

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E
SANAMENTO

OSVALDO AUGUSTO MAMPRIM NETO

Interferência da Variação da Carga Aplicada Específica (CAE) na Composição do
Biogás Produzido em Digestão Anaeróbia

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2013

OSVALDO AUGUSTO MAMPRIM NETO

Interferência da Variação da Carga Aplicada Específica (CAE) na Composição do Biogás Produzido em Digestão Anaeróbia

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cleto Pires

São Carlos

2013

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

M263i Mamprim, Oswaldo Augusto Neto
Interferência da variação da carga aplicada específica (CAE) na composição do biogás produzido em digestão anaeróbia / Oswaldo Augusto Neto Mamprim; orientador Eduardo Cleto Pires. São Carlos, 2013.

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, 2013.

1. Vinhaça. 2. Digestão anaeróbia. 3. Metano. 4. Hidrogênio. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **OSVALDO AUGUSTO MAMPRIM NETO**.

Título da dissertação: "Interferência da variação da carga aplicada específica (CAE) na composição do biogás produzido em digestão anaeróbia".

Data da defesa: 30/08/2013

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Eduardo Cleto Pires (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Profa. Dra. **Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

aprovado

Prof. Dr. **Erich Kellner**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADO

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Denis Vinicius Coury**

*“É preciso deixar um pouco mais difícil essa conquista,
para que a vitória fácil demais não desmereça o preço.”*

William Shakespeare

Dedico essa conquista a meus pais,

Cleide e Marcos.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Cleide e ao meu pai Marcos, meus pilares, pelo amor, pelos valores e pelo incentivo. À minha irmã Maria Carolina pela eterna cumplicidade.

Ao Professor Dr. Eduardo Cleto Pires, exemplo de orientador e de profissional, agradeço pelas oportunidades, pela convivência e pelo apoio irrestrito às atividades realizadas durante a pesquisa.

À professora Márcia Damianovic, pela paciência, amizade e principalmente pelas fundamentais colaborações intelectuais.

Aos grandes pesquisadores e amigos Vinícius Carvalho Rocha e Gustavo Mockaitis, que me proporcionaram grande entusiasmo durante o trabalho. Por estarem sempre dispostos a contribuir com a pesquisa.

Aos amigos Matheus Arndt de Souza (Tetinha) e Thiago Duarte Santos Pereira (Cebola), pela amizade e incontáveis contribuições para a realização deste projeto.

Às funcionárias do SHS, Sá e Rose, pela solicitude sempre presente.

À todos os amigos que compartilharam comigo o mestrado: Dico, Batata, Madruga, Bobo e Nayara, Davi Legal, Pauleta, Mineiro, Monstro, Beldade, André, Arthur, Leandro, Dario, Piu, Xamego, Seu Jorge, Alecrim, Roger, Ivie, e todos que não citei mas, têm papel importante nesta conquista.

Ao Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo que disponibilizou o espaço e o apoio necessário para a realização deste projeto.

À FAPESP pelo financiamento da pesquisa por meio do projeto temático.

À CAPES pela bolsa concedida durante o mestrado.

Àqueles que deram condições para a realização desse trabalho, que sem dúvida é fruto da cooperação de todos.

RESUMO

MAMPRIM, O. A. N. **Interferência da Variação da Carga Aplicada Específica (CAE) na Composição do Biogás Produzido em Digestão Anaeróbia**. 2013. 71 F. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2013.

Neste trabalho a composição do biogás produzido em digestão anaeróbia foi avaliada em função da variação da carga aplicada específica (CAE) medida em termos da relação DQO/sólidos suspensos voláteis. Foram feitos ensaios de digestão anaeróbia utilizando vinhaça como fonte de carbono e lodo adaptado proveniente de reator UASB em 10 frascos reagentes contendo as seguintes variações de CAE: 0,20; 0,28; 0,34; 0,55; 0,95; 3,15; 6,58; 7,00; 9,60; 12,98 g.O₂/g.SSV. Os melhores resultados obtidos com relação à produção volumétrica de biogás foram 263,79 mL de volume acumulado de metano para a CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV, e uma produção máxima acumulada de hidrogênio de 558,06 mL para a CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV. O resultado não se repetiu com relação ao rendimento de produção de biogás, atingindo um máximo rendimento de 80,68 LCH₄/Lvinhaça para a CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV, e 7,98 LH₂/Lvinhaça para a CAE 3,15 g.O₂/g.SSV. A variação da CAE também teve influência direta na rota metabólica da digestão anaeróbia, alterando a concentração de metabólitos dissolvidos.

Palavras-chave: Vinhaça, digestão anaeróbia, metano, hidrogênio.

ABSTRACT

MAMPRIM, O. A. N. **Interference of the Variation of Applied Load Specific (ALS) in Composition of Biogas Produced in Anaerobic Digestion.** 2013. 71 F. Dissertation (Master's Degree) – Department of Hydraulic and Sanitation, School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2013.

In this research, the composition of the biogas produced in anaerobic digestion was evaluated according to the variation of the applied load specific (ALS) measured in terms of the ratio COD/volatile suspended solids. Assays were done using anaerobic digestion of vinasse as a source of carbon and sludge obtained from UASB reactor adapted in 10 bottles for the following of ALSs: 0,20, 0,28, 0,34, 0,55, 0,95; 3,15, 6,58, 7,00, 9,60, 12,98 g.O₂/g.VSS. The best results concerning to the volumetric biogas production were 263,79 ml cumulative volume of methane for ALS equal to 0,34 g.O₂/g.VSS, and a maximum cumulative hydrogen production of 558,06 mL for ALS of 6,58 g.O₂/g.VSS. The same was not observed with respect to yield biogas production, reaching a maximum yield of 80.68 LCH₄/Lvinasse for ALS of 0,20 g.O₂/g.VSS and 7,98 LH₂/Lvinasse for ALS of 3,15 g.O₂/g.VSS. The variation of ALS also has a direct influence on the metabolic pathway of anaerobic digestion, altering the concentration of dissolved metabolites.

Keywords: Vinasse, anaerobic digestion, methane, hydrogen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Processo de conversão anaeróbia da matéria orgânica – ênfase na produção de hidrogênio (adaptada de CHERNICHARO, 1997).	25
Figura 2 Processo de conversão anaeróbia da matéria orgânica – ênfase na metanogênese (adaptada de CHERNICHARO, 1997).	31
Figura 3 Fluxograma experimental.	35
Figura 4 (a) Grânulos isolados em placa (b) Lodo granular <i>in natura</i> . Fonte: (BROWN, 2012; ROCHA, 2012).	38
Figura 5 Varredura em comprimento de onda com amostras de vinhaça <i>in natura</i>	42
Figura 6 Varredura em comprimento de onda com amostras de vinhaça congelada.	43
Figura 7 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,20 g.O ₂ /g.SSV.	49
Figura 8 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,20 g.O ₂ /g.SSV).	50
Figura 9 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,28 g.O ₂ /g.SSV.	51
Figura 10 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,28 g.O ₂ /g.SSV).	52
Figura 11 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,34 g.O ₂ /g.SSV.	53
Figura 12 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,34 g.O ₂ /g.SSV).	54
Figura 13 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,55 g.O ₂ /g.SSV.	55
Figura 14 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,55 g.O ₂ /g.SSV).	56
Figura 15 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,95 g.O ₂ /g.SSV.	57
Figura 16 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,95 g.O ₂ /g.SSV).	58
Figura 17 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 3,15 g.O ₂ /g.SSV.	59

Figura 18 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 3,15 g.O ₂ /g.SSV).....	59
Figura 19 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 6,58 g.O ₂ /g.SSV.....	60
Figura 20 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 6,58 g.O ₂ /g.SSV).....	61
Figura 21 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 7,00 g.O ₂ /g.SSV.....	62
Figura 22 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 7,00 g.O ₂ /g.SSV).....	63
Figura 23 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 9,60 g.O ₂ /g.SSV.....	64
Figura 24 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 9,60 g.O ₂ /g.SSV).....	65
Figura 25 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 12,98 g.O ₂ /g.SSV.....	66
Figura 26 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 12,98 g.O ₂ /g.SSV).....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Vantagens e desvantagens dos vários tipos de produção biológica de hidrogênio.	23
Tabela 2 Reações importantes nos processos anaeróbios (Fonte: Harper e Pohland, 1986).	26
Tabela 3 Caracterização da vinhaça coletada na usina São Martinho, município de Pradópolis - SP.	36
Tabela 4 Características físicas e atividade metanogênica específica do inóculo utilizado no biorreator anaeróbio.....	37
Tabela 5 Valores de pH, DQO, SSV e CAE em cada frasco do ensaio de produção de biogás.....	40
Tabela 6 Produção de biogás em volume acumulado nos frascos com diferentes CAE.	44
Tabela 7 Rendimento de biogás por litro de vinhaça nos frascos com diferentes valores de CAE.	45
Tabela 8 AVG antes do experimento e após o ensaio de produção de gases.	46
Tabela 9 Concentração inicial e final dos principais ácidos envolvidos na digestão anaeróbia.....	47
Tabela 10 Concentração inicial e final de Ác. Lático e Etanol.	48

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Carga aplicada específica	39
Equação 2 - Consumo de hidrogênio para produção de propionato.....	58
Equação 3 - Produção de butirato a partir da glicose	60
Equação 4 - Produção de etanol a partir da glicose	63

LISTA DE SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AI	Alcalinidade Intermediária
AME	Atividade Metanogênica Específica
AP	Alcalinidade Parcial
CAE	Carga Aplicada Específica
CG	Cromatografia Gasosa
COV	Carga Orgânica Volumétrica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
LGD	Lodo Granular Anaeróbio
NTK	Nitrogênio Total Kjealdahl
pH	Potencial Hidrogeniônico
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
S/X	Razão Substrato/Biomassa
TCD	Detector de Condutividade Térmica
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
V _r	Volume Reacional
V _t	Volume Total

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE EQUAÇÕES	xv
LISTA DE SIGLAS	xvi
1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivos específicos	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1 Produção de hidrogênio	22
3.2 Rotas fermentativas.....	26
3.3 Fatores importantes na produção de hidrogênio:	27
3.4 Influência do pH:	27
3.5 Influência da temperatura:	28
3.6 Influência do inóculo:	29
3.7 Influência do substrato:.....	29
3.8 Produção de metano:.....	30
3.9 Fatores importantes na produção de metano:.....	31
3.10 Influência da Escassez de Nutrientes	32
3.11 Influência da Temperatura	32
3.12 Influência da Taxa de Carregamento Orgânico.....	33
3.13 Influência de pH e Alcalinidade.....	34
4 METODOLOGIA	35
4.1 Água residuária	36

4.2	Inóculo	37
4.3	Aparato Experimental	38
4.4	Parâmetros operacionais e de desempenho.....	38
4.5	Procedimento experimental	39
4.5.1	<i>Adaptação do inóculo à fonte de carbono</i>	39
4.5.2	<i>Ensaio de produção de biogás</i>	39
4.6	Métodos analíticos	40
4.6.1	<i>DQO, pH e alcalinidade</i>	40
4.6.2	<i>Ácidos graxos voláteis (AGV)</i>	40
4.6.3	<i>Sólidos totais, fixos e voláteis (SST,SSF e SSV)</i>	41
4.6.4	<i>Concentração de CH₄, H₂ e CO₂ no biogás</i>	41
5	RESULTADOS	42
5.1	Ensaio comparativo entre a vinhaça in natura e congelada	42
5.2	Ensaio de produção de biogás.....	43
6	CONCLUSÕES	68
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1 INTRODUÇÃO

As últimas décadas têm sido marcadas pela convergência de duas áreas de investigação para o tratamento de águas residuais: purificação e reciclagem, e sua reutilização como uma fonte renovável de energia e produtos. Ambos os processos conduzem a um objetivo comum de benefício econômico, através do consumo racional da água e a geração de produtos e de energia a partir de uma fonte limpa e renovável (LEITE *et al.*, 2008).

Atualmente, 90% da energia mundial é gerada a partir de combustíveis fósseis, considerados prejudiciais ao meio ambiente e aos seres humanos (FERNANDES, 2008). Dentro deste cenário o hidrogênio e o metano surgem como fonte alternativa de energia sustentável. Existe outro grande problema envolvendo dependência de combustíveis fósseis como fonte de energia que é o fato de ser um recurso esgotável, o que torna, dentre as opções disponíveis para a produção de biogás, a digestão anaeróbia uma importante ferramenta, pelo fato de poder utilizar resíduos líquidos como matéria-prima.

A digestão anaeróbia é um processo complexo, no qual componentes orgânicos (polímeros) contidos no substrato são hidrolisados em componentes mais simples (monômeros). Estes são metabolizados pelas bactérias fermentativas, sendo convertidos em ácidos voláteis, alcoóis, gás carbônico, hidrogênio, amônio/amônia e sulfeto. Os ácidos voláteis com mais de dois carbonos são convertidos em acetato e gás hidrogênio pelas bactérias acetogênicas. Por último, o acetato e o gás hidrogênio são convertidos em metano pelas arqueias metanogênicas acetoclásticas ou hidrogenotróficas, respectivamente (SPEECE, 1996).

A produção fermentativa de hidrogênio é um processo muito complexo e influenciado por vários fatores como inóculo, substrato, tipo do reator, nitrogênio, fosfato, íons metálicos, temperatura e pH (WANG e WAN, 2009). Também são vários os fatores que influenciam o desempenho da digestão anaeróbia completa de águas residuárias visando produção de metano. Dentre os fatores ambientais se destacam a temperatura, o pH, a alcalinidade e a presença de nutrientes. Outros fatores, como a capacidade de assimilação de cargas tóxicas, transferência de massa, sobrecargas hidráulicas e a atividade metanogênica, também desempenham um papel importante no processo (FORESTI *et al.*, 1999).

Portanto, para que se tenha sucesso na produção de metano é necessário que se aplique as condições favoráveis para que ocorram todas as etapas da digestão anaeróbia, ao passo que, para a produção de hidrogênio, as condições do meio devem favorecer a etapa da acetogênese.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar a influência da carga aplicada específica (CAE) na rota metabólica e consequente composição do biogás produzido em digestão anaeróbia.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a interferência da Carga Aplicada Específica – CAE (Substrato/Microrganismos) na composição do biogás produzido pela digestão anaeróbia da vinhaça.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a capacidade de um inóculo adaptado em condições metanogênicas, de produzir metano e hidrogênio apenas variando a Carga Aplicada Específica;
- Avaliar a interferência da CAE na rota metabólica da digestão anaeróbia de compostos orgânicos;
- Avaliar a vinhaça como fonte de carbono para produção de hidrogênio e metano.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção de hidrogênio

O hidrogênio é produzido principalmente a partir de combustíveis fósseis, biomassa e água. Os métodos a partir dos combustíveis fósseis são: reforma do vapor do gás natural, *cracking* térmico do gás natural, oxidação parcial da nafta e gaseificação do carvão. Os métodos a partir da biomassa são: pirólise e gaseificação. Por último, os métodos a partir da água são: eletrólise, fotólise, processos termoquímicos, decomposição térmica direta (termólise) e produção biológica (DAS e VEZIROGLU, 2001). Será dada maior importância à produção biológica por ser o foco do presente trabalho.

A produção biológica de hidrogênio pode ser dividida em: biofotólise de água usando algas e cianobactérias, fotodecomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas, produção fermentativa de hidrogênio a partir de compostos orgânicos e sistemas híbridos usando bactérias fotossintéticas e fermentativas (ROJAS, 2010). A Tabela 1 mostra os tipos de produção biológica com suas vantagens e desvantagens.

Tabela 1 Vantagens e desvantagens dos vários tipos de produção biológica de hidrogênio.

Processo	Tipo de microrganismo	Vantagens	Desvantagens
Biofotólise direta	Algas verdes	Capaz de produzir H ₂ diretamente a partir da água e luz solar; Maior conversão da energia solar em comparação com árvores, culturas.	Requer alta intensidade de luz; O ₂ pode ser inibidor para o sistema.
Biofotólise indireta	Cianobactérias	Pode produzir H ₂ a partir da água; Tem capacidade de fixar N ₂ da atmosfera.	Baixa eficiência fotoquímica; O ₂ tem um efeito inibidor sobre nitrogenase.
Fotofermentação	Bactéria fotossintética	Um grande espectro de luz (energia) pode ser utilizado por essas bactérias; Pode utilizar diferentes substratos, como efluentes de destilaria, resíduos, etc.	Eficiência de conversão é muito baixa, apenas 1-5%; O ₂ tem um efeito inibidor sobre hidrogenase.
Fermentação (sem luz)	Bactéria fermentativa	Pode produzir H ₂ durante todo o dia sem luz; Uma variedade de fontes de carbono pode ser utilizada como substrato; Produz metabolitos com valor agregado, tais como ácidos butírico, lático e acético.	Relativamente mais baixos rendimentos de H ₂ são alcançados; Produto contém mistura de CO ₂ , que tem que ser separado.

Conclui-se, ao se analisar a Tabela 1 que fermentação sem luz é mais vantajosa para a produção biológica de hidrogênio, quando comparada à foto-fermentação, por ser um processo que não depende da disponibilidade de luz. Além disso, possui outra vantagem considerável de poder utilizar como substrato uma ampla variedade de compostos orgânicos, entre eles, resíduos líquidos.

A digestão anaeróbia pode ser dividida em duas etapas, a fermentativa, conhecida como acidogênica, em que ocorre a produção de hidrogênio, gás carbônico e ácidos graxos voláteis de cadeia curta através da decomposição da matéria orgânica pelos microrganismos acidogênicos, e a metanogênica, em que o hidrogênio será consumido para a produção de metano. A Figura 1 mostra de uma forma geral as etapas da digestão anaeróbia com ênfase na produção de hidrogênio.

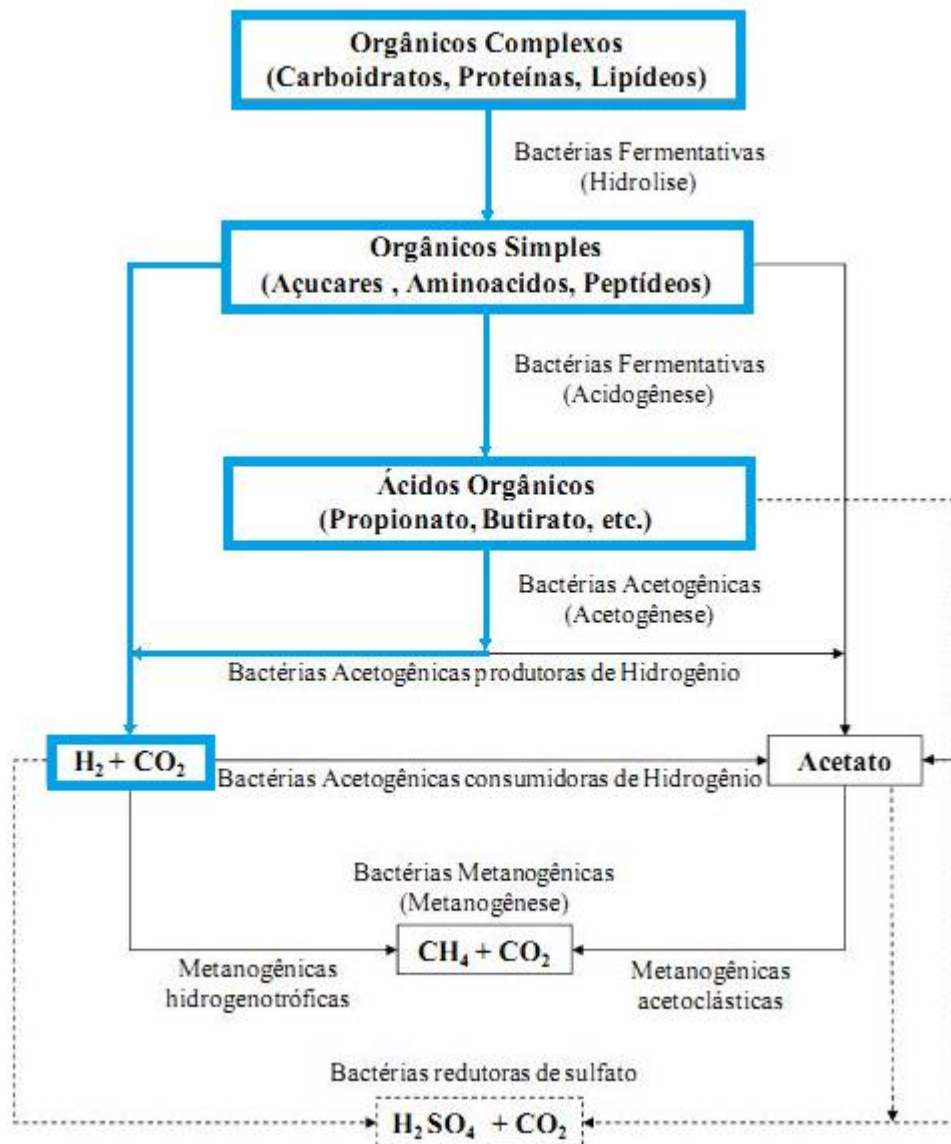


Figura 1 Processo de conversão anaeróbica da matéria orgânica – ênfase na produção de hidrogênio (adaptada de CHERNICHARO, 1997).

Em processos anaeróbios, a acumulação de hidrogênio acontece devido ao desequilíbrio entre as atividades das bactérias produtoras de hidrogênio (acidogênicas) e das *archeas* consumidoras de hidrogênio (metanogênicas). Assim, um processo anaeróbio desequilibrado é desejável quando o objetivo do processo é a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos (LEITE *et al.*, 2008). Por exemplo, Massanet-Nicolau *et al.* (2008) utilizaram consórcio microbiano e lodo de esgoto para a produção de hidrogênio e concluíram que um dos critérios essenciais para a produção é a inativação de microrganismos metanogênicos.

A sustentabilidade do processo de produção biológica de hidrogênio depende muito das características quantitativas e qualitativas do substrato utilizado, porque, embora a maioria das pesquisas seja realizadas com substrato puros (glicose, sacarose, amido e celulose), a produção em escala real requer a utilização de substratos mais complexos e de baixo custo (BARTACEK *et al.* 2007).

3.2 Rotas fermentativas

As reações apresentadas na Tabela 2 mostram claramente que, em sua maioria, as reações bioquímicas acetogênicas são termodinamicamente desfavoráveis ($\Delta G_o > 0$) nas condições padrão. Isto é, caso as espécies químicas indicadas à direita estejam presentes nas concentrações indicadas pela reação, ela se dá no sentido de formar as espécies químicas à esquerda.

Tabela 2 Reações importantes nos processos anaeróbios.

Oxidações (Reações doadoras de elétrons)	ΔG_o (kJ)
Propionato \rightarrow Acetato $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2$	+ 76,1
Butirato \rightarrow Acetato $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+ 48,1
Etanol \rightarrow Acetato $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+ 9,6
Lactato \rightarrow Acetato $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 2\text{H}_2$	- 4,2
Acetato \rightarrow Metano $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{CH}_4$	- 31,0
Reduções (Reações receptoras de elétrons)	
$\text{HCO}_3^- \rightarrow$ Acetato $2\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	- 104,6
$\text{HCO}_3^- \rightarrow$ Metano $\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	- 135,6
Sulfato \rightarrow Sulfeto $\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	- 151,9
$\text{SO}_4^{2-} + \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{S}$	- 59,9
Nitrato \rightarrow Amônia $\text{NO}_3^- + 4\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	- 599,6
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{NO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{NH}_4^+$	- 559,6
Nitrato \rightarrow Nitrogênio $2\text{NO}_3^- + 5\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	- 511,4

Fonte: Harper e Pohland, 1986.

Como a metanogênese depende da disponibilidade de acetato, é importante que o equilíbrio das reações acetogênicas seja deslocado para a direita, o que é conseguido pela remoção de contínua de H₂, através das reações receptoras de elétrons. Nota-se que, para produção de propionato é necessário o consumo de H₂ (desfavorece a produção de hidrogênio), ao passo que na produção de butirato ocorre a formação de H₂ (favorece a produção de hidrogênio).

3.3 Fatores importantes na produção de hidrogênio:

A produção fermentativa de hidrogênio é um processo muito complexo e influenciado por vários fatores como inóculo, substrato, tipo do reator, nitrogênio, fosfato, íons metálicos, temperatura e pH (WANG e WAN, 2009). Serão descritos apenas os fatores considerados de maior importância para o presente trabalho.

3.4 Influência do pH:

O pH é um parâmetro fundamental que pode influenciar na produção biológica de hidrogênio, podendo aumentar a capacidade das bactérias produtoras ou até mesmo inibir a atividade da hidrogenase e de outras enzimas envolvidas no processo quando o pH estiver abaixo de 4,5 (LAY *et al.*, 1999).

Não existe consenso entre pesquisadores que determine um valor ótimo de pH, no entanto estudos apontam que uma faixa de pH entre 4,0 e 7,0 é mais apropriada para a produção de hidrogênio. Lee *et al.* (1999) estudaram a influência do pH inicial do meio de cultura na produção de hidrogênio usando solução de sacarose e um consórcio microbiano de farelo de soja. Nos valores de pH de 3,0, 10,0 e 11,0 não foi observada produção de hidrogênio, porém, para os valores de 5,0 e 5,5 foi observada baixa produção. Não foi detectado metano para os valores iniciais de pH entre 6,0 e 10,0.

Avaliando o efeito do tempo de detenção hidráulica (TDH) na produção fermentativa de hidrogênio usando sacarose com alta concentração de sulfato como substrato, Chen *et al.*

(2008) comparando o crescimento biológico consideraram o valor de pH 5,5 como ótimo para produção fermentativa de hidrogênio usando substrato rico em sulfato.

Reforça-se a importância de avaliar o efeito do pH, uma vez que diversos estudos sobre a produção fermentativa de hidrogênio foram realizados em modo batelada com controle do pH, enquanto poucos estudos foram conduzidos em modo contínuo para avaliar o efeito do pH (AMORIM, 2009).

3.5 Influência da temperatura:

A temperatura é um parâmetro determinante na produção de hidrogênio, pois pode afetar a atividade das bactérias produtoras de hidrogênio influenciando a atividade de algumas enzimas essenciais, tais como a hidrogenase para a produção fermentativa de hidrogênio (WANG e WAN, 2008).

Wang *et al.* (2005) estudaram a influência do pH, temperatura e da concentração do substrato na produção de ácidos graxos voláteis (AGV) e hidrogênio, usando sacarose como água residuária e lodo anaeróbio proveniente de reator UASB como inóculo. Para uma variação de temperatura entre 25 e 45°C, obteve-se melhor desempenho para produção de H₂ um valor de temperatura de 35,1°C.

Mu *et al.* (2006) analisando a produção fermentativa de hidrogênio em várias temperaturas mesofílicas, utilizando glicose como fonte de carbono e lodo anaeróbio como inóculo, observaram um aumento na produção de hidrogênio de 0,97±0,04 até 1,67±0,04 mol.H₂/mol.glicose variando a temperatura entre 33 e 41°C, sendo o maior valor de produção atingido à temperatura de 41°C.

Utilizando lodo coletado em tanque de decantação secundária de estação de tratamento de esgoto doméstico como inóculo, e xilose como substrato, Lin *et al.* (2008) estudaram o efeito da temperatura na produção fermentativa de hidrogênio variando a temperatura entre 30 e 55°C. Chegaram a um valor máximo de produção de 1,4 mol.H₂/mol.xilose para uma temperatura ótima de 50°C.

É possível que essa diferença entre as temperaturas ótimas obtidas em cada estudo seja causa das diferentes condições operacionais a que cada estudo foi submetido, dentre elas, o pH, inóculo, substrato e o tipo de reator.

3.6 Influência do inóculo:

Na maioria dos estudos, os lodos de digestão anaeróbia, compostagem aeróbia, e solos naturais são usados como inóculo na produção de hidrogênio. Em alguns casos o inóculo é condicionado por meio de aquecimento ou tratamento do pH para aumentar a produção de hidrogênio (CHEONG e HANSEN, 2006; ZHU e BELAND, 2006; HU e CHEN, 2007; MOHAN *et al.*, 2008), uma vez que, bactérias produtoras de hidrogênio são geralmente tolerantes a condições ambientais extremas (KAWAGOSHI *et al.*, 2005).

Culturas puras também podem ser empregadas na produção de hidrogênio (YOKOI *et al.*, 1995; EVVYERNIE *et al.*, 2001; LEVIN *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2006), no entanto, culturas mistas são mais utilizadas do que culturas puras por razões práticas. As culturas mistas teriam um custo menor de operação, mais fáceis de controlar e podem ter maior disponibilidade de matéria prima (VALDEZ-VAZQUEZ *et al.*, 2005).

3.7 Influência do substrato:

Grande parte dos estudos desenvolvidos para a produção fermentativa de hidrogênio utilizam substratos sintéticos, tendo como fonte de carbono a sacarose, glicose ou amido, suplementados com macro e micronutrientes.

Lin *et al.* (2008) testaram sistema de alimentação contínua e por batelada para avaliar a produção fermentativa de hidrogênio utilizando amido como substrato e lodo de estação de tratamento de indústria de papel e celulose como inóculo. O pico de produção de hidrogênio (2,2 mol.H₂/mol.hexose) foi atingindo com uma concentração de amido no valor de 20 g.DQO/L.

A produção fermentativa de hidrogênio sustentável depende de um substrato com elevado conteúdo de carboidratos, que demande o mínimo de pré-tratamento, fontes renováveis e de baixo custo (BARTACEK *et al.*, 2007). É neste cenário que entram as pesquisas de produção de H₂ que utilizam efluentes reais ao invés de sintético como substrato.

Visando avaliar diferentes concentrações de vinhaça em condições mesófilas (37°C) e termófilas (55°C) na produção de hidrogênio, Lazaro (2012) após um pré-tratamento do inóculo, adaptando o lodo à fonte de carbono (vinhaça) e à temperatura utilizando reator tipo UASB, iniciou os ensaios em batelada para produção de biogás. Obteve um maior potencial de produção de H₂ de 28,4 mmol.H₂ em condições mesófilas.

O substrato mais testado tem sido a glicose, seguido da sacarose, o que favorece o entendimento do processo, por serem substratos facilmente degradáveis. Por outro lado, os efluentes reais, apesar de serem menos testados, mostram uma realidade promissora de produção de hidrogênio a partir de qualquer água residuária, desde que contenha fonte de carbono e hidrogênio e sejam submetidos a sistemas favoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos produtores de H₂ (FERNANDES, 2008).

3.8 Produção de metano:

É a última etapa da degradação anaeróbia, onde produtos como o H₂, CO₂ e acetato, são transformados pelas *archeas* metanogênicas em CH₄ e CO₂. O metano é produzido pelas bactérias acetotróficas, a partir da redução de ácido acético, ou pelas bactérias hidrogenotróficas, a partir da redução de dióxido de carbono (FORESTI *et al.*, 1999). A Figura 2 mostra de uma forma geral as etapas da digestão anaeróbia com ênfase na metanogênese.

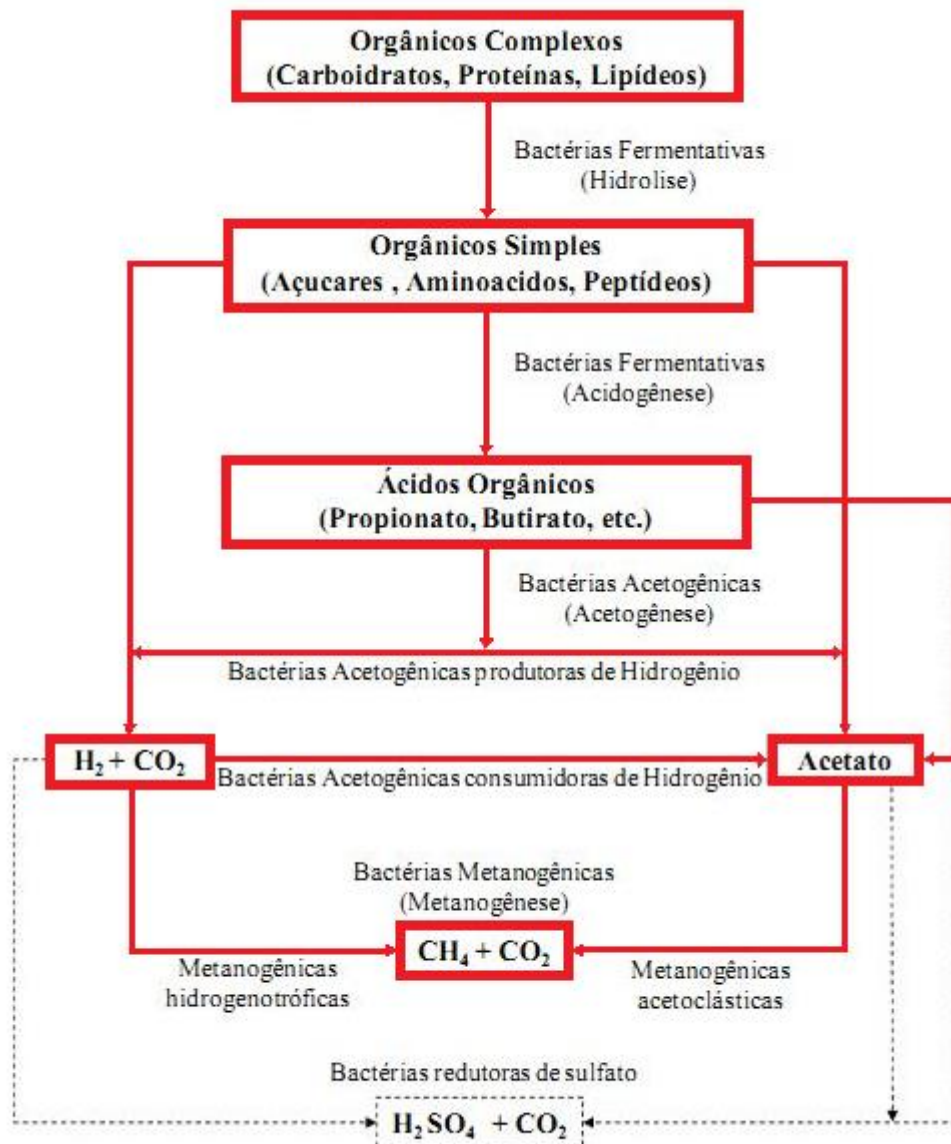


Figura 2 Processo de conversão anaeróbica da matéria orgânica – ênfase na metanogênese (adaptada de CHERNICHARO, 1997).

3.9 Fatores importantes na produção de metano:

Vários são os fatores que influenciam o desempenho da digestão anaeróbica de águas residuárias. Dentre os fatores ambientais se destacam a temperatura, o pH, a alcalinidade e a presença de nutrientes. Outros fatores, como a capacidade de assimilação de cargas tóxicas, transferência de massa, sobrecargas hidráulicas e a atividade metanogênica, também desempenham um papel importante no processo (FORESTI *et al.*, 1999). No entanto, apenas serão descritos os fatores considerados influentes na produção de metano.

3.10 Influência da Escassez de Nutrientes

Sabe-se que microrganismo no processo de digestão anaeróbia requer nutrientes e elementos traços tais como nitrogênio, fósforo, sulfato, potássio, cálcio, magnésio, ferro, níquel, cobalto, zinco, manganês e cobre para o crescimento ótimo. Embora esses elementos sejam necessários em concentrações extremamente baixas, a falta desses nutrientes tem efeito adverso no crescimento e desempenho microbiano (SIQUEIRA, 2008).

A quantidade destes elementos químicos, no interior do sistema deve ser cuidadosamente calculada para que não ocorra inibição por falta ou excesso de nutrientes, já que níveis elevados desses elementos podem levar o sistema ao colapso (SINGH, *et al.*, 1999).

As *archeas* formadoras de metano apresentam altas concentrações internas de ferro, níquel e cobalto. Estes elementos podem não estar presentes em concentrações suficientes nas águas residuárias, impedindo ou limitando o estabelecimento do processo de degradação (BROWN, 2012).

Viana (2006) estudou o comportamento do reator UASB no tratamento anaeróbio da vinhaça operando em condição termofílica (55° C) com aumento gradual da carga orgânica. Na tentativa de melhoria das condições ideais para a população metanogênica foram adicionados substratos sintéticos (ácidos orgânicos voláteis e etanol diluído). Houve inibição do processo de degradação anaeróbia por conta da adição de ácidos orgânicos voláteis, ao passo que a adição de etanol diluído proporcionou resultados positivos para a recuperação do sistema.

3.11 Influência da Temperatura

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes na digestão anaeróbia, uma vez que afeta os processos biológicos de diferentes maneiras. Dentre os principais efeitos da temperatura incluem-se as alterações na velocidade do metabolismo das bactérias, no equilíbrio iônico e na solubilidade dos substratos, principalmente de lipídios (FORESTI *et al.*, 1999).

Na digestão anaeróbia a conversão da matéria orgânica tem sua maior eficiência na temperatura entre 35-40°C em condições mesofílicas e 55°C em condições termofílicas (VAN HEENDEL e LETTINGA, 1994).

O efeito da temperatura na etapa inicial do processo de digestão (hidrólise e acidogênese) não é muito significativo, pois entre a população mista existem sempre algumas bactérias que têm sua temperatura ótima dentro da faixa em questão. A segunda e terceira fase

da decomposição pode ser feita por certos microrganismos especializados (*archeas* metanogênicas e bactérias acetogênicas, respectivamente) e, portanto, esses são muito mais sensíveis às mudanças de temperatura. No entanto, uma característica importante das bactérias anaeróbias é que a sua taxa de crescimento é muito baixa em temperaturas abaixo de 15°C. Assim, é possível preservar o lodo anaeróbio por longos períodos sem perder muito sua atividade. Isto é especialmente útil no tratamento anaeróbio de efluentes de indústrias sazonais, como usinas de açúcar (RAJESHWARI *et al.*, 2000).

3.12 Influência da Taxa de Carregamento Orgânico

No tratamento anaeróbio de águas residuárias, a taxa de carregamento orgânico desempenha um papel importante. No caso de reatores de biomassa suspensa, a sobrecarga resulta em perda de biomassa por arraste com possibilidade de falência do processo. A utilização de biomassa imobilizada ou auto-imobilizada, além de proteger os microrganismos de eventuais compostos tóxicos, possibilita a aplicação de cargas orgânicas mais elevadas, minimizando a perda de biomassa (RAJESHWARI, *et al.*, 2000).

Uma das principais vantagens em se trabalhar com reator tipo UASB está na capacidade em operar com alta taxa de carga orgânica aumentando a produção de metano. Siqueira (2008) conseguiu 70% de eficiência de remoção de DQO no tratamento da vinhaça aplicando uma taxa de carga orgânica (TCO) de 19,87 kgDQO/m³.d, ao passo que a eficiência chegou a 51% quando aumentada a TCO para um valor de 26,19 kgDQO/m³.d, chegando a uma produção máxima de biogás de 5,37 m³/m³.d para TCO aplicada de 25,32 kgDQO/m³.d em reator anaeróbio de leito fluidizado.

Outros pesquisadores também concluíram que o aumento na taxa de carga orgânica a partir de um determinado valor (valor limite de carregamento) está relacionado com o decréscimo nos valores de eficiência da remoção de DQO. Dentre eles podem ser citados Souza *et al.* (1992), Harada *et al.* (1996) e Viana (2006) que utilizaram reator UASB em condições termofílicas, Seth *et al.* (1995) que realizou a digestão anaeróbia da vinhaça com reator de leito fixo, e Brown (2012) que utilizando reator UASB com biomassa auto-imobilizada, conseguiu 90% de remoção de DQO operando com carga de 1 kgDQO/m³.d, decrescendo até um valor de 35% de remoção com cargas entre 3 e 4 kgDQO/m³.d.

3.13 Influência de pH e Alcalinidade

A digestão de substratos complexos resulta na produção de ácidos orgânicos intermediários, requerendo que a alcalinidade no sistema seja suficiente para manter o pH dentro da faixa ótima, situada entre os valores 6,6 e 7,4 (FORESTI, 1994), uma vez que os ácidos não são consumidos pelas *archeas* metanogênicas, na mesma taxa em que são produzidos (VIANA, 2011).

O acúmulo de ácidos orgânicos voláteis (AVG) é prejudicial aos microrganismos metanogênicos pelo fato de impor condições de baixo pH. Torna-se então necessário o controle do pH, que pode ser feito pela adição de alcalinidade através de compostos como o bicarbonato de sódio (NaHCO_3). Esse controle de pH de acordo com Foresti (1994) tem como finalidade manter uma relação AI/AP próximo a faixa ideal, onde AI é a alcalinidade intermediária, relativa a ácidos voláteis em sua forma ionizada, e AP é a alcalinidade parcial, relativa principalmente à bicarbonatos.

Uma das primeiras opções para resolver o problema é reduzir a taxa de carga orgânica volumétrica (COV) para que os AGV acumulados possam ser consumidos mais rapidamente do que são produzidos. Uma vez que o excesso de AGV está esgotado, o pH do reator retornará ao funcionamento normal e as *archea* metanogênicas começam a se “regenerar” (KUMAR, 2000 *apud* BROWN, 2012).

4 METODOLOGIA

Foram descritos neste capítulo as condições de trabalho estabelecidas para atingir os objetivos propostos. A primeira etapa do projeto consistiu na produção do inóculo adaptado para vinhaça. Para tal, foi utilizado um reator UASB cuja configuração e técnicas de operação foram descritas no item 4.3. Mostram-se também, as técnicas e equipamentos utilizados para a realização dos ensaios em batelada, além da metodologia empregada para cada ensaio dos parâmetros operacionais e analíticos. A Figura apresenta o fluxograma experimental da pesquisa.

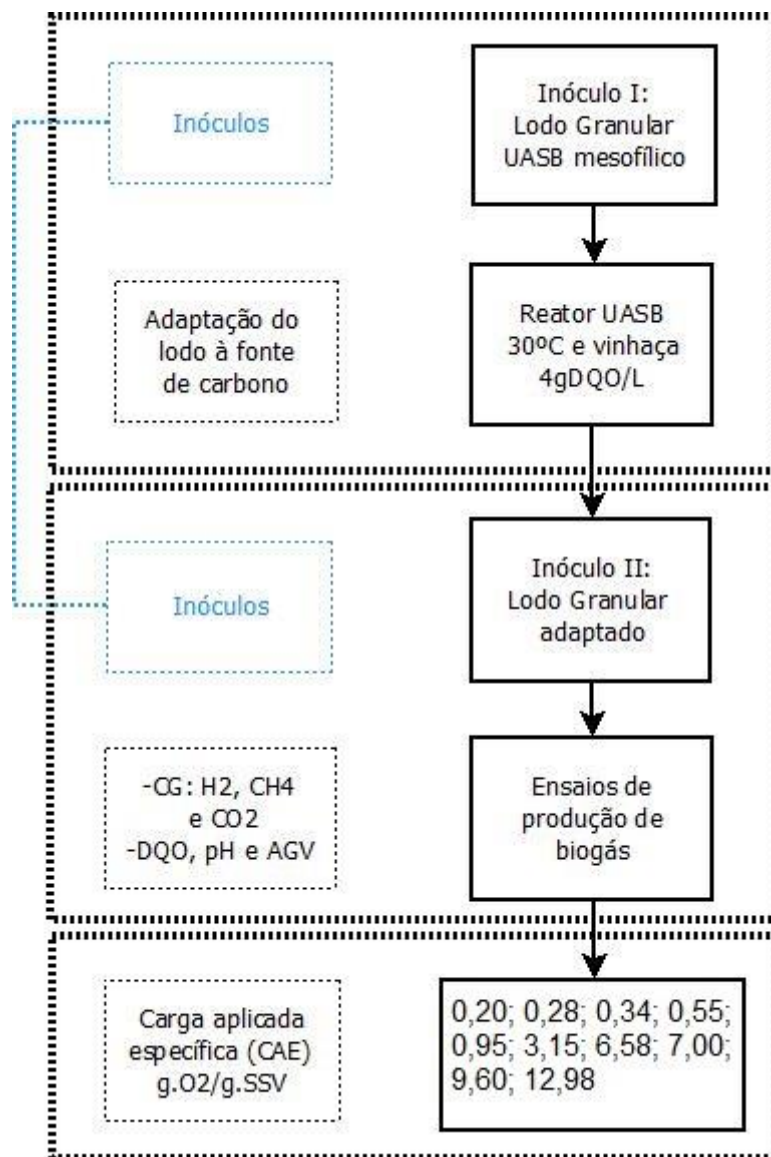


Figura 3 Fluxograma experimental.

4.1 Água residuária

A vinhaça, cedida pela usina São Martinho, localizada no Município de Pradópolis/SP, foi utilizada como água residuária durante os ensaios experimentais. Após cada coleta, a vinhaça foi armazenada congelada para sua conservação. Foram realizados ensaios de varredura em comprimento de onda em amostras de vinhaça *in natura* e após o congelamento comprovando que a conservação em baixas temperaturas não altera as características da vinhaça como substrato. A Tabela 3 mostra a caracterização feita por Rocha (2012) da vinhaça utilizada como água residuária.

Tabela 3 Caracterização da vinhaça coletada na usina São Martinho, município de Pradópolis - SP.

Parâmetros	Unidade	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
pH	-	4,6	4,6	4,6
Turbidez	NTU	2800	6440	6850
DQO	g/L O ₂	29,7	38,1	40,7
NTK	mg N .L ⁻¹	188,7	758	853
N. Amoniacal	mg N-NH ₃ .L ⁻¹	12,8	48	55
Fósforo	mg PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹	243	212,5	147
Sulfato	mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹	1.145	1.200	1.865
Metais				
Sódio	mg Na .L ⁻¹	920	970	1.079,5
Potássio	mg K .L ⁻¹	4.675	5.525	4.675
Lítio	mg Li .L ⁻¹	0,003	0,001	0,002
Cálcio	mg Ca .L ⁻¹	1.153	1.675	1.144
Magnésio	mg Mg .L ⁻¹	293	336	312
Zinco	mg Zn .L ⁻¹	0,338	0,141	0,29
Chumbo	mg Pb .L ⁻¹	0,44	0,42	0,15
Cromo total	mg Cr .L ⁻¹	0,108	0,035	0,112
Cádmio	mg Cd .L ⁻¹	0,135	0,097	0,052
Níquel	mg Ni .L ⁻¹	0,305	0,232	0,121
Manganês	mg Mn .L ⁻¹	4,17	3,47	5,45
Ferro total	mg Fe .L ⁻¹	14,66	12,61	18,17
Cobre	mg Cu .L ⁻¹	0,489	0,547	0,59
Sólidos				

STD	g/L	26,8	29,2	31,7
ST	g/L	32,0	37,1	39,5
SVT	g/L	18,8	24,4	25,3
STF	g/L	13,2	12,7	14,2
SST	g/L	5,2	7,9	7,8
SSV	g/L	3,6	6,7	6,5
SSF	g/L	1,6	1,2	1,3

Fonte: Rocha, 2012.

4.2 Inóculo

Na fase de produção e adaptação foi utilizado como inóculo o lodo granular (LGD) proveniente de reator UASB, tratando água residuária de abatedouro de aves (avícola DACAR-Tietê/SP). Após a fase de adaptação o inóculo apresentou as características físicas descritas na Tabela 4.

Tabela 4 Características físicas e atividade metanogênica específica (AME) do inóculo adaptado em biorreator anaeróbio.

Sólidos Totais (gSST.L ⁻¹)	Sólidos Fixos (gSSF.L ⁻¹)	Sólidos Voláteis (gSSV.L ⁻¹)	AME (mL CH ₄ /gSSV.d)*
27,0	5,5	21,5	134,6

*Dado retirado do trabalho de Brown (2012) que utilizou o mesmo lodo como inóculo em sua pesquisa.

De acordo com Rocha (2012), o lodo granular utilizado como inóculo apresentou boa resistência ao cisalhamento quando submetido ao teste de resistência mecânica dos grânulos, e Brown (2012) concluiu que a adaptação do lodo a um novo efluente à base de carboidrato foi bem sucedida. A Figura 4 mostra o lodo utilizado como inóculo.



Figura 4 (a) Grânulos isolados em placa (b) Lodo granular *in natura*. Fonte: (BROWN, 2012; ROCHA, 2012).

4.3 Aparato Experimental

Utilizou-se para a produção de inóculo adaptado um reator anaeróbio em escala de laboratório, configurado por Brown (2012), baseado no esquema empregado pelos reatores do tipo UASB, com uma capacidade operacional total de 15,7 litros. O reator possui aproximadamente 10 cm de diâmetro e altura total de 200 cm. A metade inferior ficou dedicada à câmara de reação com uma capacidade de 8 L e possui um ponto de amostragem do efluente (EFd). A porção superior foi utilizada como separador (sedimentador e separação do biogás) com 7,7 L de volume e um ponto de amostragem do efluente (EFs). Na parte superior encontra-se a saída do gás.

Para os ensaios em batelada, utilizando o inóculo já adaptado no reator UASB, foram utilizados frascos reagentes graduados com capacidade nominal para 500 mL.

4.4 Parâmetros operacionais e de desempenho

Foi estabelecido como parâmetro operacional para o ensaio em batelada, a carga aplicada específica (CAE), que compete a relação entre substrato e biomassa. Neste trabalho, os SSV é uma grandeza relacionada com a concentração de biomassa total e a DQO relacionada à concentração de substrato. Portanto, a CAE está expressa em $\text{g.O}_2/\text{g.SSV}$ de acordo com a Equação 1.

$$CAE = \frac{DQO}{SSV}$$

Equação 1

Onde:

CAE: Carga aplicada específica (g.O₂. L⁻¹/g.SSV. L⁻¹)

DQO: DQO afluyente (g.O₂.L⁻¹)

SSV: SSV do inóculo adaptado (g.SSV.L⁻¹)

4.5 Procedimento experimental

4.5.1 Adaptação do inóculo à fonte de carbono

A operação do reator para produção do inóculo adaptado foi realizada com recirculação de 1:3, mantendo-se: Temperatura = 30°C (controlada automaticamente por duas fitas térmicas FISATOM), vazão de alimentação de 6,6 L/d e de recirculação 20 L/d. Para a alimentação e recirculação foram utilizadas dois tipos de bombas. Uma da marca Grundfos do tipo SMART digital Dosing Pump modelo DDC com capacidade de vazão entre 6 mL/h e 6 L/h (alimentação) e outra Grundfos SMART digital Dosing Pump modelo DDA com capacidade de vazão entre 30 mL/h e 30L/h (recirculação). O reator foi alimentado com uma carga orgânica volumétrica (COV) do afluyente de 4 kgDQO/m³.d. Para o tamponamento do sistema foi adicionado bicarbonato de sódio no afluyente na proporção de 1,5 gNaHCO₃/COV.

4.5.2 Ensaios de produção de biogás

A calibração dos frascos reagentes apontou um volume total (V_t) de 600 mL. Foi determinado um volume reacional (V_r) de 200 mL, referente à soma do volume do inóculo com o volume do substrato, e 400 mL de *headspace* destinado ao volume de gás produzido. Foi utilizada uma incubadora com plataforma de agitação orbital da marca Nova Ética, modelo 430/D, para o controle da temperatura, mantida à 30°C e agitação mecânica garantindo uma rotação de 180 rpm. Para cada frasco foi determinada uma carga aplicada específica (CAE) com as seguintes variações: 0,20; 0,28; 0,34; 0,55; 0,95; 3,15; 6,58; 7,00; 9,60; 12,98 g.O₂/g.SSV. A tabela 4 mostra os valores de CAE, DQO, SSV e pH em cada frasco. Com o intuito de manter a atmosfera dentro dos frascos livre de oxigênio, antes do início dos ensaios foi fluxionado gás nitrogênio (N₂) no *headspace* de cada frasco durante 10 minutos. Foram realizadas coletas periódicas de gases nos frascos até que houvesse um decaimento na produção (medida em

pressão – mBar) que ocorre normalmente após um período de estabilização (fase lag), ao final da última coleta o ensaio foi dado por encerrado. O método empregado nas coletas está descrito no item 4.6.4 dos métodos analíticos.

A Tabela 5 mostra os valores dos parâmetros analíticos e operacionais empregados nos ensaios de cada frasco.

Tabela 5 Valores de pH, DQO, SSV e CAE em cada frasco do ensaio de produção de biogás.

Frasco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CAE (g.O ₂ /g.SSV)	0,20	0,28	0,34	0,55	0,95	3,15	6,58	7,00	9,60	12,98
DQO (g.O ₂ .L ⁻¹)	0,81	1,12	1,38	1,10	1,89	6,31	13,17	14,00	19,20	25,96
SSV (g.SSV.L ⁻¹)	4,00	4,00	4,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
pH	6,92	6,71	6,47	6,81	7,25	7,06	6,55	6,69	6,52	6,55

4.6 Métodos analíticos

4.6.1 DQO, pH e alcalinidade

As amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro com 45 µm de abertura e foram analisadas: demanda química de oxigênio solúvel (DQOs) e pH do afluente e efluente, de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Foi utilizado o método potenciométrico para determinar a alcalinidade.

4.6.2 Ácidos graxos voláteis (AGV)

A quantificação dos ácidos graxos voláteis foi realizada por cromatografia gasosa, em cromatógrafo Shimadzu GC201, equipado com detector de ionização de chama e coluna INOWAX, de 30 m * 25 mm * 0,25 µm conforme método proposto por Moraes *et al.*, (2000).

4.6.3 Sólidos totais, fixos e voláteis (SST,SSF e SSV)

A concentração de sólidos totais, fixos e voláteis do inóculo, tanto no lodo do reator quanto no efluente, foi medida segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

4.6.4 Concentração de CH₄, H₂ e CO₂ no biogás

A proporção de metano, hidrogênio e dióxido de carbono no biogás foi avaliada por meio da retirada de amostra (500 µL) do headspace do frasco usando Seringa – gas tight, Hamilton, com trava, de 1,0 mL. A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso GC-2010 SHIMADZU, equipado com detector de condutividade térmica (TCD), com coluna Carboxen 1010 PLOT, 30 m x 0,53 mm, sendo o gás de arraste o argônio. As temperaturas do injetor e do detector foram 220°C e 230°C, e na coluna a temperatura será 130°C com aquecimento de 46°C/min até 135°C.

5 RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os resultados e discussões sobre os parâmetros analisados para a avaliação do comportamento da digestão anaeróbia de compostos orgânicos quando aplicadas diferentes cargas específicas.

5.1 Ensaio comparativo entre a vinhaça *in natura* e congelada

Os ensaios de varredura em comprimento de onda realizados por espectrofotômetro para a vinhaça *in natura* e congelada representados nas Figuras 5 e 6, indicam que a composição da vinhaça permaneceu inalterada nas duas amostras, uma vez que não há diferença qualitativa entre as curvas.

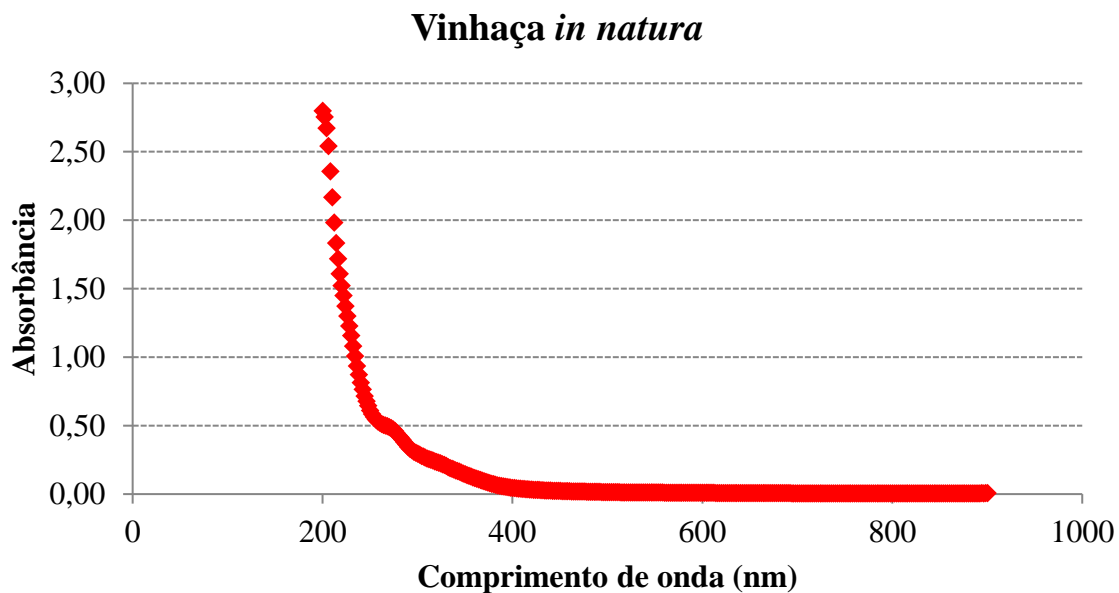


Figura 5 Varredura em comprimento de onda com amostras de vinhaça *in natura*.

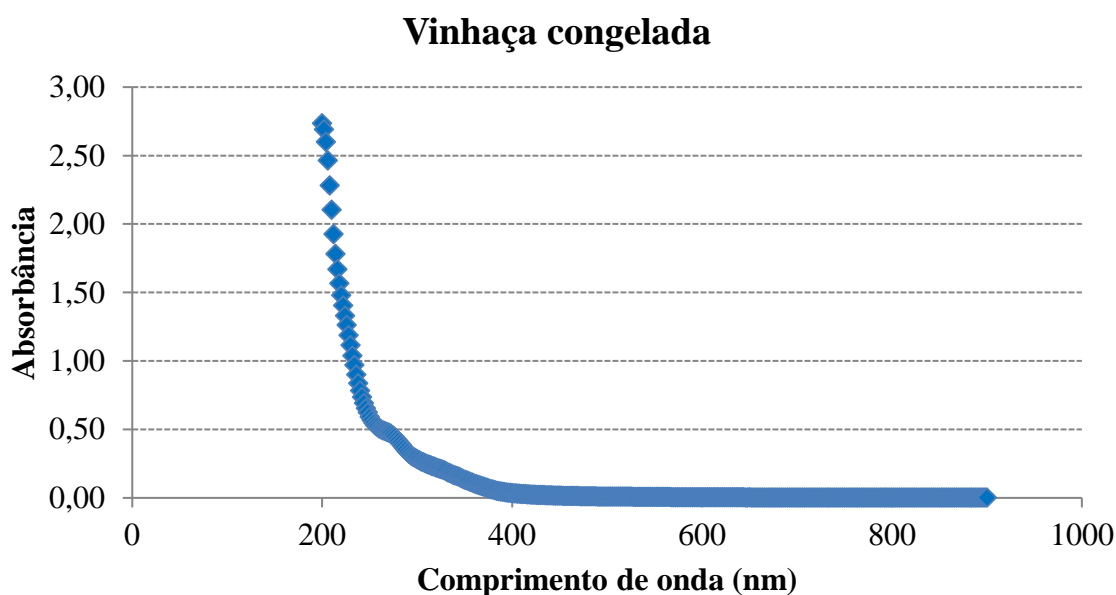


Figura 6 Varredura em comprimento de onda com amostras de vinhaça congelada.

Foi observado um decréscimo nos valores de absorvância da vinhaça congelada com relação à vinhaça *in natura* para cada valor de comprimento de onda, apontando uma perda quantitativa dos componentes da vinhaça. Entretanto, o valor da queda de absorvância não compromete a qualidade da vinhaça como água residuária do experimento, uma vez que a composição química permanece inalterada e o decréscimo da concentração é insignificante.

5.2 Ensaio de produção de biogás

Os resultados obtidos nos ensaios de produção de biogás estão expressos na Tabela 6. Pode-se perceber que a variação da carga aplicada específica influenciou diretamente na composição do biogás produzido nos ensaios, proporcionando uma produção máxima acumulada de metano de 263,79 mL para uma CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV, e uma produção máxima acumulada de hidrogênio de 558,06 mL para uma CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV.

Tabela 6 Produção de biogás em volume acumulado nos frascos com diferentes CAE.

Frasco	CAE (g.O ₂ /g.SSV)	Metano acumulado (mL)	Hidrogênio acumulado (mL)	Biogás predominante
1	0,20	153,29	0,00	Metano
2	0,28	133,95	0,00	Metano
3	0,34	263,79	0,00	Metano
4	0,55	0,00	0,00	-
5	0,95	0,00	31,48	Hidrogênio
6	3,15	0,00	300,17	Hidrogênio
7	6,58	0,00	558,06	Hidrogênio
8	7,00	22,23	349,89	Hidrogênio
9	9,60	1,76	301,52	Hidrogênio
10	12,98	0,26	339,37	Hidrogênio

A Tabela7 apresenta a variação no rendimento de biogás produzido por litro de vinhaça. O rendimento é o primeiro parâmetro para a avaliação do desempenho de reatores levando-se em consideração a produção de biogás. Desse modo, nota-se que a carga aplicada específica de 0,20 g.O₂/g.SSV seria a mais eficiente para a produção de metano, obtendo um rendimento de 80,68 LCH₄/Lvinhaça, ao passo que, para a produção de hidrogênio a CAE de 3,15 g.O₂/g.SSV seria a mais eficiente com um rendimento de 7,98 LH₂/Lvinhaça. É importante ressaltar que o decaimento microbiológico do inóculo adaptado não foi contabilizado no ensaio, fato que contribuiu para o alto rendimento de metano no frasco com menor CAE. Considerando que para a obtenção de 0,20 g.O₂/g.SSV foi necessário 1,9 mL de vinhaça, entende-se que esse valor como divisor no cálculo fez com que o rendimento fosse elevado, uma vez que o biogás produzido não se deu apenas pela conversão anaeróbica da matéria orgânica presente no substrato, mas de todo composto orgânico presente no sistema, incluindo o inóculo que não foi considerado no ensaio.

Tabela 7 Rendimento de biogás por litro de vinhaça nos frascos com diferentes valores de CAE.

Frasco	CAE (g.O ₂ /g.SSV)	Biogás acumulado (mL)	Biogás predominante	Rendimento (L ^{Biogás} /L ^{vinhaça})
1	0,20	153,29	Metano	80,68
2	0,28	133,95	Metano	35,63
3	0,34	263,79	Metano	46,77
4	0,55	0,00	-	0,00
5	0,95	31,48	Hidrogênio	4,15
6	3,15	300,17	Hidrogênio	7,98
7	6,58	558,06	Hidrogênio	7,42
8	7,00	349,89	Hidrogênio	3,10
9	9,60	301,52	Hidrogênio	2,00
10	12,98	339,37	Hidrogênio	2,13

As Tabela8 e 9 mostram os valores referentes às análises de AGV totais e dos principais ácidos envolvidos na digestão anaeróbia de compostos orgânicos, respectivamente, realizados para cada frasco, tanto no início quanto no final dos ensaios. A variação da CAE também indicou uma influência direta na rota metabólica dos microrganismos presentes no inóculo. Com exceção do ensaio com CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV, em todos os ensaios que tiveram o metano como biogás predominante na composição, ocorreu um decréscimo na concentração de AVG. Nos ensaios com maior concentração de CAE e conseqüente produção de hidrogênio, notou-se um aumento na concentração de AVG.

Tabela 8 AVG antes do experimento e após o ensaio de produção de gases.

Frasco	CAE (g.O ₂ /g.SSV)	AGV Totais Entrada (mg.L ⁻¹)	AGV Totais Saída (mg.L ⁻¹)	Biogás predominante
1	0,20	1533.124	1600.899	Metano
2	0,28	803.297	502.215	Metano
3	0,34	1239.249	345.009	Metano
4	0,55	1402.956	1095.477	-
5	0,95	1845.636	1878.525	Hidrogênio
6	3,15	8221.779	6732.803	Hidrogênio
7	6,58	16037.520	16769.741	Hidrogênio
8	7,00	13830.672	6542.312	Hidrogênio
9	9,60	18140.749	10845.483	Hidrogênio
10	12,98	24531.461	16818.932	Hidrogênio

A interdependência entre as etapas envolvidas na digestão anaeróbia torna importante o conhecimento da concentração dos principais metabólitos envolvidos na conversão de matéria orgânica dentro do sistema. A eficiência na produção de biogás depende diretamente da relação entre esses metabólitos, em que a presença ou ausência de determinados compostos interferem no produto final da digestão. Dessa maneira, podem-se determinar quais rotas metabólicas serão favorecidas com as condições específicas de cada sistema.

Tabela 9 Concentração inicial e final dos principais ácidos envolvidos na digestão anaeróbia.

CAE (g.O ₂ /g.SSV)	Acetato Entrada (mg/L)	Acetato Saída (mg/L)	Butirato Entrada (mg/L)	Butirato Saída (mg/L)	Propionato Entrada (mg/L)	Propionato Saída (mg/L)	Valerato Entrada (mg/L)	Valerato Saída (mg/L)
0,20	36.361	318.705	402.850	952.895	72.208	0.000	0.000	0.000
0,28	85.516	174.744	171.047	0.000	57.264	75.067	0,000	14.453
0,34	96.590	105.909	105.401	0.000	80.820	124.483	0.000	0.000
0,55	73.369	133.583	151.042	341.427	111.397	139.623	23.735	23.011
0,95	63.558	249.321	109.312	502.449	80.798	175.558	16.420	23.866
3,15	1085.583	541.951	52.585	1797.325	368.626	408.082	13.110	0.000
6,58	2558.345	990.548	80.489	3832.426	1017.674	671.231	0.000	0.000
7,00	2429.866	958.293	88.457	880.622	928.508	607.242	26.669	0.000
9,60	3001.568	1299.692	118.092	2445.399	1146.301	1082.744	24.686	0.000
12,98	4940.719	1352.504	160.420	4734.676	2021.690	1640.175	38.135	0.000

Alguns metabólitos não consomem ou produzem biogás diretamente durante sua formação, no entanto, sua presença indica uma perda na concentração de substrato podendo ocasionar um menor rendimento. A Tabela 10 apresenta as concentrações dos principais metabólitos dissolvidos considerados importantes para o experimento.

Tabela 10 Concentração inicial e final de Ác. Lático e Etanol.

CAE (g.O ₂ /g.SSV)	Etanol Entrada (mg.L ⁻¹)	Etanol Saída (mg.L ⁻¹)	Ác. Lático Entrada (mg.L ⁻¹)	Ác. Lático Saída (mg.L ⁻¹)
0,20	0,000	0,00	524,599	29,943
0,28	0,000	0,00	101,201	0,000
0,34	0,000	0,00	227,227	0,000
0,55	0,000	0,00	146,030	48,262
0,95	0,000	0,00	263,940	292,763
3,15	0,000	0,00	1245,528	1474,890
6,58	0,000	0,00	2802,597	3272,342
7,00	0,000	7,202	2712,740	362,827
9,60	0,000	11,029	3311,839	72,028
12,98	0,000	0,00	4809,038	120,873

Não foi detectada presença de etanol no início dos ensaios, no entanto, houve produção nos frascos com CAE de 7,00 e 9,60 g.O₂/g.SSV, onde ocorreram reduções significativas no rendimento quando comparado com os frascos anteriores com CAE de 3,15 e 6,58 g.O₂/g.SSV.

Resultados referentes ao valor de CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV:

A Figura 7 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 0,20 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio permitiram que ocorressem todas as etapas até a metanogênese, atingindo uma produção acumulada de 153,29 mL de CH₄ com um rendimento de 80,68 L CH₄/Lvinhaça. O hidrogênio não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando

que um baixo valor de CAE favorece os microrganismos produtores de metano (bactérias acetoclásticas e hidrogenotróficas).

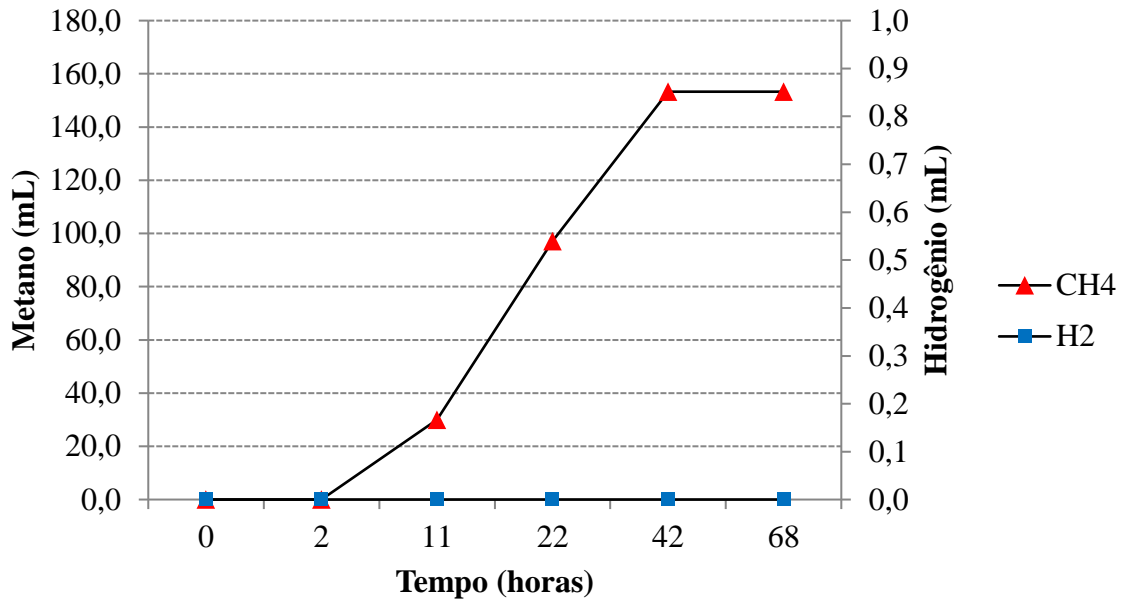


Figura 7 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV.

A Figura8 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 0,20 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

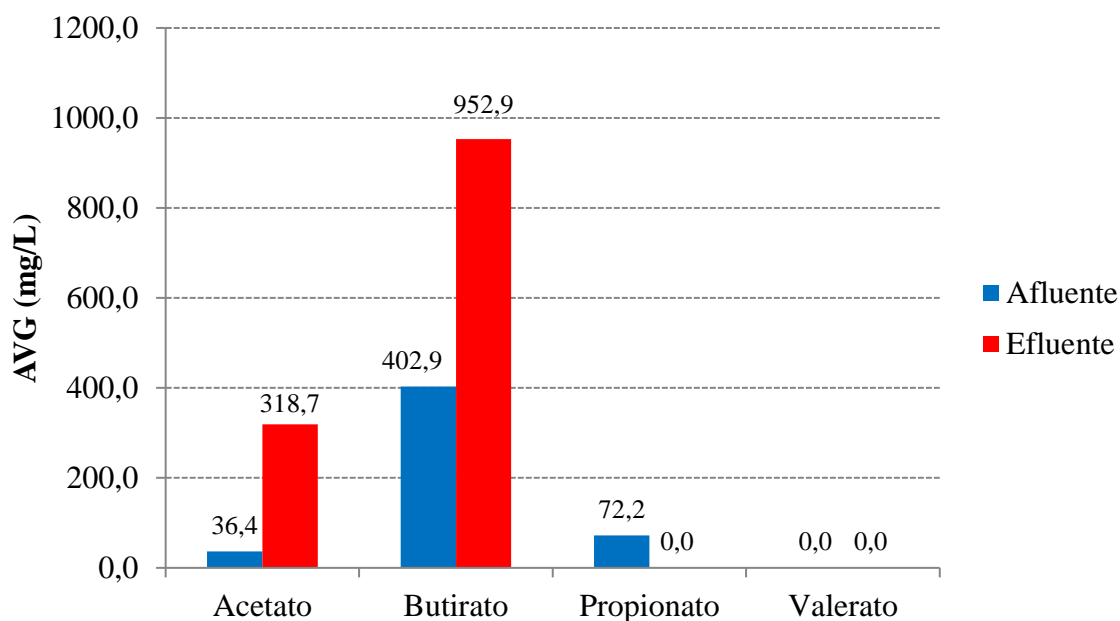


Figura 8 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,20 g.O₂/g.SSV).

A diminuição da concentração de ácido propiônico indica que este foi degradado como parte do processo de metanogênese (GUJER E ZEHNDER, 1983), e ocorreu, provavelmente, devido à conversão deste ácido em acetato ou hidrogênio que são doadores de elétrons para a formação de metano. Nota-se um aumento considerável nas concentrações de ácido acético e butírico, indicando que as 68 h de ensaio não foram suficientes para a conversão total da matéria orgânica em ácidos. Em seu trabalho utilizando glicerol como fonte de carbono trabalhando com sistema fermentativo de duas fases, Peixoto (2011) mostra que a conversão de matéria orgânica em ácidos ocorre com cerca de 72 h de ensaio na fase metanogênica. A produção de ácido acético aliado ao fato de não ter havido geração de ácido propiônico e etanol pode explicar o alto rendimento atingido no frasco com CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV. Provavelmente a concentração de ácido acético ficou abaixo da concentração de butirato por estar sendo consumido ao mesmo tempo em que era produzido.

Resultados referentes ao valor de CAE de 0,28 g.O₂/g.SSV:

A Figura 9 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 0,28 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio permitiram que ocorressem todas as etapas até a metanogênese, atingindo uma produção acumulada de 133,95 mL de CH₄ com um rendimento de 35,63 L CH₄/Lvinhaça. O hidrogênio não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando que um baixo valor de CAE favorece os microrganismos produtores de metano (bactérias acetoclásticas e hidrogenotróficas).

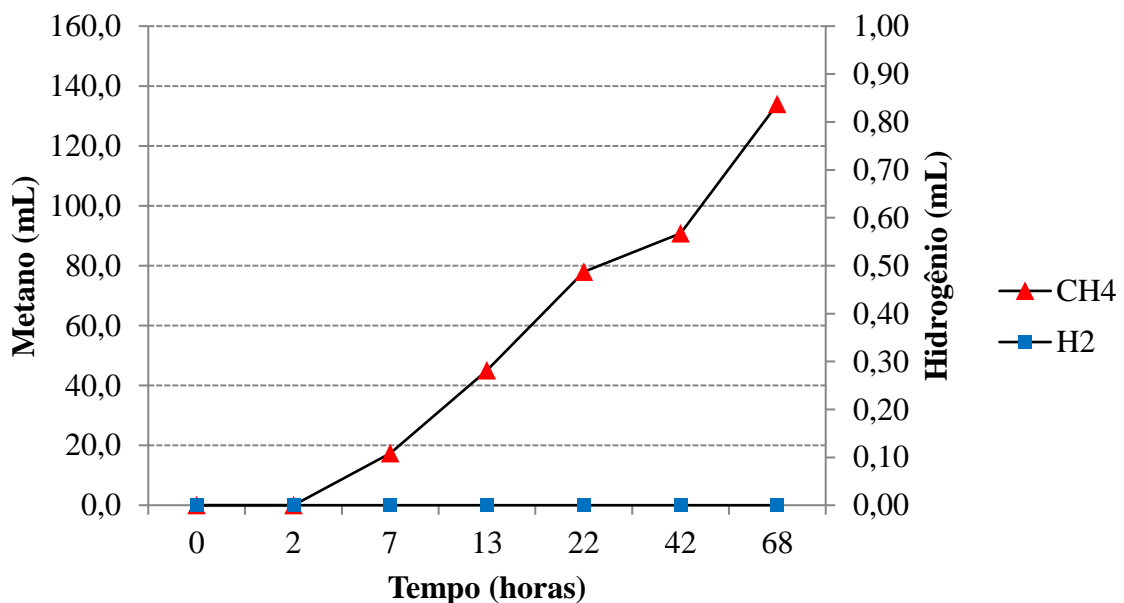


Figura 9 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,28 g.O₂/g.SSV.

A Figura 10 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 0,28 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

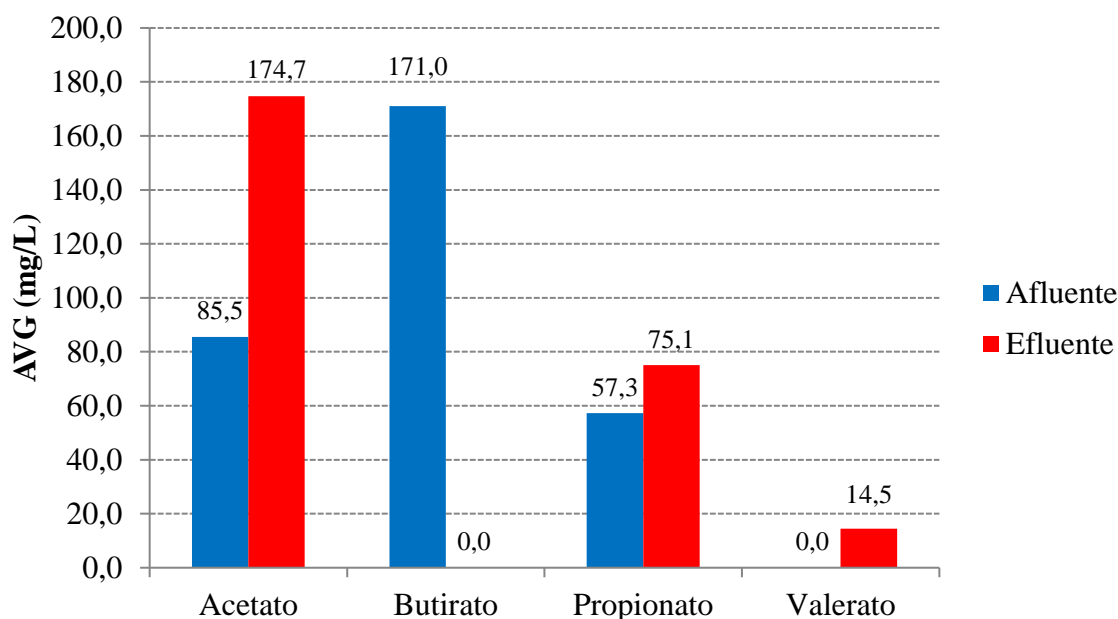


Figura 10 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,28 g.O₂/g.SSV).

O aumento na concentração de ácido propiônico é possivelmente causa do consumo total do ácido láctico demonstrado na Tabela 9. É provável que a metanogênese tenha ocorrido principalmente pela via acetoclástica, pois foi observada uma diminuição na concentração de ácido láctico e um aumento na de acético, propiônico e valérico. A presença de compostos de cadeia longa sendo gerados, tais como ácido propiônico e valérico na fase metanogênica certamente contribuiu para o baixo rendimento alcançado, principalmente porque a degradação dos ácidos de cadeia longa exigiria grandes quantidades de energia (Tabela 2) com consequente redução e atraso na produção de metano.

Resultados referentes ao valor de CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV:

A Figura 11 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 0,34 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio permitiram que ocorressem todas as etapas até a metanogênese, atingindo uma produção acumulada de 263,79 mL de CH₄ com um rendimento de 46,77 L CH₄/Lvinhaça. O hidrogênio não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando que um baixo valor de CAE favorece os microrganismos produtores de metano (bactérias acetoclásticas e hidrogenotróficas).

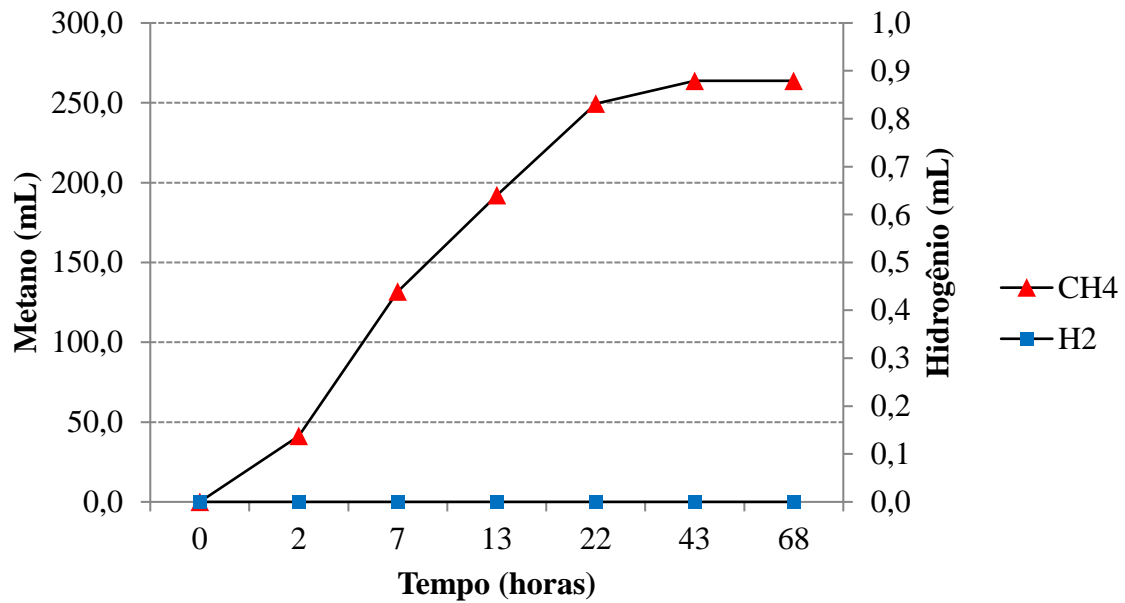


Figura 11 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV.

Estudo realizado por Peixoto (2011) utilizando vinhaça como fonte de carbono trabalhando com sistema fermentativo de duas fases, apontou uma produção de 49,3 mL de CH₄ na fase metanogênica trabalhando com CAE de 0,40 g.O₂/g.SSV. Em seu trabalho, Peixoto (2011) aplicou uma concentração de 0,19 g.O₂/L de vinhaça, o que pode ter ocasionado a baixa produção de metano se comparada com a concentração de 1,12 g.O₂/L de vinhaça utilizada neste ensaio com CAE 0,34 g.O₂/g.SSV, produzindo um volume acumulado de 263,79 mL de CH₄.

A Figura 12 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 0,34 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

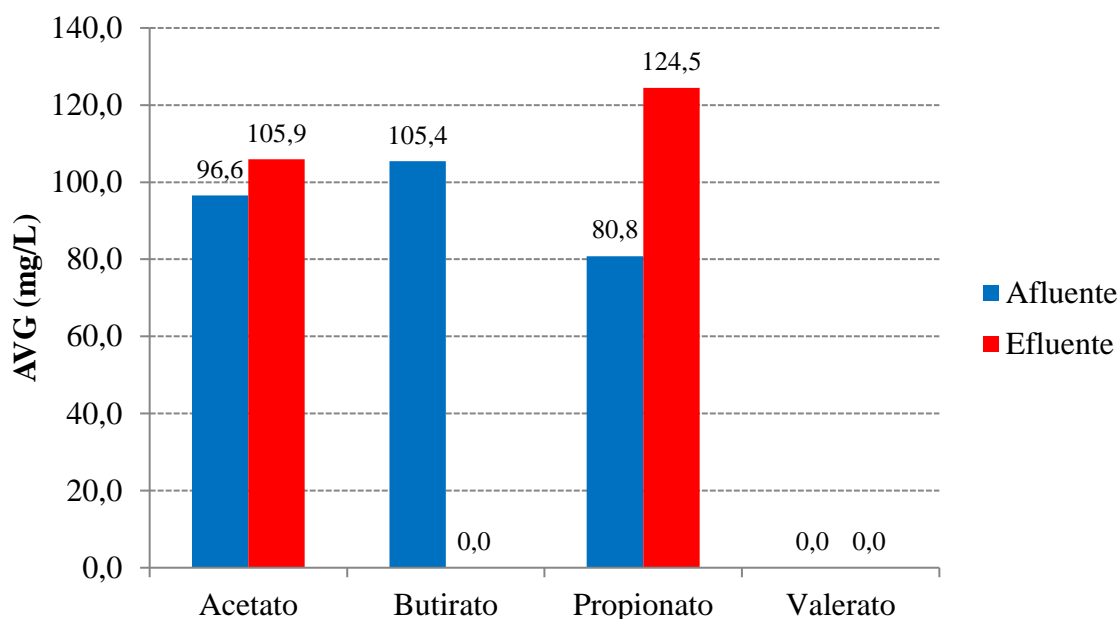


Figura 12 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,34 g.O₂/g.SSV).

O consumo total do ácido butírico pode estar relacionado com o rendimento baixo, pois a reação de conversão deste ácido à acetato não é espontânea (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), ou seja, demanda energia para que ocorra, causando uma ineficiência com relação ao rendimento na produção de metano. Com CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV houve um aumento considerável na concentração de propionato, que também pode ser justificada com o consumo de ácido láctico.

Resultados referentes ao valor de CAE de 0,55 g.O₂/g.SSV:

A Figura13 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 0,55 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. Apesar de apontar um valor nulo de produção de biogás, foi detectada presença de hidrogênio e metano nas amostras, entretanto em quantidades inferiores ao valor limite da curva de calibração dos gases.

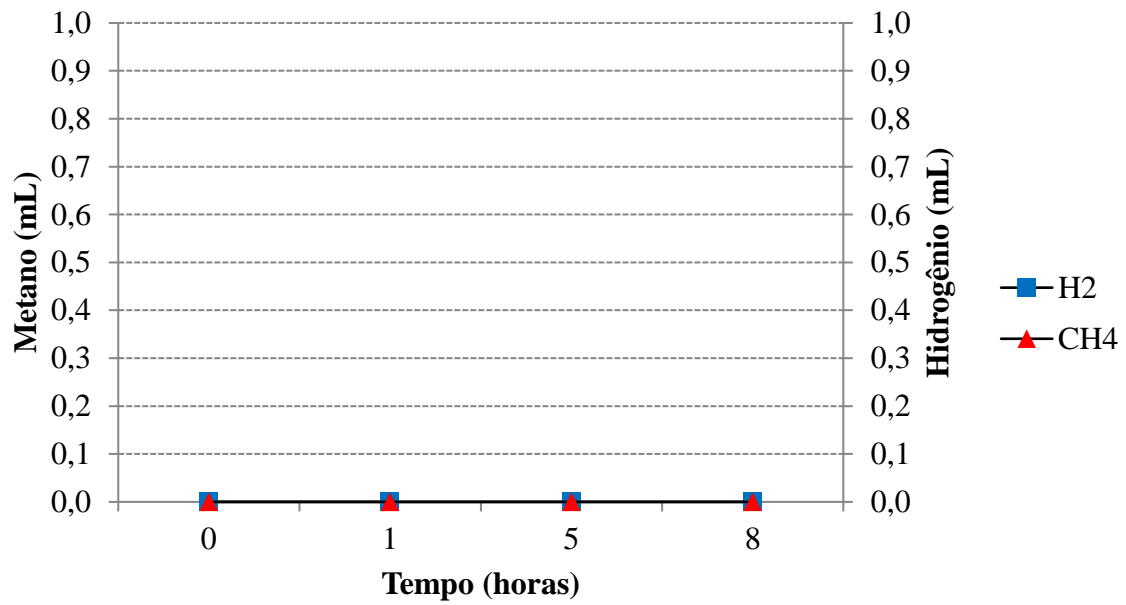


Figura 13 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,55 g.O₂/g.SSV.

É possível que os 50µL injetados no cromatógrafo não tenham sido suficientes para a detecção dos principais gases considerados no presente trabalho, sendo necessária uma reformulação dos métodos aplicados na análise dos gases. A Figura 14 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 0,55 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

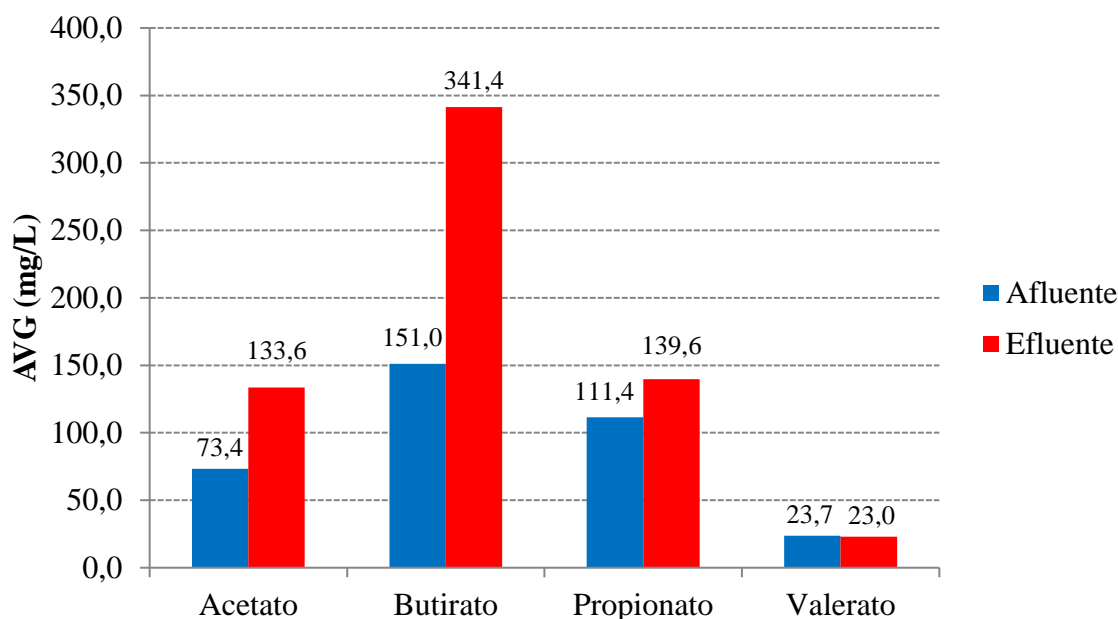


Figura 14 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,55 g.O₂/g.SSV).

O aumento na concentração de ácido acético e butírico indica que a produção de biogás tenderia a acontecer pela mesma rota metabólica dos frascos onde ocorreram predominância na produção de metano. A produção de propionato e o baixo consumo de ácido valérico também explicam a baixa produção de biogás.

Resultados referentes ao valor de CAE de 0,95 g.O₂/g.SSV:

A Figura 5 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 0,95 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 31,48 mL de H₂ com um rendimento de 4,15 LH₂/Lvinhaça. O metano não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando que valores maiores de CAE tendem a favorecer os microrganismos produtores de hidrogênio.

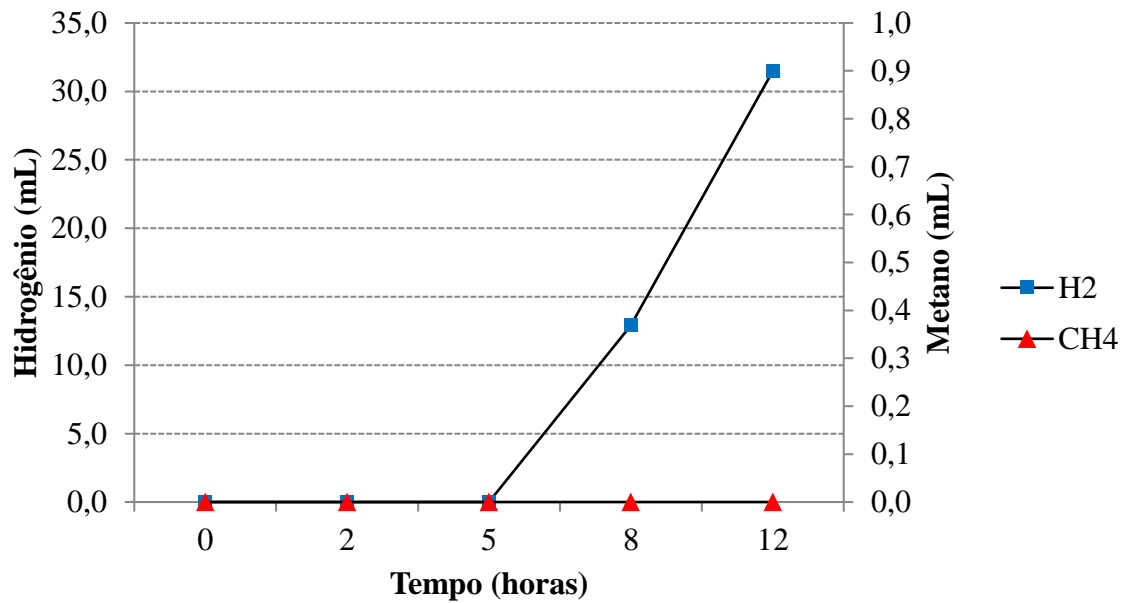


Figura 15 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 0,95 g.O₂/g.SSV.

Utilizando sacarose como fonte de carbono a uma concentração de 375 mg.O₂/L, operando reatores em batelada a uma temperatura de 25°C e pH 5,5, com CAE de 0,86 g.O₂/g.SSV, Peixoto (2011) atingiu uma produção de 9,34 mL de H₂, que é substancialmente menor do que a produção acumulada de 31,48 mL de H₂ obtida neste trabalho com carga aplicada específica de 0,95 g.O₂/g.SSV.

A Figura 16 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 0,95 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

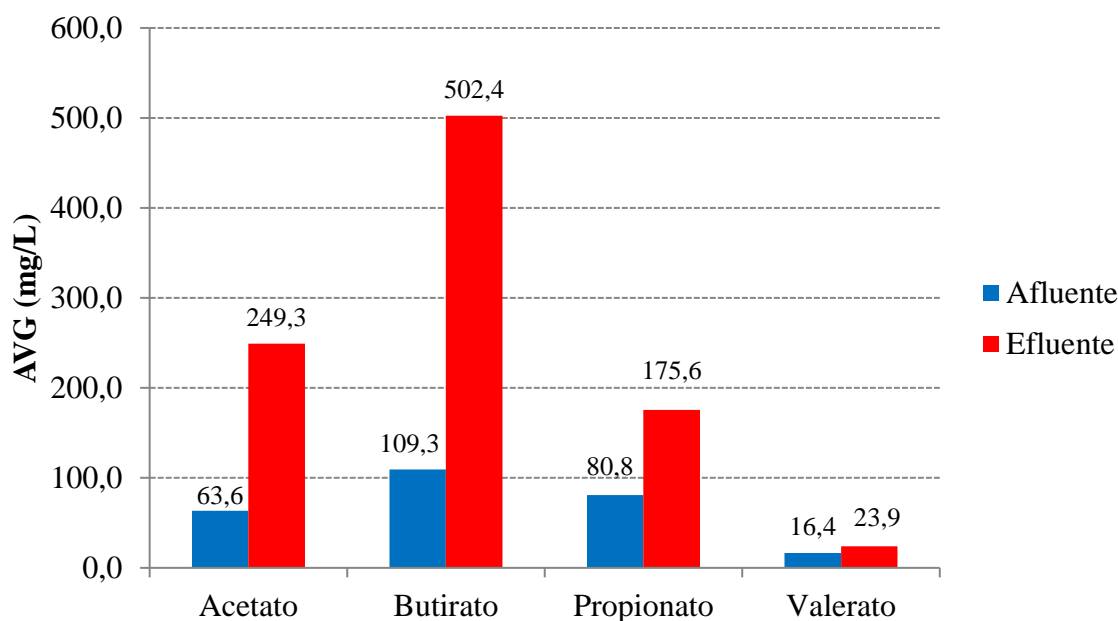


Figura 16 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 0,95 g.O₂/g.SSV).

A CAE de 0,95 g.O₂/g.SSV apresentou comportamento normal de digestão anaeróbia voltada para a produção de hidrogênio ao produzir ácido acético e butírico em grande quantidade, que são os produtos metabólicos mais comuns gerados na produção de hidrogênio, de acordo com Khanal *et al.* (2004). A baixa produção de hidrogênio indicada na Figura 4 pode ser explicada pelo aumento na concentração propionato, que demanda consumo de hidrogênio para sua formação de acordo com a Equação 2 considerando o consumo de glicose:



Equação 2

Resultados referentes ao valor de CAE de 3,15 g.O₂/g.SSV:

A Figura 17 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 3,15 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 300,17 mL de H₂ com um rendimento de 7,98 L H₂/Lvinhaça. O metano não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando que valores maiores de CAE tendem a favorecer os microrganismos produtores de hidrogênio.

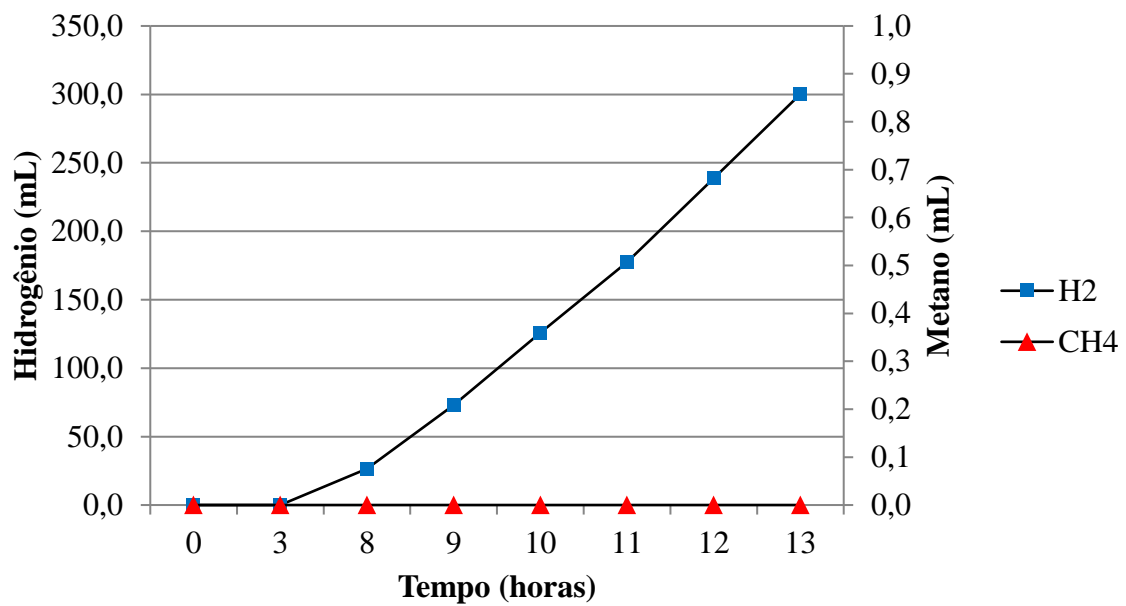


Figura 17 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 3,15 g.O₂/g.SSV.

A Figura 18 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 3,15 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

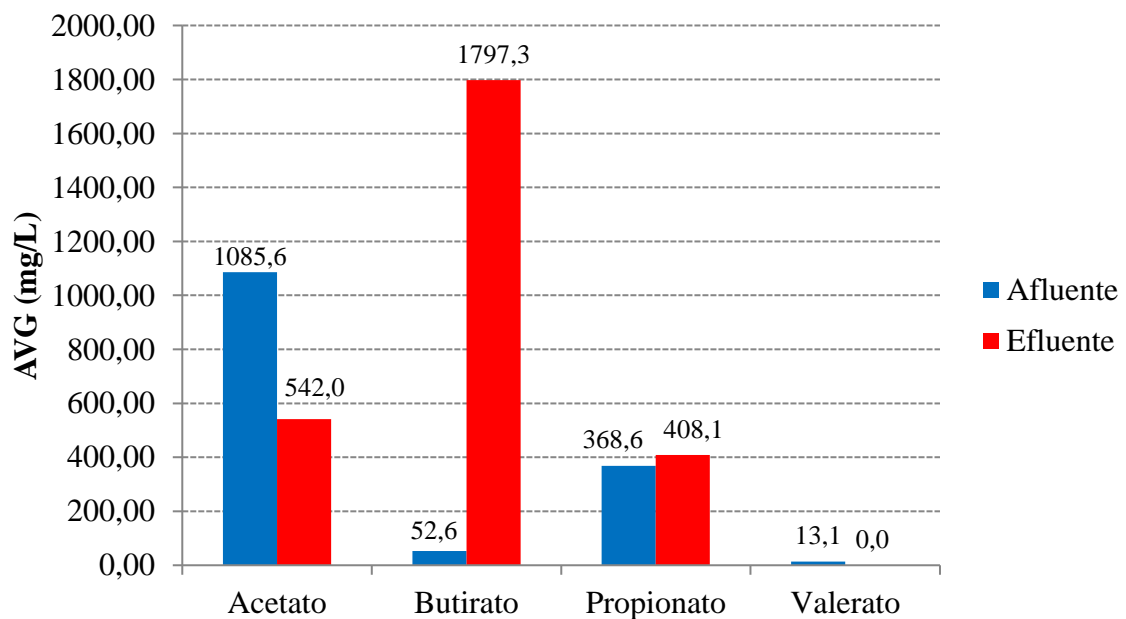


Figura 18 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 3,15 g.O₂/g.SSV).

Apesar de não ter atingido a maior produção acumulada de hidrogênio, este ensaio com CAE de 3,15 g.O₂/g.SSV apresentou o maior rendimento. Levando em consideração as reações de oxidação descritas na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, pode-se deduzir que o ácido acético foi convertido a butirato, com um consumo de 2 mols de H₂ por mol de ácido butírico produzido. No entanto, de acordo com a Equação 3, que expressa a formação de butirato a partir da glicose, para cada mol de ácido produzido tem-se um ganho de 2 mols de H₂:



Equação 3

Resultados referentes ao valor de CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV:

A Figura 19 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 6,58 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 558,06 mL de H₂ com um rendimento de 7,42 L H₂/Lvinhaça. O metano não estava presente na composição do biogás medido durante o ensaio, indicando que valores maiores de CAE tendem a favorecer os microrganismos produtores de hidrogênio.

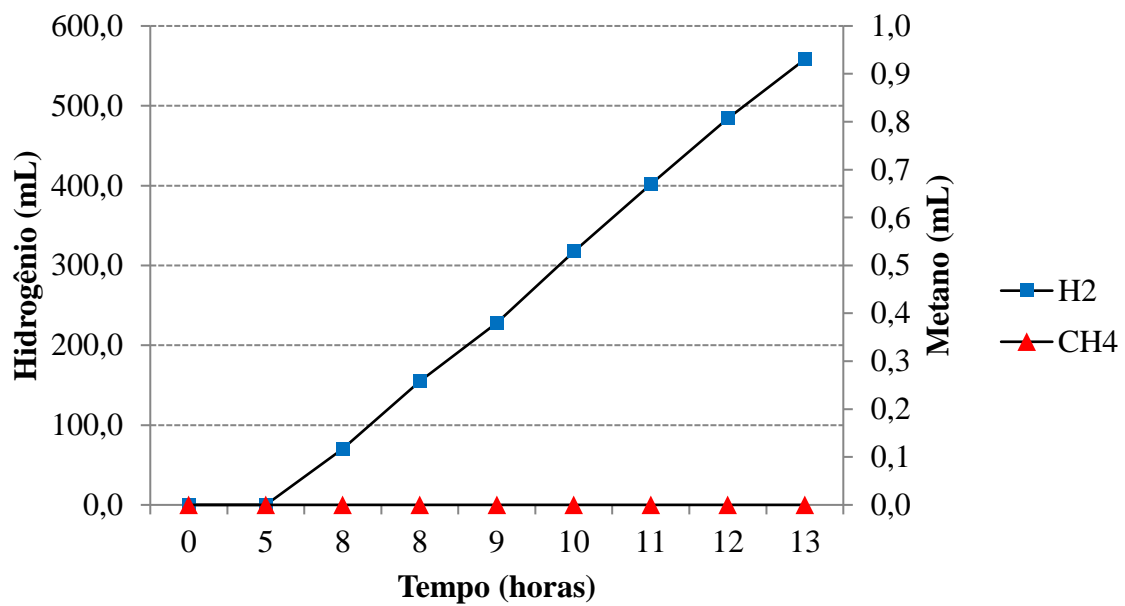


Figura 19 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV.

A Figura 20 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 6,58 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

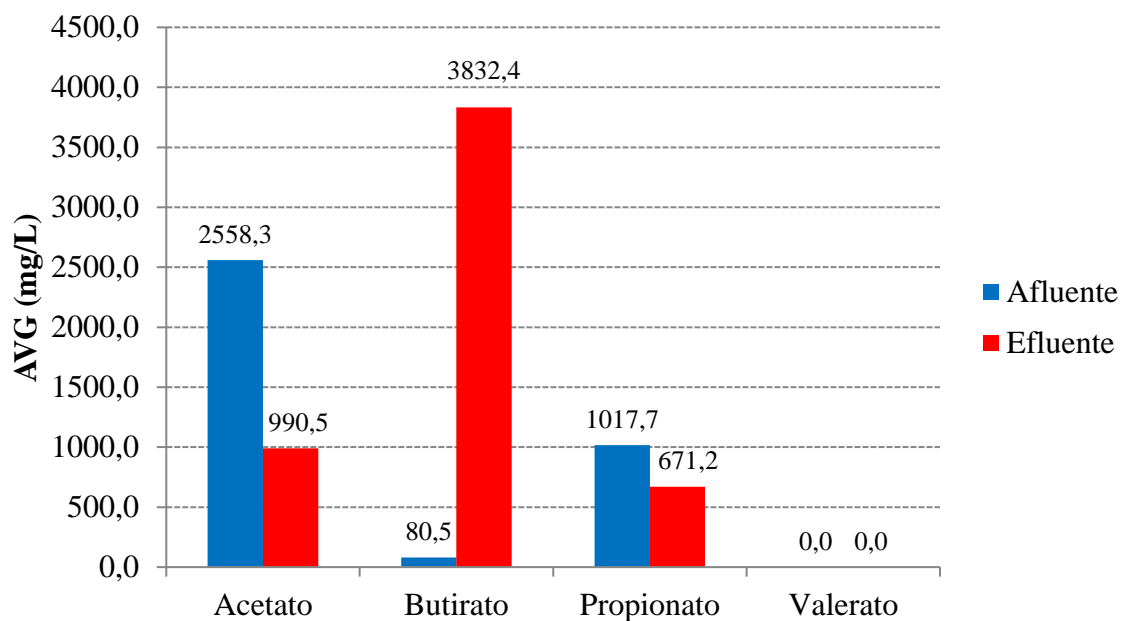


Figura 20 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 6,58 g.O₂/g.SSV).

O elevado aumento na concentração de butirato, podendo também ser explicado, em parte, pelo consumo de ácido acético, somado ao consumo de ácido propiônico, justifica a maior produção acumulada de hidrogênio alcançada dentre todos os ensaios. Em ensaio de batelada realizado com frascos, utilizando sacarose e amido como água residuária, Khanal *et al.* (2004) observaram um leve decréscimo na concentração de acetato na fase estacionária juntamente com uma produção de ácido butírico. Comportamento semelhante foi notado no presente trabalho. Apesar de apresentar a maior produção acumulada de hidrogênio, o ensaio com CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV, apesar de muito próximo, não obteve o maior rendimento. É provável que o tempo de ensaio de 13 horas não tenha sido suficiente para a conversão da matéria orgânica em AVG e consequente produção de biogás. Tanto no início quanto no final do ensaio não foi observada a presença de valerato.

Resultados referentes ao valor de CAE de 7,00 g.O₂/g.SSV:

A Figura 21 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 7,00 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 349,89 mL de H₂ com um rendimento de 3,10 L H₂/Lvinhaça. Uma pequena quantidade de metano foi produzida durante este ensaio com um volume acumulado de 22,23 mL, indicando que apesar de as condições serem totalmente favoráveis as bactérias produtoras de hidrogênio, os microrganismos que atuam na metanogênese não foram completamente inibidos. Os ensaios foram realizados com inóculo coletado diretamente reator UASB operando em condições metanogênicas sem tratamento prévio, ou seja, os microrganismos metanogênicos estavam ativos no inícios dos ensaios, fato que pode justificar a alta produção de metano no início do ensaio (entre 1 e 2 horas).

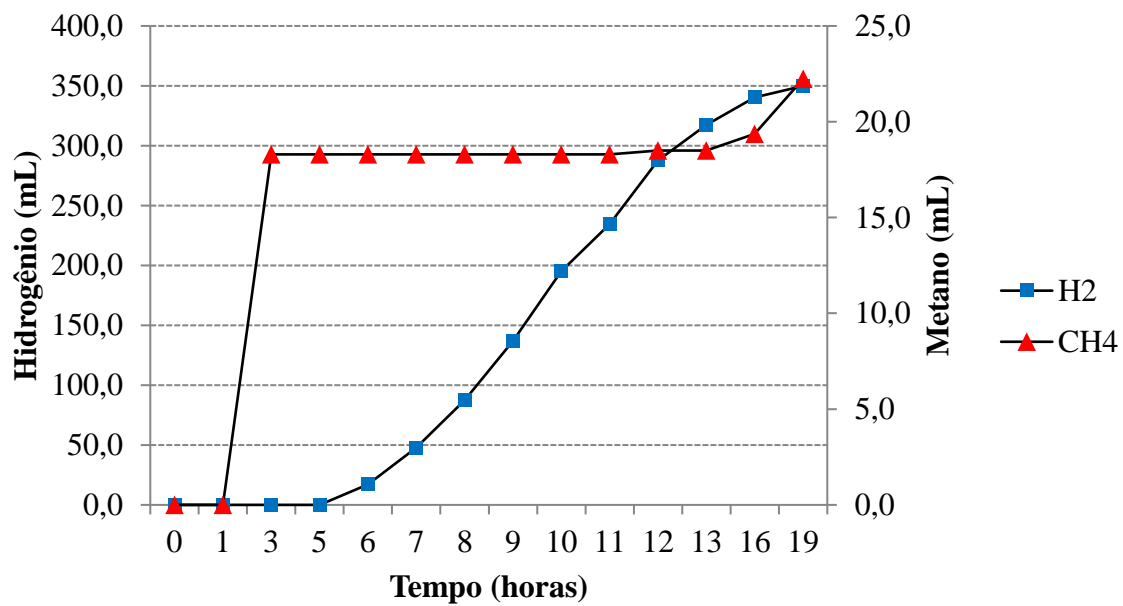


Figura 21 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 7,00 g.O₂/g.SSV.

Chen *et al.* (2006) obtiveram uma produção acumulada de 157 mL de H₂, observando que a carga aplicada específica ideal para produção de hidrogênio a partir de sacarose é 7,30 g.O₂/g.SSV, atingindo um rendimento de 1,05 LH₂/Lsacarose. Neste trabalho, com CAE de 7,00 g.O₂/g.SSV, foi atingida uma maior produção acumulada no valor de 349,89 mL de H₂, com um rendimento de 3,10 LH₂/Lvinhaça. Apesar de possuir maior teor de carboidrato, a sacarose no estudo de Chen *et al.* (2006) estava com uma concentração de 9,00 g.O₂/L, ao passo que neste ensaio com vinhaça a concentração inicial foi de 14,00 g.O₂/L, podendo desta maneira justificar a maior produção devido a alta concentração aplicada neste trabalho.

A Figura 22 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 7,00 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

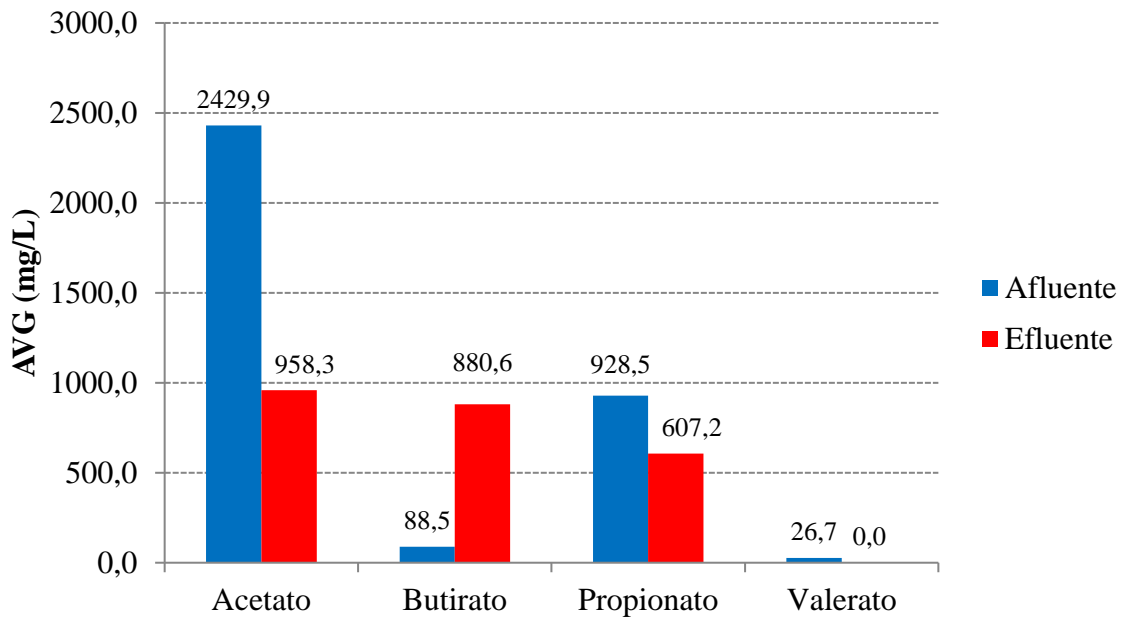
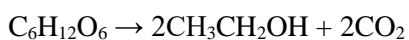


Figura 22 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 7,00 g.O₂/g.SSV).

Se comparado com os ensaios com CAE de 3,15, 6,58, 9,60 e 12,98 g.O₂/g.SSV este foi o que apresentou menor produção de ácido butírico. Associado a essa baixa produção de butirato, o consumo elevado de ácido acético contribui substancialmente para baixo rendimento apresentado. A produção acumulada de 249,98 mL de H₂ deve-se, em parte, pelo consumo de ácido valérico e propiônico. Além destes metabólitos, também foi produzido 7,20 mg/L de etanol (Tabela10), que apesar de não consumir hidrogênio em sua formação, como expresso na Equação 4, sua presença está relacionada a fracos desempenhos de produção de hidrogênio por digestão anaeróbia.



Equação 4

Resultados referentes ao valor de CAE de 9,60 g.O₂/g.SSV:

A Figura 23 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 9,60 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 301,52 mL de H₂ com um rendimento de 2,00 LH₂/Lvinhaça. Uma pequena quantidade de metano foi produzida durante este ensaio com um volume acumulado de 1,76 mL, indicando que apesar de as condições serem

totalmente favoráveis as bactérias produtoras de hidrogênio, os microrganismos que atuam na metanogênese não foram completamente inibidos.

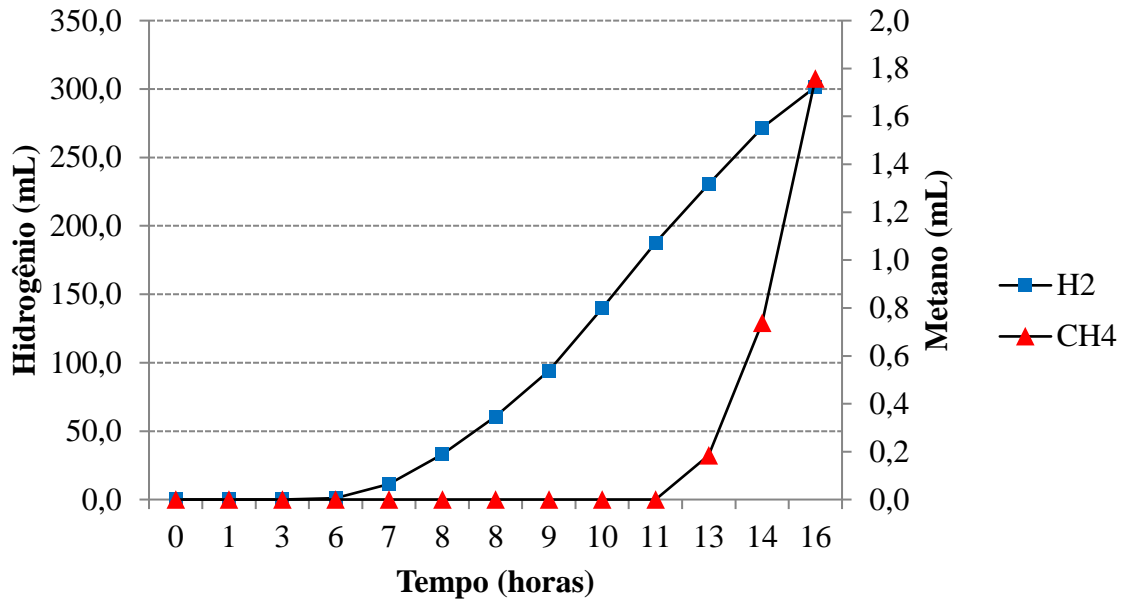


Figura 23 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 9,60 g.O₂/g.SSV.

Aplicando uma razão S/X de 9,71, Fang *et al.* (2006), obtiveram uma produção acumulada de 248 mL de H₂, utilizando pasta de arroz como matéria-prima para água residuária contendo 5,5 g/L em carboidratos a uma temperatura de 37°C e pH 5,5. O valor de produção acumulada de 301,52 mL de H₂ obtido nesse trabalho foi superior ao obtido por Fang *et al.* (2006) apesar de apresentar um valor de CAE bem próximo ao valor da relação S/X.

A Figura 24 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 9,60 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

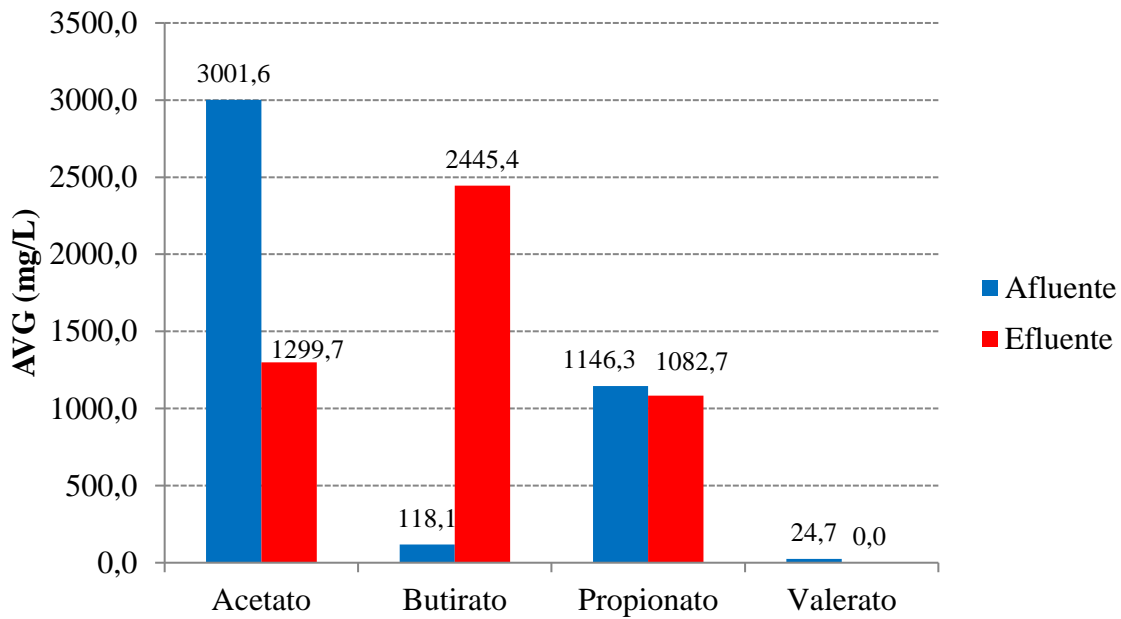


Figura 24 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 9,60 g.O₂/g.SSV).

Com uma produção de 2,00 LH₂/Lvinhaça este ensaio apresentou o menor rendimento, apesar de ter atingido um volume acumulado considerável de 301,52 mL. A geração de 11,029 mg/L de etanol certamente afetou a produção de hidrogênio por motivos já citados na apresentação dos resultados referentes ao frasco com CAE de 7,00 g.O₂/g.SSV. O ensaio mostra comportamento semelhante aos demais ensaios com CAE superiores a 6,58 g.O₂/g.SSV, com produção elevada de butirato, grande consumo de ácido acético e leve decréscimo na concentração de propionato. O que pode ter ocasionado o baixo rendimento é o tempo insuficiente de 16 horas para a conversão da matéria orgânica que estava com concentração elevada.

Resultados referentes ao valor de CAE de 12,98 g.O₂/g.SSV:

A Figura 25 apresenta a produção acumulada de metano e hidrogênio em função do tempo, para o frasco contendo 12,98 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica. As condições aplicadas no ensaio favoreceram a etapa da acetogênese com predominância de hidrogênio na composição do biogás, atingindo uma produção acumulada de 339,37 mL de H₂ com um rendimento de 2,13 L H₂/Lvinhaça. Uma pequena quantidade de metano foi produzida durante este ensaio com um volume acumulado de 0,26 mL, indicando que apesar de as condições serem totalmente favoráveis as bactérias produtoras de hidrogênio, os microrganismos que atuam na metanogênese não foram completamente inibidos.

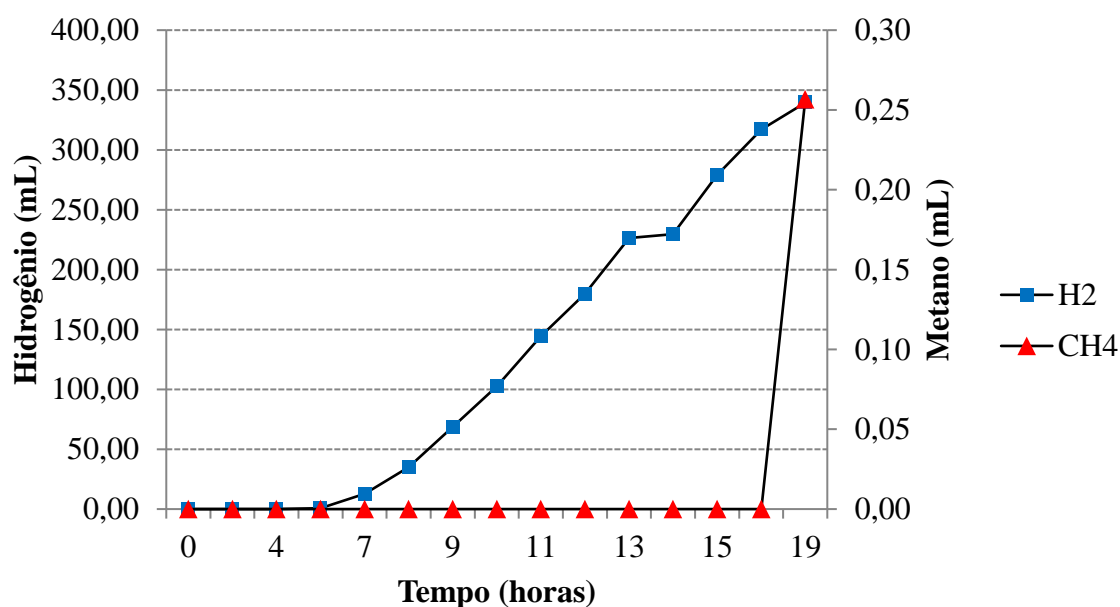


Figura 25 Produção acumulada de biogás (metano e hidrogênio) por tempo com uma CAE de 12,98 g.O₂/g.SSV.

Usando glicerol como fonte de carbono, em ensaios com reatores operando em regime de batelada a 37 °C e pH 6, Seifert *et al.* (2009) obteve o maior rendimento de produção de hidrogênio de 0,87 LH₂/Lglicerol quando aplicou uma CAE aproximada de 17,28 g.O₂/g.SSV (DQO de glicerol = 20,74 g.O₂/L; concentração de inóculo = 1,2 g.SSV/L).

Obs.: Para fins de comparação, a concentração de DQO do glicerol mencionado no estudo de Seifert *et al.* (2009) foi calculada a partir do valor da concentração em g/L expressa no trabalho, para que pudesse ser feito o cálculo da carga aplicada específica.

A Figura 26 apresenta a relação entre os valores de entrada e saída dos principais ácidos presentes na digestão anaeróbia, para o frasco contendo 12,98 g.O₂/g.SSV de carga aplicada específica.

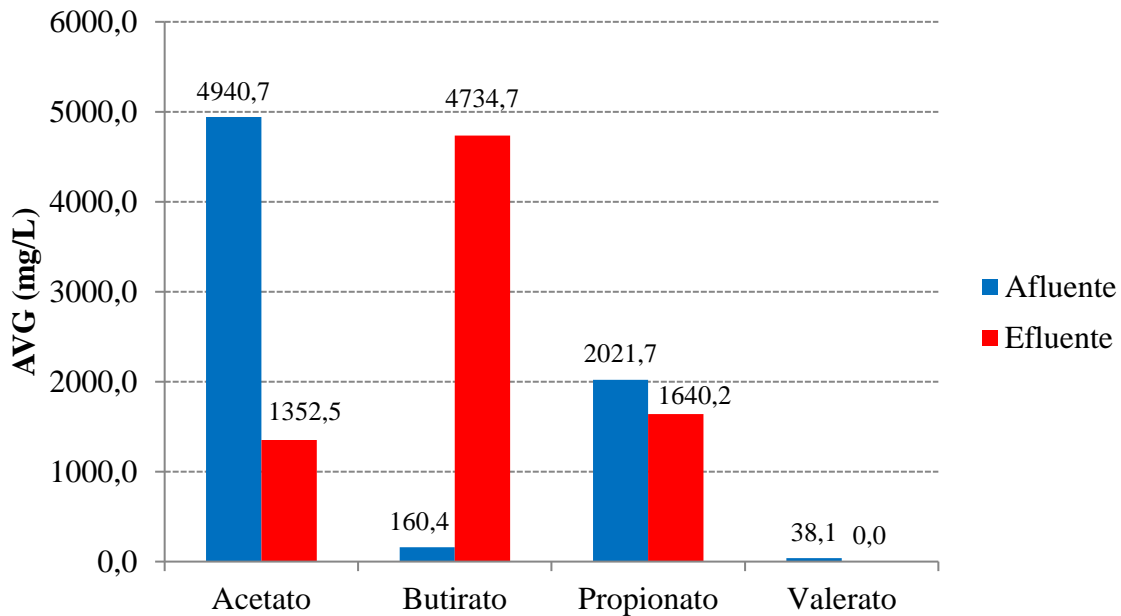


Figura 26 Variação de AGV em mL entre o início e o fim do experimento (CAE = 12,98 g.O₂/g.SSV).

Assim como no ensaio com CAE de 9,60 g.O₂/g.SSV, este ensaio também obteve um baixo rendimento de produção de hidrogênio. O consumo de 3588,2 mg/L de ácido acético pode justificar o baixo rendimento. É importante destacar a produção elevada de butirato que certamente foi a principal rota metabólica na produção de hidrogênio. Além do consumo de acetato o que pode ter ocasionado baixo rendimento é o tempo insuficiente de 19 horas para a conversão da matéria orgânica que estava com concentração elevada (foi utilizada vinhaça bruta para este ensaio).

6 CONCLUSÕES

Pode-se concluir a partir dos resultados que o congelamento da vinhaça mostrou-se eficaz como forma de conservação da fonte de carbono, visto que, não houve alterações que comprometessem a qualidade da água residuária. Os resultados também mostraram que a variação da CAE influenciou diretamente na composição do biogás produzido e na rota metabólica da digestão anaeróbia. Além de mostrar ser possível a produção de hidrogênio utilizando inóculo proveniente de reator metanogênico, aplicando condições favoráveis à ativação das bactérias produtoras de hidrogênio.

Com base nos demais resultados obtidos com o trabalho, as seguintes conclusões adicionais puderam ser tiradas:

- O melhor resultado obtido com relação à produção volumétrica de metano foi 263,79 mL de volume acumulado para a CAE de 0,34 g.O₂/g.SSV;

- A produção máxima acumulada de hidrogênio foi um volume de 558,06 mL para a CAE de 6,58 g.O₂/g.SSV;

- O resultado não se repetiu com relação ao rendimento de produção de biogás, atingindo um máximo rendimento de 80,68 LCH₄.L/Lvinhaça para a CAE de 0,20 g.O₂/g.SSV;

- Rendimento máximo de 7,98 LH₂.L/Lvinhaça para a CAE 3,15 g.O₂/g.SSV.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA; AWWA; WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005.

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

BARTACEK, J.; ZABRANKA, J.; LENS, P. N. L. Developments and constraints in fermentative hydrogen production. **Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr**, v. 1, p. 201 – 214, 2007.

BROWN, A. Y. T. Comportamento da biomassa de reator anaeróbio utilizado no processamento de vinhaça de destilaria de álcool. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2012.

CHEN, C. C.; CHEN, H. P.; WU, J. H.; LIN, C. Y. Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 1573 – 1578, 2008.

CHEONG, D. Y.; HANSEN, C. L. Bacterial stress enrichment enhances anaerobic hydrogen production in cattle manure sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 635 – 643, 2006.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios – Princípio do Tratamento Biológico de Águas Residuárias** – Vol. 5, 2ª Ed. Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 1997.

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

EVVYERNIE, D.; MORIMOTO, K.; KARITA, S.; KIMURA, T.; SAKKA, K.; OHMIYA, K. Conversion of chitinous wastes to hydrogen gas by *Clostridium paraputrificum* M-21. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 91, p. 339 – 343, 2001.

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

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

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; VAN HAANDEL, A.; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P. F. F. **Fundamentos do Tratamento Anaeróbio**. Cap. 2. In: CAMPOS, J. R. (coordenador). **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. PROSAB, Rio de Janeiro, 436 p, 1999.

HARADA, H.; UEMURA, S.; CHEN, A.; JAYADEVAN, J. Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 55, p. 215–221, 1996.

HARPER, S.R.; POHLAND F.G. Recent development in hydrogen management during wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, p. 585 – 602, 1986.

HU, B.; CHEN, S. L. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 3266 – 3273, 2007.

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

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

LAY, J. J.; LEE, Y. J.; NOIKE, T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. **Water Research**, v. 33, n° 11, p. 2579 – 2586, 1999.

LAZARO, C. Z. Influência da concentração de substrato e da temperatura na produção de hidrogênio a partir de vinhaça de cana-de-açúcar. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2012.

LEE, Y. J.; MIYAHARA, T.; NOIKE, T. Effect of pH on microbial hydrogen fermentation. In: **Proceedings of the 6th IA WQ Asian-Pacific Conference**. Tapei, p. 215 – 220, 1999.

LEITE, J. A. C.; FERNANDES, B. S.; POZZI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 579 – 586, 2008.

LEVIN, D. B.; ISLAM, R.; CICEK, N.; SPARLING, R. Hydrogen production by *Clostridium thermocellum* 27405 from cellulosic biomass substrates. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 1496 – 1503, 2006.

LIN, C.; CHANG, C.; HUNG, C. Fermentative hydrogen production from starch using natural mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 2445 – 2453, 2008.

LIN, C.; WU, C.; HUNG, C. Temperature effects on fermentative hydrogen production from xylose using mixed anaerobic cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 43 – 50, 2008.

MASSANET-NICOLAU, J.; DINSDALE, R.; GUWY, A. Hydrogen production from sewage sludge using mixed microflora inoculums: Effect of pH and enzymatic pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 99, p.6325 – 6331, 2008.

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

MORAES, E.; ADORNO, M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Determinação de Ácidos Voláteis por Cromatografia Gasosa em Efluentes de Reatores Anaeróbios Tratando Resíduos Líquidos e Sólidos. In: VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia. Anais da VI

Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia, vol. 2. Recife – PE: Universitária UFPE, p. 235-238 [in Português], 2000.

MU, Y.; ZHENG, X.; YU, H.; ZHU, R. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 31, p. 780 – 785, 2006.

RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V. V. N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, p. 135 – 156, 2000.

ROCHA, V. C. Processamento anaeróbio de vinhaça pré-tratada com biopolímero à base de cálcio. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2012.

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

SEIFERT, K.; WALIGORSKA, M.; WOJTOWSKI, M.; LANIECKI, M. Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 34, p. 3671 – 3678, 2009.

SETH, R.; GOYAL, S. K.; HANDA, B. K. Fixed film biomethanation of distillery spentwash using low cost porous media. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 14, p. 79-89, 1995.

SIQUEIRA, L. M. Influência da taxa de carregamento orgânico na degradação anaeróbia da vinhaça em reator de leito fluidizado. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2008.

SINGH, R.; KUMAR, S.; OJHA, C. S. P. Nutrient requirement for UASB process: a review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 3, n. 1, p. 35 – 54, 1999.

SOUZA, M. E.; FUZARO, G.; POLEGATO, A. R. Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. **Water Science Technology**, v. 25, n.7, p. 213 – 222, 1992.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology of industrial wastewaters**. Editora J. M. Speece. Capítulo 3, p. 25, 1996.

VALDEZ-VAZQUEZ, I.; RÍOS-LEAL, E.; ESPARZA-GARCÍA, F.; CECCHI, F.; POGGI-VARALDO, H. M. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1383 – 1391, 2005.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Anaerobic Sewage Treatment: A Practical Guide for Regions with a Hot Climate**. John Wiley & Sons, Chichester, England. John Wiley and Sons Ltd., 226 p, 1994.

VIANA, A. B. Tratamento anaeróbio de vinhaça em reator UASB operado em temperatura na faixa termofílica (55°C) e submetido ao aumento progressivo de carga orgânica. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2006.

VIANA, M. B. Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2011.

WANG, G.; MU, Y.; YU, H. Q. Response surface analysis to evaluate the influence of pH, temperature and substrate concentration on the acidogenesis of sucrose-rich wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 23, p. 175 – 184, 2005.

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

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

YOKOI, H.; OHKAWARA, T.; HIROSE, J.; HAYASHI, S.; TAKASAKI, Y. Characteristics of hydrogen production by aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 80, p. 571 – 574, 1995.

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

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