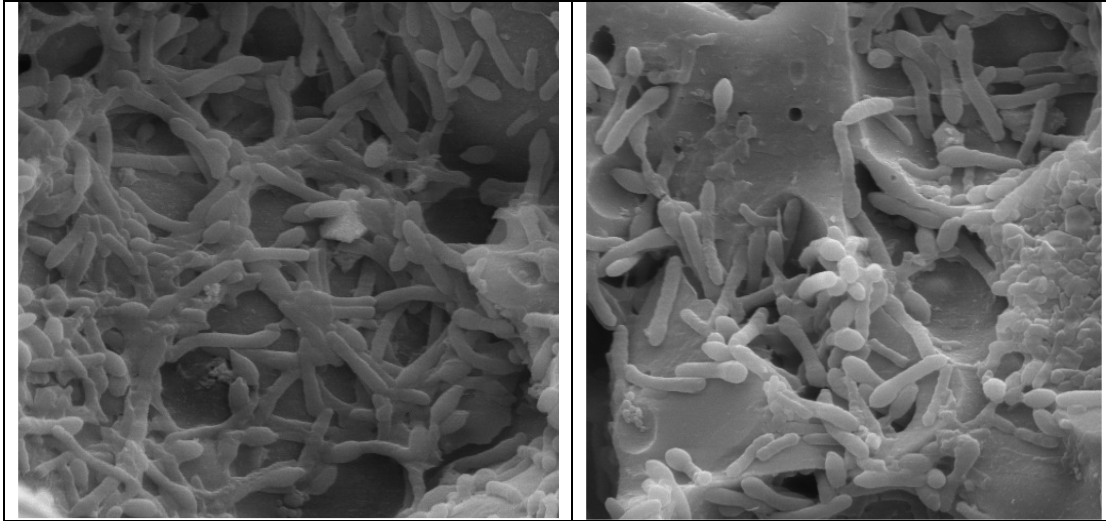


Figura 5.14. Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com biomassa aderida coletada na etapa I. 3000 e 5000x.

A Figura 5.15 mostra que na etapa III referente à operação em TDH de 4 h, as formas das células consistiram, principalmente, de coco bacilos, com pouca presença de bacilos retos, diferente do que foi observado na etapa I.

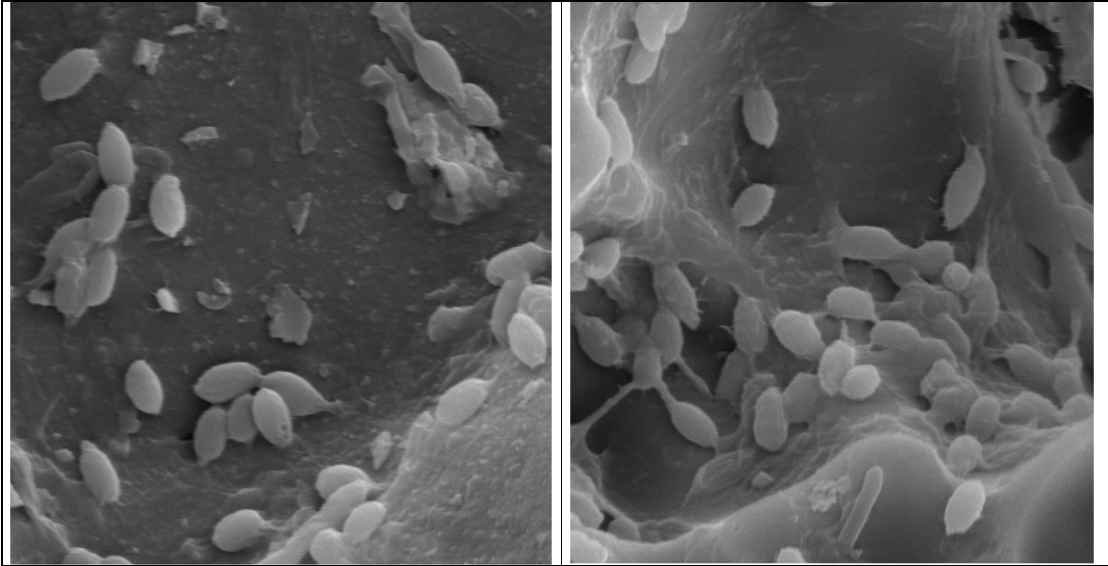


Figura 5.15. Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com biomassa aderida coletada na etapa III. 5000x.

A Figura 5.16 ilustra a morfologia da população acidogênica na etapa V por meio de microscopia de contraste de fase. Na etapa V, houve o predomínio de células com formato de bacilos retos de vários comprimentos.

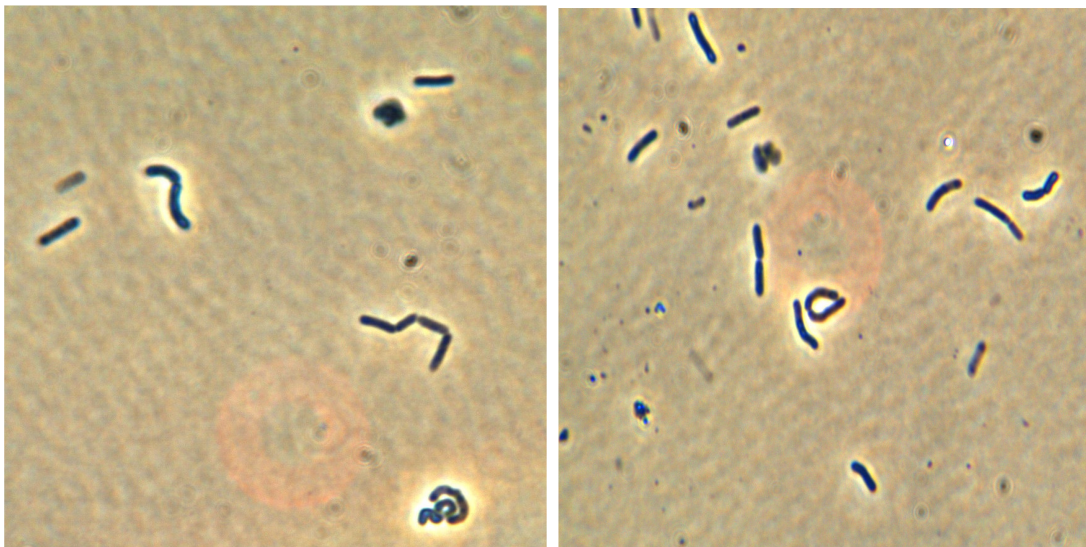


Figura 5.16. Microscopia de contraste de fase da biomassa aderida de amostras de material suporte da etapa V.

5.4 Influência da Taxa de Carregamento Orgânico (TCO) na produção de Hidrogênio

A Figura 5.17 apresenta o comportamento da taxa de carregamento orgânico aplicada e removida real para cada etapa do processo. A TCO foi calculada pela combinação da concentração de glicose pelos valores do TDH real, que considera o volume líquido reacional.

Pode ser observado que com o aumento da TCO aplicada houve um aumento levemente acentuado na remoção da carga orgânica no efluente.

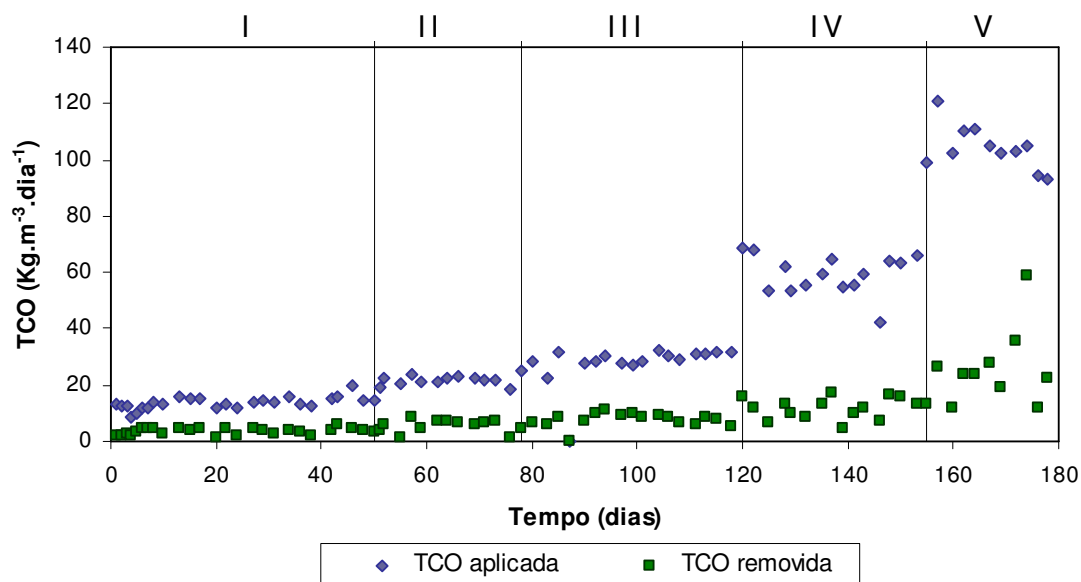


Figura 5.17. Variação temporal da taxa de carregamento orgânica aplicada e removida durante todo o experimento.

A Tabela 5.7 apresenta as médias de TCO aplicada e removida nas etapas I, II, III, IV e V.

O experimento contínuo foi iniciado com uma TCO de aproximadamente 13,57 kg.m⁻³.dia⁻¹ e a máxima TCO aplicada correspondeu a aproximadamente 104,20 kg.m⁻³.dia⁻¹.

No efluente, foi observado um aumento da remoção da carga orgânica, de 3,59 para 24,97 kg.m⁻³.dia⁻¹, a medida que a TCO aplicada foi aumentada durante as etapas I a V. Considerando todo o experimento, em média, 25% da TCO aplicada foi removida do sistema.

Tabela 5.7. Média e desvio padrão das TCOs aplicada e removida das etapas I, II, III, IV e V.

Etapas	TCO média aplicada ($\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$)	TCO média removida ($\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$)
I	$13,57 \pm 2,20$	$3,59 \pm 1,24$
II	$20,63 \pm 2,91$	$5,36 \pm 2,26$
III	$29,51 \pm 3,13$	$8,22 \pm 2,23$
IV	$59,43 \pm 7,06$	$11,79 \pm 3,84$
V	$104,20 \pm 7,87$	$24,97 \pm 13,36$

A Figura 5.18 mostra o comportamento da velocidade de produção volumétrica de hidrogênio em função do aumento da TCO aplicada. Pode ser observado um aumento linear na velocidade de produção volumétrica de hidrogênio com o aumento da TCO. Além disso, pode ser inferido que a TCO máxima de $104,20 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ não inibiu a velocidade de produção volumétrica de hidrogênio nesse estudo.

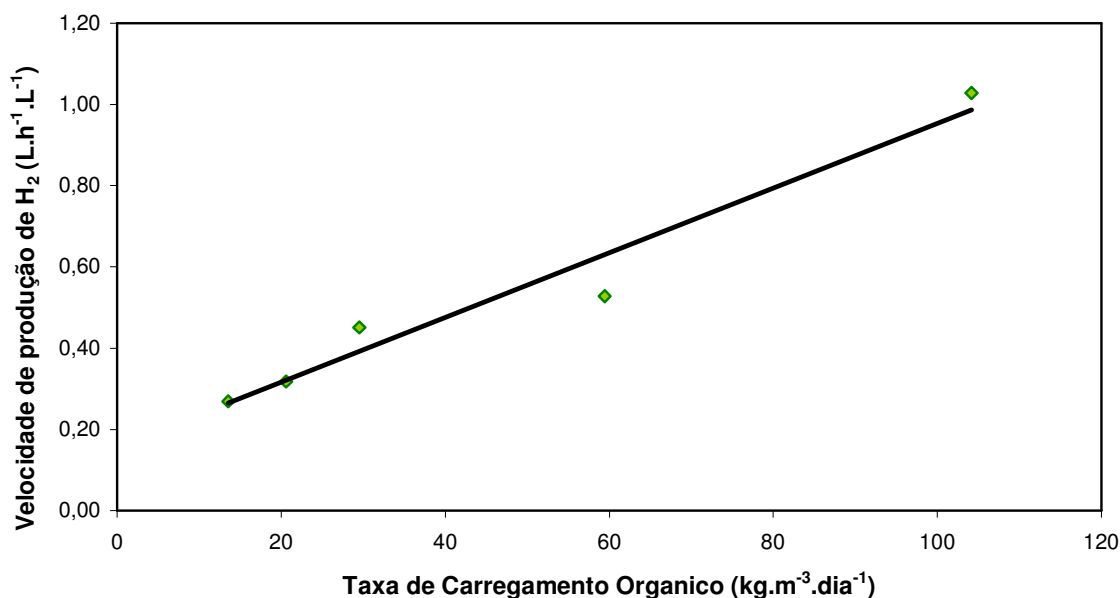


Figura 5.18. Velocidade de produção volumétrica de hidrogênio como uma função da taxa de carregamento orgânico ($y = 0,008x + 0,1524$, $R^2 = 0,9595$).

A relação linear entre a velocidade de produção de hidrogênio volumétrica e a TCO também foram observadas em reatores de crescimento suspenso (VAN GINKEL e LOGAN, 2005) e em reator anaeróbico de leito fluidificado (LIN *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007).

A Figura 5.19 mostra o comportamento do rendimento de produção de hidrogênio em função do aumento da TCO aplicada. Ao contrário da velocidade de produção volumétrica de hidrogênio, pode ser observado que o rendimento de produção de hidrogênio diminuiu com o aumento da TCO. Quando a TCO diminuiu de 104,20 para 13,57 $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$, o rendimento de produção de hidrogênio aumentou de 2,40 para 3,29 $\text{mols H}_2.\text{mol glicose}^{-1}$.

Van Ginkel & Logan (2005) verificaram que o maior rendimento de produção de hidrogênio, de 2,6 $\text{mols de H}_2.\text{mol glicose}^{-1}$, ocorreu quando o sistema foi submetido à menor taxa de carregamento orgânico, correspondente a uma concentração de glicose de 2500 mg.L^{-1} . Segundo os autores, como a TCO diminuiu, a velocidade de produção de hidrogênio também diminuiu, resultando em menos acúmulo de gás na fase líquida, menor pressão parcial de hidrogênio no líquido, menos inibição da hidrogenase e menor dificuldade nas transferências de elétrons da glicose para o hidrogênio.

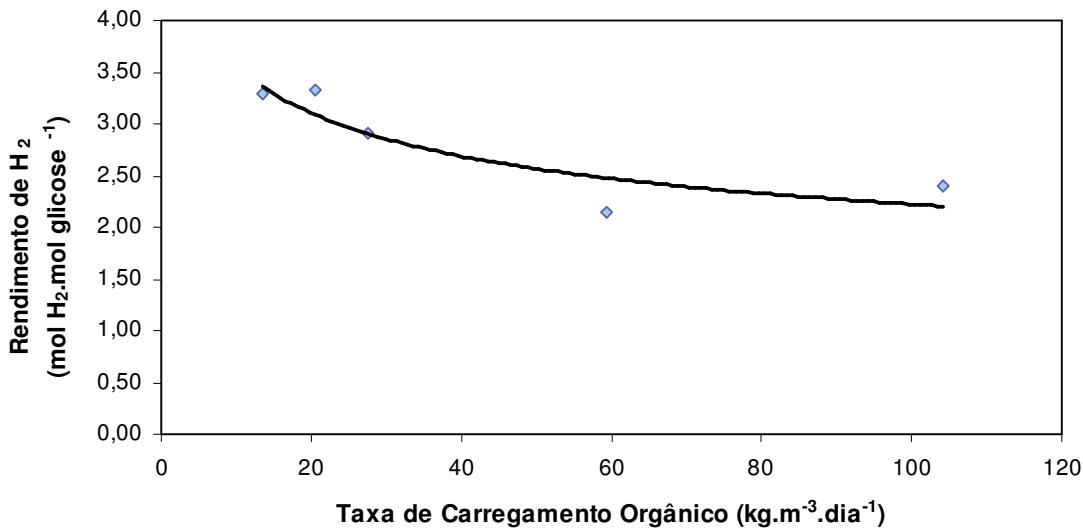


Figura 5.19. Rendimento de produção de hidrogênio como uma função da taxa de carregamento orgânico ($y = 6,4288x^{-0,2356}$, $R^2 = 0,8533$).

5.5 Sólidos suspensos voláteis (SSV) e perfil da biomassa nas diferentes alturas do reator

A Figura 5.20 apresenta o comportamento dos sólidos suspensos voláteis presentes no efluente durante as etapas III, IV e V. As medidas de sólidos suspensos voláteis foram realizadas para estimar a quantidade de biomassa que foi despreendida das partículas do material suporte e estava presente no efluente.

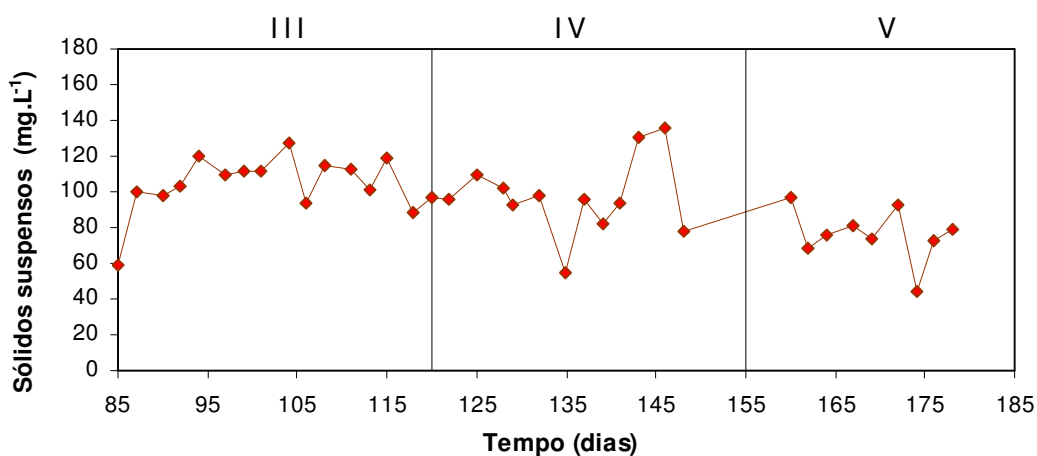


Figura 5.20. Comportamento dos sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) no efluente durante as etapas III, IV e V.

A Tabela 5.8 apresenta as médias e desvio padrão das concentrações de sólidos suspensos voláteis nas etapas III, IV e V.

Tabela 5.8. Média e desvio padrão dos sólidos suspensos voláteis nas etapas III, IV e V.

Etapa	TDH (h)	SSV (mg.L ⁻¹)
III	4	96,91 ± 16,57
IV	2	83,406 ± 20,77
V	1	59,22 ± 15,26

Pode ser verificado que as concentrações de biomassa no efluente foram diminuindo com a redução do TDH. Esse comportamento pode ser atribuído à produção de polímeros pela própria população presente para garantir maior aderência à superfície do material suporte.

Após a redução do TDH de 2 h para 1 h, foi verificada a formação de uma camada branca ao redor do material suporte, que tornou as partículas mais leves, ocasionando o aumento da altura do leito. Nesse período foi realizada uma microscopia eletrônica de varredura do material.

As fotografias de microscopia eletrônica de varredura (Figura 5.21) ilustram, de forma geral, como a biomassa estava immobilizada nas amostras do material suporte. Pode ser verificado um agregado de microrganismos e produtos extracelulares associado na superfície sólida do material suporte. As morfologias dos microrganismos presentes representam formas de *Clostridium* como discutido anteriormente. As amostras coletadas durante os 178 dias de operação para as análises de microscopia eletrônica de varredura não apresentaram morfologias semelhantes a filamentos de fungos ou leveduras.

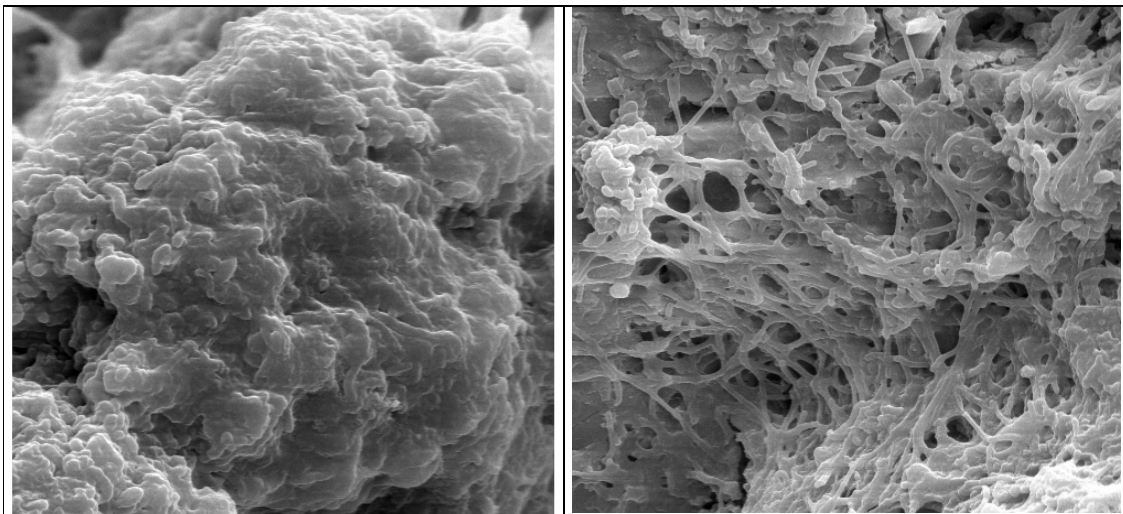


Figura 5.21. Microscopia eletrônica de varredura de amostras de material suporte com a formação de polímeros e biomassa aderida na etapa V. 5000x.

O perfil da biomassa em diferentes alturas do reator foi realizado por meio da estimativa da quantidade de biomassa presente nas partículas suporte bem como de exames de microscopia eletrônica de varredura.

Amostras do material suporte foram coletadas de pontos com altura de 23 cm (P3), 73 cm (P2), 112,5 cm (P1). Para P3, P2 e P1, a massa estimada da biomassa foi de 0,15, 0,80 e 0,25 g. De fato, P3 localizado mais próximo da entrada da vazão de alimentação e recirculação foi mais afetada pela turbulência ou fluxo de líquido, apresentando menor quantidade de biomassa que nos demais pontos acima. Já em P2, a 73 cm da entrada da vazão, observou-se a maior quantidade de biomassa. Pode ser que nessa região ocorram as maiores conversões de glicose em ácidos orgânicos e hidrogênio, já que no ponto seguinte localizado a 112,5 cm a concentração de biomassa é menor.

Pode ser inferido que, quanto mais distante as partículas suporte estiverem da entrada de líquido, maior será a quantidade de biomassa aderida. No entanto, a microscopia eletrônica de varredura mostrou que não há uma diferença na morfologia das células presentes nos pontos P3, P2 e P1.

A Figura 5.22 ilustra as morfologias encontradas nos pontos P3, P2 e P1. Pode ser verificado que em todos os pontos estão presentes células com formato de bacilos retos e ovalados de vários comprimentos, semelhantes a *Clostridium*. Porém em P1 e P2 observa-se o predomínio, principalmente, de bacilos retos.

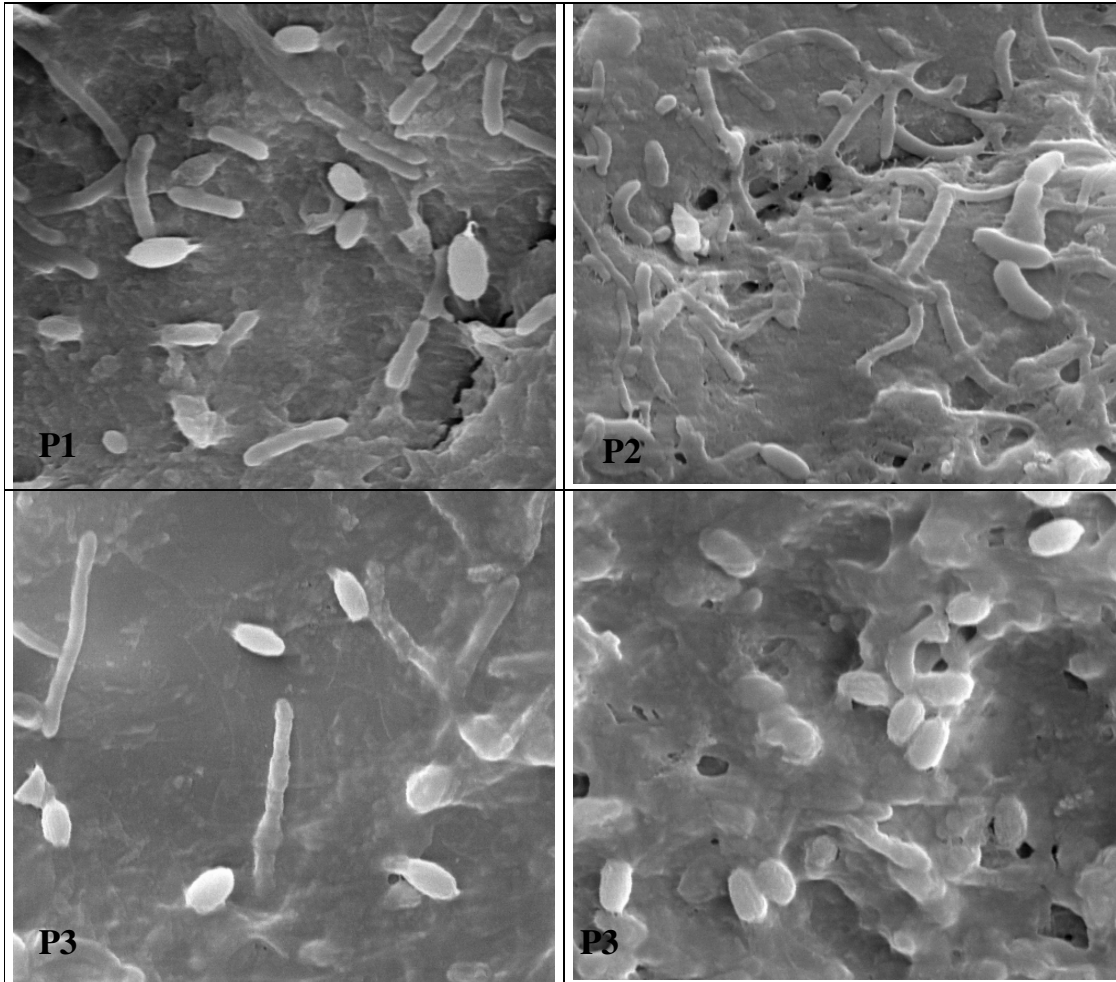


Figura 5.22. Microscopia eletrônica de varredura das amostras de material suporte dos pontos P1, P2 e P3. 5000x.

5.6 DQO e Balanço de Carbono

A Figura 5.23 ilustra o comportamento dos valores de DQO no afluente e efluente, e a eficiência de remoção de DQO no sistema. Nota-se que a DQO efluente não apresentou diferenças significativas com a variação do TDH.

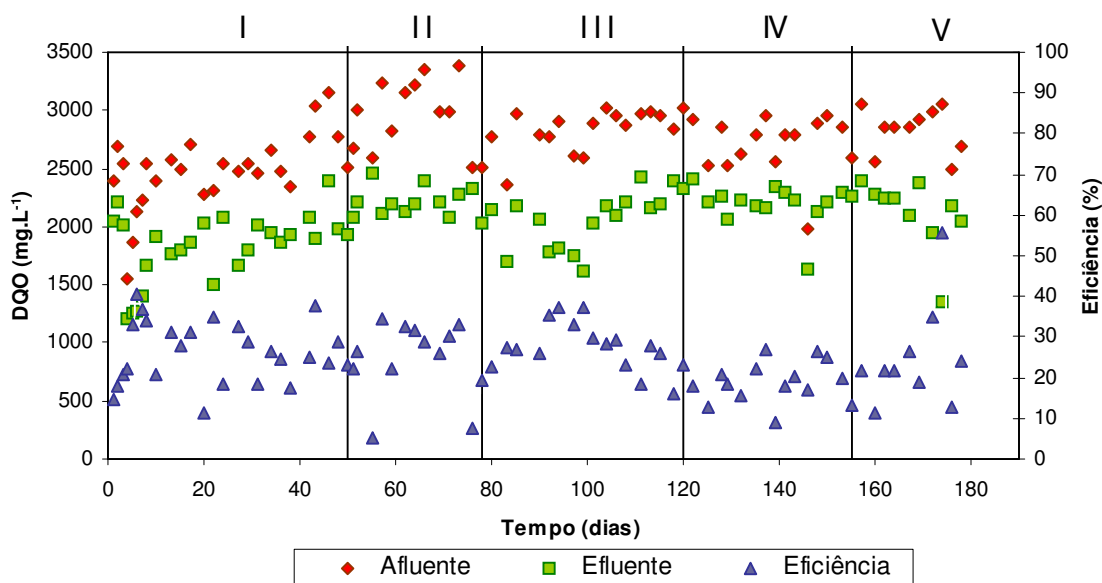


Figura 5.23. Comportamento da DQO afluente, efluente e eficiência de remoção durante as etapas do experimento.

A Tabela 5.9 apresenta os valores médios e desvio padrão da DQO afluente, efluente e eficiência das etapas I, II, III, IV e V.

Tabela 5.9. Média e desvio padrão da DQO afluente e efluente, e eficiência de remoção para as etapas do experimento.

Etapa	DQO afluente (mg.L ⁻¹)	DQO efluente (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
I	2476,54 ± 330,40	1964,35 ± 166,15	23,98 ± 6,92
II	2955,92 ± 310,13	2197,63 ± 143,59	24,93 ± 9,21
III	2856,04 ± 263,94	2059,59 ± 231,71	27,78 ± 6,45
IV	2737,69 ± 262,07	2195,93 ± 175,87	19,53 ± 4,95
V	2812,25 ± 194,94	2126,47 ± 288,99	23,83 ± 12,54

A DQO afluente representa a glicose adicionada na composição da água residuária e a matéria carbonácea presente na uréia. A DQO afluente variou de 2476,54 mg.L⁻¹ a 2955,92 mg.L⁻¹.

A média de DQO efluente mínima foi de 1964,35 mg.L⁻¹ na etapa I e a DQO média máxima, de 2197,63 mg.L⁻¹ ocorreu na etapa II.

A eficiência de remoção corresponde à parcela da matéria carbonácea que foi convertida em gás carbônico e biomassa que permaneceu aderida no material suporte. As

eficiências variaram de 19,53% a 27,78%. A eficiência máxima foi detectada na etapa III, enquanto a eficiência mínima ocorreu na etapa IV.

A DQO efluente representa a matéria carbonácea no efluente que foi oxidada. A matéria carbonácea presente no efluente consiste de glicose não consumida, dos metabólitos solúveis como os ácidos orgânicos, solventes e outros intermediários e, a biomassa desprendida do material suporte.

A Tabela 5.10 apresenta as concentrações médias dos compostos presentes no efluente, como glicose remanescente, metabólitos solúveis e sólidos suspensos voláteis como medida indireta da biomassa, em todas as etapas.

Tabela 5.10. Média das concentrações de glicose, ácido acético, butírico, capróico e etanol no efluente, soma desses metabólitos e biomassa.

TDH (h)	Glicose (mg.L ⁻¹)	(a) Ac. Acético (mg.L ⁻¹)	(b) Ac. Butírico (mg.L ⁻¹)	(c) Ac. Capróico (mg.L ⁻¹)	(d) Etanol (mg.L ⁻¹)	Biomassa (mg.L ⁻¹)
8	272,57	553,61	462,02	< LD ₃ ^{***}	75,25	ND
6	163,56	495,76	529,83	< LD ₃ ^{***}	97,06	ND
4	112,94	431,69	515,67	57,61	76,77	96,91
2	72,15	364,57	573,50	80,87	54,73	83,40
1	169,95	514,90	554,93	37,64	52,66	59,22

^(a) LD₁ (48,03 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido acético;

^(b) LD₂ (201,18 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido butírico;

^(c) LD₃ (6,44 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do ácido capróico;

^(d) LD₄ (14,28 mg.L⁻¹) – Limite de detecção do etanol.

ND – Não determinado

A título de comparação, calculou-se a DQO efluente teórica com base nas relações estequiométricas para oxidação da glicose, do ácido acético, butírico e capróico, da biomassa e do etanol, e nas médias das concentrações de cada composto. A Tabela 5.11 apresenta os valores da DQO teórica da glicose remanescente, dos metabólitos solúveis, da biomassa e apresenta também a diferença entre a DQO teórica total e a DQO medida.

Tabela 5.11. Média das DQOs teóricas dos metabólitos, DQO da biomassa e DQO efluente medida.

TDH (h)	DQO _t glicose (mg/L)	DQO _t acético (mg/L)	DQO _t butírico (mg/L)	DQO _t capróico (mg/L)	DQO _t biomassa (mg/L)	DQO _t etanol (mg/L)	DQO _t Total (mg.L ⁻¹)	DQO efluente (mg.L ⁻¹)	DQO _{efluente} - DQO _t Total
8	290,48	590,51	840,04	0	-	104,60	1825,62	1964,35	138,73
6	174,31	528,81	963,33	0	-	134,91	1801,35	2197,63	396,28
4	120,36	460,47	937,58	111,19	129,86	106,71	1866,17	2059,59	193,42
2	76,89	388,87	1042,73	156,08	111,76	76,07	1852,40	2195,93	343,53
1	181,12	549,22	1008,96	72,65	79,35	73,20	1964,49	2126,47	161,98

Pode ser observada uma pequena diferença, variando entre 138,73 e 396,28 mg.L⁻¹ entre a DQO medida e a DQO teórica relacionada aos metabólitos totais e biomassa em todas as etapas. Essa diferença pode ser atribuída a presença de outros metabólitos não detectados como o ácido láctico, ácido fórmico entre outros.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

Esse estudo concluiu que:

- O efluente foi composto principalmente de ácido butírico e acético, com predominância do ácido butírico sobre o ácido acético em todas as etapas exceto na etapa I. O ácido butírico correspondeu a 41,72% a 53,63% enquanto o ácido acético correspondeu a 34,09% a 49,99% do total de metabólitos solúveis produzidos. O etanol foi produzido em todas as etapas em quantidades insignificantes, menor que 9,0% do total de metabólitos solúveis produzidos.

- A distribuição dos ácidos orgânicos foi influenciada pelo TDH. Foi observado um aumento na produção de ácido butírico com a diminuição do TDH. A concentração de ácido butírico aumentou de 462,02 mg.L⁻¹ para 573,50 mg.L⁻¹ entre TDH de 8 h e 2 h, e diminuiu em TDH de 1 h para 554,93 mg.L⁻¹. Esses resultados podem indicar a resposta das populações acidogênicas ao aumento da pressão parcial de hidrogênio no biogás e da carga ácida no sistema. Além disso, a concentração de ácido acético diminuiu com a diminuição do TDH. Em TDH de 8 h, a concentração de ácido acético correspondeu a 553,71 mg.L⁻¹ e diminuiu para 364,57 mg.L⁻¹ em TDH de 2 h.

- O TDH de 2 h apresentou a maior porcentagem média de hidrogênio no biogás, de 37,55%. O conteúdo máximo de hidrogênio no biogás foi em TDH de 1 h e correspondeu a 59,47%.

- A velocidade de produção de hidrogênio volumétrica aumentou com a diminuição do TDH. Em TDH de 8 h e 1 h, a velocidade de produção de hidrogênio volumétrica foi de 0,27 e 1,03 L.h⁻¹.L⁻¹, respectivamente. A velocidade máxima de produção de hidrogênio volumétrica foi de 1,28 L.h⁻¹.L⁻¹ em TDH de 1 h.

▪ O rendimento de produção de hidrogênio diminuiu com a redução do TDH. O rendimento de produção de hidrogênio durante a operação em TDH de 8 h e 1 h foi, respectivamente, 3,29 a 2,40 mols H_2 .mol glicose⁻¹.

▪ Foi observado um aumento linear na velocidade de produção volumétrica de hidrogênio com o aumento da TCO. A TCO máxima de 104,20 Kg.m⁻³.dia⁻¹ não inibiu a velocidade de produção volumétrica de hidrogênio.

▪ O rendimento de produção de hidrogênio diminuiu com o aumento da TCO. Quando a TCO diminuiu de 104,20 para 13,57 Kg.m⁻³.dia⁻¹, o rendimento de produção de hidrogênio aumentou de 2,40 para 3,29 mols H_2 .mol glicose⁻¹.

▪ A eficiente de conversão de glicose, a produção de hidrogênio e dióxido de carbono no biogás e o predomínio de ácidos orgânicos no efluente demonstraram que o tratamento térmico do lodo foi efetivo para o enriquecimento de bactérias acidogênicas e para a inibição dos organismos consumidores de hidrogênio como as arqueias metanogênicas.

▪ A alta eficiência de consumo de glicose e estabilidade do sistema para gerar os produtos da acidogênese desde o início do experimento demonstrou que o período de 48 h foi adequado para a adaptação e desenvolvimento das atividades metabólicas da população acidogênica.

▪ O pré-tratamento térmico do lodo e o predomínio o ácido butírico sobre o ácido acético caracterizam-se por apresentar uma fermentação do tipo ácido butírico realizado por *Clostridium*.

▪ Foram alcançados bons desempenhos de produção de hidrogênio sob condições de pH em torno de 4,0.

CAPÍTULO 7

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tecnologia de produção de hidrogênio a partir da fermentação de compostos orgânicos provenientes de águas residuárias pode ser considerada uma das mais promissoras tecnologias para a solução da substituição de combustíveis fósseis para geração de energia, para o tratamento dos resíduos orgânicos presentes nos esgotos industriais e domésticos e para os problemas ocasionados pelo efeito estufa e conseqüentemente para a questão do aquecimento global.

A característica de fluidificação do sólido inerente ao reator anaeróbio de leito fluidificado, bem como a imobilização da biomassa por materiais suporte torna o sistema mais competitivo comparado a outras configurações devido a sua eficiência na transferência de massa. Os resultados encontrados são relevantes com a literatura. Foi verificado que o TDH e a TCO exercem efeito sobre a velocidade de produção de hidrogênio, rendimento de produção de hidrogênio por substrato consumido e a distribuição dos ácidos orgânicos. Além disso, o tratamento térmico pode inibir a atividade de arqueias metanogênicas consumidoras de hidrogênio e selecionar populações acidogênicas resistentes a baixos pHs e capazes de produzir hidrogênio sob condições de estresse.

Uma vantagem verificada no presente estudo é que a operação em baixo pH pode contribuir significativamente para a redução dos custos na quantidade de alcalinizantes necessários para o controle do pH durante os processos de produção de hidrogênio.

Além disso, esse estudo demonstrou que o reator anaeróbio de leito fluidificado é estável para produzir hidrogênio e ácidos orgânicos, e por tanto se mostra bastante promissor como uma tecnologia para a produção de hidrogênio em grande escala utilizando águas residuárias naturais.

CAPÍTULO 8

SUGESTÕES DE CONTINUIDADE

Foi verificado nesse estudo que o sucesso para a produção de hidrogênio pode ser atribuído a configuração desse reator aliado aos parâmetros operacionais ótimos determinados para o sistema.

Por tanto, recomenda-se novos estudos relacionados a outras condições operacionais a fim de analisar novos resultados, confrontá-los com os obtidos nesse estudo e assim encontrar a melhor condição operacional para a produção de hidrogênio nessa configuração de reator.

Recomenda-se a avaliação de condições operacionais tais como fontes de carbono, concentração de substrato, temperatura, velocidade de expansão do leito, diferentes materiais suporte, diâmetro das partículas, fontes, formas e tratamento do inóculo e até mesmo a utilização de culturas puras.

Ainda, a escolha adequada de materiais suporte e metodologias para quantificação da biomassa imobilizada são de fundamental importância para os estudos de produção de hidrogênio e balanço de massa.

REFERÊNCIAS

AKUTSU, J. (1985). *Emprego de reator de leito fluidificado para tratamento biológico anaeróbico de águas residuárias de uma indústria de conservas alimentícias*. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.

AMORIM, E.L.C. (2007). *Desempenho de reator anaeróbico de leito fluidificado operado sob condições de aumento progressivo da carga orgânica no tratamento de fenol*. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.

ANTONOPOULO, G.; GAVALA, H.N.; SKIADAS, I.V.; ANGELOPOULOS, K.; LYBERATOS, G. (2008). Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production na anaerobic digestion of the remain biomass. *Bioresource Technology*, v.99, p. 110-119.

ARAUJO, J.C. (1995). *Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbico de leito fluidificado alimentado com esgoto sanitário sintético*. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.

CAI, M.L.; LIU, J.X.; WEI, Y.S. (2004). Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. *Environmental Science Technology*, v.38, p. 3195-3202.

CAMPOS, J.R.; PEREIRA, J.A.R. (1999). Reator anaeróbico de leito expandido/fluidificado In: Campos, J.R. (Coord.) Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbico e disposição controlada no solo, PROSAB/ABES, 199-219.

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

CHANG, F.Y.; LIN, C.Y. (2004). Biohydrogen production using up flow anaerobic sludge blanket reactor. *International Journal of Hydrogen energy*, v. 29, p. 33-49.

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

CHERNICHARO, C.A.L. (1997). *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG. v.5.

COHEN, A.; ZOETEMEYER, J.; VAN DEURSEN, A; VAN ANDEL, JG (1979). Anaerobic digestion of glucose with separated acid production and methane formation. *Water Research*, v.13, pp, 571-580.

COHEN, A.; BREURE, A.M.; VAN ANDEL, JG; VAN DEURSEN, A (1980). Influence of phase separation on the anaerobic digestion of glucose-I maximum COD-turnover rate during continuous operation. *Water Research* 14 (11): 1439-1448.

CONVERTI, A. PEREGO, P. (2002). Use of carbon and energy balances in the study of the anaerobic metabolism of *Enterobacter aerogenes* at variable starting glucose concentrations. *Applied Microbiology and biotechnology*, v.59, p. 3003-309.

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

DEL NERY, V. (1987). *Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo de partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo*. Dissertação (Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

DU, G.; CHEN, L.X.L.; YU, J. (2004). High-Ef.ciency Production of Bioplastics from Biodegradable Organic Solids. *Journal of Polymers and the Environment*, v.12, n.2, april.

DURRE, P. (1998). New insights and novel developments in clostridial acetone/butanol/isopropanol fermentation. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.49, p639-648.

ELEFSINIOTIS, P.; WAREHAM, D.G.; SMITH, M.O. (2004). Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification. *Journal of Biotechnology*, v.114, p. 289–297.

FAN, Y.;LI, C.; LAY J.J. HOU, H.; ZHANG, G. (2004). 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.

FAN, K.S.; KAN, N.R.; LAY, J.J. (2006). Effect of hydraulic retention time on anaerobic hydrogenesis in CSTR. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 84-89.

FANG, H.H.P.; LIU, H. (2002). Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Tecnology*, v.82, p. 87-93.

FANG, H.H.P.; ZHANG, T.; LIU, H. (2002). Microbial diversity of a mesophilic hydrogen producing sludge. *Applied Microbiology and Technology*, v. 58, p. 112-118.

FASCETTI, E.; D'ADDARIO, E.; TODINI, O.; ROBERTIELLO, A. (1998). Photosynthetic hydrogen evolution with volatile organic acids derived from the fermentation of source selected municipal solid wastes. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 23, n.9, p.753-760.

FORESTI, E. *et al.* (1999). Fundamentos do tratamento anaeróbio. In: CAMPOS, J.R. (coord.) *Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo*. Rio de Janeiro: PROSAB. cap. 2, p.29-52.

GAVALA, H.N., SKIADAS, I.O.; AHRING, B.K (2005). Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor system. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 31, p.1164-1175.

GOSWAMI, V.; SRIVASTAVA, A.K. (2000). Fed-batch propionic acid production by *Propionibacterium acidipropionici*. *Biochemical Engineering Journal*, v. 4, p. 121-128.

GRUPE, H.; GOTTSCALK, G. (1992). Physiological events in *Clostridium acetobutylicum* during the shift from acidogenesis to solventogenesis in continuous culture and presentation of a model for shift induction. *Applied and Environmental Microbiology*, v.58, n.12, p 3896-3902.

HASSAN, M.O; SHIRAL, Y.; KUSUBAYASHI, N.; KARIM, M.I.A; NAKANISHI, N.; HASHIMO, K. (1997). The Production of Polyhydroxyalkanoate from Anaerobically Treated Palm Oil Mill Effluent by *Rhodobacter sphaeroides*. *Journal Of Fermentation And Bioengineering*, v. 83, n.5, p.485-488.

HARPER, S.R.; POHLAND, F.G. (1986). Recent development of hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotecnology and Bioengineering*, v.28, p.585-602.

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

HICKEY, RF; OWENS, R.W. (1981) Methane generation from tight-strength industrial waste with the anaerobic biological fluidized bed. *Biotecnology and Bioengineering*, v. 23, p.399-413.

HORIUCHI, J.I.; SHIMIZU, T.; TADA, K.; KANNO, T. KOBAYASHI, M. (2002). Selective production of organics acids in an anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology*, v.82, p.209-213.

HU, B.; CHEN, S. (2007). Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. ,p.

IYER, P.; BRUNS, M.A.; ZHANG, H; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B.E. (2004). Hydrogen producing bacterial communities from a heat-treated soil inoculum. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.66, p. 166-173.

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

KIM, S.; HAN, S.; SHIN, H. (2006). Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. *Process Biochemistry*, v.41, p. 199-207.

KOTAY, S.M.; DAS, D. (2007) Microbial hydrogen production with *Bacillus coagulans* IIT-BT S1 isolated from anaerobic sewage sludge. *Bioresource Technology*, v. 98, p.1183–1190.

LARGUS, T.A.; KHURSHEED, K.; MUTHANNA, H.A.; BRIAN, A.; WRENNAND, R.D. (2004). Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends Biotechnology*, v.22, p.477–85.

LEE, K.S.; LO, Y.S.; LO, Y.C.; LIN, P.J.; CHANG, J.S. (2003). H₂ production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed-bed bioreactors. *Biotechnology Letters*, v. 25, p. 133-138.

LEITE, J.A.C. (2005). *Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação acidogênica em reator anaeróbio horizontal de leito fixo e extração em resina de troca iônica e com solvente orgânico*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo.

LI, J.; LI, B.; ZHU, G.; REN, N.; BO, L.; HE, J. (2007). Hydrogen production from diluted molasses by anaerobic hydrogen producing bacteria in an anaerobic baffled reactor (ABR). *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 32, p. 3274-3283.

LIM, S.J.; CHOI, D. W.; LEE, W. G.; KWON, S.; CHANG, H. N. (2000). Volatile fatty acids production from food wastes and its application to biological nutrient removal. *Bioprocess Engineering*, v.22, p. 543-545.

LIN, C.Y.; LEE, C.Y; TSENG, I.C.; SHIAO I. Z. (2006). Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora. *Process Biochemistry*, v. 41, p. 915–919.

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

LIN, P.Y.; WHANG, L.M.; WU, Y.R.; REN, W.J.; HSIAO, C.J.; LI, S.L.; CHANG, J.S. (2007). Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: Metabolic study and mathematical model simulation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 32, p. .1728-1735.

LIU, W.T.; CHAN, O.N.; FANG, H.H.P. (2002). Microbial community dynamics during start up of acidogenic anaerobic reactors. *Water Research*, v.36, p.3203-3210.

LIU, X.G.; YANG, S.T. (2006). Kinetics of butyric acid fermentation of glucose and xylose by *Clostridium tyrobutyricum* wild type and mutant. *Process Biochemistry*, v.41, p801–808.

MAHARAJ, I; ELEFSINIOTIS , P. (2001). The role of HRT and low temperature on the acid-phase anaerobic digestion of municipal and industrial wastewaters. *Bioresource Technology*, v.76, p. 191-197.

MAINTINGER, S.I.; TAKEDA, A. SILVA, M.B.A. (2007). Purificação de bactérias anaeróbias produtoras de hidrogênio. In: ANAIS DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento de águas residuárias visando a remoção de poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 2007, São Carlos. Anais... São Carlos: EESC/USP, p.86-95.

MENDONÇA, N.M. (2004). Tratamento de esgoto sanitário empregando reator de leito expandido em escala plena com zonas anaeróbia e aeróbia sobrepostas: concepção, construção e operação. 280p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

MENDONÇA, N.M.; NICIURA, C.L.; GIANOTTI, E.P.; CAMPOS, J.R. (2004). Full scale fluidized bed anaerobic reactor for domestic wastewater treatment: performance, sludge production and biofilm. *Water Science and Technology*, v.49, n.11-12, p.319-325.

MIZUNO, O.; DINSDALE, R.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D.L.; NOIKE, T. (2002). Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresource Technology*, v.73, p.59-65.

MOHAN, S.V.; BABU, V.L.; SARMA, P.N. (2007). Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. *Enzyme and Microbial Technology*, v.41, p. 506-515.

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

MOSEY, F.E. (1982). New developments in the anaerobic treatment of industrial wastes. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v.81, n.4, p. 540-552.

MOSEY, F.E. (1983). Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: Regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile fatty acids from glucose. *Water Science Technology*, v.15, p209-232, Copenhagen.

MU, Y.; YU, H.Q.; WANG, Y. (2006). The role of pH in the fermentative H₂ production from an acidogenic granule-based reactor. *Chemosphere*, v. 64, p. 350-358.

MU, Y.; YU, H.Q.; WANG, G (2007). Evaluation of three methods for enriching H₂ producing cultures from anaerobic sludge. *Enzyme and Microbial Technology*, v.40, p. 947-953.

NICIURA, C.L. (2005). *Avaliação do uso de banda de rodagem de pneus inservíveis triturada como suporte ao desenvolvimento de biofilmes em um reator anaeróbio de leito expandido*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo.

NOCKO, L.M.; FORESTI, E. (2007). Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel operado sob aeração intermitente. In: ANAIS DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento de águas residuárias visando a remoção de poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 2007, São Carlos. Anais... São Carlos: EESC/USP, p.187-196.

OLIVEIRA, L.L.; DUARTE, I.C.S.; VARESCHE, M.B. (2007). Influência do material suporte na degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio. In: ANAIS DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento de águas residuárias visando a remoção de poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 2007, São Carlos. Anais... São Carlos: EESC/USP, p.328-337.

OMENA, S.P.F; SILVA, E.L. (2007). Degradação de fenol em reator anaeróbio de leito fluidificado sob condições nitrificantes. In: ANAIS DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento de águas residuárias visando a remoção de poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 2007, São Carlos. Anais... São Carlos: EESC/USP, p.367-376.

ORTEGA, F.S.; ROCHA, K.M.; ZAIAT, M.; PANDOLFELLI, V.C. (2001). Aplicação de espumas cerâmicas produzidas via “gelcasting” em biorreator para tratamento anaeróbio de águas residuárias. *Cerâmica*, 47 (304), p.199-203.

PELCZAR, J.M., CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. (1996). Microbiologia: Conceitos e aplicações, v.1, 2^o edição. São Paulo: MAKRON Books

REN, N.Q.; CHUA, H.; CHAN, S.Y.; TSANG, Y.F.; WANG, Y.J.; SIN, N. (2006). Assessing optimal fermentation type for bio-hydrogen production in continuous-flow acidogenic reactors. *Bioresource Technology*, v. 98 p. 1774-1780.

RODRIGUES, C.; VANDENBERGHE, L.P.S.; TEODODRO, J.; PARADA, J.L.; MIAYOCA, M.; SOCCOL, C.R. (2007). Produção de ácido propiônico por fermentação submersa utilizando diferentes substratos. XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos – SINAFERM, 1-CD-ROM, 7 p., Curitiba – PR.

SANO, A; YASUDA, K.; KATO, Y.; BANDO, Y.; NAKAMURA, M. (2006). Hydrogen Fermentation by using heat-shocked granular sludge. *Journal Chemical Engineering of Japan*, v.39, n.5, p. 580-582.

SHI, X.Y.; YU, H. Q. (2006). Continuous production of hydrogen from mixed volatile fatty acids with *Rhodospseudomonas capsulata*. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 31, p.1641-1647.

SHIN, H.S.; YOUN, J.H.; KIM, S.H. (2004). Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.29, p.1355– 1363.

SIQUEIRA, L.M.; SILVA, E.L. (2007). Degradação anaeróbia da vinhaça em reator de leito fluidificado. In: ANAIS DO II SEMINÁRIO DO PROJETO TEMÁTICO. Desenvolvimento de sistemas combinados de tratamento de águas residuárias visando a remoção de poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 2007, São Carlos. Anais... São Carlos: EESC/USP, p.1-10.

SPEECE, R.E. (1996). Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters. Nashville: Archae Press. p.393.

SREEKRISHNAN, T.R.; RAMACHADRAN, K.B.;GHOSH, P. (1991). Effect of operating variables on biofilm formation and performance of anaerobic fluidized bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v.37, p.557-565.

STANDARD methods for the examination of water and wastewater (1998). 20th ed. Washington, DC: American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation.

SURARUKSA, B.; NOPHARATANA, A.; CHAIPRASERT, P.; TANTICHAROEN, M.; BHUMIRATABA, S. (2003). Microbial activity of biofilm during start-up period of anaerobic hybrid reactor at low and high upflow feeding velocity. *Water Science and Technology*, v.48, n.8, p.79-87.

TAKABATAKE, H.; SUZUKI, K.; KO, I.B.; NOIKE, T. (2004). Characteristics of anaerobic ammonia removal by a mixed culture of hydrogen producing photosynthetic bacteria. *Bioresource Technology*, v.95, p.151–158.

TERRACINO, J.S, KASHKET, E.R (1986). Intracellular conditions required for initiation of solvent production by *Clostridium acetobutlicum*. *Applied Environmental Microbiology*, v.52, p.86-91.

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

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

WU, S.Y.; LIN, C.N.; CHANG, J.S. (2003). Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactors. *Biotechnol. Prog.*, v.19, p.828-832.

WU, S.Y.; LIN, C.N.; SHEN, Y.C.; LIN, C.Y.; CHANG, J.S. (2006). Exploring biohydrogen-producing performance in three-phase fluidized bed bioreactors using different types of immobilized cells. 16^o Energy World Hydrogen Conference, ref. 150.

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

YU, J. (2001). Production of PHA from starchy wastewater via organic acids. *Journal of Biotechnology*, v.86, p.105–112.

YU, H.Q and Fang, H.P. (2001). Acidification of mid and high-strength dairy wastewaters. *Water science and Technology*, v.35, n.15, p.3697-3705.

YU, J.; SI, Y.; WONG, W.K.R. (2002). Kinetics modeling of inhibition and utilization of mixed volatile fatty acids in the formation of polyhydroxyalkanoates by *Ralstonia Eutropha*. *Process Biochemistry*, v.37, p.731–738.

YU, H.Q.; ZHENG, X.J.; HU, Z.H.; GU, G.W. (2003). High-rate anaerobic hydrolysis and acidogenesis of sewage sludge in a modified upflow reactor. *Water Science and Technology*. v. 48, n.4, p.69-75.

YU, H.Q.; FANG , H.H. (2003). Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. *Water Research*, v. 37, p. 55–66.

YUAN, H.; *et al.* (2006). Improved bioproduction of short-chain fatty acids (SCFAs) from excess sludge under alkaline conditions. *Environmental Science and Technology*. v.40, p.2025-2029.

ZHANG, H.; BRUNS, M.A.;LOGAN, B.E. (2006). Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor. *Water Research*, v. 40, p. 728 – 734.

ZHANG, P.Z.; SHOW, K.Y.; TAY, J.H.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIANG, W.J. (2006). Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry*, v.41, p.2118-2123.

ZHANG, Z.P.; TAY, J.H.; SHOW, K.Y.; YAN, R.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIAN, W.J. (2007). Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 32, p. 185 – 191.

ZHU, H.; BELAND, M. (2006). Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.31, p. 1980-1988.

ZIGOVÁ, J.; STURDÍK, E. (2000). Advances in biotechnological production of butyric acid. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 24, p. 153-160.

ZOETEMEYER, R.J.; ARNOLY, P.; COHEN, A.; BOELHOUWER, C. (1982). Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of a two-stage digestion process. *Water Research*, v.16, p.313-321.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)