

GABRIEL CATUCCI REGO

**Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito
fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos
da indústria sucroalcooleira.**

Versão Corrigida

São Carlos (SP)

2016

GABRIEL CATUCCI REGO

**Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito
fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos
da indústria sucroalcooleira.**

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

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

São Carlos (SP)

2016

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.

C118p Catucci Rego, Gabriel
PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO EM REATORES ANERÓBIOS DE
LEITO FLUIDIFICADO MESOFÍLICO A PARTIR DE DIFERENTES
SUBSTRATOS ORGÂNICOS DA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA /
Gabriel Catucci Rego; orientador Edson Luiz Silva. São
Carlos, 2016.

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, 2016.

1. Hidrogênio. 2. Fluidificado. 3. Sucroalcooleiro.
4. Mesofilico. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **GABRIEL CATUCCI RÊGO**.

Título da dissertação: 'Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos da indústria sucroalcooleira'.

Data da defesa: 09/05/2016

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Edson Luiz Silva (Orientador)**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

Prof. Dr. **Ariovaldo José da Silva**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Aprovado

Profa. Dra. **Lorena de Oliveira Pires**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-Araraquara)

Aprovado

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

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

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

DEDICATÓRIA

Deus, família e amigos:

“Que vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida com todo seu livre arbítrio e por mais uma oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente junto a excelentes pessoas.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Silva, por todo incentivo, comprometimento, auxílio e paciência nos momentos de dificuldades.

Pelo auxílio, conhecimento transferido, companheirismo, paciência e amizade que guardarei e levarei para o resto de minha história, dos meus companheiros e amigos de laboratório, Aline, Lucas e Tiago, pessoas as quais, passei momentos descontraídos e de responsabilidade durante as dificuldades. Ao Helbert, pelos ensinamentos e dicas ao longo do início de minha jornada no LCA II e a Andressa e Talles que me auxiliaram e acompanharam na reta final.

Aos integrantes da banca examinadora, pela disponibilidade em participar desta data importante em minha história.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida. CAPES e FAPESP pelos apoios com materiais, os quais utilizei em minha pesquisa.

Aos docentes, técnicos e pesquisadores do programa de pós-graduação do Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, pelos auxílios e conhecimentos proporcionados. Ao Laboratório de Processo Biológico pela atenção e compromisso para com as análises.

Ao Departamento de Engenharia Química da UFSCar e seus técnicos, pela possibilidade da realização da pesquisa em suas estruturas, atenção e auxílio.

A minha família, meus pais Joel e Bete e irmão Gustavo, que desde sempre são a base de minha história, auxiliando e incentivando, para que a conclusão de mais esta etapa de minha carreira profissional fosse concluída.

A minha namorada e parte da minha família Amanda, por todo carinho, amor, paciência, auxílio e compreensão nos momentos de estresse, proporcionando forças para concluir esta etapa.

Ao Marcus Galbetti pelos auxílios em fornecer dicas e materiais. E finalizando agradeço aos meus amigos, primos, tios, sogro, sogra, cunhado e a todos que de maneira direta ou indiretamente contribuíram para que esta fase fosse concluída.

RESUMO

REGO, G. C. **Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos da indústria sucroalcooleira.** 2016. 118 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de H_2 a partir de diferentes substratos orgânicos da indústria sucroalcooleira, como caldo, melação e vinhaça da cana-de-açúcar, incluindo a sacarose como uma fonte de carbono sintética. Foram utilizados quatro reatores anaeróbios de leito fluidificado, sendo reator mesofílico caldo (RMC), reator mesofílico melação (RMM), reator mesofílico sacarose (RMS) e reator mesofílico vinhaça (RMV) mantidos em condição mesofílica ($30\text{ }^\circ\text{C}$) e em concentrações iniciais no substrato de alimentação de 5 gDQO. L^{-1} . O pH do reatores foi mantido entre 4 e 5, os tempos de detenção hidráulica (TDH) empregados foram de 8, 6, 4, 2 e 1 h e a inoculação foi através de um lodo proveniente de um abatedouro de aves, que sofreu tratamento térmico. Em RMC o rendimento de H_2 (HY) máximo obtido foi de $1,2\text{ mol }H_2.\text{ mol sacarose}^{-1}$, ocorrido no TDH de 8 h. O reator (RMM) apresentou um melhor consumo de substrato atingindo um HY de $1,4\text{ mol }H_2.\text{ mol sacarose}^{-1}$, observado no TDH de 4 h. RMS apresentou o melhor HY em relação aos demais reatores atingindo $3,3\text{ mol }H_2.\text{ mol sacarose}^{-1}$ no TDH de 6 h. A melhor produção volumétrica de H_2 (PVH) obtida foi observada no RMS, onde no TDH de 2 h o reator atingiu $11\text{ L }H_2.\text{ L}^{-1}.\text{ d}^{-1}$. RMV, que utilizou vinhaça que passou por tratamento físico-químico através da adição de óxido de cálcio, não apresentou produção de H_2 . Dentre os principais produtos metabólitos solúveis observados nos reatores durante a operação houve predominância nas concentrações de ácido acético, butírico, isobutírico, propiônico, e succínico, em RMM. No RMC observaram-se maiores concentrações de ácido acético, butírico, láctico e propiônico. RMV apresentou predominância de ácido acético, succínico, propiônico e butírico. Em RMS as maiores concentrações foram de ácido propiônico, acético, isobutírico, butírico e etanol.

Palavras chave: produção de hidrogênio, caldo de cana, melação, sacarose, vinhaça, reator anaeróbio de leito fluidificado.

ABSTRACT

REGO, G. C. **Hydrogen production in mesophilic anaerobic fluidized bed from different organic substrates sugar industry.** 2016. 118 p. Dissertation (Master in Hydraulic Engineering and Sanitation) - School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2016.

This study aimed to evaluate the production of H₂ from different organic substrates sugar industry, like juice, molasses and vinasse from cane sugar, including sucrose as a source of synthetic carbon. four anaerobic fluidized bed were used, mesophilic broth reactor (RMC), mesophilic molasses reactor (RMM), reactor mesophilic sucrose (RMS) and reactor mesophilic vinasse (RMV) maintained at mesophilic condition (30 ° C) and at initial concentrations feed substrate 5 gCOD. L⁻¹. The pH of the reactor was kept between 4 and 5, the hydraulic detention time (HDT) used were 8, 6, 4, 2 and 1 h and the inoculation through a sludge from a poultry slaughterhouse, which underwent heat treatment. In MRC H₂ yield (HY) maximum obtained was 1.2 mol H₂. mol sucrose⁻¹, occurred in HRT of 8 h. The reactor (RMM) showed a better substrate consumption reaching a HY 1.4 mol H₂. mol⁻¹ sucrose, HDT observed in 4 h. RMS presented the best HY compared to other reactors reaching 3.3 mol H₂. mol⁻¹ sucrose in HRT of 6 h. The best volumetric H₂ production (PVH) obtained was observed in the RMS where the TDH 2 h the reactor reached 11 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. RMV that used vinasse which has undergone physical-chemical treatment by adding calcium oxide, showed no H₂ production. Among the main products soluble metabolites observed in the reactors during operation predominated in acetic acid concentrations, butyric, isobutyric, propionic, and succinic in RMM. In MRC were observed higher concentrations of acetic, butyric, lactic and propionic acid. RMV showed predominantly acetic, succinic, propionic and butyric acid. RMS higher concentrations were propionic acid, acetic, isobutyric, butyric acid and ethanol.

Keywords: hydrogen production, sugar cane juice, molasses, sucrose, vinasse, anaerobic fluidized bed reactor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de funcionamento de um RALF	42
Figura 2: RALF utilizado no LCA II - UFSCar.....	43
Figura 3: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMM.....	53
Figura 4: Remoções médias de DQO no RMM.....	55
Figura 5: Comportamento do percentual de H ₂ no biogás do RMM.....	57
Figura 6: Comportamento da PVH em RMM.	60
Figura 7: Comportamento do HY no RMM.	62
Figura 8: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMM.....	67
Figura 9: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMC.....	69
Figura 10: Remoções médias de DQO em RMC.....	71
Figura 11: Comportamento do percentual de H ₂ no biogás do RMC.....	72
Figura 12: Comportamento da PVH em RMC.	75
Figura 13: Comportamento do HY em RMC.	78
Figura 14: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMC.....	82
Figura 15: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMV.	84
Figura 16: Remoções médias de DQO em RMV.	86
Figura 17: Comportamento das concentrações de sulfato em cada TDH.....	87
Figura 18: Comportamento do percentual de H ₂ no biogás do RMV.....	88
Figura 19: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMV.	95
Figura 20: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMS.....	97
Figura 21: Remoções médias de DQO em RMS.....	99
Figura 22: Comportamento do percentual de H ₂ no biogás de RMV.....	100
Figura 23: Comportamento da PVH em RMS.....	102
Figura 24: Comportamento do HY em RMS.....	104
Figura 25: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMS.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características da cinasita	43
Tabela 2: Meio nutricional Del Nery (1987)	44
Tabela 3: Formulação Endo et al (1983), adaptada	44
Tabela 4: Caracterização do caldo-de-cana	45
Tabela 5: Caracterização do melaço	46
Tabela 6: Caracterização da vinhaça in natura	47
Tabela 7: Caracterização da vinhaça pós-tratamento físico-químico	47
Tabela 8: Tratamento Físico-químico	48
Tabela 9: Condições operacionais	49
Tabela 10: Parâmetros operacionais RMC	50
Tabela 11: Parâmetros operacionais RMM	50
Tabela 12: Parâmetros operacionais RMS	51
Tabela 13: Parâmetros operacionais RMV	51
Tabela 14: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMM.	53
Tabela 15: Valores de concentrações médias de DQO em RMM.	55
Tabela 16: Percentuais de H ₂ e CO ₂ no biogás do RMM.	57
Tabela 17: Médias dos valores de PVH em cada TDH.	59
Tabela 18: Médias dos valores de HY de cada fase de operação do RMM.	62
Tabela 19: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos.	67
Tabela 20: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMC.	68
Tabela 21: Remoções médias de DQO em RMC.	71
Tabela 22: Percentuais de H ₂ e CO ₂ no biogás de RMC.	72
Tabela 23: PVH e TCO médios em cada TDH aplicado em RMC.	75
Tabela 24: Médias dos valores de HY em cada TDH aplicado.	77
Tabela 25: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.	82
Tabela 26: Concentrações e conversões médias de carboidratos em RMV.	83
Tabela 27: Remoções médias de DQO em RMV.	86
Tabela 28: Concentrações médias de sulfato de RM em cada TDH aplicado.	87
Tabela 29: Percentuais de H ₂ e CO ₂ no biogás de RMV.	88
Tabela 30: Valores médios da TCO em cada TDH aplicado em RMV.	90
Tabela 31: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.	95
Tabela 32: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMS.	96

Tabela 33: Remoções médias de DQO em RMS.....	98
Tabela 34: Percentuais de H ₂ e CO ₂ no biogás de RMV.....	100
Tabela 35: PVH e TCO médios em cada TDH aplicado em RMS.....	101
Tabela 36: Médias dos valores de HY em cada TDH aplicado.....	104
Tabela 37: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.....	107
Tabela 38: Valores médios de pH em RMM.....	108
Tabela 39: Valores médios de pH em RMC.....	108
Tabela 40: Valores médios de pH em RMV.....	108
Tabela 41: Valores médios de pH em RMS.....	108
Tabela 42: Valores de SSV em RMM, RMC, RMV e RMS.....	109

LISTA DE ABREVIATURAS

ABR - reator anaeróbio compartimentado
AFBR - reator de fluxo ascendente de leito
Bv - taxa de carregamento volumétrico
CIMSRR - mixed immobilized sludge reactor
CaO - íons de cálcio
CO₂ - dióxido de carbono
CSTR - *continuous stirred tank reactor*
DQO - demanda química de oxigênio
EGSB - *expanded granular sludge bed reactor*
ETE - estação de tratamento de esgoto
ETA - estação de tratamento de água
EVA - etileno-acetato vinilo
GEE - gases do efeito estufa
H₂ - hidrogênio
H₂O - água
HY - *hydrogen yield*
LCA II - laboratório de controle ambiental II
Na⁺ - íons de sódio
NaOH - hidróxido de sódio
N₂ - nitrogênio
O₂ - oxigênio
PET - tereftalato de polietileno
POE - Polietileno-Octeno elastômero
PVH - produção volumétrica de hidrogênio
RAC - reator anaeróbio de contato
RALF - reator anaeróbio de leito fluidificado
RMC - reator mesofílico caldo
RMM - reator mesofílico melaço
RMS reator mesofílico sacarose
RMV - reator mesofílico vinhaça
SST - sólidos suspensos totais
SSV - sólidos suspensos voláteis

ST - sólidos totais

TCL - taxa de carregamento de lodo

TCO - taxa de carregamento orgânico

TDH - tempo de detenção hidráulica

TISTR - Instituto de Investigação Científica e Tecnológica

UASB - upflow anaerobic sludge blanket reactor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS.....	17
3	Revisão bibliográfica.....	18
3.1	Hidrogênio e sua produção biológica	18
3.1.1	Digestão anaeróbia e processo de fermentação	18
3.2	Fontes de Carbono	19
3.2.1	Caldo-de-cana	19
3.2.2	Melaço	21
3.2.3	Sacarose	26
3.2.4	Vinhaça	32
3.3	Reatores – Produção de H ₂	36
3.3.1	RALF	36
4	Material e métodos	41
4.1	Configurações do RALF	41
4.1.1	Material Suporte	43
4.2	Substratos.....	44
4.2.1	Caldo de cana-de-açúcar	45
4.2.2	Melaço	45
4.2.3	Sacarose	46
4.2.4	Vinhaça	46
4.3	Inóculo	48
4.4	Processo de partida dos RALF.....	48
4.5	Parâmetros operacionais	49
4.5.1	RMC.....	49
4.5.2	RMM.....	50

4.5.3	RMS	50
4.5.4	RMV	51
4.6	Análises Físico-químicas	51
4.7	Cálculo dos principais parâmetros	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	Reator mesofílico de melão (RMM)	53
5.1.1	Conversão de carboidratos	53
5.1.2	DQO	55
5.1.3	Composição do biogás	57
5.1.4	PVH	59
5.1.5	HY	61
5.1.6	Metabólitos solúveis	64
5.2	Reator mesofílico de caldo (RMC)	68
5.2.1	Conversão de carboidratos	68
5.2.2	DQO	70
5.2.3	Composição do biogás	71
5.2.4	PVH	74
5.2.5	HY	77
5.2.6	Metabólitos solúveis	79
5.3	Reator mesofílico vinhaça (RMV)	83
5.3.1	Conversão de carboidratos	83
5.3.2	DQO	85
5.3.3	Composição do biogás	87
5.3.4	PVH e HY	89
5.3.5	Metabólitos solúveis	91
5.4	Reator mesofílico sacarose (RMS)	96
5.4.1	Conversão de carboidratos	96

5.4.2	DQO.....	98
5.4.3	Composição do biogás	99
5.4.4	PVH	101
5.4.5	HY	103
5.4.6	Metabólitos solúveis	105
5.5	pH e sólidos suspensos	108
6	CONCLUSÕES.....	110
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112

1. INTRODUÇÃO

A necessidade energética mundial tem aumentado ultimamente e as reservas de combustíveis fósseis diminuindo, o que resulta em um efeito grave na emissão de gás carbônico (CO_2). Este tipo de poluição pode gerar problemas de saúde na população, assim como, degradação ambiental e mudanças climáticas (LEVIN et al., 2004). Por estas razões, muitos pesquisadores têm trabalhado na exploração de novas fontes sustentáveis de energia que poderia substituir os combustíveis fósseis (KAPDAN & KARGI, 2006).

Deste modo, em busca de reduzir os efeitos dos gases de efeito estufa (GEE), diversos países voltaram suas atenções para geração do etanol, porém, a geração desta fonte energética ocasiona a produção de subprodutos na indústria sucroalcooleira, como por exemplo, a vinhaça, na qual em seu manuseio e transporte ocasiona a liberação de GEE. (OLIVEIRA et. al., 2013).

Dentre as opções pesquisadas, apresenta-se como mais favorável a geração do biohidrogênio, através de tecnologias de processos biológicos. De maneira atraente, o hidrogênio (H_2) é considerado como a principal fonte energética no futuro, pois demonstra rendimento de maior eficiência e quase inexistente geração de poluentes que acarretam danos ambientes. (ROBLETO-NARVÁEZ et. al., 2013).

Em termos energéticos, a utilização dos combustíveis fósseis convencionais como: a combustão do H_2 com o oxigênio (O_2) produz somente vapor de água, a combustão de H_2 em automóveis é 50% mais eficiente do que a gasolina, o H_2 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).

Prevê-se que a contribuição de H_2 para o consumo de energia global aumentará aproximadamente 50% ao final do século 21, devido ao desenvolvimento de eficientes tecnologias de utilização de H_2 como combustível. (DAS & VEZIROGLU, 2001).

Segundo Das & Veziroglu (2001), os processos para a produção de H_2 são (a) a partir dos combustíveis fósseis; (b) a partir da água; e (c) produção biológica.

No entanto, os gastos elevados tanto energéticos quanto financeiro causam empecilho. Destacando apenas a produção biológica como opção viável para prover a geração de H_2 , pois a produção de biohidrogênio por meio da digestão anaeróbia pode utilizar diversas matérias primas. (MIZUNO et al., 2000; PANWAR et. al., 2011).

Assim sendo, o presente estudo apresenta seu diferencial investigando a produção contínua de H_2 através de processo fermentativo, utilizando quatro reatores anaeróbios de leito fluidizado, tendo como fontes de carbono principais os produtos e subprodutos da indústria sucroalcooleira (caldo, melão e vinhaça da cana-de-açúcar), além de uma fonte sintética (sacarose). Sendo verificados ainda, os efeitos da concentração de substrato, pH e tempo de detenção hidráulica sobre a produção de H_2 e avaliado também o comportamento na geração de produtos metabólitos solúveis em diferentes valores de tempo TDH e as possíveis interferências ocasionadas na produção de H_2 pelos mesmos.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de H₂ em RALF mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos (sacarose, caldo de cana, melão e vinhaça), utilizando consórcios de microrganismos anaeróbios com potencial de produzir H₂.

Visando a uma melhor compreensão do reator, nesta pesquisa, pretendeu-se atingir os seguintes objetivos específicos:

- Mensurar e avaliar a produção de H₂ com base na composição de biogás, PVH e HY.
- Caracterizar, quantificar e analisar a produção de metabólitos solúveis gerados e as possíveis interferências na produção de H₂, nos reatores apresentados.
- Mensurar e potencializar a produção de H₂ através da aplicação de distintos valores de TDH.
- Avaliar os resultados obtidos das distintas fontes de carbono utilizadas.
- Verificar a influencia dos níveis de pH, tanto para produção de H₂, como para geração de produtos metabólitos solúveis.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hidrogênio e sua produção biológica

O hidrogênio (H_2) é uma fonte de combustível limpa, produz na queima, somente água (H_2O) como subproduto, ou seja, não coopera na emissão de CO_2 , NO_2 (Dióxido de nitrogênio), enxofre ou qualquer outro poluente atmosférico particulado. O H_2 possui alta quantidade de energia, sendo uma ótima fonte de combustível, se financeiramente estiver adequado (MIZUNO et al., 2000).

A geração do H_2 ocorre de variadas formas, como por eletrólise que utiliza a luz solar ou também por meio de processamento de combustíveis fósseis. Porém, são processos de valor financeiro alto, pois consomem quantidades de energias elevadas. Assim observa-se a produção de H_2 por meio biológico, que é uma maneira mais rentável, pois se pode utilizar como matéria-prima as águas residuais ou qualquer outra biomassa (MIZUNO et al., 2000).

3.1.1 Digestão anaeróbia e processo de fermentação

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

O processo fermentativo de compostos orgânicos para a produção de H_2 é obtido por bactérias fermentativas em que este gás é liberado pela ação de hidrogenases como meio de inibir os elétrons gerados durante a degradação de hidratos de carbono. Estas bactérias possuem elevada capacidade de produção de H_2 e o podem produzir constantemente, durante o dia e a noite, crescendo e se multiplicando rápido para fornecer microrganismos para o sistema de produção (DAS & VERIZOGLU, 2001).

Neste processo, pode-se utilizar uma ampla variedade de fontes de carbono, como amido, sacarose, xilose, etc. Também há a vantagem de se produzir H_2 o dia todo e não necessitar de iluminação. Por ser um processo anaeróbio, não há problemas com a inibição de O_2 (KAPDAN & KARGI, 2006).

Dentre as varias fontes de carbono que podem ser utilizadas, pode-se incluir os produtos e subprodutos advindos da indústria sucroalcooleira, tais como caldo-de-cana, melação e a vinhaça.

3.2 Fontes de Carbono

Em reatores anaeróbios, várias fontes de carbono foram testadas, como água residuárias sintéticas: amido (WANG & CHANG, 2008), sacarose (CHEN et al., 2005; CHANG & LIN, 2004; CHEN et al., 2006; MU et al., 2006), glicose (FANG & LIU, 2002; MOHAN et al., 2007), xilose (LIN & CHENG, 2006); águas residuárias industriais: celulose (ISLAM et al., 2006; LEVIN et al., 2006), efluente de indústrias alimentícias (VAN GINKEL et al., 2005); e esgoto sanitário (MOHAN et al., 2008). Estas fontes de carbono mostraram resultados auspiciosos na produção de H₂.

3.2.1. Caldo-de-cana

A finalidade do caldo da cana é de preferência, a fabricação do açúcar (PATTRA et al., 2011). O principal açúcar encontrado no caldo de cana é sacarose com uma concentração aproximada de 200 g / L. (PLANGKLANG et al., 2012).

Roychowdhury et al. (1988) realizaram reatores em bateladas utilizando varias fontes de carbono (caldo-de-cana, amido de milho, papel sacarificado e açúcares puros) em condição mesofílica para produção de H₂. Os experimentos foram inoculados utilizando culturas mistas (sedimento de aterro e lodo de esgoto) e definidas (*Citrobacteria* ATCC6750 e *Escherichia coli*). Conforme a produção de H₂ iniciou-se o pH que foi ajustado na neutralidade, tornou-se ácido caindo para 4, o que resultou na adição de NaOH (hidróxido de sódio) para corrigi-lo. A maior PVH para caldo-de-cana foi de 48% no 5º dia de experimento. O Amido de milho atingiu um percentual de 95% na produção de H₂, na amostra em que não foi realizado o tratamento de amilase. Nos experimento realizados com papel sacarificado o melhor resultado foi de 87% no 3º dia de experimento, utilizando como inóculo sedimento de aterros. Os substratos de açúcares puros demonstraram melhores resultados quando aplicados em concentrações menores, sendo que a glicose atingiu 30% de H₂ na composição do gás produzido no experimento em que foi utilizado lodo de esgoto, já a maltose apresentou 53%. Os bons resultados tanto para substratos que são ricos em açúcar, quanto para os de açúcar puro, bem como o baixo custo na obtenção destes substratos, demonstram um encorajamento no investimento das pesquisas para produção de H₂.

Singh et al. (1994) observaram a produção de H_2 utilizando três diferentes fontes de carbono (Amido de batata, caldo-de-cana e soro de leite), inoculados com cultura definida (*Rhodospseudomonas* sp.). O experimento foi realizado em batelada, utilizando duas temperaturas distintas (33 e 45 °C) com pH de trabalho ajustado em 6,8. Os experimentos foram realizados em quatro amostras onde a melhor PVH para amido de batata foi de 43 $\mu\text{L } H_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ na 1ª amostra, o caldo-de-cana atingiu 68 $\mu\text{L } H_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ também na 1ª amostra e o soro de leite 41 $\mu\text{L } H_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ na 4ª amostras realizada. Os autores observaram o melhor desempenho do caldo-de-cana para a produção de H_2 .

Pattra et al. (2011) adotaram um CSTR para avaliar a produção de H_2 utilizando caldo de cana-de-açúcar em concentração de 25 gDQO. L^{-1} , adquirido de um canal na província de Lopburi, Tailândia, como fonte de carbono principal. A inoculação do reator foi realizada com a adição de *Clostridium Butyricum* TISTR 1032, microrganismo proveniente do Instituto Tailândia de Pesquisa Científica e Tecnológica (TISTR), o qual possui capacidade de elevar a produção de H_2 . O reator foi operado em condições mesofílica (37 °C), pH controlado em 6 e TDH (Tempo de detenção hidráulica) variando entre 36-4 h. A produção de H_2 sofreu variações conforme o TDH foi sendo seduzido (36, 24, 12, 6 e 4 h), atingindo seus melhores resultados no período em que o reator operou em TDH de 4 h, onde a produtividade de H_2 (PVH) alcançou um pico de 3,38 $\text{mmol } H_2 \cdot L^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e o rendimento de H_2 (HY) chegou a um ápice de 1,00 $\text{mol } H_2 \cdot \text{mol hexose}^{-1}$. A produção de metabolitos solúveis, assim como a produção de H_2 , também sofreu variação, sendo detectado a presença de etanol, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e ácido láctico, em concentrações médias ($\text{mg} \cdot L^{-1}$) de 2919, 1885, 1625, 2157 e 3157, respectivamente.

Plangklang et al. (2012) avaliaram em sistema de bateladas a produção de H_2 utilizando células de *Clostridium Butyricum* TISTR 1032 imobilizadas e livres. O *C. Butyricum* foi adquirido no Instituto de Investigação Científica e Tecnológica (TISTR), Tailândia. Como fonte de alimento foi utilizada o caldo da cana-de-açúcar advindo da província de Lopburi, Tailândia, em concentração que variou entre 20 e 40 gDQO. L^{-1} . Os experimentos foram realizados em triplicatas e conduzidos em uma temperatura de 37 °C. A produção de H_2 sofreu variações devido as alterações nos valores de pH e concentração de sacarose no caldo. Os experimentos variaram o pH e concentração de sacarose entre 4,5-7 e 20-40gDQO. L^{-1} . Para as células livres a melhor produção de H_2 registrada foi em pH de 6,5 e concentração de sacarose de 25gDQO. L^{-1} , sendo que a PVH e HY atingiram picos de 3,00 $L H_2 \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ e 1,33 $\text{mol } H_2 \cdot \text{mol hexose}^{-1}$, respectivamente. Nos experimentos onde as células

de *C. Butyricum* eram imobilizadas a PVH teve uma máxima de 3,11 L H₂. L⁻¹. d⁻¹ e HY de 1,34 mol H₂. mol hexose⁻¹, nas condições onde o valor do pH era de 6,5 e a concentração de sacarose de 25 gDQO. L⁻¹. Na produção de metabolitos solúveis foi notado a presença de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, etanol e butanol. Para as células livres e imobilizadas as concentrações médias (mg. L⁻¹) foram 748-804, 155-158, 3618-3476, 860-652 e 814-832, para ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, etanol e butanol, respectivamente. Os autores observaram que os experimentos onde as células de *C. Butyricum* estavam imobilizadas tiveram um melhor desempenho em relação as células livres.

3.2.2. Melaço

O melaço é advindo como produto da precipitação de açúcar e sumo. As elevadas concentrações de potássio, sulfatos, ferro, cálcio, sódio dentre variados outros elementos que o caldo possui, se dá, em respeito ao processo de cristalização (WILKIE et al., 2000; NANDY et al., 2002; CARDONA E SÁNCHEZ, 2007; PARNAUDEAU et al., 2008).

Ren et al. (2006) estudaram a produção de H₂ em um sistema de biorreator em escala piloto, utilizando o melaço (variando a TCO (Taxa de carregamento orgânico) de 3,11 à 85,57 kgDQO. m⁻³. d⁻¹), advindo de uma usina de refinação de açúcar. Para inocular o biorreator foi utilizado um lodo proveniente de uma ETE (Estação de tratamento de esgoto) em Harbin, China. A temperatura foi mantida em 35 °C e o pH acima de 7. O TDH foi reduzido durante a operação de 10,57 até 3,9. Foi observado que o melhor HY foi de 26,13 mol H₂. kgDQO⁻¹, quando a TCO estava em 27.98 kgDQO. m⁻³. d⁻¹. Já a PVH atingiu o ápice em 5,57 m³. m⁻³. d⁻¹.

Li et al. (2007) estudaram a produção de H₂ em um reator anaeróbio compartimentado (ABR), que foi alimentado com melaço advindo de uma refinaria de açúcar de beterraba em concentração de 5000 mgDQO. L⁻¹. A inoculação ocorreu utilizando um lodo proveniente de uma ETE de cervejaria. A temperatura e o TDH durante a operação, que durou 55 dias, foram de 35 °C e 13,5 h. O ABR era dividido em três compartimentos, onde o pH de cada variou até a fase de estabilização do reator (25º dia de operação), período no qual o valor registrado de 4,4, permaneceu até o fim do experimento. A PVH e HY distinguiram entre os compartimentos, chegando a um HY (L. d⁻¹) de 7,17, 15,11 e 10,23, para o primeiro, segundo e terceiro compartimentos. A PVH (L. d⁻¹) para o primeiro, segundo e terceiro compartimentos, atingiu picos de 14, 25 e 30, sendo o percentual (%) de H₂ no biogás de 51, 60 e 51, respectivamente. Foi identificado na produção de metabolitos, em concentrações

(mg. L⁻¹) para o primeiro, segundo e terceiro compartimento do reator, o etanol (443-634-908), ácido acético (432-767-1094), ácido propiônico (245-388-324), ácido butírico (108-181-269) e ácido valérico (26-84-166).

Guo et al. (2008) utilizaram um reator granular de leite expandido (EGSB) contendo carvão ativado como meio suporte, para produzir H₂. A fonte de carbono utilizada para alimentação foi o melão (diluído em água), proveniente de uma refinaria de açúcar de beterraba em Harbin, China. A fonte de inóculo do reator foi uma mistura de lodo de efluentes domésticos e lodo de um reator acidogênico que realiza tratamento de efluentes farmacêuticos. Durante a operação o pH não foi controlado, e a temperatura foi mantida em 35 °C. A TCO, DQO afluente e o TDH variaram durante a operação entre 8–120 kgDQO. m⁻³. d⁻¹, 2000-10000 mg. L⁻¹ e 6-1 h, respectivamente. O resultado proveniente do estudo demonstrou que a PVH e o HY, sofreram influência direta da variação da TCO, pois com a variação ascendente de 8–120 kgDQO. m⁻³. d⁻¹ a PVH e o HY atingiram valores de pico de 0,71 L H₂. L⁻¹. h⁻¹ e 3,47 mol H₂. mol sacarose⁻¹.

Wang e Jin (2009) avaliaram a produção de H₂ a partir de *Clostridium butyricum* W5. Alimentado com melão, um biorreator de escala laboratorial (BIOFLO 110) foi utilizado no estudo. As concentrações de melão, temperatura e pH, foram variadas para que ocorresse a observação das condições ótimas de operação. A concentração de melão variou nos valores de 20, 40, 60, 80, 100 e 120 g. L⁻¹, a temperatura entre 30-45 °C e o pH de 5,5 à 7,5. Foram observados os melhores resultados para a produção de H₂, com temperatura em 39 °C, pH a 6,5, concentração de melão de 100 g. L⁻¹. A maior PVH foi de 17,38 mmol H₂. L⁻¹. h⁻¹ e o melhor HY alcançado atingiu o pico de 1,85 mol H₂. mol hexose⁻¹.

Han et al. (2010) verificaram a produção de H₂ ao utilizar um CSTR alimentado com melão advindo de uma refinaria de açúcar de beterraba em variadas TCO (8 à 24 kgDQO. m⁻³. d⁻¹). A inoculação foi realizada a partir de lodo proveniente de um decantador de uma ETE em Harbin, China. Como material suporte para adesão das células foi adicionado o carvão ativado. Durante a operação a temperatura foi mantida na faixa mesofílica (35 °C) e o TDH em 6 h. A variação do pH e da TCO durante a operação determinou a PVH, o HY e também condicionou a produção de ácidos voláteis. Desta maneira foi observado um pico máximo de PVH e HY, quando a TCO apontava um valor de 24 kgDQO. m⁻³. d⁻¹, chegando a valores de 11,88 e 6,06 L H₂. d⁻¹, respectivamente. Embora a produção de H₂ tenha atingido seus valores máximos, a elevada TCO, resultou em uma diminuição do pH (3,5), o que ocorreu devido à elevada produção de ácidos voláteis. Foram identificados variando seus

valores em mg. L^{-1} , conforme a TCO aumentava, o ácido acético (764,7–874,8), ácido propiônico (18,6–35,5), ácido butírico (168,9–250,9), ácido valérico (14,8–26,8) e etanol (895,7–1095,6).

Lay et al. (2010) realizaram estudo onde foi verificado a produção de H_2 a partir de um CSTR alimentado com melão em concentração de 40 gDQO. L^{-1} . O reator foi inoculado com um lodo pré-tratado termicamente advindo de uma ETE em Taichung, Taiwan. O TDH de operação variou em seis fases, sendo 24, 12, 8, 6, 4 e 3 h, a temperatura foi mantida em $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e o pH 5,5 (corrigido com NaOH). Assim como o TDH, a TCO também teve variação em seus valores durante a operação ($40\text{-}320 \text{ gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). A PVH aumentou conforme o TDH era reduzido e a TCO elevada, tendo como ápice de produção $390 \text{ mmol H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, em um TDH de 3 h e TCO de $320 \text{ gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. O HY variou desordenadamente entre 0,8 a $2,1 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol hexose}^{-1}$ durante o tempo de experimento, atingindo seu maior valor de $2,1 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol hexose}^{-1}$, em um TDH de 12 h e TCO de $80 \text{ gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. A produção metabólica identificou como produtos (mgDQO. L^{-1}) o ácido acético, propiônico, butírico, valérico e etanol, os quais variaram suas concentrações em (2082-4924), (866-2781), (6641-9801), (106-2918) e (274-912), respectivamente.

Ren et al. (2010) avaliaram a produção de H_2 em dois reatores CSTR (lodo suspenso e lodo fixo), alimentados com melão proveniente de uma refinaria de açúcar, em concentrações variando entre 2000 e 10000 mgDQO. L^{-1} . Para a inoculação foi utilizado lodo de esgoto peneirado e carvão ativado como material suporte para adesão de biomassa. O TDH utilizado durante a operação foi de 6 h, a temperatura foi mantida nas condições mesofílica ($35 \text{ }^\circ\text{C}$), e o pH dos reatores variaram entre 4,5-4,8 e 3,8-4,4, para o reator de lodo suspenso e fixo, respectivamente, assim como a TCO, que teve seus valores dentro da faixa de 8-40 $\text{gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. A maior PVH foi de $9,72 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, com pH 4 e TCO de $40 \text{ gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, para o reator de leito fixo. O reator de biomassa em suspensão alcançou maior produção com TCO e pH valendo $32 \text{ gDQO. L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ e 4,5, respectivamente, atingindo um pico de produção de $6,65 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$.

Chang et al. (2011) utilizaram um reator anaeróbio de contato (RAC) para observar a produção de H_2 , a partir de variadas TCO ($20\text{-}44 \text{ kgDQO. m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$). O reator foi operado a um TDH constante de 6 h e temperatura em condições mesofílicas ($35 \text{ }^\circ\text{C}$). Como fonte de carbono foi utilizado melão, (adquirido em um usina de refinação de açúcar), diluído em água ate atingir concentrações que variaram entre 2000 e 10000 mgDQO. L^{-1} . A inoculação do reator foi realizada a partir de um lodo proveniente de um tanque de decantação

secundário, que trata águas residuais em Harbin, China. O período de operação foi dividido em quatro fases, onde ficou clara a variação das TCO (20, 28, 36 e 44 kgDQO. m⁻³. d⁻¹), DQO afluente (5, 7, 9 e 11 g. L⁻¹) e pH (6,2, 5,1, 4,9 e 4,7). Na primeira fase observou-se uma queda de 22,6 pra 1,58 L H₂. d⁻¹ na PVH, devido a presença das metanogênicas, quando a TCO foi elevada para 28 kgDQO. m⁻³. d⁻¹, as condições operacionais ocasionaram a eliminação das metanogênicas reestabelecendo elevações na produção de H₂. Nas fases seguintes o HY foi de 1,31, 1,39 e 1,40 mol H₂. mol glicose⁻¹, para fase 2, 3 e 4 respectivamente. O mesmo ocorreu para a PVH, onde nas fases 2, 3 e 4 o reator atingiu 2,43, 3,19 e 3,41 L H₂. L⁻¹. d⁻¹.

Han et al. (2012a) estudaram a produção de H₂ a partir de um reator *mixed immobilized sludge reactor* (CIMSR), que operou a uma temperatura de 35 °C e TDH de 6 h. O reator foi alimentado com melão adquirido de uma refinaria de açúcar local (Harbin, China) variando a concentração de melão no substrato durante a operação (2000–6000 mg. L⁻¹). Para inoculação o CIMSR foi preenchido com carvão ativado (como meio suporte) e lodo anaeróbico advindo da ETE local. O lodo foi mantido em temperatura ambiente e exposto a ventilação pelo período de 10 e 30 dias, respectivamente, para que não houvesse futura produção de metano. O efeito da TCO que variou entre 8–32 kg. m⁻³. d⁻¹, influenciou na produção de H₂, onde a PVH atingiu seu máximo valor quando o reator trabalhava com uma TCO de 32 kg. m⁻³. d⁻¹, chegando a 12,51 mmol. L⁻¹. h⁻¹. O HY atingiu o pico de 130,57 mmol. mol⁻¹ em uma TCO de 16 kg. m⁻³. d⁻¹. A variação do pH durante a operação indicou que elevados valores de TCO resultam em uma diminuição do pH, o que para o HY é favorável, assim como a produção de metabolitos solúveis. Identificados no estudo, os metabolitos produzidos tiveram concentrações (mmol. L⁻¹) variadas conforme o aumento da TCO, sendo etanol (16,9–55,8), ácido acético (14,7–42,41), ácido butírico (8,9–13,3) e ácido propiônico (0,8–1,33).

Han et al. (2012b) utilizaram um CSTR alimentado com melão diluído em água (DQO de 4000 mg. L⁻¹), que variou sua TCO (8 à 32 Kg. m⁻³. d⁻¹) para estudar a produção pareada de H₂ e etanol. Para a inoculação foi utilizado um lodo cujo local de aquisição e tratamento recebido foi descrito em HAN et, al. (2012a), assim como o local de fornecimento e composição do melão. A temperatura foi mantida na faixa mesofílica (35 °C) e o TDH de operação sendo de 6 h. As taxas de PVH variaram tanto para H₂ (2,89–12,4 mmol. L⁻¹. h⁻¹), quanto para etanol (5,31–20,27 mmol. L⁻¹. h⁻¹) durante a operação do reator, devido as elevações na TCO. A PVH e etanol, foram observadas em uma TCO de 24 kg. m⁻³. d⁻¹,

atingindo o pico de 12,4 e 20,27 mmol. L⁻¹. h⁻¹, respectivamente. Contudo quanto a TCO foi elevada ao seu último estágio as taxas de produção de H₂ e etanol reduziram para 8,67 e 7,23 mmol. L⁻¹. h⁻¹. Os metabolitos produzidos pelo reator (%), também sofreram variação em relação a TCO, sendo ácido acético (24–33), ácido butírico (11–20), ácido propiônico (0,8–18) e etanol (31–44).

Li et al. (2013) verificaram a produção de H₂ em um CSTR, utilizando diferentes taxas de carregamento de lodo (TCL). O reator foi inoculado com lodo advindo de um tanque secundário de decantação de uma cervejaria, e alimentado com melaço em concentração de 2000 mgDQO. L⁻¹. O reator foi operado a uma temperatura de 35 °C, TDH foi de 8 h e TCO de 6 KgDQO. m⁻³. d⁻¹. O experimento variou a TCL em 1,47, 0,75 e 0,63 kgDQO. kg MLVSS⁻¹. d⁻¹, dividindo desta maneira a operação em três fases. O pH juntamente com a TCL também apresentou alterações em seu valor, sendo 4,57, 5,31 e 4,67, para primeira, segunda e terceira fase, respectivamente. Foi observada a redução na taxa de produção de H₂, conforme a mudança de fase ocorria. A PVH (L. d⁻¹) deu-se em 8,53, 6,98 e 5,46, com composição (%) de H₂ no biogás de 55,91, 48,77 e 46,74, para primeira, segunda e terceira fase, simultaneamente. O HY (L. d⁻¹) apresentou para primeira fase (4,77), segundo (3,41) e terceira (2,55).

Wang et al. (2013) estudaram o desempenho sobre a produção de H₂ em um CSTR, utilizando um tipo de etanol fermentado e melaço diluído em água (8 gDQO. g⁻¹). Para a inoculação do reator foi utilizado um lodo anaeróbio proveniente de uma ETE em Harbin, China. Durante a operação foi variado os valores do TDH (4 a 10 h), temperatura mantida em 35 °C e pH médio 4,3. Dentre as variações de TDH, cinco valores foram avaliados (10, 8, 6, 5 e 4 h), sendo que a máxima PVH ocorreu quando o reator estava trabalhando a um TDH de 5 h, onde atingiu um ápice de 12,27 mmol. L⁻¹. h⁻¹. O melhor teor de H₂ observado durante o experimento foi de 62% do biogás produzido, que ocorreu no TDH de 6 h. Dentre os metabolitos produzidos, foram identificados com valores médios (gDQO. L⁻¹), ácido acético (0,576), ácido butírico (0,71), ácido propiônico (12,45) e etanol (2,35).

Zhu et al. (2013) utilizaram um CSTR alimentado com melaço de beterraba (4000 mgDQO. L⁻¹) advindo de uma refinaria de açúcar, para avaliar a produção de H₂. O reator foi inoculado a partir de um lodo proveniente de um decantador secundário de efluentes de cervejaria em Harbin, China. A temperatura de operação foi mantida na faixa mesofílica (35 °C) e TDH de 8 h. O pH sofreu variações durante o período inicial do experimento, iniciando-se em 7 e caindo para 4,1 no 28º dia de operação, coincidentemente com o período de

estabilização do reator. Desta maneira sua faixa de variação após a estabilização permaneceu entre 4 e 4,4. As TCO utilizadas influenciaram na produção de H₂. Inicialmente com uma TCO de 12 kgDQO. m⁻³. d⁻¹ a PVH variava entre 4,5-6 L H₂. d⁻¹, após o aumento da TCO para 18 kgDQO. m⁻³. d⁻¹, a PVH elevou-se para 10,8 L H₂. d⁻¹. Foi observado na produção de metabolitos solúveis durante o período inativo da produção de H₂, a presença de ácido acético, propiônico, butírico, valérico e etanol, em concentrações (mg. L⁻¹) de 333,2, 148,5, 202,9, 0,7 e 40,2, respectivamente. Quando houve ocorrência de estabilização do reator (28º dia), as concentrações sofreram alterações chegando a valores (mg. L⁻¹) de 436,4, 254,4, 105,5, 27,2 e 448,2, para o ácido acético, propiônico, butírico, valérico e etanol.

3.2.3. Sacarose

A sacarose é o açúcar dominante encontrado na cana, assim pode-se usar tanto o caldo, quanto a sacarose para produção H₂ (PATTRA et al., 2010).

Hao et al. (2006) utilizaram sacarose em concentração de 5000 mg. L⁻¹ e lodo advindo de um (upflow anaerobic sludge blanket reactor) UASB que realiza tratamento de esgotos em Anhui, China, para estudar os efeitos na produção de H₂ ao adicionar íons de sódio (Na⁺), em concentrações que variaram de 0 até 16000 mg. L⁻¹. A mistura do lodo e sacarose tratada para a produção de H₂ no UASB foi depositada em frascos de soro, nos quais receberam concentrações diferentes de Na⁺, sendo operados a uma temperatura de 37 °C em constante agitação. O pH foi ajustado inicialmente em 6,5, caindo para 4,2 ao fim do experimento, que foi interrompido a partir da ausência do H₂ na medição do biogás. Os autores observaram que dentre as variadas concentrações utilizadas de íons de Na⁺, os melhores resultados se deram quando as concentrações estavam entre 1000-2000 mg. L⁻¹. Sendo que a taxa específica de PVH e HY foram 7,52 – 7,83 ml. g⁻¹. h⁻¹ e 28,04 – 28,97 ml. g⁻¹, respectivamente. Na produção metabólica o rendimento de etanol foi inferior a 55,3 mg. g⁻¹, com as altas concentrações de íons de Na⁺ ocorreu uma queda na produção de propionato, butirato e valerato. De modo diferente a produção de acetato elevou-se com o aumento da concentração de Na⁺.

Lin et al. (2006) utilizaram um RALF para produzir H₂, tendo a sacarose como fonte de carbono principal, onde a concentração da mesma variou de 5-40 gDQO. L⁻¹, durante a operação. Os autores utilizaram um gel de silicone, que se define como um polímero sintético, para realizar uma mistura juntamente ao lodo (proveniente de tratamento de esgoto municipal), resultando nas células imobilizadas. O reator foi operado com o TDH variando

(reduzindo) de 8,9-2,2 h, a uma temperatura de 40 °C e pH ajustado em 6,8. Obtendo os resultados, os autores notaram uma diferença na taxa de PVH e no HY, onde as condições de TDH e variação na concentração de sacarose influenciaram para que tomassem caminhos diferentes. Para uma exemplificação do que foi colocado anteriormente, o HY tendeu a diminuir conforme a concentração de sacarose era aumentada e o TDH reduzido, diferente da taxa de PVH, que se elevou nestas mesmas condições. O melhor HY proveniente de tal estudo realizado foi de 0,18 mol-H₂. mol-sacarose⁻¹, em um TDH de 8,9 h e concentração de sacarose de 40g-sacarose. L⁻¹. A taxa de PVH teve seu ápice com um TDH de 2,2 h e uma concentração de sacarose de 40g-sacarose. L⁻¹, sendo 0,13 L H₂. L⁻¹ h⁻¹. Dentre os metabólicos produzidos, os que apareceram o ácido acético (6,91%), butírico (56,5%), propiônico (21,5%) e etanol (6,91%).

Wu et al. (2007) pesquisaram a produção de biohidrogênio e bioetanol em dois tipos de reatores, inoculados com lodo anaeróbio imobilizado. A obtenção do lodo foi realizada a partir de uma ETA municipal que se localiza em Taiwan. Porém antes de sua utilização, tal lodo recebeu um pré-tratamento, para extinguir qualquer atividade metanogênica existente. O lodo foi mantido em meio de cultura e operado continuamente com um TDH de 12 h, para preservar e estabilizar a atividade de geração de H₂. Como substrato foi utilizado os açúcares, tais como sacarose, frutose e a glicose, em concentrações de 20 g. L⁻¹ de açúcar. Na preparação do inóculo do reator, 50 ml de lodo pré-tratado foi adicionado a 90 g de Polietileno-Octeno Elastômero (POE). O RALF possuía uma coluna em vidro de 2.7 cm de diâmetro, com uma altura de 120 cm. A temperatura do leito durante a operação foi monitorada e mantida a 35 °C, assim como o pH que também recebeu um controle estabilizando entre os valores de 5,8 e 6,8. O reator foi operado a um TDH de 4 h, sua temperatura mantida em 35 °C e o pH inicial ajustado em 6. No biorreator de leito fluidizado, o rendimento tanto na geração de H₂ quanto na produção de etanol, teve elevação, devido a também elevação na velocidade de fluxo ascendente. Observando-se os três substratos na mesma concentração, os autores notaram de que para estímulo na produção de H₂ a sacarose teve vantagem sendo os maiores valores alcançados 59 mol H₂ mol. sacarose⁻¹. Já para a taxa de PVH a glicose destacou-se atingindo 1,04 mmol H₂. L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Ao passo que a Frutose tem melhor condições quando refere-se a produção e rendimento de etanol 378 mmol. .L⁻¹ h⁻¹ e 0,65 mol EtOH. mol hexose⁻¹. Além do EtOH encontrado na sacarose, glicose e frutose (56, 62 e 42%) na produção metabólica, também foi observado a presença do ácido

acético, butírico e propiônico, sendo para sacarose 27, 14 e 3 %, glicose 20, 16 e 2% e frutose 20, 24 e 14%.

Thompson et al. (2008) estudaram a produção de H₂ em um RALF, utilizando duas espécies de bactérias anaeróbias para inocular o reator, sacarose como fonte de carbono (20 gDQO. L⁻¹) e uma fórmula modificada do meio de nutriente desenvolvido por Endo (ENDO et al. 1982). O reator foi operado há uma temperatura de 37 °C, com pH variando entre 5,8-6,5 e o TDH iniciando em 9,3 h, sendo reduzido durante a operação para 4,6 h. Quando operado a um TDH de 9,3 h a PVH, não ultrapassou 0,78 L H₂. L⁻¹.h⁻¹, porém ao reduzir o TDH para 4,6 h a PVH elevou-se, atingindo 4,03 L H₂. L⁻¹.h⁻¹, melhorando juntamente o HY que chegou a um valor médio de 2,33 mol H₂. mol sacarose⁻¹. Mesmo com a redução do TDH a lavagem realizada pela sacarose não teve elevação, constatado pela verificação do consumo que atingia 99,7% da alimentação fornecida ao reator.

Lin et al. (2009) avaliaram a produção de biohidrogênio em um RALF utilizando Etileno-acetato de vinilo (EVA) para imobilizar a depuração do lodo que foi utilizado como inóculo, advindo de uma estação de tratamento de esgoto municipal (Taiwan). O reator foi operado em uma temperatura de 40 °C, variando o TDH entre 6 e 2 h. O reator foi alimentado com um meio sintético que possuía sacarose em sua composição. Durante a operação foi usado varias concentrações de sacarose (5, 10, 20 e 40 gDQO. L⁻¹.d⁻¹). As células EVA acabaram servindo como cultura bacteriana, tornando ótima a produção de H₂ e permitindo uma produção com TDHs mais baixos. Porém os autores notaram que a PVH e HY andavam em sentido contrario, ou seja, conforme o TDH diminuía favorecia uma melhor produtividade, na contra mão, o rendimento tinha melhores resultados em um TDH mais elevado. Como exemplo observa-se os números, onde a melhor PVH (1,80 ± 0,02 L⁻¹. h⁻¹. L⁻¹), foi com uma carga de 40 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ em um TDH de 2 h. Contraditoriamente, o HY por sua vez teve um melhor resultado (4,26 mol de H₂. mol de sacarose⁻¹) com uma carga de sacarose de 20 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ com um TDH de 6 h. Os metabólicos produzidos apresentaram concentrações de ácido butírico (68,18%), acético (18,74%), propiônico (9,43%) e etanol (3,41%).

Yuan et al. (2010) suplementaram um CSTR (Reator contínuo de tanque agitado) para analisar o aumento de seu desempenho. O CSRT foi inoculado com culturas mistas, sendo a principal delas a *Clostridium pasteurianum*. Alimentado com 11,1 gDQO. L⁻¹ de sacarose e operado a uma temperatura de 35 °C. O TDH que teve redução variando entre 8 e 2 h ocasionou diferentes comportamentos em relação ao desempenho desenvolvido pelo reator. Conforme o TDH foi sendo reduzido de 8 à 4 h, a produção volumétrica e rendimento de H₂

aumentaram. No entanto, quando o TDH estava em 4 h, o reator foi suplementado com íons de Cálcio (Ca), o que fez com que a produção volumétrica e rendimento de H₂ diminuíssem. No entanto, ao chegar a um TDH de 2 h, o reator suplementado com Ca, aumentou seus valores de PVH e HY. Deste modo, PVH e HY, atingiram seus valores máximos de 24,5 L H₂. d⁻¹. L⁻¹ e 3,74 mol H₂. mol de sacarose⁻¹, respectivamente. A produção metabólica destacou como principais produtos, em concentrações que variaram entre as fases em mg. L⁻¹, o ácido acético (570 - 2710), propiônico (190 – 830), butírico (1060 – 2260) e o etanol (300 – 1280).

Ngoma et al. (2011) avaliaram a interferência da temperatura e da taxa de reciclagem de efluente na produção de H₂ utilizando grânulos bacterianos. Para o estudo foi utilizado dois reatores RALF, onde possuíam temperaturas distintas, sendo 45 °C e 70° C, respectivamente. Como fonte de alimento a formula do Endo (ENDO, et al., 1982) foi adaptada e solubilizada a uma concentração de sacarose de 17,8 gDQO. L⁻¹. Foi utilizado para inoculação um lodo proveniente de digestores anaeróbios em Johannesburgo e mantidos a um pH de 7. O TDH foi reduzido durante o estudo de 2,2 até 1,34 h. Durante a operação a taxa de reciclagem aumentou onde passou de 1,3-3,5 L. min⁻¹, resultando em um aumento na vazão e na PVH, sendo 10,6-43,2 e 13,8-73,8 L.h⁻¹, 2,1-8,7 e 2,8-14,8 L-H₂.L⁻¹.h⁻¹, respectivamente, para os reatores de 45 °C e 70 °C. O HY também correspondeu ao aumento da taxa de reciclagem, elevando-se em 0,3-1,24 e 0,41-2,2 mol H₂. mol glicose⁻¹, para os reatores de 45 e 70 °C, respectivamente. Os autores observaram que tanto para rendimento, quanto para produção de H₂, o reator com temperatura de 70 °C obteve resultados melhores.

Obazu et al. (2012) realizaram um estudo onde obtiveram produção de H₂ através de um sistema de RALF (R1, R2, R3, R4 e R5) inoculados com uma mistura de lodo de esgoto com estrume de vacas e alimentados com um meio nutriente que utilizava uma formulação de Endo (ENDO et al, 1982) e sacarose a uma concentração de 17,8 gDQO. L⁻¹ como fonte de carbono. O TDH foi variado de 8 a 1,6 h. As temperaturas e pH tiveram variações nos reatores (considerando o sistema geral), variando em 45-70 °C e 7,09, respectivamente. Conforme tais parâmetros eram alterados a taxa de PVH e HY, também sofriam alterações. Foi observado que a taxa de PVH atingiu seu ápice de 9,40 L H₂. L⁻¹ d⁻¹, no reator R3, onde temperatura e pH encontravam-se na faixa de 70 °C e 5,5, respetivamente. Já o HY teve seu maior valor no R5, onde a temperatura foi elevada a 70 °C e o pH regulado em 7,8, atingindo os valor máximo de 3,55 mol H₂. mol sacarose⁻¹.

Wu et al. (2012) utilizaram em seu estudo adição de íons de cálcio (Ca^{2+}), para potencializar a produção de H_2 , onde também foram utilizadas células imobilizadas. O estudo foi realizado em um RAFL, sendo alimentado com sacarose em uma concentração de 20 gDQO. L^{-1} , a uma temperatura e pH de 40 °C e 6,8, respectivamente. O reator foi inoculado com lodo obtido a partir de uma estação de tratamento de esgoto. O TDH foi variado durante a operação iniciando-se em 12 h, devido à necessidade de uma vazão baixa para cultivo. No momento em que o reator chegou à fase estável, o TDH foi variando entre os intervalos 8 à 2 h. Durante o processo foi observado que a PVH crescia conforme o TDH era reduzido, com o TDH variando de 12 até 2 h os valores obtidos foram 0,29-1,22 $\text{L-H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. O HY máximo ocorreu no TDH de 2 h onde foi adicionado 100 ppm de Ca^{2+} no reator, chegando a um valor de 3,76 $\text{mol H}_2 \cdot \text{mol sacarose}^{-1}$. Os metabólicos formados foram o ácido butírico (52%), acético (22%), propiônico (19%) e etanol (6%). Assim os autores chegaram a conclusão que a adição de íons de cálcio no reator com células imobilizadas, pode ocasionar melhoria na produção de H_2 .

Lima et al. (2013) realizaram um estudo onde comparou-se a produção de H_2 , utilizando duas fontes de carbono diferentes (sacarose e glicose). O experimento foi realizado em dois reatores de configuração RALF, ambos trabalhando em um TDH de 2 h, com duração de 60 dias. A inoculação se deu através da fermentação natural da alimentação. O material suporte utilizado para a fixação da biomassa foi polietileno reciclado com baixa densidade. A temperatura e o pH foram ajustados em 25 °C e 6,5. As concentrações de sacarose e glicose utilizadas foram de 1781,24 e 1875 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que no HY a sacarose atingiu um máximo valor de 3,22 $\text{mol H}_2 \cdot \text{mol sacarose}^{-1}$, enquanto a glicose chegou a 1,51 $\text{mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$. A PVH foi de 4,83 e 3,96 $\text{L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, para sacarose e glicose. A produção de metabolitos apresentou respectivamente para sacarose e glicose ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), ácido acético (318,92 e 294,55), propiônico (38,77 e 48,33), butírico (124,31 e 148,96), lático (60,62 e 99,23) e etanol (205,14 e 196,55). A partir dos resultados, os autores observaram no que se refere à produção de H_2 , tanto no HY, quanto na PVH, que o reator que utilizou sacarose como fonte de alimento, foi superior ao de glicose.

Munoz-Páez et al. (2013) utilizaram dois RALF para analisar os efeitos de duas temperaturas, 35 °C (RALF-M) e ambiente (RALF-A) e de duas taxas de carregamento volumétrico de substrato (B_v), 5 e 8 $\text{gDQO} \cdot \text{L}^{-1}$. Os reatores utilizados foram inoculados com lodo metanogênico, o qual foi condicionado a um choque térmico (90 °C, 1 h) antes de serem aplicado aos reatores. O efluente depositado aos RALF era sintético, e para cada litro

adicionado de tal efluente, 5 ou 8 gDQO. L⁻¹ eram adicionados como fonte de carbono. O RALF utilizado possuía colunas de vidro com 4,5 cm, diâmetro interno de 185 cm e 3 L para volume de operação. Como suporte foi utilizado o carvão ativado granular (diâmetro de 1 e 2 mm) e o TDH foi de 24 h. Durante a operação dos reatores, a produção de H₂, pH e concentração de metabólitos solúveis, credenciava-se como os parâmetros de controle. Os autores observaram que durante o período inicial de operação com uma Bv de 5 gDQO. L⁻¹, o rendimento na produção de H₂ no biogás era baixo. O período inicial teve duração de 20 d, posteriormente a Bv foi elevada para 8 gDQO. L⁻¹, resultando em um aumento significativo no rendimento da produção de H₂ no biogás, onde a elevação representou 5,5 e 6,3 vezes para temperatura ambiente e mesofílica, respectivamente. Em uma análise geral o RALF-A foi superior ao RALF-M se tratando de HY e PVH, sendo o HY de 1,75 – 0,79 mol-H₂. mol-sacarose⁻¹ e a PVH 0,92 e 0,42 L-H₂. L⁻¹ d⁻¹, para RALF-A e RALF-M, respectivamente. Os metabólitos observados no RALF-A e RALF-M tiveram concentrações variadas devido ao aumento da Bv de 5 – 8 gDQO. L⁻¹, sendo que para uma Bv de 5 gDQO. L⁻¹ as concentrações foram o ácido acético (39,9 – 29%), butírico (30 – 30%), propiônico (28,1 – 40,2%), etanol (0,8 – 1,7%) e Butanol (1,1 – 0%). Na Bv de 8g-sacarose. L⁻¹.d⁻¹, as concentrações atingiram para ácido acético (27 – 25%), butírico (59 – 30%), propiônico (9 – 7%), etanol (2 – 36%) e Butanol (3 – 1%), para RALF-A e RALF-M, respectivamente.

Penteado et al. (2013) estudaram a produção de H₂ sendo influenciada por formas diferenciadas de inoculação, utilizando RALFs, com um material suporte de poliestileno reciclado. Foram adquiridos lodos de reatores UASB, tratando efluente de suinocultura (Sw) e de abatedouro de aves (Sl), que sofreram pre-tratamento de choque de calor (HE) e choque ácido (Ac). A inoculação dos RALFs, foi realizada com lodos antes e depois dos pre-tratamentos (Sw, Sl, SwHE, SWAc, SiHE e SIAc) além autofermentação. Operados por 60 dias, os reatores foram alimentados com sacarose em concentração de 1781,24 mg. L⁻¹, pH corrigido em 6,5 e temperatura estabilizada em 25 °C. Os resultados obtidos demonstraram que o pré-tratamento ocasionou uma melhor eficácia na PVH, onde os valores (ml H₂. L⁻¹. d⁻¹) de SIHE (51,7), SIAc (61,6), SwHE (21,1) e SwAc (26,7), foram superiores aos 15,1 e 23,2 ml H₂. L⁻¹. d⁻¹ de Sw e Sl, respectivamente. Já para o HY a autofermentação obteve a maior média (2,1 mol H₂. mol sacarose⁻¹). Na produção metabólica, foram identificados a presença de ácido acético, butírico, propiônico e etanol, sendo que SIAc obteve maior concentração em todos atingindo 63, 251, 33 e 217 mg. L⁻¹, para ácido acético, butírico, propiônico e etanol, respectivamente.

3.2.4. Vinhaça

O foco de diversos pesquisadores para a questão da utilização e do tratamento da vinhaça é descobrir as melhores práticas. Desta forma, a fertirrigação, fermentação sendo utilizada para a reciclagem da vinhaça, geração de energia e levedura, concentração por evaporação dentre outros métodos, foram citados como possibilidades. (ROBERTIELLO, 1982).

A grande quantidade de vinhaça gerada até meados da década de 70 eram lançadas em corpos d'água próximos as indústrias sucroalcooleira. Desta forma a vinhaça foi apontada como subproduto de toxicidade elevada (CHRISTOFOLETTI et al., 2013). O potencial poluidor da vinhaça é 100 vezes maior do que o esgoto doméstico, por conta da sua elevada quantidade de carga orgânica. (FREIRE & CORTEZ, 2000; KANNAN & UPRETI, 2008).

A composição química da vinhaça varia conforme a planta que é utilizada nos processos de destilação e produção de etanol. (CHRISTOFOLETTI et al., 2013).

Os gases de efeito estufa (GEE) tem como fonte expressiva a vinhaça de cana de açúcar. (CHRISTOFOLETTI et al., 2013). Produzidos pelo processo de decomposição anaeróbia e aeróbia da carga orgânica derivada da vinhaça, as emissões de poluentes atmosféricos ocorrem nos períodos de armazenamento, transporte e aplicação ao solo (OLIVEIRA et al., 2013).

Lazaro et al. (2014) estudaram a interferência da temperatura e da concentração de substrato na produção de H_2 por meios de testes em bateladas, utilizando vinhaça de cana-de-açúcar adquirida em uma destilaria em Ibaté, São Paulo. As concentrações de vinhaça variaram entre 2-12 gDQO. L^{-1} e as temperaturas utilizadas foram mesofílica (35 °C) e termofílica (55 °C). Foram utilizadas garrafas com capacidade volumétrica de 2 l para o experimento, que foi realizado em triplicata para todas as condições (temperatura e concentração de substrato). A fonte de inóculo foi um lodo proveniente de um abatedouro de aves (Avícola Dacar) em Tiete, São Paulo, que recebeu tratamento térmico. O pH dos experimentos foram regulados em 5,5 e incubados para respectivas condições de temperaturas. Os resultados observados nos testes indicam que a taxa de PVH, aumentou conforme a concentração de substrato também aumentava, sendo maiores valores de produção de 0,6 e 0,2 L. d^{-1} para os experimentos em condições mesofílica e termofílicas, em concentração de substrato de 12 gDQO. L^{-1} . Entretanto o HY demonstrou certa estabilidade na condição mesofílica, variando entre 1,72 e 2,23 mmol H_2 . gDQO $^{-1}$, sendo que seu melhor

resultado foi alcançado com uma contração de vinhaça de 7 gDQO. L⁻¹. Os experimentos em condição termofílico demonstrou uma queda no rendimento conforme a concentração de vinhaça aumentava, sua variação foi de 2,31-0,44 mmol H₂. gDQO⁻¹, onde seu melhor HY foi à concentração inicial (2 gDQO. L⁻¹). Os autores concluíram que melhores rendimentos de H₂ ocorreram em concentrações baixas de vinhaça, o que demonstra que sob estas condições é possível realizar a produção de H₂ utilizando vinhaça de cana-de-açúcar.

Santos et al. (2014a) utilizaram dois reatores (R1 e R2) em concentrações de 10 e 30gDQO. L⁻¹, respectivamente, para verificar o efeito das diferentes TCO aplicadas na produção de H₂. Os reatores foram preenchidos com cinasita como meio suporte de adesão da biomassa, inoculados com lodo de reator UASB tratado termicamente, operados em condições termofílicas (55 °C), com pH ajustado em torno de 4,5 e TDH variando entre 6, 4, 2 e 1 para R1 e 8, 6, 4, 2 e 1 para R2. As TCO aplicadas variaram entre 40 e 240 kg DQO. m⁻³. d⁻¹ para R1 e 90 à 720 kg DQO. m⁻³. d⁻¹ para R2. Para R1 o melhor HY que atingiu 2,86 mmol. gDQO⁻¹ aplicada, ocorreu com aplicação da TCO de 40 kg DQO. m⁻³. d⁻¹, no TDH de 6 h. Em R2 o pico de HY foi de 0,79 mmol. gDQO⁻¹ aplicada quando a TCO aplicada foi de 120 kg DQO. m⁻³. d⁻¹ e TDH de 6 h. A PVH atingiu maior valor em R1 no TDH de 1 h e TCO de 240 kg DQO. m⁻³. d⁻¹, sendo observado 1,96 L H₂. h⁻¹. L⁻¹. A PVH mais elevada de R2 que foi de 0,81 L H₂. h⁻¹. L⁻¹ ocorreu na aplicação da TCO de 360 kg DQO. m⁻³. d⁻¹ e TDH de 2 h. Na produção de metabólitos as maiores concentrações foram de ácido acético, butírico, succínico e propiônico. A presença do ácido acético e succínico dentre os metabólitos produzidos interferiu na produção de H₂, bem como que em ambos os reatores a TCO era elevada o HY era reduzido, aumentando apenas a PVH.

Santos et al. (2014b) investigaram a capacidade de produção contínua de H₂ sob condições termofílicas (55°C), a partir de diferentes concentrações de vinhaça de cana-de-açúcar em RALF utilizando argila expandida (cinasita) como material suporte para a adesão microbiana. Foram utilizados 5 reatores de idênticas configurações, denominados R5, R10, R15, R20 e R30, com variação na concentração afluente de 5.000, 10.000, 15.000, 20.000 e 30.000 mgDQO.L⁻¹, respectivamente (com cargas orgânicas volumétricas – TCO entre 15 e 720 kgDQO.m⁻³.d⁻¹). O TDH reduziu de 8, 6, 4, 2 e 1 h. Na estratégia de operação de um deles, (R5) investigou-se os efeitos da co-fermentação de porcentagens de glicose e de vinhaça no substrato de alimentação. Os outros quatro reatores foram operados mediante a adição de glicose como co-substrato ao afluente, apenas durante o período de partida operacional. Em todos os reatores, foi observado comportamento de elevação na PVH a partir

da diminuição do TDH. A máxima PVH obtida foi de $1,96 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ (R10; TDH de 1 h; TCO de $240 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$). No entanto, verificou-se diminuição no HY e no conteúdo de H_2 no biogás, com a aplicação dos TDHs reduzidos, em todos os reatores, alcançando valor máximo de $4,62 \text{ mmol.gDQO}^{-1}$ no TDH de 8 h (R5) e $57,51\%$ de H_2 no TDH de 6 h (R20). O reator operado com maior concentração de vinhaça (R30) apresentou menores valores de produção de H_2 , atribuídos aos compostos inibitórios (elevada concentração de ácidos voláteis no afluente – butírico e acético). As análises de clonagem e sequenciamento dos consórcios bacterianos termofílicos revelaram semelhanças (99%) com cepas produtoras de H_2 , como *Thermoanaerobacterium*, *Thermosaccharolyticum*, *Clostridium cellulosi*, *Lactobacillus fermentum* e *Megasphaera elsdenii*. A capacidade de produzir H_2 , a distribuição dos ácidos e a estrutura da comunidade bacteriana foram fatores influenciados pelo aumento da concentração de vinhaça e das TCO aplicadas.

Santos et al. (2014) avaliaram a produção de H_2 a partir da variação da TCO e redução do TDH, utilizando dois RALF (R1 e R2) operados em condição termofílica, inoculados com lodo proveniente de um UASB e preenchidos com argila expandida (cinasita). O TDH de ambos os reatores foi reduzido entre 6 e 1 h e a TCO elevada de 60 à $360 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ para R1 e 60 à $4800 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ para R2. Conforme a TCO era aumentada e o TDH reduzido, a PVH elevou-se entre $0,45$ - $1,49 \text{ L H}_2.\text{h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ para R1 e $0,54$ - $1,20 \text{ L H}_2.\text{h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em R2. Em contrapartida o HY sofreu uma queda no aumento de TCO e redução de TDH, onde o melhor resultado observado foi de $2,23 \text{ mmol.gDQO}^{-1}_{\text{aplicada}}$ em R1. Os valores de HY em R1 e R2 variaram de $2,23$ - $1,62 \text{ mmol.gDQO}^{-1}_{\text{aplicada}}$ e $1,85$ - $1,51 \text{ mmol.gDQO}^{-1}_{\text{aplicada}}$, respectivamente. Dentre os produtos metabólicos produzidos, observou-se a presença de ácido succínico, láctico, butírico, acético, propiônico, Isobutírico e etanol, destacando-se uma maior concentração de ácido láctico.

Ferraz JR. et al. (2015a) realizaram um estudo onde foram operados quatro RALF alimentados com vinhaça, utilizando materiais suportes distintos para produzir H_2 . A inoculação foi realizada por meio de águas residuais advindas de processo de fermentação (reutilizadas). Os reatores foram operados em condições mesofílica ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), TDH de 24 h, pH ajustado em torno de 5,5 e TCO de $36,4 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Os materiais suportes utilizados argila expandida (CE), carvão vegetal (Ch), cerâmica porosa (PC) e poliestireno de baixa densidade (LPD) influenciaram na produção volumétrica e rendimento de H_2 . Os autores observaram que os reatores que utilizavam a LDP e CE como suporte, registravam os melhores resultados de produção de H_2 , sendo a PVH de $509,5$ e $404 \text{ ml H}_2.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, para LDP

e CE, respectivamente. Os reatores que utilizaram Ch e PC registraram PVH inferiores, sendo 81,4 e 10,3 ml H₂. L⁻¹. d⁻¹. O máximo HY dos quatro reatores foram 3,2, 2,6, 0,4 e 0,05 mol H₂. mol hidratos⁻¹, para LPD, CE, Ch e PC. Dentre os metabólitos identificou-se a presença de ácido acético, propiônico, butírico, valérico, caprótico, metanol e etanol, em concentrações (g. L⁻¹) de 0,03, 0,17, 0,77, 1,48, 1,39, 0,35 e 0,07 para CE, 0,09, 0,06, 1,97, 1,3, 1,58, 0,28 e 0,05 para Ch, 0,12, 0,05, 1,79, 1,4, 1,75, 0,32 e 0,05 para PC e 0,02, 0,16, 0,86, 1,45, 1,24, 0,34 e 0,05 para LPD, respectivamente.

Ferraz JR et al. (2015b) estudaram a produção de H₂ em um reator anaeróbio de fluxo ascendente (APBR). O reator foi preenchido com poliestireno de baixa densidade como meio suporte, a fonte de carbono utilizada foi a vinhaça e a inoculação foi realizada com água residual natural do processo de fermentação da própria vinhaça. O reator foi operado em condições termofílicas e pH mantido na faixa de 5,5. A melhor PVH do reator foi de 5252,6 ml H₂. d⁻¹ e o melhor HY atingiu 3,7 mol H₂. mol glicose⁻¹. Na produção de metabólitos as maiores concentrações observadas foram as de ácido acético e butírico, produzindo e quantidades menores o ácido propiônico, valérico, caprótico e etanol.

Reis et al. (2015) avaliaram a produção de H₂ em RALF utilizando duas fontes de carbonos distintas. Para o estudo foram utilizados dois RALF carregados com substratos em concentrações de 5 e 10 gDQO. L⁻¹. Os reatores foram denominados R5 e R10, alimentados inicialmente apenas com glicose, posteriormente adicionando a vinhaça. A adição de vinhaça foi realizada gradualmente (0, 25, 75 e 100%), dividida em fases com duração de 40 dias cada. O TDH de operação foi mantido em 6 h até o reator ser alimentado apenas com vinhaça, após esta fase, o TDH foi sendo reduzido para 4, 2 e 1 h. A temperatura de operação era ambiente (22 °C) e o pH ajustado entre 4-5. A inoculação dos reatores ocorreu através de um lodo advindo de um UASB que trata efluentes de suinocultura, que recebeu tratamento térmico. Durante a inclusão da vinhaça como fonte de alimento, eram identificadas na produção de biogás H₂ e CO₂, entretanto foi observada a produção de CH₄ na quinta fase (reator alimentado apenas com vinhaça e TDH de 4 h). Em R5 a produção de CH₄ parou quando o TDH foi reduzido para 1 h, porém em R10 continuou mesmo em TDH baixo. A maior PVH foi de 0,57 L H₂. L⁻¹. h⁻¹, em R5 com TDH de 1 h. O HY também sofreu alterações devido produção de CH₄, em R5 o máximo rendimento alcançou 3,07 mmol H₂. gDQO⁻¹ na terceira fase (reator alimentado com 75% de vinhaça e 25% de glicose em um TDH de 6 h), porém foi diminuindo conforme o início da presença de CH₄, chegando a um valor mini de 0,3 mmol H₂. gDQO⁻¹, na sexta fase (alimentação 100% de vinhaça em TDH de

2 h). No R10 o melhor HY ocorreu na segunda fase (alimentação 100% de vinhaça, com TDH de 2 h), onde atingiu o pico de $1,96 \text{ mmol H}_2 \cdot \text{gDQO}^{-1}$. Os autores constataram que com a inibição do CH_4 o melhor HY, com o reator sendo alimentado apenas com vinhaça ocorreu em R10. Na produção de metabolitos identificou como principais produtos formados o ácido butírico, etanol e o metanol.

3.3 Reatores – Produção de H_2

A produção biológica de H_2 pela fermentação foi pesquisada em variados reatores pelos autores. (Englobado a eles, podemos mencionar o reator anaeróbio de leito fixo (CHANG et al., 2002); LEITE et al., 2008); reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) (WU et al., 2003; ZHANG et al., 2007; SHIDA, 2008); UASB (CHANG & LIN, 2004).

3.3.1 RALF

O reator anaeróbio de leito fluidizado tem atraído grande interesse, e vem sendo objeto de pesquisa, principalmente a partir do final da década de 70. Este tipo de reator mostrou-se tecnicamente adequado e foi aplicado com sucesso no tratamento de águas residuárias municipais (JERIS & OWENS, 1975), efluentes industriais (HICKEY & OWENS, 1981) e, águas residuárias contendo compostos tóxicos, como fenóis e clorofenóis (HAKULINEN & SALKINOJA-SALONEN, 1981).

No reator biológico de leito fluidizado são comuns áreas superficiais de aproximadamente $3000 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ de leito, resultando em concentração de biomassa extremamente alta, geralmente 8.000 a $40.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (HICKEY & OWENS, 1981; HOLST et al., 1997). Isto permite que o tamanho do reator e o tempo de tratamento sejam consideravelmente reduzidos.

A capacidade de retenção de elevada concentração de microrganismos ativos é julgada responsável pela habilidade atribuída a essa configuração de reator em tratar efluentes líquidos diluídos. Esse reator é também resistente às alterações bruscas de carga orgânica, de concentração de compostos julgados potencialmente tóxicos, de temperatura e pH (BULL et al., 1983). Esta facilidade de adaptação às mudanças ambientais e variações da carga pode ser explicada também pela elevada concentração de biomassa no reator.

Em virtude das vantagens atribuídas ao processo anaeróbio pela fluidização do meio suporte, pesquisas de produção de H_2 vêm sendo realizadas em RALF.

Zhang et al. (2007) estudaram a produção de H₂ em RALF tendo carvão ativado granulado como material suporte e glicose como substrato. Os autores operaram o reator sob diferentes TDH (4-0,5h) e concentração fixa de substrato orgânico (10 g.L⁻¹) e outra variando a concentração do substrato (10-30 g.L⁻¹) para TDH fixo de 1h. A temperatura de operação foi 37°C (mesofílica) e o pH foi mantido em 4. A PVH e a composição no biogás obtida durante o experimento apresentam relação linear com a redução do TDH. A PVH variou entre 2,4 e 4 L.h⁻¹.L⁻¹ com o aumento do TDH. A composição de H₂ no biogás variou (61% a 57%) com a diminuição do TDH e foi observada a estabilidade na composição (59%) sob a variação da carga orgânica. Não houve produção de metano e foram formados ácido acético (43-46%), ácido butírico (20-31%), etanol (14-21%) e hexanoato (7-10%) com poucos traços de ácido propiônico (0-3%). Os metabólicos encontrados diminuíram a sua parcela no biogás à medida que era diminuído o TDH. Foi observado que o RALF apresentou grande capacidade de operar sob altas taxas orgânicas, aumentando a produção de H₂ e que a ausência de ação metanogênica deveu-se à manutenção dos níveis de pH em condições baixas.

Amorim (2009) estudou em RALF alguns parâmetros para a produção de H₂, tais como a influência da adição de agente alcalinizante, o efeito de diferentes concentrações do substrato orgânico e a influência da taxa de carregamento orgânico. Foram operados 8 reatores, cada um sob diferente concentração de 2000, 4000, 10000 e 25000 mg.L⁻¹, com e sem a adição de agente alcalinizante. O efeito da taxa de carregamento orgânico foi avaliada em virtude da variação de TDH aplicado em cada reator o qual variou de 8 a 1h. Segundo o autor, foi verificado que a condição de 4000 mg.L⁻¹ com adição de agente alcalinizante foi a melhor, uma vez que, apresentou a melhor distribuição de metabólitos favoráveis à produção de H₂ (ácido acético e ácido butírico).

Barros et al. (2010) estudaram a influência de diferentes materiais suporte de imobilização para a produção de H₂ em RALF. Acredita-se que a boa escolha do material suporte empregado tenha grande influência na aplicabilidade dos sistemas de crescimento aderido para a produção de H₂. Os autores estudaram a aplicabilidade de dois materiais suportes: poliestireno e argila expandida, água residuária sintética na concentração de 4000 mg.L⁻¹ de glicose foi utilizada. Foi observado que as partículas de argila expandida foram mais eficazes para a produção de H₂, apresentando valores máximos de 1,21 L-H₂. H⁻¹.L⁻¹ e 2,59 mol-H₂.mol-glicose⁻¹, para PVH e HY, respectivamente. Segundo os autores, as características físicas da partícula de argila expandida, tal como maior porosidade e superfície rugosa, permitiu a boa adesão dos microrganismos produtores de H₂.

Barros et al. (2011) estudaram a produção de hidrogênio (H_2) em reator RALF para tratar águas residuais sintéticas que possuíam em sua composição 4000 mg.L^{-1} de glicose, utilizando como meios suportes pneu triturado (R1) e tereftalato de polietileno (PET) (R2). Como inoculo foi utilizado o lodo obtido de um reator UASB, em um abatedouro de suínos. Durante a operação o Tempo de detenção hidráulica (TDH) variou entre 8 e 1 h, a temperatura do reator foi mantida em $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (condição mesofílica) e o pH mantido na faixa de 5,5. Segundo os autores, as partículas de pneu triturado apresentavam maior rugosidade, o que favorecia acumular uma maior quantidade de biomassa. Assim sendo, o reator que trabalhava com pneu triturado obteve uma maior eficácia apresentando valores maiores referente ao HY, chegando a um ápice de $2,25 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol-glicose}^{-1}$, em um TDH de 2 h. Já a taxa de PVH foi mais bem observada no reator que continha PET chegando há um valor máximo de $1,07 \text{ L-H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ no TDH de 1 h. Nos reatores R1 e R2 foi observado concentrações de ácido acético (34 - 26,81%), butírico (31 - 25,45%), láctico (19,52 - 17,78%), propiônico (1,61 - 1,13%) e etanol (19,52 - 17,78%), respectivamente.

Barros & Silva (2012) utilizaram três meios suportes diferentes (poliestireno (R1), pneu triturado (R2) e PET (R3)) em RALF para investigar a produção de H_2 e etanol (EtOH) de forma simultânea, utilizando como substrato um efluente sintético que possuía como fonte de carbono glicose em uma concentração de 4000 mg.L^{-1} . Para inoculação dos reatores foi utilizado um lodo proveniente de um reator UASB que trata efluentes suínos. Os três reatores foram operados a pH de 5 e temperatura que esteve entre 20 e $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O THD durante o processo variou, sendo reduzido de 8 até 1 h. O HY teve seu maior valor no reator que utilizava pneu aterrado (R2), sendo $2,11 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol-glicose}^{-1}$ em um TDH de 2 h, ainda no R2 a produtividade alcançou o melhor desempenho no respectivo TDH, sendo $0,36 \text{ L-H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Em R1 e R3 obtiveram uma elevação na PVH quando o TDH se reduziu de 8 para 1 h, sendo $0,52$ e $0,30 \text{ L-H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, nos TDHs de 4 e 1 h, respectivamente. Dentre os metabólitos produzidos durante a operação observou-se em R1 o ácido acético (9,84%), butírico (30,16%) e etanol (60%), em R2 detectou-se o ácido acético (17,01%), butírico (39,6%) e etanol (43,39%) e em R3 ácido acético (12,38%), butírico (28,04%), propiônico (1,88%) e etanol (57,70%).

Shida et al. (2012) avaliaram através de dois RALF alimentados com glicose (2000 mg.L^{-1}), os efeitos da taxa de carregamento orgânico e adição de tampão (bicarbonato de sódio) para produzir H_2 . Inoculado com lodo de suinocultura, os reatores foram operados à temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e argila expandida como material suporte para a biomassa, sendo o

RALF2 o reator em que foi acrescentado o tampão. O pH durante a operação manteve-se na faixa de 3,7-4,1 e 5,1-5,5 para RALF1 e RALF2, respectivamente, e o TDH foi reduzido de 8 para 1 h. As taxas de carregamento orgânico variaram entre 19 e 140,6 Kg DQO m³ d⁻¹. O HY aumentou conforme o TDH foi sendo reduzido, porém sofreu decréscimo quando o TDH atingiu 1 h, diferente da taxa de PVH, que só aumentou durante todo processo de redução do TDH, para ambos os reatores. O maior rendimento de H₂ ocorreu com um carregamento orgânico de 84,3 kg DQO m³ d⁻¹, durante o TDH de 2 h, atingindo os valores 2,45 e 1,90 mol-H₂. Mol-glicose⁻¹ para RALF1 e RALF2, respectivamente. As PVH atingiram o ápice quando estavam com um carregamento orgânico de 140,6 kg m³ d⁻¹, onde os valores atingidos foram 0,95 L h⁻¹ L⁻¹ para RALF1 e 0,76 L h⁻¹ L⁻¹ em RALF2. Dentre os metabólitos formados em RALF1 predominou a presença de ácido acético (50,37%), butírico (37,47%) e etanol (12,16%), já para RALF2 foram o ácido acético (39,70%), butírico (14,33%), propiônico (11,13%) e etanol (34,84%).

Rosa et al. (2014a) avaliaram a produção de H₂ e etanol em dois reatores RALF (RALF1 e RALF2), utilizando fontes de carbonos diferenciadas em uma concentração de 5000 mg. L⁻¹ (glicose, soro de queijo e concentrações de soro de queijo e glicose de forma misturada) e dois tipos de lodos provenientes de um reator UASB para a inoculação, sendo o de tratamento de águas residuais suínas (RALF1) e de abatedouro de aves (RALF2). Como meio suporte foi utilizado o poliestireno. Os reatores foram mantidos a uma temperatura de 30 °C, operados com um TDH de 6 h a um pH de 6. No processo que utilizou a glicose como fonte de carbono o teor de H₂ foi de 16,25 e 26,25%, com uma PVH de 0,96 e 1,92 L H₂. h⁻¹ L⁻¹ e HY de 0,9 e 1,37 mol H₂. mol glicose⁻¹, para RALF1 e RALF2. Os metabólicos observados com esta fonte de carbono foram ácido láctico (3,9 e 1,63%), acético (15,96 e 10,57%), propiônico (21,01 e 21,27%), isobutírico (3,52 e 5,35%), butírico (5,33 e 3,76%), metanol (49,74 e 53,56%) e etanol (0,45 e 3,81%) para RALF1 e RALF2, respectivamente. Para operação utilizando soro de queijo, obteve-se um teor de H₂ de 28,2 e 23,2%, taxa de PVH de 2,88 e 2,88 L-H₂. d⁻¹ L⁻¹ e um HY de 1,27 e 1,1 mol H₂. mol Lactose⁻¹ para RALF1 e RALF2, respectivamente. Os metabólicos produzidos em RALF1 e RALF2 foram o ácido láctico (2,53 e 0%), acético (12,39 e 5,02%), propiônico (16,19 e 15,72%), isobutírico (4,23 e 2,54%), butírico (8,39 e 9,36%), metanol (39,6 e 47,99%) e etanol (16,64 e 19,35%), respectivamente. Utilizando a mistura de soro de queijo com glicose foram extraídos resultados onde a PVH variou entre 0,96-2,16 L-H₂ d⁻¹ L⁻¹ e 1,2 e 2,64 L-H₂ d⁻¹ L⁻¹, para RALF1 e RALF2, respectivamente. O HY chegou a valores de 1,6 mol-H₂. g⁻¹ para RALF1 e

1,7 mol-H₂. g⁻¹ em RALF2. A produção metabólica teve suas maiores concentrações no ácido láctico (1,96 e 2,05%), acético (8,31 e 8,57%), propiônico (8,22 e 6,78%), isobutírico (1,38 e 2,88%), butírico (13,84 e 9,61%), metanol (23,81 e 22,60%) e etanol (42,6 e 47,30%) para RALF1 e RALF2, respectivamente. Como conclusão observou-se que as fontes de carbono utilizadas são viáveis para produção de H₂ e etanol, porém ocorrendo diferenças entre elas, onde a PVH e HY foi maior com a utilização de glicose e soro de queijo de forma separada. Na produção de etanol, a mistura das fontes de carbonos teve um melhor desempenho.

Rosa et al. (2014b) estudaram o desempenho na produção de H₂ em dois RALF, utilizando dois tipos de lodos para a inoculação, sendo provenientes da suíno cultura (RALF1) e abatedouro de aves (RALF2). Para alimentar os reatores foi utilizada uma mistura com concentração de 5000 mg. L⁻¹ de glicose e efluente de mandioca (50% ambos) e como meio suporte foi adicionado o poliestireno. O TDH foi reduzido durante a operação variando na faixa entre 10 e 2h e o pH mantido em 4,5. O HY máximo obtido pelos reatores foi de 0,6 mol. g⁻¹ em TDH de 10 e 4h, para RALF1 e 1,0 mol. g⁻¹ em TDH de 10h, para RALF2. A taxa de PVH máxima foi de 0,57 e 1,03 L-H₂ d⁻¹ L⁻¹ para RALF1 e RALF2, respectivamente. Os metabólitos produzidos para RALF1 e RALF2 foram o ácido acético (6,9 e 9,47%), butírico (14,6 e 22,50%), láctico (57 e 53,95%) e etanol (20,8 e 14,05%), respectivamente. A concentração de ácido propiônico para ambos os reatores foi mínima.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Dentre as metodologias empregadas e instrumentos utilizados para o desenvolvimento do trabalho, este capítulo apresenta desde a configuração e montagem dos reatores, parâmetros operacionais até aquisição das fontes de carbono e preparo dos afluentes de alimentação.

A pesquisa foi realizada utilizando reatores RALF em condições mesofílica. A preferência por esta configuração de reator se deu devido a trabalhos já concluídos no grupo do LCA-II, UFSCar, como Amorim et al. (2009), Barros et al. (2011) e Rosa et al. (2014).

Para uma forma mais prática e de melhor compreensão do trabalho tanto na apresentação deste capítulo, como na apresentação dos resultados, os reatores foram identificados a partir de suas respectivas fontes de alimentação, sendo:

RMC - RALF Mesofílico de Caldo-de-cana.

RMM - RALF Mesofílico de Melaço.

RMS - RALF Mesofílico de Sacarose.

RMV - RALF Mesofílico de Vinhaça.

4.1 Configurações do RALF

Os reatores foram construídos em acrílico transparente para permitir a visualização de seu interior, com altura de 82 cm, diâmetro interno de 3,4 cm e volume total de 0,743 L. A temperatura foi mantida em $30 \pm 1^\circ\text{C}$ (condição mesofílica) por meio de encamisamento dos reatores e banho termoestabilizado. Foram utilizadas duas bombas, sendo uma de alimentação, a qual realizava a alimentação dosada, com uma vazão máxima de $0,5 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$. A outra bomba era de recirculação, na qual a vazão era baseada e calculada em 1,3 vezes a velocidade de fluidização (V_{mf}) do material suporte, fixando o valor durante toda operação.

A Figura 1 demonstra o RALF confeccionado, sendo: (1) Tanque de água residuária, (2) bomba de alimentação do afluente, (3) reator de leito fluidificado, (4) banho termoestabilizado, (5) bomba de recirculação, (6) medidor de gás (7) mostradores (8) saída do efluente.

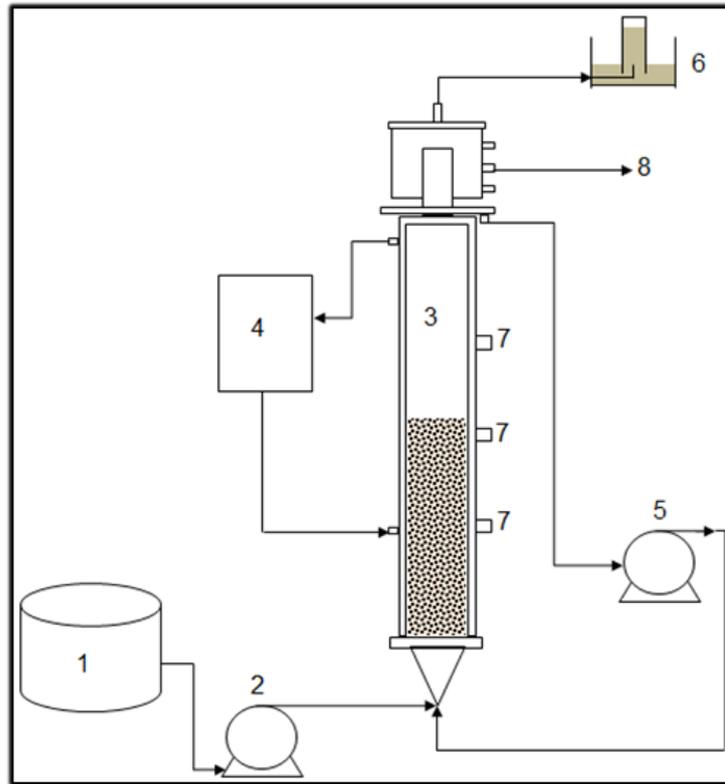


Figura 1: Esquema de funcionamento de um RALF

A Figura 2 ilustra o modelo utilizado no laboratório LCA II (laboratório de controle ambiental II) – UFSCar



Figura 2: RALF utilizado no LCA II - UFSCar

4.1.1 Material Suporte

O material utilizado como suporte para adesão de biomassa no RALF foi à cinasita (argila expandida). Para chegar às características ideais de uso, a cinasita foi selecionada através de uma peneira vibratória, onde selecionou apenas os materiais com diâmetro médio de 3,0 mm. Na Tabela 1 são demonstradas de uma maneira mais clara as características do material suporte utilizado.

Tabela 1: Características da cinasita

Dimensão (mm)	Densidade (g.cm⁻³)	Porosidade da cinasita	V_{mf} (cm/s)
2,8-3,35	1,50	23%	1,24

Amorim et al. (2009)

4.2 Substratos

Para preparo do afluyente de alimentação, além das respectivas concentrações das fontes de carbonos, em cada reator era adicionado um meio nutriente, cujo objetivo era garantir uma melhor condição para função das hidrogenases, além de proporcionar um melhor desenvolvimento bacteriano. Como meio nutriente foram utilizados o proposto por Del Nery (1987) para RMM, RMV, RMS e uma formulação adaptada do utilizado por Endo (1982), para RMC. As Tabelas 2 e 3 demonstram a composição dos meios nutricionais.

Tabela 2: Meio nutricional Del Nery (1987)

Componente	Concentração (mg L⁻¹)
NiSO ₄ .6H ₂ O	1
FeSO ₄ .7H ₂ O	5
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,5
CoCl ₂ .2H ₂ O	0,08
CaCl ₂ .6H ₂ O	47
SeO ₂	0,07
CH ₄ N ₂ O	125
KH ₂ PO ₄	21
K ₂ HPO ₄	85
NaHPO ₄ .4H ₂ O	33

Tabela 3: Formulação Endo et al (1983), adaptada

Componente	Concentração (mg L⁻¹)
NH ₄ HCO ₃	563
K ₂ HPO ₄	125
MgCl ₂ .6H ₂ O	15
FeSO ₄ .7H ₂ O	25
CuSO ₄ .5H ₂ O	5
CoCl ₂ .5H ₂ O	0,125

4.2.1 Caldo de cana-de-açúcar

O caldo-de-cana utilizado para alimentar o RMC foi adquirido na usina de açúcar e álcool Ipiranga, sendo diluído no barrilete de alimentação (afluente), para que chegasse a concentração de 5000 mgDQO. L⁻¹. O pH do afluente foi corrigido em um valor próximo a 4,5. A Tabela 4 demonstra a caracterização do caldo-de-cana utilizado no trabalho.

Tabela 4: Caracterização do caldo-de-cana

Componente	Conc. ± σ (mg L⁻¹)
Carboidratos totais	272,6 ± 36,2
DQO _{total}	294,9 ± 25,3
COT	7.338,8 ± 1.208
N-NTK	4.237 ± 0,0
P-PO ₄ ⁻³	110
Potássio	1.020
Cálcio	138
Magnésio	262
Zinco	1,419
Cobre	0,07

4.2.2 Melaço

O melaço que alimentou o RMM foi proveniente da usina São Martinho (Pradópolis-SP). O melaço foi diluído para que atingisse uma concentração de 5000 mgDQO. L⁻¹, sendo corrigido seu pH para um valor dentro de uma faixa compreendida entre 4 e 5. A Tabela 5 contém as características de composição do melaço utilizado.

Tabela 5: Caracterização do melação

Componente	Conc. $\pm \sigma$ (mg L⁻¹)
Carboidratos totais	1.079,7 \pm 114,4
DQO _{total}	1.157,6 \pm 152,3
COT	13.028
N-NTK	12.900 \pm 0,0
P-PO ₄ ⁻³	1.100
Potássio	27.400
Cálcio	6.200
Magnésio	3.120
Zinco	12,6
Cobre	2,04

4.2.3 Sacarose

O RMS foi alimentado com substrato sintético (sacarose), na qual era diluído para uma concentração de 5000 mg.L⁻¹ e pH afluente sendo corrigido conforme o valor registrado no pH efluente, para que o mesmo se mantivesse entre 4 e 4,5.

4.2.4 Vinhaça

Cedida pela usina São Martinho, a vinhaça utilizada para alimentar RMV, sofreu um pré-tratamento Físico-químico antes de ser diluída, para a concentração foi de 5000 mgDQO.L⁻¹ para o afluente. O pH do barrilete foi ajustado em um intervalo de 5 à 5,5. A composição da vinhaça utilizada in natura e pós-tratamento estão demonstradas nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Caracterização da vinhaça in natura

Componente	Conc. $\pm \sigma$ (mg L⁻¹)
Carboidratos totais	11.430 \pm 7.035
DQO _{total}	31.604 \pm 5.238
COT	7.845 \pm 864
N-NTK	0,675 \pm 0,12
P-PO ₄ ⁻³	113,3 \pm 12,5
Potássio	3.763 \pm 528,0
Cálcio	650 \pm 153,7
Magnésio	417 \pm 53,2
Zinco	0,46 \pm 0,2
Sulfato	2.312 \pm 37,5
Cobre	0,33 \pm 0,16

Tabela 7: Caracterização da vinhaça pós-tratamento físico-químico

Componente	Conc. $\pm \sigma$ (mg L⁻¹)
Carboidratos totais	3.986 \pm 3.242,8
DQO _{total}	28.289 \pm 3.683
COT	256,3
N-NTK	0,512 \pm 0,04
P-PO ₄ ⁻³	77,5
Potássio	3.650
Cálcio	3.530
Magnésio	88
Zinco	0,344
Sulfato	382,5 \pm 3,11
Cobre	0,148

4.2.4.1 Tratamento Físico-químico da vinhaça

O tratamento Físico-químico da vinhaça, foi realizado utilizando óxido de cálcio (CaO) como agente floculante. Em um barrilete de vidro foi adicionado 12 litros de vinhaça, e 72g de CaO (foi utilizado para o tratamento 6g de CaO para cada litro de vinhaça). O processo se deu a partir de um agitador magnético, que foi programado para trabalhar em

rotação de 700 rpm (rotações por minuto). O período de agitação se deu em 8 minutos, sendo deixado em descanso por 24 horas. Para um melhor entendimento a Tabela 8 demonstra os dados do tratamento.

Tabela 8: Tratamento Físico-químico

Volume de vinhaça (L)	CaO (g)	Tempo de rotação (m) (700 rpm)	Período de repouso (h)
12	72	8	24

4.3 Inóculo

Os reatores RALF foram inoculados a partir de um lodo granular proveniente de um reator UASB mesofílico, instalado na Avícola Dacar LTDA (Tietê – SP), que realiza abatimento de aves e animais de pequeno porte.

De acordo com Delforno (2014), o lodo possui uma concentração de sólidos totais voláteis de 6,9 g. L⁻¹, sólidos totais fixos de 1,6 g. L⁻¹ e sólidos totais de 8,5 g. L⁻¹. Devido ser granular, o lodo foi batido pelo período aproximado de 10 minutos em liquidificador para que atingisse uma forma fluídica, sendo após este processo submetido a um tratamento térmico, para inativar a ação das arqueas metanogênicas.

4.4 Processo de partida dos RALF

O processo de partida foi o mesmo para os quatro RALF, com mudanças apenas nas composições do barrilete de cada substrato. O barrilete foi o recipiente utilizado como tanque de armazenamento do afluente, tanto para a partida, como para a alimentação durante a operação. A composição do barrilete de partida dava-se em 10% (v/v) de Inóculo, fonte de carbono específica para cada reator e meio nutricional, sendo o proposto por Del Nery (1987) para RMM, RMS, RMV e a formulação utilizada por Endo (1982) adaptado, em RMC.

Com os barriletes montados o ajuste do pH ocorreu por meio do uso de ácido clorídrico 30% v/v, onde o volume máximo utilizado foi de 2 ml. L⁻¹. E caso não atingisse a faixa de valor pretendida, utilizava-se o ácido acético puro. Após a correção do pH, realizava-se um processo de borbulhamento com N₂ (nitrogênio) durante 15 minutos, para que a condição anaeróbia fosse atingida.

Com o reator previamente montado e já composto com material suporte em seu interior, os barriletes foram conectados ao reator e a bomba de recirculação, que em um processo de fluxo ascendente preencheu o volume do reator e deu início a fase de

recirculação. A fase de recirculação ocorreu em sistema fechado, para que ocorresse uma boa adaptação do inóculo à fonte de carbono adicionada e para a aderência da biomassa ao material suporte. O pH foi medido e acompanhado de maneira cautelosa, pois era necessário a garantia que seu valor estivesse em uma faixa que não ativasse a ação dos organismos metanogênicos. Assim como o pH, diariamente as concentrações dos substratos eram determinadas, para observar sua degradação através do inóculo.

A operação em modo contínuo iniciou-se a partir da adaptação do inóculo, para RMS o período foi de 5 dias, os demais reatores a adaptação foi mais tardia, ocorrendo com 10 dias de operação. Com os reatores operando em modo contínuo, os barriletes de partidas foram substituídos pelos barriletes de alimentação, os quais eram renovados diariamente.

4.5 Parâmetros operacionais

Os reatores foram operados seguindo parâmetros que sofreram variações e foram monitorados para que o objetivo do trabalho pudesse ser atingido. Os reatores avaliaram o TDH como parâmetro de operação, sendo alterado a cada etapa, o que foi denominada de fase. A alteração da fase dava-se conforme a produção de H₂, sendo ela em composição ou produção volumétrica e consumo de substrato, atingiam estabilidade. A Tabela 9 relaciona a alteração do TDH com o número de fases operadas.

Tabela 9: Condições operacionais

Fase	TDH (h)
1	8
2	6
3	4
4	2
5	1

4.5.1 RMC

No reator alimentado com caldo-de-cana avaliou-se a produção de H₂, utilizando uma concentração fixa de 5000 mgDQO. L⁻¹ e pH de entrada corrigido por volta de 4,5, onde se mantinha o pH no interior do reator entre 4 e 5. Foi adicionado como meio nutriente uma formula adaptada de Endo et al (1982). A temperatura de operação foi mantida em 30 °C (condição mesofílica) por um banho termostático e o TDH foi reduzido de 8 a 1 h, o que

determinou o número de fases do reator (5). A Tabela 10 demonstra de maneira simplificada os parâmetros operacionais do RMC para uma melhor compreensão.

Tabela 10: Parâmetros operacionais RMC

DQOaflu (mg.L⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	TDH (h)	Nº de fases
5000	4,5	30	8 - 1	5

4.5.2 RMM

Foi observado a produção de H₂ no reator em que se utilizou melão da cana-de-açúcar como fonte de carbono (RMM) em concentração de 5000 mgDQO. L⁻¹, pH afluente foi corrigido por volta de 7 para manter um valor de pH no reator entre 3,8 e 4 e o meio nutriente formulado por Del Nery (1897). O TDH foi reduzido de 8 para 6, 4, 2 e 1 h, o que resultou em 5 fases durante a operação. A temperatura foi mantida por um banho termostático em 30 °C, para que se fosse criada uma condição mesofílica para a biomassa adaptada. A Tabela 11 resume os parâmetros operacionais utilizados para operação do RMM.

Tabela 11: Parâmetros operacionais RMM

DQOaflu (mg.L⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	TDH (h)	Nº de fases
5000	7	30	8 - 1	5

4.5.3 RMS

No RMS a concentração de sacarose utilizada foi de 5000 mgDQO. L⁻¹, sendo adicionado ao afluente como meio nutricional a formulação de Del Nery (1987). O pH de entrada foi corrigido por volta de 8,5 para se manter o pH no reator entre 4 e 4,5. A temperatura foi mantida a 30 °C por um banho termostático, gerando uma condição mesofílica. O TDH foi sendo reduzido de 8 para 6, 4, 2 e 1 h, resultando em 5 fases de operação. A Tabela 12 exemplifica de maneira mais clara os parâmetros operacionais utilizados em RMS.

Tabela 12: Parâmetros operacionais RMS

DQOaflu (mg.L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	TDH (h)	Nº de fases
5000	8,5	30	8 - 1	5

4.5.4 RMV

O afluente do RMV foi composto por uma concentração de 5000 mgDQO. L⁻¹ da vinhaça que recebeu tratamento físico-químico, sendo o pH afluente ajustado em 4,9 para a manutenção do pH interno do reator em torno de 5. Foi adicionado ao afluente a formulação de Del Nery (1987) como meio nutriente. Foram registradas 5 fases, devido a redução do TDH em 8, 6, 4, 2 e 1 h. A Tabela 13 demonstra de maneira simplificada os parâmetros operacionais utilizados em RMV.

Tabela 13: Parâmetros operacionais RMV

DQOaflu (mg.L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	TDH (h)	Nº de fases
5000	4,9	30	8 - 1	5

4.6 Análises Físico-químicas

Para a realização das análises físico-químicas que ocorreram diariamente durante a operação, foram utilizados métodos distintos. As análises de demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e pH foram mensuradas seguindo o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998). A quantidade de carboidratos totais consumido foi avaliada segundo o método colorimétrico proposto por Dubois et al. (1956).

A composição do biogás foi analisada através da cromatografia gasosa, onde se utilizou a seringa *gas tight* para retirar 1 ml do biogás produzido. A análise do gás coletado pela seringa foi mensurada através do cromatógrafo da marca Shimadzu modelo GC-2010 equipado com detector de condutividade térmica. A coluna utilizada foi a Sigma-Aldrich modelo Carboxen® 1010 Plot e coluna de sílica fundida, possuindo 30m de comprimento e diâmetro interno 0,53mm. O gás de arraste utilizado foi o Argônio sob fluxo de 21,9 cm².s⁻¹.

Os efluentes gerados pelos reatores foram coletados diariamente, através de frascos coletores de amostra e provetas medidoras para monitorização da vazão efluente, durante a

permanência do operador no laboratório e também na sua ausência. A medição da produção volumétrica de H₂ foi realizada através do método empregado por Walker et al. (2009), onde contabiliza-se conforme desloca-se o líquido contendo solução salina acidificada na coluna.

As concentrações de ácidos orgânicos e álcoois produzidos foram analisadas através da cromatografia líquida de elevado desempenho, utilizando um cromatógrafo HPLC Shimadzu, equipado com bomba LC-10ADVP, amostrador automático SIL-20 HT, coluna CTO-20A, a 45 °C, detector de arraste RID-10^a e coluna Aminex HPX-87H (300 mm, 7,8 mm, BioRad). A fase móvel foi introduzida por H₂SO₄ (0.01 N) a 0.5 ml min⁻¹.

4.7 Cálculo dos principais parâmetros

Os principais cálculos realizados para produção desta pesquisa abrangem HY (1), PVH (2) e TCO (3).

- (1) $HY = \text{mol de H}_2 \text{ produzido} / \text{mol de carboidrato consumido (mol. mol}^{-1}\text{) ou mol de H}_2 \text{ produzido} / \text{g DQO aplicada (mol. g DQO}^{-1}\text{)}$.
- (2) $PVH = \text{quantidade de biogás produzido (L) x \%H}_2 / \text{tempo (h)} / \text{volume do reator (L) (L H}_2 \cdot \text{L. h}^{-1}\text{)}$.
- (3) $TCO = \text{DQO afluente} / \text{TDH real (kg DQO. m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}\text{)}$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Reator mesofílico de melação (RMM)

5.1.1 Conversão de carboidratos

As concentrações médias de carboidratos no reator sofreram variações durante a operação, sendo que no afluente os valores mantiveram-se na faixa entre 3512-5152 mg. L⁻¹, ocorrendo nos TDHs de 4 e 8 h, respectivamente. Para a concentração de efluente os valores foram 172-668 mg. L⁻¹, observados nos TDHs de 4 e 1 h. A taxa de conversão de carboidratos é uma resultante dos valores aferidos nas concentrações média do afluente e efluente, assim sendo, também sofreu variações, porém menores, o que proporcionou certa estabilidade de consumo. A maior e menor conversão de carboidrato observadas foram 96% e 85%, nos TDHs de 6 e 1 h, respectivamente. A Tabela 14 e Figura 3 demonstram as médias de concentrações e conversão de carboidratos em cada fase da operação.

Tabela 14: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMM.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	5152 ± 1400	4113 ± 846	3512 ± 494	4368 ± 812	4500 ± 1115
Efluente (mg.L⁻¹)	632 ± 668	214 ± 218	172 ± 59	486 ± 283	634 ± 343
Conversão (%)	91 ± 1	96 ± 0,3	95 ± 0,3	92 ± 3	85 ± 1

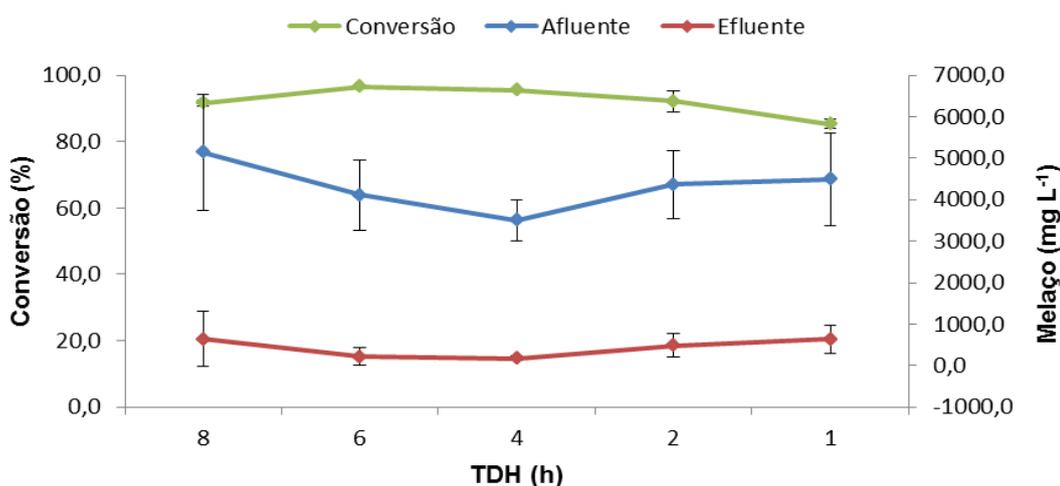


Figura 3: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMM

Observando o comportamento da conversão de carboidratos na Figura 3, pode-se notar certa regularidade durante a operação, onde os valores não sofreram variações de maior importância, no entanto, não se pode afirmar que a produção de H₂ será próxima ou semelhante ao teórico, pois há outros parâmetros como a fonte de carbono utilizada, pH e rotas metabólicas que podem influenciar neste resultado. Os valores observados de conversão em estudos sobre produção de H₂ a partir de melão da cana-de-açúcar apresentam números variáveis em relação ao RMM.

Wang e Jin (2009) realizaram a operação de um biorreator de escala piloto, inoculado com *Clostridium butyricum* W5, sendo o melão como sua fonte de carbono em concentração variando entre 20 e 120 gDQO. L⁻¹, pH na faixa entre 5,5 – 7,5 e temperatura em torno de 30 °C (condição mesofílica). Embora tenham realizado o aumento da concentração, os autores demonstraram certa estabilidade de consumo durante a operação, o que é análogo ao presente estudo, pois RMM manteve-se acima dos 90% de consumo até o TDH de 2 h, sofrendo uma queda para 85% quando alterado o TDH para 1 h. Apesar dos autores exporem uma estabilidade levemente melhor, a conversão de carboidratos máxima atingida por eles durante a operação foi de 96,06%, o que é ligeiramente inferior ao maior consumo do presente trabalho.

Lay et al. (2010) avaliaram a produção de H₂ em um CSTR inoculado utilizando lodo de esgoto peneirado, com uma concentração de melão no substrato de 40 gDQO. L⁻¹. O pH foi mantido na faixa de 5,5, a temperatura em condições mesofílica (35 °C) e o TDH variando entre 24 e 3 h. Segundo o estudo realizado pelos autores, o consumo de carboidrato demonstrou instabilidade conforme o TDH era reduzido. Ao comparar o consumo de RMM aos resultados citados por Lay et al. (2010) pode-se notar uma superioridade do presente estudo, pois o maior consumo observado pelos autores foi de 75% ocorrendo no TDH de 4 h, resultado este, inferior ao menor consumo de carboidrato observado em RMM que foi de 85%.

Chang et al. (2011) estudaram a produção de H₂ em um RAC, utilizando melão como substrato em concentrações que variaram entre 2 e 10 gDQO. L⁻¹. O reator foi inoculado com lodo de uma ETE, a temperatura foi mantida na faixa mesofílica (35 °C) e TDH constante de 6 h. Os autores expuseram um consumo de carboidrato constante (85%) nas duas primeiras fases, onde as concentrações de melão foram menores (5 e 7 gDQO. L⁻¹), porém ao elevar a concentração para 9 e 11 gDQO. L⁻¹, o consumo sofreu duas quedas, reduzindo na primeira alteração para 80% e na última para 72%. O máximo consumo de

carboidratos citado pelos autores ocorreu no período estável, onde foi de 85%, resultado que é semelhante ao menor consumo atingido por RMM. Deste modo, observou-se que o presente estudo apresentou comportamento mais estável e um valor de consumo máximo maior atingido durante a operação em relação ao trabalho do autor.

5.1.2 DQO

A remoção da carga orgânica no TDH de 8 h apresentou um valor de 29%, nos TDHs de 6, 4 e 1 h, os valores não oscilaram significativamente, sendo 23, 21 e 22%, respectivamente. No entanto no TDH de 2 h, a remoção de carga orgânica foi de 16%, valor razoavelmente inferior aos demais TDHs. A Tabela 15 e Figura 4 apresentam as remoções médias para cada TDH durante o período de operação.

Tabela 15: Valores de concentrações médias de DQO em RMM.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg. L⁻¹)	5243 ± 324	5173 ± 286	5235 ± 323	5395 ± 554	5160 ± 341
Efluente (mg. L⁻¹)	4803 ± 1418	4979 ± 1519	4403 ± 999	4921 ± 593	4767 ± 1243
Redução (%)	29 ± 6	22 ± 7	21 ± 4	16 ± 2	23 ± 4

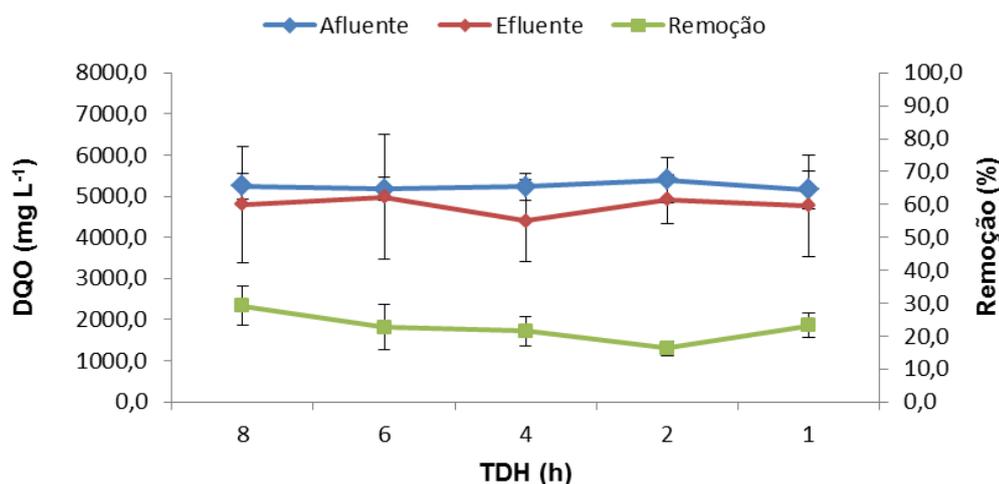


Figura 4: Remoções médias de DQO no RMM.

O reator apresentou um comportamento dentro de uma faixa estável, sendo o único desvio o valor observado no TDH de 2 h. Essa queda pode ter ocorrido devido às alterações hidrodinâmicas, ou seja, a maior produção de biomassa no leito do reator ocorrente do aumento da vazão, que ocorreu após a diminuição do TDH de 4 para 2 h. Essa maior

produção de biomassa no leite, levou a uma maior expansão o que pode ter ocasionado um maior contato entre a biomassa e o substrato. Entretanto, segundo Antonopoulou et al. (2008) os valores apresentados para remoção de DQO em reatores acidogênicos atingem um percentual aproximado aos 20%, o que pode sugerir que o percentual menor no TDH de 2 h, esteja em uma faixa aceitável.

Na literatura estudada, foram encontrados trabalhos destinados à produção de H₂ utilizando distintas configurações de reatores, com valores mais elevados do que a faixa ideal citada por Antonopoulou et al. (2008), onde Han et al. (2012) avaliou a produção de H₂ utilizando um *mixed immobilized sludge reactor* (CIMSR) inoculado com lodo de ETE, em condição mesofílica (35 °C), TDH fixo de 6 h, com uma concentração de melão no substrato variando entre 2 e 6 gDQO. L⁻¹ e pH variando entre 4,06 e 4,28. Os autores demonstraram um comportamento na redução de DQO instável até o 40º dia de operação, onde os autores observaram uma estabilização no valor de 13%. Durante a instabilidade os autores registraram uma variação entre 31 e 54%, sendo o segundo valor atingido, o ápice de redução de DQO durante a operação e maior do que a máxima redução atingida no presente estudo.

Zhu et al. (2013) estudaram a produção de H₂ utilizando um CSRT inoculado com lodo de uma ETE de cervejaria, a concentração de melão no afluente foi de 8 gDQO. L⁻¹, TDH fixo de 8 h, condição mesofílica (35 °C) e pH ajustado em 7. Segundo os autores a eficiência de redução de DQO média até o 5º dia de operação foi de 9,3%, após esse período inicial o reator apresentou uma elevação gradual até o 28º dia de operação, quando apresentou um valor de 40,3% na redução de DQO e estabilizou-se nesta faixa. RMM apresentou uma melhor redução de DQO no período inicial de operação (TDH 8 h) de 29% o que é superior ao mesmo período do registrado pelos autores. No entanto, o valor máximo e a faixa de estabilidade atingida, depois de certo período de operação, pelo reator operado por Zhu et al. (2013), demonstrou uma maior eficiência em relação ao presente trabalho, sendo que os autores atingiram um ápice de redução de DQO de 45%.

Wang et al. (2013) avaliaram a produção de H₂ em um CSTR, utilizando como fonte de carbono o melão, em concentração de 8 gDQO. L⁻¹. A inoculação foi realizada com lodo de uma ETE. A operação foi realizada em condição mesofílica (35 °C), TDH variando entre 10 e 4 h e pH oscilando entre 4,3 e 4,6. No estudo apresentado pelos autores, foi observado uma maior estabilidade nos valores de remoção de DQO em relação ao presente estudo. Segundo os autores, foi observado um valor médio de remoção de 35%, onde os valores oscilaram entre 31,6 e 39,2%, sendo o segundo valor citado, o ápice de remoção de DQO,

registrado durante um TDH de 5 h (distinto do valor máximo observado no presente estudo). Em RMM a remoção de DQO manteve-se em um valor médio durante a operação de 22%, com ápice de 29% atingido no TDH mais elevado (8 h), o que demonstra uma melhor eficiência do estudo realizado por Wang et al. (2013) em relação à remoção de DQO.

5.1.3 Composição do biogás

Ao longo da operação o RMM apresentou baixa variação na composição de H₂ no biogás, onde os valores observados estiveram entre 23 e 33%, sendo seu melhor resultado atingindo no TDH de 8 h. Os percentuais de H₂ foram relativamente baixos comparados aos observados na produção de CO₂, que atingiu um máximo percentual de 77% no TDH de 6 h. A eficiência do tratamento térmico realizado no lodo de inoculação foi comprovada com a não detecção de metano no biogás. A Tabela 16 e Figura 5 demonstram os percentuais de H₂ e CO₂ na composição do biogás produzido.

Tabela 16: Percentuais de H₂ e CO₂ no biogás do RMM.

TDH (h)	8	6	4	2	1
H ₂ (%)	33 ± 6,5	23 ± 6,2	30 ± 2,9	26 ± 2,9	28 ± 4,2
CO ₂ (%)	67 ± 11,9	77 ± 4,0	70 ± 11,6	74 ± 4,8	72 ± 10,0

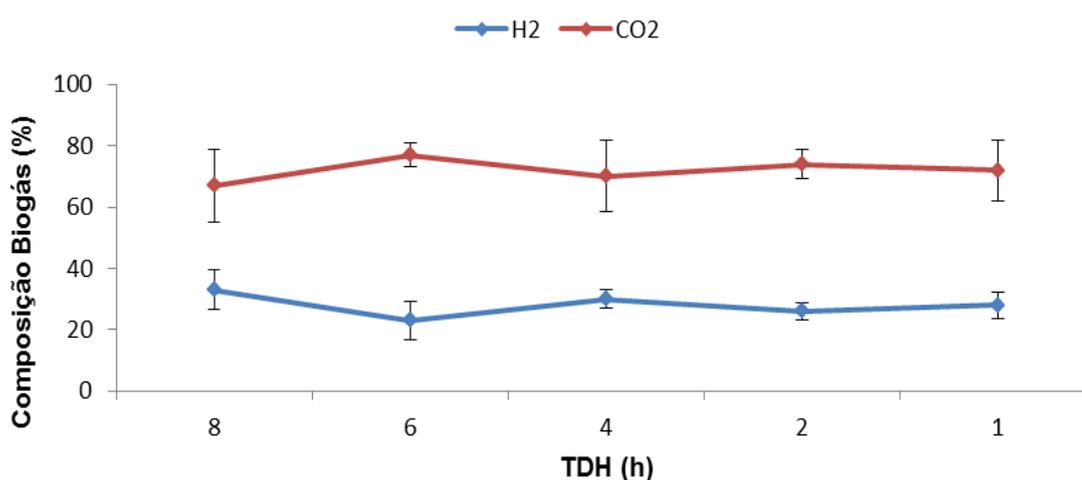


Figura 5: Comportamento do percentual de H₂ no biogás do RMM.

O baixo percentual de H₂ em relação ao CO₂ pode ter ocorrido devido à produção de ácido acético. Nas fases onde RMM demonstrou uma maior composição de H₂ no biogás, a produção de ácido acético pode ter detectado em menor concentração. No maior percentual de

H₂ registrado (33%) que ocorreu no TDH de 8 h, não houve produção de ácido acético, já no menor (23%), ocorrida no TDH de 6 h, a produção do ácido foi a maior de toda a produção. (ver item 5.1.6)

No estudo realizado por Guo et al. (2008) a concentração de H₂ no biogás registrada pelos autores, foi superior ao presente trabalho. Os autores avaliaram a produção de H₂ em um EGSB inoculado com uma mistura de lodo de efluentes domésticos e lodo de um reator que realiza tratamento de efluentes farmacêuticos. A concentração de melão variou entre 2 e 10 gDQO. L⁻¹, em um TDH sendo reduzido de 6 à 1 h, pH variando entre 4,12 e 5,33 e condição mesofílica (35 °C). Os autores demonstraram uma variação ascendente do percentual de H₂ no biogás produzido, sendo entre 30 e 53%, conforme o TDH era diminuído e a TCO elevada. Quando o TDH estava em 2 h e a TCO máxima foi atingida, o percentual de H₂ sofreu certa estabilização. Em RMM a variação esteve entre 23 e 33%, sendo inferior ao estudo realizado por Guo et al. (2008), o que pode ser explicado pela produção metabólica de ambos, onde as concentrações de ácido acético produzidos são distintas.

Ren et al. (2010) operando dois reatores modelo CSTR, avaliaram a produção de H₂ utilizando como inóculo lodo suspenso e lodo fixo. Os reatores foram alimentados com melão em concentração variando entre 2 e 10 gDQO. L⁻¹, TDH fixo de 6 h, condição mesofílica (35 °C) e pH dos reatores variando entre 4,5 e 4,8 e 3,8 e 4,4. Os autores demonstraram variações altas no percentual de H₂ contido no biogás produzido em ambos os reatores, sendo 50-57% no reator de lodo suspenso e 63-70% no reator de lodo fixo, os autores relatam que o nível do pH pode ter influenciado nas composições do biogás, onde os maiores percentuais foram observados em um pH mais próximo de 4. No CSTR suspenso o pH variou acima de 4 sendo entre 4,2 e 4,6, já o CSTR fixo esteve mais próximo, variando entre 3,8 e 4,4. No presente estudo o pH variou entre 3,8 e 4,2, no entanto, o percentual de H₂ no biogás foi mais modesto, do que os resultados observados no estudo de Ren et al. (2010). A diferença de resultado apresentados pelos autores e por RMM, embora a configuração dos reatores seja diferente, pode ter influencia da produção de metabólitos, onde os percentuais e variedade de ácidos e álcoois produzidos são distintos.

Li et al. (2013) obtiveram maiores percentuais de H₂ na composição de biogás em relação ao presente estudo. Os autores estudaram a produção de H₂ utilizando melão em concentração de 2 gDQO. L⁻¹ em um CSTR, que foi inoculado com lodo advindo de um tanque secundário de decantação de uma cervejaria. O TDH foi fixado em 8 h, pH variando entre 4,57 e 5,31 e operado em condição mesofílica (35 °C). Os autores utilizaram três

diferentes valores de TCO de forma descendente, sendo 1,47, 0,75 e 0,63 kgDQO. kg MLVSS⁻¹. d⁻¹. Conforme a TCO era reduzida o percentual de H₂ no biogás também diminuía, apresentando 55,91, 48,77 e 46,74%. De maneira distinta RMM demonstrou uma variação independente da TCO aplicada, no entanto, comparado ao estudo realizado por Li et al. (2013), o maior percentual de H₂ no biogás ocorreu no TDH de 8 h, onde foi aplicada a menor TCO do estudo, o que difere dos autores, que observaram o percentual máximo na maior TCO aplicada.

5.1.4 PVH

O comportamento da PVH pode estar atrelado às alterações de redução do TDH e elevação da TCO aplicada. No primeiro TDH de 8 h, o reator apresentou uma PVH de 0,8 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, aplicando-se uma TCO de 16 gDQO. L⁻¹.d⁻¹, com a redução do TDH para 6 h e a elevação da TCO aplicada para 20 gDQO. L⁻¹.d⁻¹, a PVH reduziu-se pela metade, atingindo o menor valor observado durante a operação, de 0,4 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. Ao alterar o TDH para 4 h e TCO para 26 gDQO. L⁻¹.d⁻¹, o RMM elevou de maneira significativa sua PVH para 4,3 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. Conforme o TDH foi reduzido para 2 h e a TCO elevada expressivamente em relação às alterações anteriores (68 gDQO. L⁻¹.d⁻¹), a PVH demonstrou um aumento em seu valor, apresentando o maior valor obtido durante a operação, de 4,8 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. No TDH final de 1 h, a PVH teve uma queda expressiva, reduzindo-se para 1,9 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, onde foi aplicado a maior TCO do estudo (124 gDQO. L⁻¹.d⁻¹). Os resultados médios das PVH observadas em cada TDH estão demonstrados na Tabela 17 e Figura 6.

Tabela 17: Médias dos valores de PVH em cada TDH.

TDH (h)	8	6	4	2	1
PVH (L H₂. L⁻¹. d⁻¹)	0,8 ± 1	0,4 ± 0,1	4,3 ± 1	4,8 ± 1	1,9 ± 0,5
TCO (gDQO. L⁻¹.d⁻¹)	16 ± 4	20 ± 6	26 ± 7	68 ± 12	124 ± 17

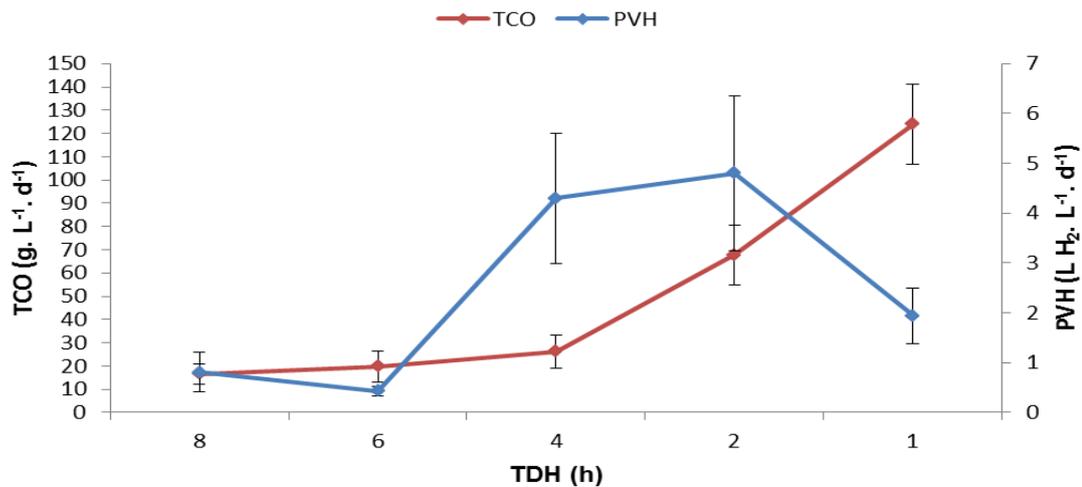


Figura 6: Comportamento da PVH em RMM.

As variações ocorridas nos menores valores de PVH nos TDH de 6 e 1 h, podem ser descritas pelas cargas de TCO aplicadas, onde no TDH de 6 h, o aumento da TCO foi menor em relação aos outros valores alterados. No TDH de 1 h, a TCO aplicada pode ter sido elevada para as condições impróprias de PVH, juntamente com o fato de utilizar um valor de TDH menor. Apesar de utilizar reatores com distintas configurações, alguns autores apresentaram resultados que diferem do comportamento observado em RMM, onde a PVH registrada manteve-se em constante aumento com a elevação da TCO.

Ren et al. (2006) avaliaram a produção de H₂, operando um biorreator de escala piloto, em condição mesofílica (35 °C), utilizando melão diluído em concentração de 3 gDQO. L⁻¹, onde o TDH foi sendo alterado de maneira descendente, entre 10,57 à 3,9 h, pH variando na faixa de 4 a 5 e a TCO variando de forma ascendente nos valores entre 3,11 e 85,57 kgDQO. m⁻³. d⁻¹. Os resultados registrados pelos autores demonstraram um comportamento que diverge do observado em RMM, pois o valor da PVH foi elevando-se conforme a TCO aplicada era maior. O resultado obtido pelo estudo de Ren et al. (2006) demonstra uma eficiência de PVH, um pouco mais elevada em relação à observada no presente estudo, onde demonstraram uma PVH máxima de 5,57 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, na máxima TCO aplicada (85,57 kgDQO. m⁻³. d⁻¹) e menor TDH (3,9 h), contra a PVH máxima observada em RMM de 4,8 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, no TDH de 2 h e TCO aplicada no valor de 68 gDQO. L⁻¹.d⁻¹.

O aumento da PVH relacionada à elevação da TCO também foi observada no estudo realizado por Lay et al. (2010), onde foi avaliado a produção de H₂ utilizando um CSTR, alimentado com melão em concentração de 40 gDQO. L⁻¹. O reator foi inoculado com lodo

de uma ETE e foi operado em condição mesofílica (35 °C), TDH variando de maneira reduzida de 24 à 3 h, pH em torno de 5,5 e com a TCO aplicada sendo alterada de forma ascendente de 40 à 320 gDQO. L⁻¹. d⁻¹. O comportamento observado pelos autores demonstra a distinção em relação à RMM, onde ocorre a ascendente variação no valor da PVH, conforme a TCO é elevada. A PVH registrada pelos autores inicia-se em 0,67 L H₂. L⁻¹. d⁻¹ atingindo o valor máximo de 8,7 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. Comparando-se as PVH iniciais entre RMM e o estudo realizado por Lay et al. (2010), nota-se que RMM supera o valor apresentado pelos autores, entretanto, observando a máxima PVH e o comportamento melhor definido, a eficiência da PVH obtida pelos autores é maior do que registrada em RMM.

No estudo realizado por Chang et al. (2011) os autores utilizando um RAC para avaliar a produção de H₂, variando a TCO aplicada entre 20 à 44 kg DQO. m⁻³. d⁻¹. O reator foi alimentado com melaço em concentrações variando entre 5 e 11 gDQO. L⁻¹, inoculado com lodo de um tanque de decantação secundário, de tratamento de águas residuais, mantido em condição mesofílica (35 °C) e TDH constante de 6 h. Os autores apresentam um comportamento crescente da PVH durante a operação, conforme a TCO era aumentada, sendo o máximo valor da PVH registrado em 3,51 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, na maior TCO aplicada. Embora o estudo de Chang et al. (2011) tenha apresentado um comportamento mais contínuo na PVH, assemelhando-se aos outros exemplo citados anteriormente (Ren et al. (2006) e Lay et al. (2010)) quando comparado a PVH máxima atingida por RMM (4,8 L H₂. L⁻¹. d⁻¹), demonstra uma menor eficiência de produção.

5.1.5 HY

O comportamento apresentado por RMM em relação aos valores médios de HY contabilizados em cada fase foi semelhante ao observado na PVH, onde houve variações significativas com as reduções aplicadas no TDH. Os valores médios de HY de cada fase estão exibidos na Tabela 18, assim como a ilustração do gráfico, que traça o comportamento de HY durante a operação na Figura 7. Inicialmente o RMM apresentou um HY de 0,4 mol H₂. mol sacarose⁻¹ no TDH de 8 h, reduzindo-se para 0,2 mol H₂. mol sacarose⁻¹ ao aplicar um TDH de 6 h. Ao reduzir o TDH para 4 h, o HY apresentou uma significativa elevação em seu valor, atingindo 1,4 mol H₂. mol sacarose⁻¹, maior valor observado durante a operação. Nos valores de TDH menores (2 e 1 h), os valores de HY voltaram a decair para 0,6 e 0,2 mol H₂. mol sacarose⁻¹.

Tabela 18: Médias dos valores de HY de cada fase de operação do RMM.

TDH (h)	8	6	4	2	1
HY (mol H ₂ . mol sac ⁻¹)	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	1,4 ± 0,6	0,6 ± 0,1	0,2 ± 0,1

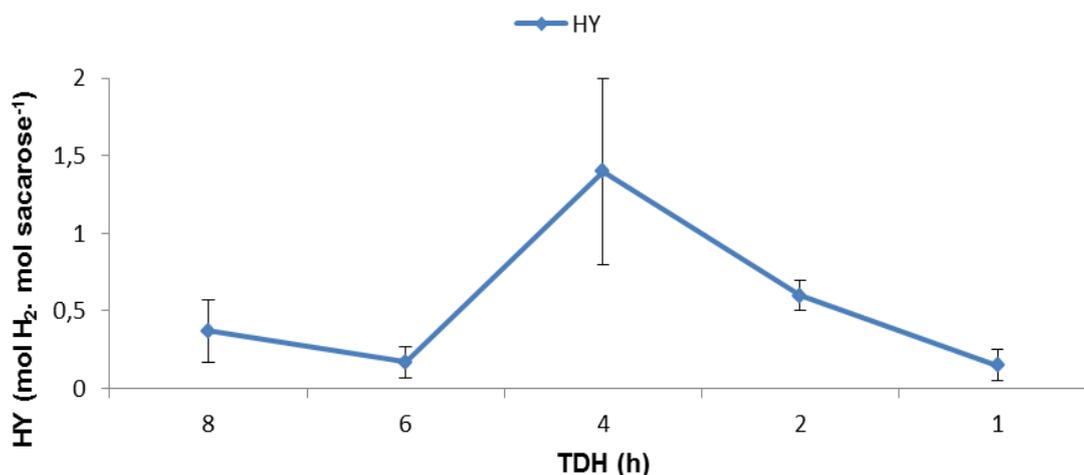


Figura 7: Comportamento do HY no RMM.

As variações observadas no comportamento de HY em RMM podem estar relacionadas aos metabolitos solúveis produzidos, pois segundo Antonopoulou et al. (2008) a produção de ácidos como o propiônico consome dois mols de H₂ para gerar 1 mol do mesmo ácido, inibindo desta maneira a produção de H₂. Conforme o TDH era reduzido os produtos metabolitos gerados em cada TDH demonstravam-se distintos, seja em diferentes produtos, como nas concentrações observadas. Durante o TDH inicial (8 h) a presença em grande concentração de ácido succínico pode ter inibido a produção de H₂, interferindo diretamente no HY. Ao reduzir o TDH para 6 h, foi observada uma grande quantidade de ácido propiônico que é um inibidor e maior concentração de ácido acético, que quando produzido em grandes quantidades pode direcionar a ocorrência de uma homoacetogênese, o que potencialmente pode ter reduzido ainda mais o HY. O maior rendimento observado no TDH de 4 h demonstra possivelmente o direcionamento a uma rota metabólica mais propícia à produção de H₂, no entanto, ao continuar reduzindo o TDH para 2 e 1 h, o HY novamente pode ter sido afetado pela mudança de rota, produzindo ácidos inibidores. Ao observar alguns estudos na literatura, depara-se com trabalhos que, embora utilizando configurações distintas de reatores, assemelham-se ou são até inferiores aos resultados obtidos em RMM.

Wang e Jin (2009) analisaram a produção de H₂ em um biorreator de escala piloto, onde utilizou melão diluído em concentrações que variaram entre 20 e 120 gDQO. L⁻¹. O

reator foi inoculado utilizando cultura pura de *Clostridium butyricum* W5, mantido na condição mesofílica (35 °C) e pH ajustado por volta de 6,5. Os autores observaram um bom comportamento no HY, sendo os valores elevados de maneira contínua conforme a concentração de melão era aumentada. Comparando-se com os resultados obtidos em RMM, o estudo realizado por Wang e Jin (2009) foi ligeiramente superior em relação à HY, tanto na estabilidade de produção, quando na produção máxima atingida, sendo um HY de 1,63 mol H₂. mol hexose⁻¹, enquanto RMM apresentou 1,4 mol H₂. mol sacarose⁻¹. A diferença nos dados registrados pelos autores e do presente estudo, pode ter ocorrido devido à produção metabólica distinta, onde em RMM destacou-se a produção de ácido propiônico, succínico e acético, durante operação. A pouca produção de ácidos inibidores, como o propiônico (observado em baixas concentrações) segundo os autores, ocasionou condições propícias para produção de H₂, além da divergência entre os inóculo utilizados.

Han et al. (2012) avaliaram a produção de H₂ utilizando um CMISR inoculado com lodo de uma ETE. O reator foi alimentado com melão diluído variando a concentração entre 2 e 6 gDQO. L⁻¹, operado em condição mesofílica (35 °C), TDH contínuo de 6 h e pH variando conforme o que era produzido pelo sistema. Utilizando um TDH fixo, os autores observaram o comportamento do HY conforme a TCO era elevada (variou entre 8 e 32 kgDQO. m⁻³. d⁻¹). Foi registrado um comportamento de HY de maior instabilidade do que observado em RMM, que pode ter sido influenciado pelos produtos solúveis gerados. Considerando que a produção de ácido propiônico no estudo de Han et al. (2012) foi baixa, as concentrações de ácido acético gerado, que foram semelhantes a produção de etanol, podem ter interferido no HY através de uma possível ocorrência de homoacetogênese. Embora os metabólitos solúveis possam ter influenciado nos resultados registrados em RMM, o presente estudo tem maior eficiência diante o estudo dos autores, tanto na instabilidade de produção, quanto no HY máximo atingido, onde os autores chegaram ao pico de 130 mol H₂. molDQO_{consumido}⁻¹.

Chang et al. (2011) estudaram a produção de H₂ operando um RAC com melão diluído entre 5 e 11 gDQO. L⁻¹, inoculado com lodo de um tanque de decantação secundário de tratamento de águas residuais e TDH fixo de 6 h. Embora configuração de reator e avaliação de carboidrato degradado sejam distintas, os autores apresentaram um resultado no qual o ápice de HY é análogo ao observado em RMM, sendo o HY máximo atingido de 1,4 mol H₂. mol glicose⁻¹. No entanto, a estabilidade nos valores obtidos foi mais eficiente, demonstrando uma variação de baixa escala e ascendente durante a operação. A diferença

entre a estabilidade eficiente do estudo realizado por Chang et al. (2011) e RMM, possivelmente apresenta-se na produção de metabólitos solúveis, onde a presença de ácidos inibidores a produção de H₂ foi superior em RMM. No estudo realizado pelos autores, a predominância durante a operação foi a presença de etanol.

5.1.6 Metabólitos solúveis

De acordo com os dados registrados, os principais metabólitos solúveis estão apresentados e ilustrados na Tabela 19 e Figura 8. Os principais metabólitos detectados em RMM foram ácido acético, butírico, caprótico, cítrico, fórmico, isobutírico, isovalérico, láctico, málico, propiônico, succínico e valérico, que totalizaram uma concentração total de 11565, 4108, 2412, 2322 e 1480 mg. L⁻¹ nos TDH de 8, 6, 4, 2 e 1, respectivamente. Sendo que os compostos que apresentaram maiores concentrações durante a operação foi o ácido acético (máx. 34%), ácido butírico (máx. 18%), ácido isobutírico (máx. 19%), ácido propiônico (máx. 22%) e o ácido succínico (máx. 72,4%).

Durante o TDH inicial de 8 h, a produção de ácido succínico foi consideravelmente superior aos outros, apresentando 72% dos metabólitos gerados, o que pode ter interferência direta na produção de H₂ por ser um ácido inibidor, além da presença de ácido propiônico (10%), que foi a segunda maior concentração presente nos metabólitos gerados na fase. Com a redução do TDH de 8 para 6 h, a superioridade em concentração dentre os metabólitos gerados foi de ácido acético, onde foi registrado 34%, sendo ainda detectado em concentração superior ao observado no TDH de 8 h, a presença de ácido propiônico com 20% e a presença do ácido isobutírico (19%) entre as três maiores concentrações. No TDH de 4 h, a geração de metabólitos solúveis ocorreu de maneira mais eclética, porém ainda com superioridade na produção de ácido acético (21%), sendo seguido pela presença de ácido butírico (17%), ácido isobutírico (13%) e ácido propiônico (12%). Diminuindo o TDH para 2 h, a maior concentração nos metabólitos gerados ainda foi de ácido acético em 33%, sendo observada uma maior presença de ácido propiônico em relação ao TDH anterior, de 22% e a presença de ácido butírico em 18%. No último TDH de 1 h, o ácido acético foi novamente detectado em maior concentração, sendo 32%. A diferença neste TDH foi a presença do ácido láctico com 20%, seguido do ácido propiônico com 20% e do ácido butírico com 18%.

Os baixos valores de produção de H₂ observados nos TDH de 8, 6, 2 e 1 h, devem-se à presença de ácidos inibidores a produção de H₂. No TDH inicial a presença de 72% de ácido succínico demonstra que RMM estava em uma rota metabólica distinta se comparado aos

outros valores de TDH. Nos TDH de 6 e 2 h observa-se uma concentração maior de ácido propiônico, que pode ter influenciado nos baixos índices, além da ocorrência de uma homoacetogênese, que possivelmente pode ter sido ocasionada pela maior concentração de ácido acético. Distintos dos demais por apresentar a presença de ácido láctico, o TDH de 1 h também sofreu influencia de elevadas concentrações de ácidos inibidores. No TDH de 4 h, nota-se uma baixa produção de ácido acético e propiônico, em relação às produções nos demais TDH, observando também neste TDH uma maior presença de ácido butírico, o que indica que o reator neste TDH, de maneira distinta dos demais TDH poderia estar em uma rota metabólica favorável a produção de H₂.

Lay et al. (2010) avaliaram a produção de H₂ em um CSTR alimentado com melaço em 40 gDQO. L⁻¹, inoculado com lodo proveniente de uma ETE, TDH variando entre 24 e 3 h, pH de 5,5 e mantido em condição mesofílica (35 °C). Os autores apresentaram uma produção de metabólitos solúveis agregando etanol, acetato, propionato, butirato e valerato, onde as maiores concentrações de ácidos foram observadas no maior TDH (24 h), sendo diminuídas conforme o TDH foi reduzido. Os autores também relataram que mesmo com a redução nas concentrações dos ácidos formados, o butirato ganhou destaque, onde foi observada uma maior concentração. De maneira distinta, embora tenha gerado produtos semelhantes, RMM apresentou concentrações que variaram nas produções de ácido acético, butírico e propiônico, o que desencadeou uma produção de H₂ também com variações nos resultados. Na produção de etanol, o estudo de Lay et al. (2010) apresentou uma elevação na concentração observada conforme o TDH era reduzido, em RMM não houve detecção da presença de etanol.

Wang et al (2013) verificaram a produção de H₂ em um CSTR inoculado com lodo adquirido em uma ETE, alimentado com melaço em concentração de 8 gDQO. L⁻¹. O reator foi operado em condição mesofílica (35 °C), TDH variando entre 10 e 4 h e pH médio de 4,3. De maneira distinta do comportamento de produção de metabólitos observado em RMM, os autores apresentaram um aumento gradativo de todos os metabolitos gerados, conforme o TDH era reduzido. No entanto, mesmo RMM apresentando variações nas concentrações dos metabólitos gerados, a produção de H₂ foi superior à registrada pelos autores, que por sua vez registraram uma maior concentração de etanol em todos os TDH utilizados, enquanto RMM não apresentou presença deste álcool. A geração de maiores concentrações de etanol seguida pela presença de concentrações significativas de ácido acético e butírico e pouco ácido

propiónico produzido, demonstra que o estudo realizado por Wang et al (2013) se encontrava em uma via que favorecia a produção de etanol simultânea a produção de H_2 .

Tabela 19: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos.

TDH	Acético	Butírico	Capróico	Cítrico	Fórmico	Isobutírico	Isovalérico	Lático	Málico	Propiônico	Succínico	Valérico
8	0	0	2	2	0	0	9	0	3	10	72	0
6	34	2	4	0	5	19	13	0	0	20	0	1
4	21	17	6	1	5	13	2	5	5	12	8	3
2	33	18	0	0	0	0	0	9	5	22	8	5
1	32	18	0	0	0	0	0	20	9	20	0	0

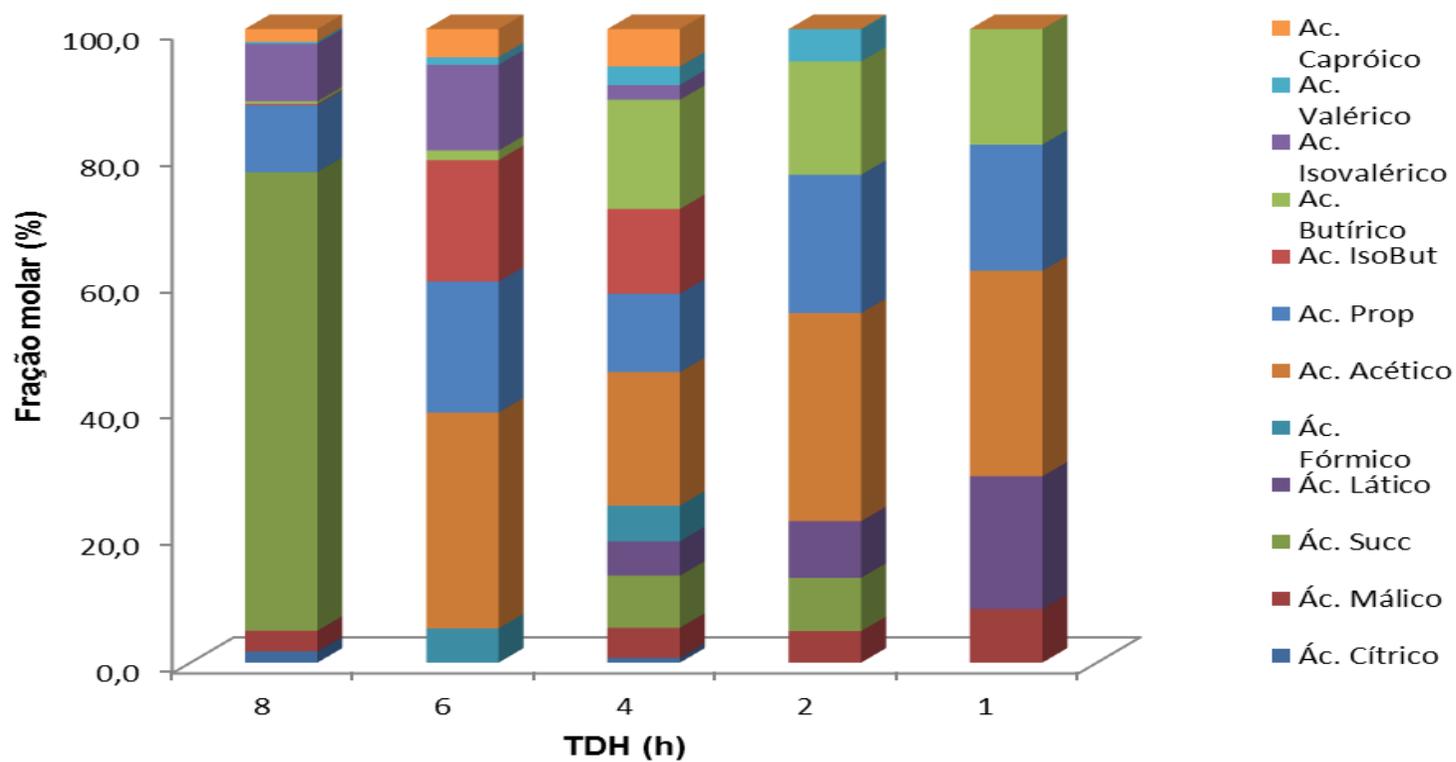


Figura 8: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMM.

5.2 Reator mesofílico de caldo (RMC)

5.2.1 Conversão de carboidratos

As concentrações médias de carboidratos tanto para afluente, como para efluente e a taxa de conversão registradas em RMC, estão apresentadas na Tabela 20 e Figura 9. Os valores nas concentrações de afluente e efluente sofreram oscilações conforme o TDH era alterado, demonstrando valores extremos nas concentrações de carboidratos afluente entre 3458 e 1248 mg. L⁻¹, registrados nos TDH de 1 e 6 h, respectivamente. Nas médias observada na concentração efluente os valores variaram entre 1628 e 567 mg. L⁻¹, observados nos TDH de 1 e 8 h. Equivalente de um valor que resulta da diferença entre as concentrações de afluente e efluente, a taxa de conversão de carboidrato também oscilou, iniciando-se com um alto consumo de 91% no TDH de 8 h, que reduziu-se pela metade (49%) quando o TDH foi reduzido para 6 h, sendo o valor de conversão atingindo neste período, a menor taxa de consumo observada durante a operação. Nos TDH de 4 e 2 h, o consumo de substrato elevou-se gradualmente para 66 e 74%, respectivamente, caindo novamente para 51% no último TDH aplicado de 1 h.

Tabela 20: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMC.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	2338 ± 889	1248 ± 336	2509 ± 717	2023 ± 1044	3458 ± 1082
Efluente (mg.L⁻¹)	567 ± 427	779 ± 163	795 ± 300	644 ± 364	1628 ± 484
Conversão (%)	91 ± 3	49 ± 4	66 ± 3	74 ± 3	51 ± 3

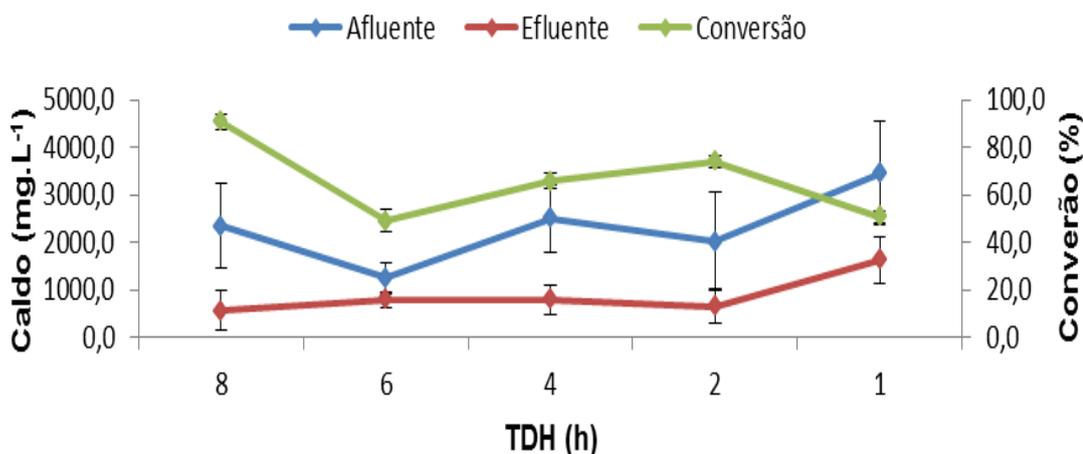


Figura 9: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMC.

Conforme apresentado na Figura 9, o comportamento da conversão de carboidratos durante a operação variou conforme o TDH era alterado, onde os valores percentuais atingiram taxas significativas. Desta maneira a produção de H₂ também apresentou valores extremos, porém outros parâmetros como pH e rota metabólicas podem ter direcionado o comportamento de produção, fazendo que os valores obtidos não sofressem total influência do consumo. Observando a literatura encontram-se valores que variam em relação aos números observados em RMC.

Pattra et al. (2011) avaliaram a produção de H₂ em um CSTR alimentado com caldo-de-cana em concentração de 25 gDQO. L⁻¹, inoculado com cultura pura de *Clostridium Butyricum TISTR 103*. O reator foi operado em condição mesofílica (37 °C), pH controlado em torno de 6 e TDH variando entre 36 e 4 h. As concentrações de carboidratos consumidos em cada TDH apresentado pelos autores demonstram um comportamento mais estável e com taxas de variações menores em relação as observadas em RMC. Os autores demonstraram consumos entre 24,5 e 16,37 g. L⁻¹, o que é superior ao consumo do presente estudo, no qual as concentrações consumidas não restringiram a faixa de 1,83 a 0,47 g. L⁻¹. Embora os estudos utilizassem configurações de reatores e parâmetros de operação em sua maioria distintos, a superioridade dos resultados obtidos por Pattra et al. (2011) pode ser justificada pelo uso de uma cultura pura de *Clostridium Butyricum TISTR 103* para inocular o reator, onde a biomassa adaptou-se com maior facilidade.

Plangklang et al. (2012) por meio de sistema de bateladas avaliaram a produção de H₂ utilizando cana-de-açúcar como substrato em concentração que variou entre 20 e 40 gDQO. L⁻¹. Os experimentos foram inoculados com cultura pura de *Clostridium Butyricum*

em células imobilizadas e livres, pH variando entre 4,5 e 6,5 e mantidos em condição mesofílica (37 °C). Os autores observaram que o consumo de carboidratos foi aumentando conforme o pH era elevado também, mesmo com a concentração de substrato variando durante o período experimental. Os valores apresentados pelos autores foram superiores em relação às taxas consumidas por RMM, restringindo-se a valores na faixa de 11,52 e 20,16 g. L⁻¹, nos experimentos inoculados com células livres e 11,31 a 20,54 g. L⁻¹, nos experimentos utilizando células imobilizadas. A utilização de uma cultura pura por Plangklang et al. (2012) pode ter influenciado no consumo, onde assim como no estudo de Pattra et al. (2011) citado anteriormente, a biomassa possivelmente adaptou-se com maior facilidade.

Wu et al. (2012) utilizaram um RLF inoculado com lodo de uma ETE para avaliar a produção de H₂, onde foi alimentado com sacarose em concentração de 20 gDQO. L⁻¹, adicionando íons de cálcio em duas formas e em diferentes concentrações. O reator foi operado em condição mesofílica (40 °C), pH ajustado por volta de 6,8 e TDH variando entre 8 e 2 h. Os autores observaram que a taxa de conversão de carboidratos manteve-se estabilizada na faixa entre 90 e 99% durante praticamente todo período de operação, mesmo utilizando concentrações de íons de cálcio distintas. Embora a eficiência de conversão apresentada por Wu et al. (2012) seja significativamente superior a registrada em RMC, o resultados adquiridos pelos autores podem ter sofrido influencia das fontes de carbono distintas e a adição de íons de cálcio que se demonstrou um meio nutriente eficaz para biomassa.

5.2.2 DQO

Assim como ocorrido na conversão de carboidratos, a remoção da carga orgânica também variou durante as alterações de TDH. Nos primeiros valores de TDH aplicados, a remoção de DQO comportou-se de maneira descendente, onde no TDH de 8 h, RMC apresentou uma eficiência de remoção de 15%, valor que foi reduzido para 10% quando o TDH foi alterado para 6 h e diminuído ainda mais ao aplicar um TDH de 4 h, onde foi registrado o menor valor de carga orgânica removida de 7%. No entanto ao atingir os valores de TDH menores as taxas de remoção começaram a se comportar de maneira ascendente, onde para os TDH de 2 e 1 h, removeu 11 e 13%. A Tabela 21 e Figura 10 apresentam os valores percentuais de remoção e concentrações dos afluentes e efluentes de DQO.

Tabela 21: Remoções médias de DQO em RMC.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	5186 ± 684	5215 ± 514	5156 ± 404	5078 ± 342	5142 ± 412
Efluente (mg.L⁻¹)	4964 ± 1796	5252 ± 958	6008 ± 1944	4425 ± 522	4496 ± 1330
Remoção (%)	15 ± 3	10 ± 3	7 ± 2	11 ± 3	13 ± 2

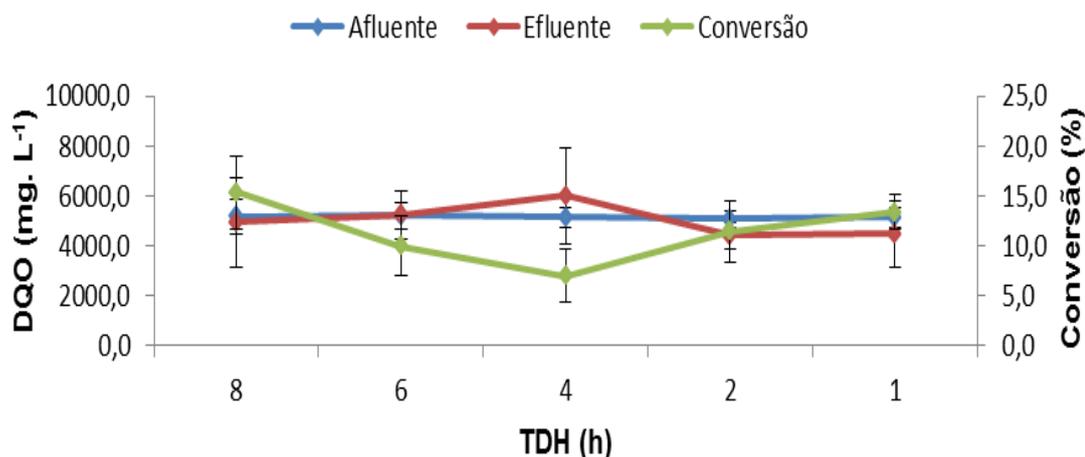


Figura 10: Remoções médias de DQO em RMC.

O comportamento de remoção de carga orgânica observado em RMC apresenta valores abaixo da média já citada anteriormente de 20% de remoção, segundo Antonopoulou et al. (2008). A queda de remoção nos primeiros TDH aplicados pode ser em decorrência de alterações hidrodinâmicas como citado em RMM (ver item 5.1.2), pela produção de biomassa em grande quantidade, onde no caso de RMM a formação da biomassa teve um índice mais elevado nos menores TDH. Em RMC a produção em grande escala de biomassa ocorreu em período divergente, pois o menor valor de remoção registrado foi no TDH de 4 h, durante a metade da operação. Nos TDH menores (2 e 1 h) a produção de biomassa foi menor, o que pode ser devido ao aumento da vazão de alimentação, resultando assim, em um aumento de remoção.

5.2.3 Composição do biogás

De acordo com os dados registrados, o percentual de H₂ no biogás gerado apresentou variação entre as alterações do TDH de 8 para 6 h e 2 para 1 h. Inicialmente, no TDH de 8 h, RMC demonstrou um percentual de H₂ no biogás de 23%, que foi o melhor resultado obtido na composição do biogás pelo H₂, porém, ao reduzir o TDH para 6, 4 e 2 h, não foi observado percentual de H₂ gerado, sendo registrado nestes valores de TDH utilizados apenas a

produção de CO_2 . No entanto, ao aplicar o menor TDH da operação de 1 h, RMC apresentou 17% de H_2 no percentual do biogás, ocasionando a segunda variação nos resultados referentes à composição de biogás. A Tabela 22 e Figura 11 apresentam os percentuais de H_2 e CO_2 gerados no biogás.

Tabela 22: Percentuais de H_2 e CO_2 no biogás de RMC.

TDH (h)	8	6	4	2	1
H_2 (%)	$23 \pm 1,9$	0	0	0	$17 \pm 3,6$
CO_2 (%)	$77 \pm 12,9$	$100 \pm 2,9$	$100 \pm 1,4$	$100 \pm 4,1$	$83 \pm 13,3$

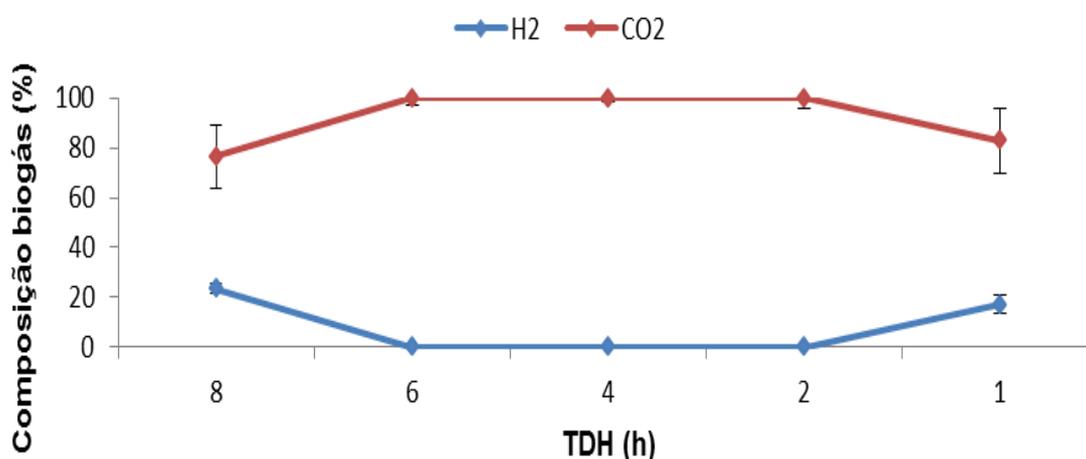


Figura 11: Comportamento do percentual de H_2 no biogás do RMC.

Embora RMC não tenha apresentado a geração de metano, o que comprovou a eficiência no processo de tratamento térmico do lodo para inoculação do reator, os baixos e nulos percentuais de H_2 provavelmente podem estar relacionados à ocorrência de uma homoacetogênese ocorrida nos valores de TDH aplicados onde a composição foi nula de H_2 . Nos valores de TDH onde os percentuais foram baixos (8 e 1 h) RMC apresentou a geração em grandes concentrações de ácido láctico, propiônico e succínico, que por serem ácidos inibidores na produção de H_2 , podem ter influenciado a redução nos índices observados. Os valores nulos nos TDH aplicados de 6, 4 e 2 h, é provavelmente justificado pela ocorrência de uma homoacetogênese, pois as concentrações de ácido acético geradas foram significativamente altas, atingindo valores como 56 77 e 79%, respectivamente. (ver item 5.2.6)

Patra et al. (2011) observaram a produção de H_2 em um CSTR utilizando como fonte de carbono o caldo da cana-de-açúcar em concentração de $25 \text{ gDQO} \cdot \text{L}^{-1}$. O reator foi

inoculado através de cultura de pura de *Clostridium Butyricum* TISTR 1032, o reator foi mantido em condição mesofílica (37 °C), pH ajustado em torno de 6 e TDH variando decendentemente entre 36 e 4 h. Os autores apresentaram uma elevação no teor de H₂ no biogás gerado, que segundo os mesmos era composto por CO₂ e H₂, sem presença de metano, ao reduzir o TDH. Quando comparado aos resultados observados em RMC, o máximo percentual de H₂ no biogás, registrado pelos autores é inferior, sendo o ápice de composição de 19% contra 23% de RMC. No entanto, o comportamento observado no presente estudo acarreta a uma superioridade na eficiência de geração de biogás em relação à H₂, pois o estudo de Pattra et al. (2011) apresentou maior estabilidade de produção durante as alterações de TDH. Embora as configurações dos reatores sejam distintas, o que pode justificar a diferença no percentual de biogás gerado, é a influencia das condições ligeiramente ácidas ocasionada por ajuste do pH em torno de 6, que ocasionou provavelmente o direcionamento do reator utilizado pelos autores à uma rota metabólica favorável a produção de H₂, onde os ácidos inibidores e a presença em demasia de ácido acético não foram registradas.

No estudo realizado por Plangklang et al. (2012) onde foi avaliado a produção de H₂, por meio de sistema de bateladas, a inoculação foi realizada a partir de cultura pura de *Clostridium Butyricum* TISTR 1032, dividindo em células livres e imobilizadas. O reator utilizou como fonte de carbono principal foi utilizado o caldo da cana-de-açúcar em concentração variando entre 20 e 40 gDQO. L⁻¹. Durante o experimento as amostras foram mantidas em condição mesofílica (37 °C) e pH ajustado entre 4,5 e 6,5. Os autores apresentaram um comportamento estável no percentual de H₂ presente no biogás produzido, que sofreu uma pequena variação conforme as concentrações de caldo e pH foram variadas, não restringindo a faixa de 44 e 45%, tanto para os experimento utilizando células livres, como para o uso de células imobilizadas. Os resultados apresentados por Plangklang et al. (2012) no quesito composição de H₂ no biogás demonstram uma eficiência superior ao obtido no presente estudo, tanto em percentual máximo atingido, como na estabilidade dos resultados. Embora sejam experimentos em bateladas, o que difere de utilizar um reator, a possível justificativa para esta diferença está interligada às condições de operação impostas, onde a influência em utilizar cultura pura como inóculo e o pH podem ter fornecido aos experimentos dos autores uma rota metabólica na qual não observou-se produção de ácidos inibidores (baixa concentração de ácido propiônico) e quantidades elevadas de ácido acético.

Lin et al. (2006) aferiram a produção de H₂ utilizando um RALF que tinha como principal fonte de carbono a sacarose em concentração variando entre 40 e 5 gDQO. L⁻¹. O

reator foi inoculado com lodo de ETE misturado com polímero sintético, mantido em condição mesofílica (40 °C) e TDH variando entre 9,8 e 2,2 h. O conteúdo de H₂ observado pelos autores no biogás produzido apresentou comportamento estabilizado, onde conforme o TDH era reduzido em cada concentração de sacarose utilizada no substrato, o percentual de H₂ também diminuía. Em RMC registrou-se percentual de H₂ em apenas dois valores de TDH (8 e 1 h), no entanto, comparando ao estudo realizado por Lin et al. (2006), é inferior quanto a eficiência de percentual máximo atingido durante a operação e estabilidade de geração de H₂ no biogás. A provável diferença, embora as fontes de carbono utilizadas sejam distintas, apresenta-se na produção de metabólitos registrada pelos autores, onde a maior concentração foi de ácido butírico (máx. 73%), com baixas concentrações de ácidos inibidores (ácido propiônico, máx. 13%), o que comprova que o reator posicionou-se em uma rota metabólica propícia à produção de H₂.

5.2.4 PVH

Ao analisar os resultados registrados em RMC, observa-se um comportamento instável conforme o TDH é reduzido e a TCO elevada. Frente a esta informação, potencia-se uma provável influência das alterações de TDH e TCO sobre a PVH. O reator apresentou dados de produção semelhantes aos apresentados no tópico anterior (composição de H₂), pois apresenta PVH apenas nos TDH extremos. Ao iniciar a operação o TDH de 8 h foi aplicado, com uma TCO de 18 g DQO. L⁻¹.d⁻¹, onde a PVH foi de 1,3 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. Conforme foi reduzido o TDH para 6, 4 e 2 h e elevou-se a TCO para 23, 36 e 58 g DQO. L⁻¹. d⁻¹, o registro de PVH foi nula, não apresentando mínimos volumes. No entanto, ao aplicar o TDH mínimo (durante a operação de RMC) de 1 h e elevar a TCO ao seu máximo valor em RMC, de 125 g DQO. L⁻¹. d⁻¹, a PVH voltou a ser registrada, apresentando o maior índice observado de toda operação de RMC, de 1,5 L H₂. L⁻¹. d⁻¹. Os comportamentos de PVH acompanhado dos valores da TCO em cada TDH estão apresentados e ilustrados na Tabela 23 e Figura 12.

Tabela 23: PVH e TCO médios em cada TDH aplicado em RMC.

TDH (h)	8	6	4	2	1
PVH (L H ₂ . L ⁻¹ . d ⁻¹)	1,3 ± 0,1	0	0	0	1,5 ± 1
TCO (gDQO. L ⁻¹ . d ⁻¹)	18 ± 5	23 ± 5	36 ± 13	58 ± 8	125 ± 14

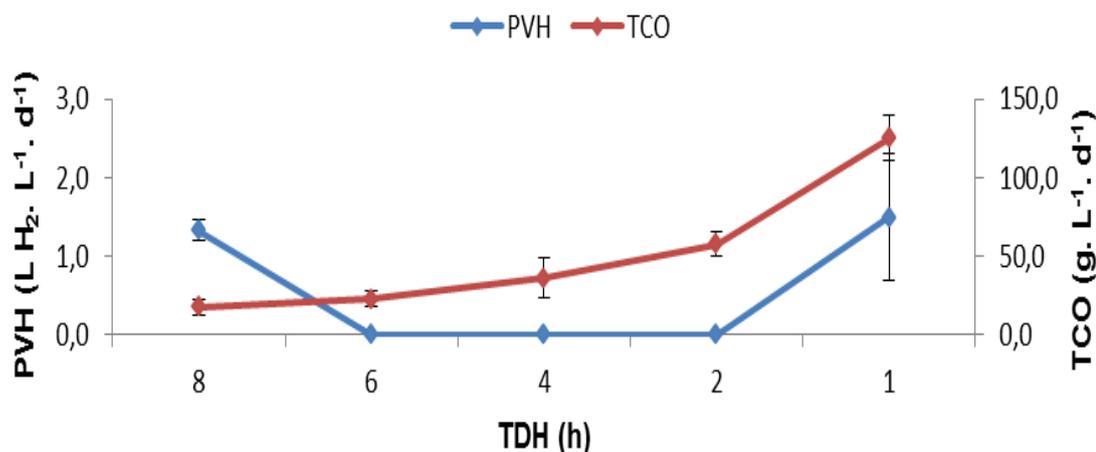


Figura 12: Comportamento da PVH em RMC.

As variações observadas no comportamento da PVH podem ter sido influenciadas pelo valor da TCO, principalmente na alteração do TDH de 2 para 1 h, onde o valor de TCO aplicado foi o ápice durante a operação. Na variação ocorrida entre os TDH de 8 e 6 h, a influencia da queda de PVH pode abranger os metabólitos gerados, pois ao reduzir o TDH para 6 h a produção de ácido acético foi demasiada, possivelmente ocorrendo uma homoacetogênese. No entanto, a Figura 12 demonstra através da curva de TCO e PVH, que as melhores condições para PVH utilizando caldo-de-cana neste reator, é a utilização de TDH mais baixos e TCO com valores elevados. Na literatura são encontrados estudos onde, embora as configurações dos reatores sejam distintas, os resultados obtidos são oscilantes em relação ao encontrado em RMC.

Pattra et al. (2011) adotaram um CSRT inoculado com cultura pura de *Clostridium Butyricum* TISTR 1032 e alimentado com caldo de cana-de-açúcar em concentração de 25 gDQO. L⁻¹. O reator trabalhou com um pH ajustado de maneira levemente ácida por volta de 6, TDH sendo alterado de maneira descendente entre 36 e 4 h e foi mantido em condição mesofílica (37 °C). Segundo os autores a PVH apresentou um comportamento ascendente conforme o TDH era reduzido, o que é influenciada diretamente pelo valor da TCO, pois utilizando uma concentração de caldo fixa no substrato, ao aplicar um TDH inferior o valor da

TCO eleva-se. Os resultados observados no estudo de Pattra et al. (2011) referindo-se à PVH máxima obtida, foram inferiores aos registrados no presente estudo, onde os autores apresentam um valor de $3,38 \text{ mmol H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, no menor TDH aplicado (4 h), o que é inferior ao presente estudo, onde se registrou $1,5 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ em um TDH menor (1 h). No entanto, RMC não apresentou estabilidade de PVH contínua na maior parte dos valores de TDH aplicados, ou seja, não apresentou comportamento de PVH análogo ao estudo dos autores.

Plangklang et al. (2012) por meio de experimento em bateladas estudaram a produção de H_2 utilizando caldo da cana-de-açúcar em concentrações variando entre 20 e 40 gDQO. L^{-1} como principal fonte de carbono. Para inoculação dos frascos em batelada foi utilizado cultura pura de *Clostridium Butyricum TISTR 1032*, dividindo-as em células livres e imobilizadas. Foi utilizado condição mesofílica ($37 \text{ }^\circ\text{C}$) e pH oscilando entre 4,5 e 7 como condições operacionais. Nos experimentos inoculados com células livres a concentração do substrato e o ajuste do pH tiveram influência sobre os valores registrados na PVH. Os autores observaram que o valor da PVH sofria elevação conforme a concentração de substrato e pH eram aumentados, no entanto, ao ajustar o pH em 7 ocorreu uma leve queda no valor da PVH e elevando a concentração para um valor acima de 25 gDQO. L^{-1} , a PVH demonstrou redução de 34%. Para os experimentos com as células imobilizadas o comportamento foi análogo ao anterior, porém ao aplicar uma concentração máxima de 40 gDQO. L^{-1} , a PVH voltou a elevar-se. O estudo de Plangklang et al. (2012), apresentou máximas PVH de 3 e $3,11 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ para células livres e imobilizadas, respectivamente. Ao comparar os resultados apresentados pelos autores à RMC, nota-se uma significativa superioridade quanto a PVH, que pode ser justificada pelas produções de metabólitos solúveis, onde os experimentos em bateladas não apresentaram ácidos inibidores em grandes concentrações, a utilização de cultura pura como inóculo, onde uma melhor adaptação da biomassa possivelmente.

Yuan et al. (2010) estudaram a produção de H_2 em um CSTR que teve como principal fonte de carbono a sacarose em concentração de $11,1 \text{ gDQO} \cdot \text{L}^{-1}$. O reator foi inoculado utilizando culturas mistas, dentre elas a *Clostridium pasteurianum*. Como condições operacionais o reator foi mantido na condição mesofílica ($35 \text{ }^\circ\text{C}$) e TDH variando de maneira reduzida entre 8 e 2 h. Conforme o TDH foi reduzido a PVH registrada pelos autores foi elevando-se até chegar no TDH de 4 h, no entanto, ao atingir um valor de TDH mais baixo (2 h), a PVH sofreu uma queda em seu índice. Deste modo foi adicionado ao reator $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de íon de Cálcio (Ca) e elevado seu TDH para 4 h novamente, porém não obtendo bons resultados, pois o valor da PVH continuou diminuindo. Ao aplicar o TDH mais

baixo de 2 h, com o reator suplementado com Ca, a PVH dobrou seu valor, demonstrando que a suplementação era eficaz com a utilização de um TDH reduzido. No estudo de Yuan et al. (2010) foi observado uma máxima PVH antes da suplementação no TDH de 4 h, onde atingiu $14 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ e após a suplementação no TDH de 2 h, onde se registrou a melhor PVH d operação de $24,5 \text{ L H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Ao comparar os resultados obtidos em RMC com o estudo apresentado pelos autores, observa-se que mesmo sem realizar a suplementação, o CSTR neste caso, foi significativamente mais eficiente.

5.2.5 HY

De maneira análoga ao observado no comportamento da PVH, o HY também sofreu oscilações, apresentando resultados apenas nos valores de TDH de início e final de operação. Os valores das variações do HY nos extremos TDH da operação e ilustração do comportamento estão expostos na Tabela 24 e Figura 13. Ao dar início à operação, foi aplicado um TDH de 8 h, onde RMC apresentou um índice de HY de $1,2 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol sacarose}^{-1}$, conforme foi aplicado um TDH reduzido de 6 h, RMC não apresentou valores de HY, o que ocorreu sequencialmente nos valores de TDH aplicados de 4 e 2 h. No entanto, ao reduzir o TDH para um valor menor (1 h) foi registrado um índice de $0,2 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol sacarose}^{-1}$.

Tabela 24: Médias dos valores de HY em cada TDH aplicado.

TDH (h)	8	6	4	2	1
HY (mol H₂ · mol sac⁻¹)	$1,2 \pm 0,2$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,1$

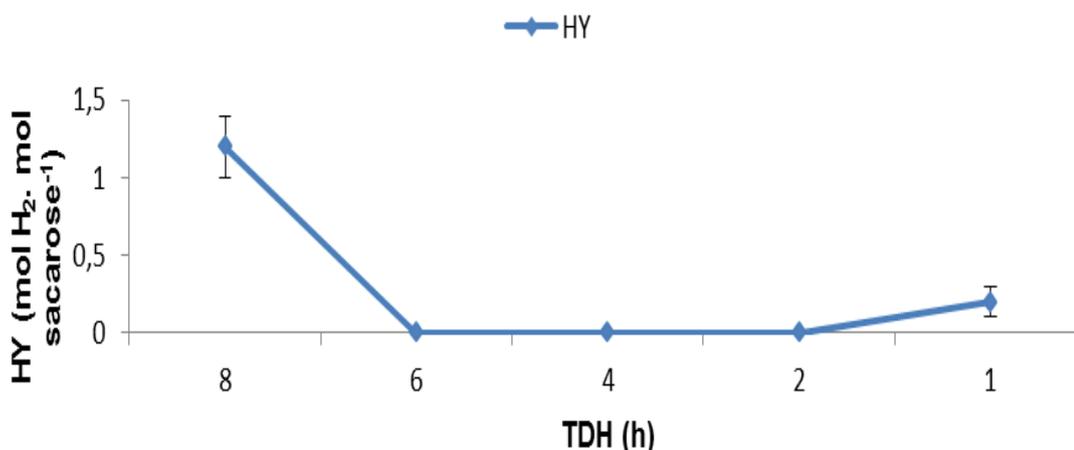


Figura 13: Comportamento do HY em RMC.

O comportamento do HY apresentado por RMC, onde o reator apresenta valores em apenas dois dos TDH aplicados, pode estar relacionado com a produção de metabólitos solúveis. No TDH de 8 h, onde o reator apresentou o maior índice de HY, os produtos solúveis gerados consistiram em uma maior concentração de ácidos propiônico e ácido succínico, onde possivelmente podem ter influenciado nos índices de HY neste TDH. Com a redução para os valores de TDH de 6, 4 e 2, o reator apresentou significantes concentrações de ácido acético sem a presença notável de outro ácido qualquer o que evidencia uma provável ocorrência de uma homoacetogênese, coerentemente influenciando os resultados nulos de HY nestes valores de TDH utilizados. No último TDH, embora detectado a presença de ácido butírico dentre os produtos solúveis gerados, o diminuto índice de HY observado foi ocasionado provavelmente pela interferência dos ácidos inibidores gerados, onde neste valor de TDH aplicado foi registrada a presença de ácido láctico em concentração maior em relação ao ácido butírico e semelhante ao ácido acético. Na literatura outros autores apresentam estudos que se distinguem dos números obtidos em RMC mesmo em configurações distintas de reatores.

Patra et al. (2011) aferiram a produção de H₂ em um CSTR, que foi inoculado com cultura pura de *Clostridium Butyricum TISTR 1032*. O reator foi alimentado com caldo da cana-de-açúcar em concentração de 25 gDQO. L⁻¹, mantido em condição mesofílica (37 °C), com pH ajustado em torno de 6 e TDH variando de maneira reduzida entre 36 e 4 h. Segundo os autores o comportamento de HY ocorreu em constante elevação conforme o TDH foi sendo reduzido, onde no menor TDH aplicado, o reator atingiu o máximo HY observado de 1 mol H₂. mol hexose⁻¹. Os autores justificam os resultados através de uma provável

interferência metabólica, onde as concentrações de ácidos inibidores à produção de H₂ (ácido propiônico) gerados, de maneira distinta às concentrações observadas em RMC, foram baixas. Entretanto, a produção de altas concentrações de etanol dentre os produtos solúveis, pode indicar que o reator não se encontrava em uma rota metabólica voltada apenas à eficiência na produção de H₂, ocasionando interferência nos valores de HY. O valor máximo de HY apresentado pelos autores demonstra que RMC foi superior em relação a atingir maiores índices, no entanto, o constante registros de valores de HY gerados em todos os TDH aplicados no estudo de Pattra et al. (2011), ocasiona certa estabilidade nos resultados, superando RMC, que neste quesito demonstrou-se ineficiente.

O estudo realizado por Plangklang et al. (2012) avaliou a produção de H₂ em experimentos em bateladas, as quais foram inoculadas com *Clostridium Butyricum TISTR 1032* divididas em células livres e imobilizadas. Os experimentos utilizaram fonte de carbono o caldo da cana-de-açúcar em concentração que variou entre 20 e 40 gDQO. L⁻¹, mantidos em condição mesofílica (37 °) e pH variado entre 4,5 e 7. Os autores apresentaram índices de HY que oscilaram conforme ocorriam alterações no pH e na concentração, onde as condições que apresentaram os HY máximos de 1,33 mol H₂. mol hexose⁻¹ e 1,34 mol H₂. mol hexose⁻¹ para as células livres e imobilizadas respectivamente, foram ajustadas em pH de 6,5 e concentração de 25 gDQO. L⁻¹. De modo análogo ao ocorrido na PVH, os valores de HY de ambas as células reduziam-se em pH e concentrações maiores ou menores. O estudo de Plangklang et al. (2012) demonstra superioridade quanto a eficiência de HY em relação à RMC, onde tanto como valor máximo de HY quanto estabilidade contínua de geração de dados são superiores. Além da utilização de configuração de reator distinta, a diferença nos resultados observados em relação à RMC pode ser justificada pela produção de metabolitos solúveis, onde de maneira divergente de RMC, os autores não apresentaram significativas concentrações isoladas de ácido acético em seu trabalho, provavelmente descartando a ocorrência de uma homoacetogênese.

5.2.6 Metabólitos solúveis

Na Tabela 25 e Figura 14, está apresentada a relação dos metabólitos solúveis gerados em RMC. Ao longo da operação foram identificados a presença dos ácidos acético, butírico, capróico, fórmico, isovalérico, láctico, málico, propiônico, succínico, valérico e geração de etanol, que totalizaram concentrações por TDH aplicado em mg. L⁻¹ de 4809, 4960, 2097, 1695 e 1052, nos valores de TDH de 8, 6, 4, 2 e 1 h, respectivamente. Dentre as

maiores concentrações de metabólitos gerados por RMC estão o ácido acético (máx. 79%), ácido butírico (máx. 21%), ácido láctico (máx. 23%) e ácido propiônico (máx. 66%).

Sendo um parâmetro que provavelmente causou interferência na produção de H₂, no TDH aplicado inicialmente de 8 h, o reator apresentou uma grande concentração de ácido propiônico (66%), seguido de uma concentração inferior de ácido succínico (14%), o que pode explicar os baixos índices registrados neste TDH. Ao reduzir o valor do TDH para 6 h a produção de ácido acético, ganhou destaque com uma concentração de 56% dos metabólitos solúveis gerados, o que possivelmente pode ter ocasionado uma ocorrência de homoacetogênese, influenciando diretamente no caso, os valores nulos observados no reator, além de ser detectada uma presença relativamente alta na concentração de ácido propiônico (35%). Ao aplicar os TDH de 4 e 2 h, as concentrações de ácido acético foram significativamente superiores, onde atingiram 77 e 79%, respectivamente, o que provavelmente acarretou a ocorrência da homoacetogênese no reator, resultando em uma interferência direta na produção de H₂, levando-a ser nula. Ainda nos TDH de 4 e 2 h, não foi detectado presença de altas concentrações de ácidos inibidores, sendo o ácido láctico o único metabólito com essas características detectado e em baixas concentrações de 10 e 15%, respectivamente. Especificamente no TDH de 4 h, o reator apresentou, embora baixa, concentração de 7% de etanol. No menor e último valor de TDH aplicado de 1 h, as concentrações dos metabólitos gerados abrangeu maior diversidade de produtos solúveis, sendo observado uma maior concentração ainda de ácido acético (26%), seguido por 23% de ácido láctico e 21% de ácido butírico. A presença, neste caso, de elevada concentração de ácido láctico, pode ter inibido a produção de H₂, resultando em um baixo índice.

Na literatura podem-se encontrar trabalhos que comprovam a possibilidade de que RMC enquadrou-se em uma rota metabólica inviável à produção de H₂. Um exemplo o qual podemos comparar o presente estudo, é o trabalho realizado por Pattra et al. (2011) onde foi utilizado um CSTR, inoculado com *Clostridium Butyricum TISTR 1032* e alimentado com caldo de cana-de-açúcar em concentração de 25 gDQO. L⁻¹. O reator foi mantido em condição mesofílica (37 °C), pH ajustado em 6 e TDH sendo variado de 36 à 4 h. Os autores apresentaram oscilação nas concentrações dos ácidos observados em cada TDH, onde as grandes concentrações de ácidos inibidores à produção de H₂, como ácido láctico (máx. 43%) e ácido propiônico (máx. 22%), foram detectadas. De maneira distinta dos produtos solúveis detectados em RMC, o estudo dos autores ainda apresenta a presença de concentrações de etanol que se mantiveram entre 17 e 30% em todos os valores de TDH aplicados.

Comparando as produções de metabólitos solúveis entre o estudo de Pattra et al. (2011) e RMC, observa-se a ocorrência de uma superioridade na concentração de ácido acético, o que realça a probabilidade alta da ocorrência de uma homoacetogênese, afetando de maneira direta a produção e H_2 em RMC, o que difere dos produtos solúveis apresentados pelos autores, onde as concentrações estão mais regulares, abrangendo um número maior de produtos gerados. Embora as configurações dos reatores se distingam quanto à produção de metabólitos solúveis, RMC mostrou-se menos eficiente do que o estudo dos autores, pois sofreu pela influência de uma rota metabólica bem menos favorável.

Tabela 25: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.

TDH	Acético	Butírico	Capróico	Fórmico	Isovalérico	Lático	Málico	Propiônico	Succínico	Valérico	Etanol
8	3	1	4	0	4	0	6	65	14	0,9	0
6	56	0,3	2	0	0,4	0	2	35	3	0,5	0
4	77	0	0	0	0	10	4	0	0	0	7
2	79	0	0	0	0	15	5	0	0	0	0
1	26	21	0	19	0	23	10	0	0	0	0

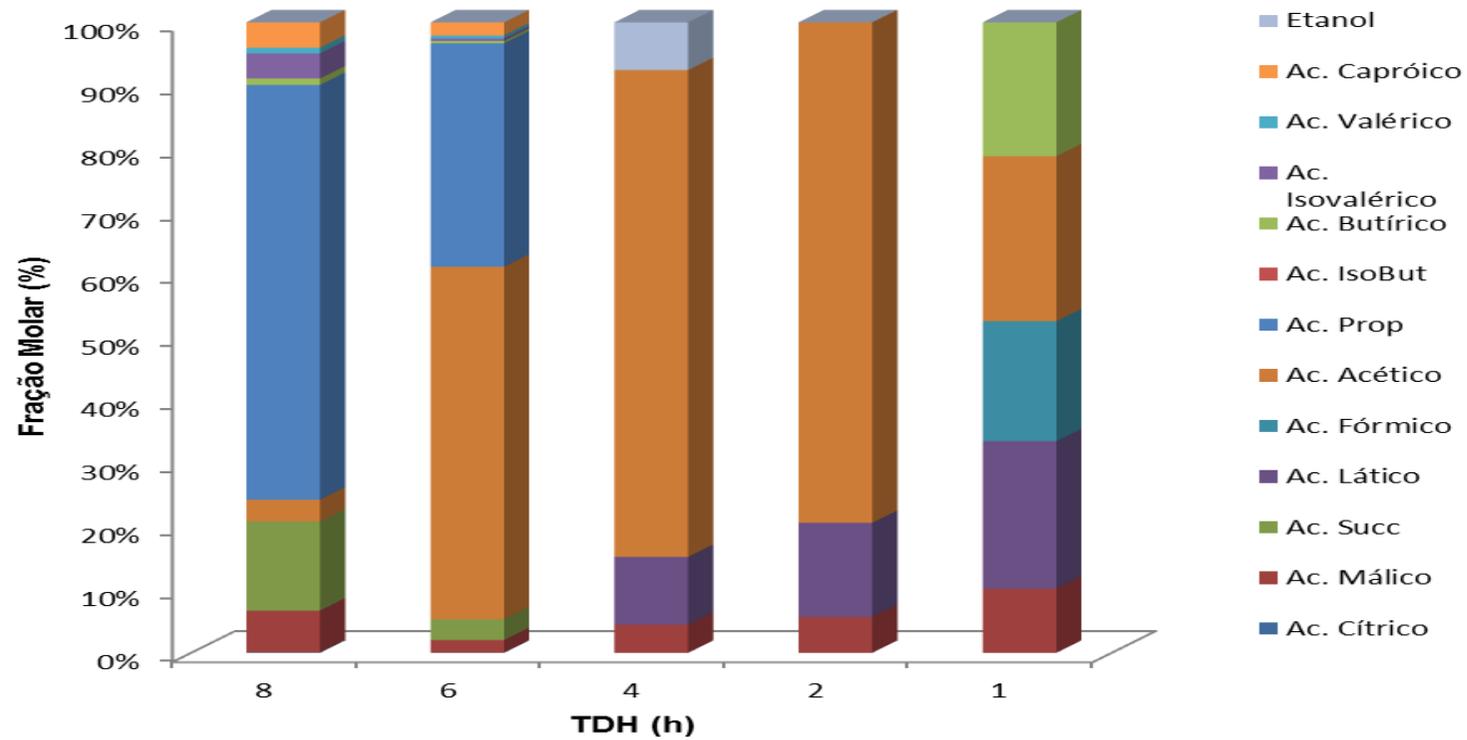


Figura 14: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMC.

5.3 Reator mesofílico vinhaça (RMV)

5.3.1 Conversão de carboidratos

De acordo com os dados registrados, as concentrações do afluente apresentaram escalas de maior amplitude de valores do que às observadas no efluente, onde se registrou variações no afluente entre 418 a 1231 mg. L⁻¹ nos TDH de 8 e 2 h, respectivamente. Enquanto no efluente foram obtidas concentrações entre 112 e 163 mg. L⁻¹, observados nos TDH de 6 e 1 h. Em RMV os percentuais médios de conversão de carboidratos não sofreram grandes oscilações, com exceção no TDH de 2 h, onde o reator apresentou um elevado índice. A operação iniciou-se apresentando 78% de conversão de carboidratos no TDH de 8 h, ao reduzir o TDH para 6 h, ocorreu um leve decréscimo no percentual de conversão, onde foram observados 76%. No TDH de 4 h, o valor de conversão também não teve muita divergência apresentando 72%, no entanto, ao aplicar um TDH de 2 h, o reator apresentou uma grande elevação chegando a 92%, valor considerado atípico na operação de RMV, pois ao reduzir ainda mais o TDH para 1 h, a conversão de carboidratos voltou ao nível de estabilidade (75%), comparando aos três primeiros valores de TDH aplicados. Na Tabela 26 e Figura 15 estão sendo demonstrados e ilustrados as concentrações e percentuais médios, bem como o comportamento em cada TDH aplicado.

Tabela 26: Concentrações e conversões médias de carboidratos em RMV.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	418 ± 282	426 ± 180	505 ± 225	1230 ± 770	590 ± 147
Efluente (mg.L⁻¹)	140 ± 111	112 ± 41	138 ± 60	131 ± 49	163 ± 53
Conversão (%)	78 ± 1	76 ± 1	71 ± 2	92 ± 3	75 ± 2

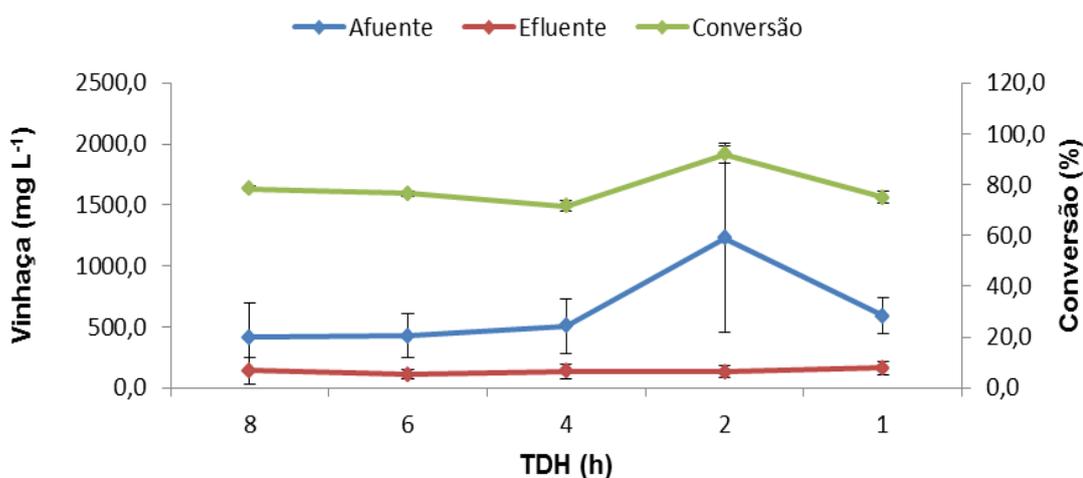


Figura 15: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMV.

Conforme apresentado na Figura 15, RMV apresentou certa estabilidade, onde se registrou valores de consumos considerados bons, com uma a única oscilação de maior significância ocorrida no TDH de 2 h, onde o percentual de conversão elevou-se consideravelmente. No entanto, a influência de outros parâmetros como oscilações de pH, rota metabólicas e possivelmente fonte de carbono, podem causar interferência, não garantindo desta maneira, que a produção de H₂ acompanhe os percentuais de conversão registrados. Na literatura observam-se estudos destinados a produção de H₂, utilizando vinhaça da cana-de-açúcar com níveis de conversões análogas à RMV.

Lazaro et al. (2014) por meio de experimentos em bateladas avaliaram a produção de H₂, utilizando vinhaça da cana-de-açúcar como principal fonte de carbono em concentrações variando entre 2 e 12 gDQO. L⁻¹. Os experimentos foram inoculados com lodo de abatedouro de aves, pH ajustados em 5,5 e temperatura mantida em diferentes condições, sendo a mesofílica (37 °C) e a termofílica (55 °C). Os autores apresentaram melhores percentuais de consumo nos experimentos em condição mesofílica, onde os valores não sofreram importantes variações. Embora a não utilização da mesma configuração de reator, os percentuais de conversões apresentados pelos autores, assemelham-se à estabilidade de conversão observada em RMC. Entretanto, o presente estudo apresentou maior pico de conversão de 92% durante a operação. Tais resultados podem ser justificados pelo valor distinto de pH aplicado e pela observação dos parâmetros onde no estudo de Lazaro et al. (2014) foi variado a concentração de substrato, influenciando a ocorrência de variações nos resultados de conversão.

Ferraz Jr. et al. (2015a) mensuraram a produção de H_2 utilizando quatro RALF alimentados com vinhaça em condição mesofílica (25 °C). Os reatores foram inoculados com efluentes advindos do processo de fermentação, pH ajustado por volta de 5,5 e TDH contínuo de 24 h. Os autores utilizaram quatro distintos materiais como meio suporte sendo a argila expandida (CE), carvão vegetal (Ch), cerâmica porosa (PC) e poliestireno de baixa densidade (LPD). A utilização de materiais suportes divergentes, demonstrou que as eficiências na conversão de carboidratos também foram distintas, onde os valores médios apresentados foram 65, 74, 72 e 66%, para CE, Ch, PC e LPD, respectivamente. Entretanto, provavelmente existiu a ocorrência de uma interferência por meio dos parâmetros utilizados, bem como a geração de metabólitos solúveis, resultando em produções de H_2 que divergiram dos altos índices de conversão, onde os maiores percentuais produziram H_2 em menor escala e os menores atingiram os maiores valores. Embora o estudo de Ferraz Jr. et al. (2015a) tenha apresentado elevados níveis de consumo, RMV apresenta-se mais eficiente neste parâmetro, onde as médias de conversão demonstram uma estabilização maior. Tal fato possivelmente deve-se a uma melhor adaptação da biomassa ao meio suporte por RMV, por ser operado em um período de tempo significativamente maior do que o estudo realizado pelos autores.

Santos et al. (2014a) aferiram a produção de H_2 utilizando dois RALF (R1 e R2) operados sob condição termofílica (55 °C), alimentados com vinhaça da cana-de-açúcar em concentrações de 10 e 30 gDQO. L^{-1} . Os reatores foram inoculados com lodo proveniente de um UASB, pH ajustado por volta de 4,5 e TDH variando entre 6 e 1 h e 8 e 1 h, para R1 e R2, respectivamente. Os percentuais apresentados pelos autores demonstram uma maior estabilidade nos índices de R1 ao alterar os valores de TDH em relação ao observado em R2. Embora a temperatura de operação utilizada pelos autores e inóculo tenham sido distintas em relação à RMV, os percentuais de consumo do presente estudo demonstraram-se mais eficientes quanto à conversão de carboidratos. Em RMV foi observado maiores taxas de conversão, registrando 71 a 92%, enquanto os percentuais de conversão de R1 se restringiram à faixa entre 47 e 50% e R2 apresentou uma escala de maior amplitude onde suas taxas se enquadraram entre 31 e 52%.

5.3.2 DQO

De acordo com os dados compilados, a remoção da carga orgânica ocorreu de maneira oscilatória, pois se alterou conforme o TDH era reduzido. No TDH inicial de 8 h, RMV apresentou a maior remoção observada em sua operação de 23%, ao reduzir o TDH

para 6 h, a remoção de DQO apresentou uma queda de quase 50% em sua taxa, chegando a 13%. Aplicando o TDH de 4, 2 e 1 h, o reator apresentou indícios de estar estabilizando os percentuais de remoção, pois foram registrados valores de 12, 10 e 13%, respectivamente. A Tabela 27 e Figura 16 demonstram os percentuais médios de remoção em cada TDH aplicado em RMV.

Tabela 27: Remoções médias de DQO em RMV.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	5157 ± 818	5142 ± 505	5058 ± 547	4940 ± 390	5110 ± 709
Efluente (mg.L⁻¹)	4191 ± 1972	4452 ± 1302	4965 ± 1367	4122 ± 844	4781 ± 1609
Remoção (%)	23 ± 2	13 ± 3	12 ± 2	10 ± 2	13 ± 4

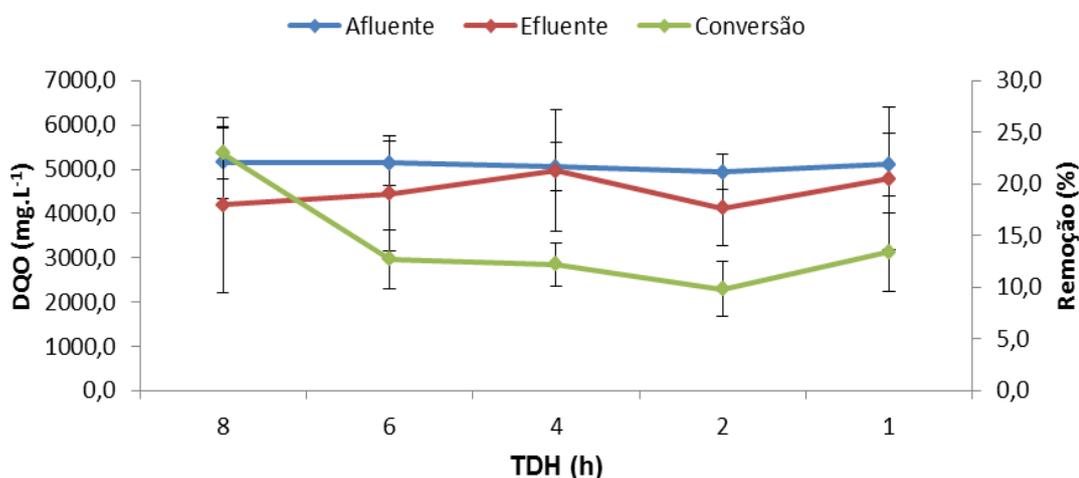


Figura 16: Remoções médias de DQO em RMV.

O comportamento de remoção de DQO apresentado na Figura 16 representa os valores médios em cada fase, onde se observa que o percentual de remoção no TDH de 8 h é o de maior índice, indicando que possivelmente ocorreram alterações hidrodinâmicas a partir da redução do TDH para 6 h, pois a partir deste TDH aplicado a produção de biomassa no reator se tornou maior, estabilizando os índices de remoção de DQO. Santos et al. (2014a) obtiveram percentuais de remoção de DQO semelhantes à RMV, operando dois RALF (R1 e R2) termofílicos (55 °C), alimentados com vinhaça diluída em concentrações de 10 e 30 gDQO. L⁻¹, pH ajustado em 4,5 e inoculados com lodo advindo de um UASB. Os autores observaram estabilidade de remoção de DQO em ambos os reatores operados, R1 apresentou o maior índice de remoção entre 8,5 e 13%. Segundo os autores o maior percentual observado de

remoção do estudo (13%), ocorreu no TDH de 4, onde a TCO também foi elevada, gerando assim uma elevação na concentração de compostos orgânicos e ácidos graxos voláteis.

5.3.2.1 Concentração de sulfato

No decorrer da operação de RMV, foram analisadas as concentrações de sulfato no efluente de RMV em cada TDH aplicado, para observar se havia possibilidade da ocorrência de uma sulfetogênese, pelo desenvolvimento e ação das BRS (bactérias redutoras de sulfato) que consomem H_2 para realizar a redução do sulfato a sulfeto, interferindo desta maneira na produtividade de H_2 . As concentrações de sulfato observadas no efluente de RMV mantiveram-se na faixa entre 258 e 425 $mg \cdot L^{-1}$. A Tabela 28 e Figura 17 demonstram as concentrações médias e o comportamento das concentrações observadas no efluente de RMV em cada TDH.

Tabela 28: Concentrações médias de sulfato de RM em cada TDH aplicado.

TDH	8	6	4	2	1
Sulfato ($mg \cdot L^{-1}$)	$367 \pm 0,5$	$425 \pm 1,4$	$367 \pm 0,9$	$258 \pm 0,5$	$408 \pm 0,5$

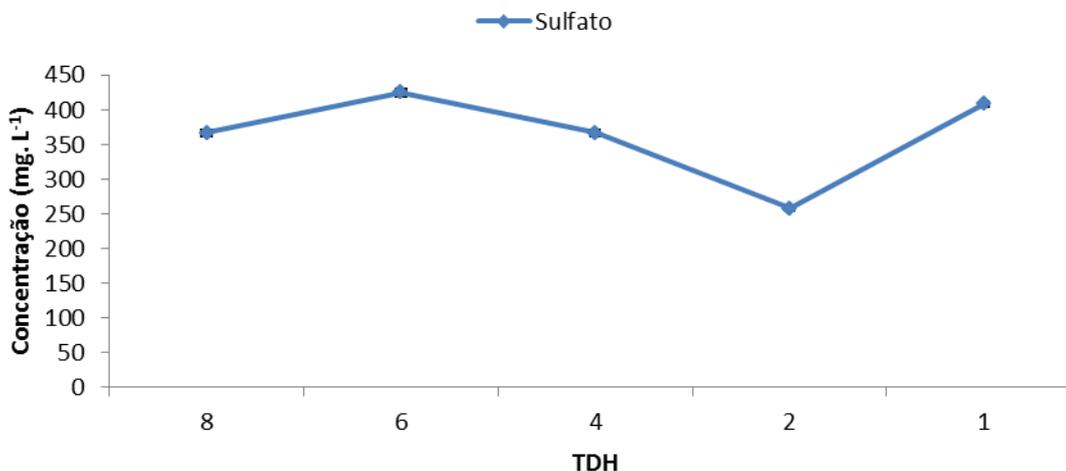


Figura 17: Comportamento das concentrações de sulfato em RMV em cada TDH.

5.3.3 Composição do biogás

Ao longo da operação do RMV foi observado presença de H_2 no biogás gerado apenas nos valores de TDH de 2 e 1 h, entretanto, os valores foram significativamente baixos. Nos valores de TDH iniciais aplicados de 8, 6 e 4 h, foi detectada apenas a presença de CO_2 no biogás, sendo nula a existência de H_2 . Ao reduzir o TDH para 2 h, o reator apresentou a maior composição da operação de 13%, valor este, que se reduziu para 9% juntamente com a

aplicação do último e menor TDH de 1 h. A presença de metano não foi detectada, comprovando a eficiência no tratamento térmico do lodo. As composições médias do biogás gerado em cada TDH aplicado estão demonstradas na Tabela 29 e Figura 18.

Tabela 29: Percentuais de H₂ e CO₂ no biogás de RMV.

TDH (h)	8	6	4	2	1
H ₂ (%)	0	0	0	13 ± 4,5	9 ± 0,7
CO ₂ (%)	100 ± 0,8	100 ± 1,3	100 ± 3,2	87 ± 11,3	91 ± 9

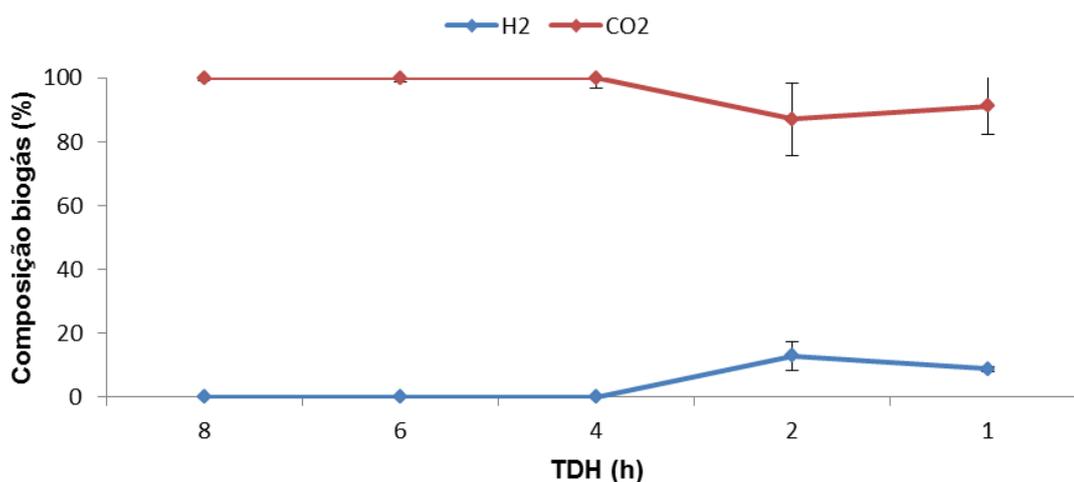


Figura 18: Comportamento do percentual de H₂ no biogás do RMV.

O comportamento da geração de H₂ no biogás gerado é aproximadamente nulo, onde apresenta baixos percentuais apenas em dois TDH aplicados. Este fato pode estar relacionado com a produção de metabólitos solúveis, pois a produção de ácido acético em demasia possivelmente acarretou a ocorrência de uma homoacetogênese, além da produção de ácidos inibidores, onde foram verificadas elevadas concentrações de ácido propiônico e succínico. O ácido butírico foi observado em maiores concentrações apenas nos TDH de 2 e 1, onde o reator apresentou baixos percentuais de H₂.

Ferraz Jr. et al. (2015a) avaliaram a produção de H₂ em quatro RALF utilizando distintos materiais como meio suporte sendo a argila expandida (CE), carvão vegetal (Ch), cerâmica porosa (PC) e poliestireno de baixa densidade (LPD). Os reatores foram operados sendo mantidos em condição mesofílica (25 °C), alimentados com vinhaça da cana-de-açúcar, inoculados com efluentes do processo de fermentação, pH ajustado em 5,5 e TDH fixado em 24 h. Os autores observaram maiores percentuais de H₂ no biogás gerado, nos reatores que utilizaram LPD e CE, onde registrou-se 46 e 39%, percentuais superiores aos obtidos no presente estudo. Embora em RMV tenha-se utilizado CE como meio suporte para adesão da

biomassa, os percentuais registrados nele foi mais aproximado e até superior aos reatores dos autores que utilizaram Ch e PC, onde atingiram 26 e 4% de H₂ no biogás gerado. Os divergentes percentuais registrados no estudo de Ferraz Jr. et al. (2015a) e a superioridade de maior parte dos reatores sob RMV pode estar relacionado à produção metabólica, onde a produção de ácidos inibidores apresentou maiores concentrações nos reatores utilizando Ch e PC, assim como ocorrido em RMV, que também apresentou uma possível ocorrência de homoacetogênese.

Santos et al. (2014a) avaliaram a produção de H₂ utilizando dois RALF (R1 e R2) inoculados com lodo advindo de um UASB e alimentados com vinhaça da cana-de-açúcar diluído em concentrações de 15 e 20 gDQO. L⁻¹, para R1 e R2, respectivamente. Os reatores foram mantidos em condição termofílica (55 °C) com TDH sendo reduzido entre 6 e 1 h. Os autores observaram uma redução constante nos percentuais de H₂ na composição do biogás gerado, sendo que máximos percentuais atingidos pelos autores ocorreram na menor TCO aplicada e no TDH inicial de 6 h. Os teores de H₂ no biogás variaram entre 43 e 48% em R1 e 42 e 57% em R2, valores superiores aos registrados em RMV. Ainda segundo os autores, a redução do percentual de H₂ no biogás gerado pode estar relacionado com a produção de metabólitos solúveis, de maneira análoga à RMV, o que justifica uma eficiência maior por parte do estudo realizado por Santos et al. (2014a) em relação à RMV. Onde as concentrações e variedade de metabólitos são distintas e que possivelmente podem ter interferido na composição do biogás.

5.3.4 PVH e HY

De acordo com os dados compilados, RMV não apresentou em nenhum TDH aplicado valores de PVH e HY, entretanto, como citado na composição de biogás tenha sido detectado um mínimo percentual de H₂ nos menores valores de TDH. Os resultados nulos de PVH e HY possivelmente podem estar relacionados à produção de metabólitos solúveis. No primeiro TDH aplicado de 8 h, RMV apresentou grandes concentrações de ácido succínico e propiônico, o que provavelmente pode ter interferido na produção de H₂. Nos TDH de 6, 4 e 2 h a composição dos metabólitos gerados apresentou destacadas concentrações de ácido acético, o que possivelmente levou a ocorrência de uma homoacetogênese. No TDH de 1 h, a PVH e o HY novamente podem ter sido anulados pelo efeito de concentrações elevadas de ácidos inibidores, onde se destacou uma maior presença de ácido propiônico. A elevação da TCO como igualmente aos outros parâmetros não demonstrou influência em RMV, para

produzir H₂. A Tabela 30 demonstra a elevação da TCO conforme as reduções de TDH em RMV.

Tabela 30: Valores médios da TCO em cada TDH aplicado em RMV.

TDH (h)	8	6	4	2	1
TCO (gDQO. L ⁻¹ . d ⁻¹)	16 ± 8	19 ± 6	31 ± 10	56 ± 10	112 ± 2

Na literatura estudos de outros autores utilizando configurações de reatores e condições de operações análogas, apresentam resultados divergentes de PVH e HY em relação aos observados em RMV.

Ferraz Jr. et al. (2015a) utilizando configurações RALF, utilizaram argila expandida (CE), carvão vegetal (Ch), cerâmica porosa (PC) e poliestireno de baixa densidade (LPD), como materiais suporte para avaliar o comportamento da produção de H₂. Os reatores foram alimentados com vinhaça da cana-de-açúcar, inoculados com efluente do processo de fermentação, mantidos em condição mesofílica (25 °C), pH por volta de 5,5 e TDH contínuo de 24 h. A PVH e HY observada pelos autores demonstraram uma maior eficiência dos reatores preenchidos com CE e LPD, o que possivelmente ocorreu pela melhor eficiência dos materiais a adesão de biomassa, o que resulta em uma comunidade microbiana de maior amplitude, proporcionando uma maior produção de H₂. Entretanto, RMV de maneira análoga também utilizou CE como matéria para adesão de biomassa, porém, não apresentando produção de H₂. Esta diferença entre os resultados obtidos por Ferraz Jr. et al (2015a) e o comportamento nulo de RMV, pode estar relacionado ao tratamento físico-químico com CaO em que a vinhaça do presente estudo foi submetida, pois os autores apresentaram produções de H₂ em todos os materiais utilizados como meio suporte utilizando uma vinhaça bruta. Outra provável divergência entre os resultados apresenta-se na produção de metabólitos solúveis, onde os ácidos inibidores a produção de H₂ e as concentrações em demasia de ácido acético foram detectados em menores concentrações ou nulas pelos autores.

Reis et al. (2015) utilizaram dois RALF (R5 e R10) para aferir a produção de H₂. Os reatores foram alimentados com duas fontes de carbono (glicose e vinhaça da cana-de-açúcar) em concentrações de 5 e 10 gDQO. L⁻¹. Os reatores foram inoculados com lodo de um UASB, mantidos em condição mesofílica (22 °C), TDH variando entre 6 e 1 e com o pH ajustado entre 4 e 5. Ao iniciar a operação dos reatores apenas a glicose foi utilizada, adicionando a vinhaça aos poucos até que ela prevalecesse como fonte de carbono única no reator. Desta maneira os autores registraram maior produção de H₂ no R10, alimentado 100% com vinhaça.

Entretanto, os dois reatores operados pelos autores apresentaram eficiência na produção de H_2 em relação à RMV, mesmo sendo detectada a presença de metano durante a operação. Os distintos comportamentos observados no estudo realizado por Reis et al. (2015) e nos resultados nulos de RMV, possivelmente pode ser diagnosticados na produção de metabólitos solúveis, sendo que a produção de ácidos inibidores detectada pelos autores apresentou concentrações reduzidas, o que se distingue de RMV. A utilização da glicose como fonte de carbono pelos autores no início da operação, provavelmente impulsionou os reatores para uma rota metabólica favorável a produção de H_2 .

5.3.5 Metabólitos solúveis

Durante a operação de RMV variados produtos metabólitos foram gerados em diferentes concentrações, o que possivelmente influenciou no retrospecto da produção de H_2 do reator. Dentre os metabólitos solúveis foram detectados o ácido acético, butírico, capróico, cítrico, isobutírico, isovalérico, láctico, málico, propiônico, succínico e valérico, além da geração de etanol no último TDH aplicado. Embora alguns produtos tenham sido detectados em maior quantidade e frequência, a somatória das concentrações em cada TDH aplicado foram 5401, 3093, 2192, 1753 e 1995 mg. L^{-1} , para os TDH de 8, 6, 4, 2 e 1 h, respectivamente. Os metabólitos solúveis na qual foram registrados maiores concentrações durante a operação foram o ácido acético (máx. 55%), ácido succínico (máx. 49%), ácido propiônico (máx. 27%) e ácido butírico (máx. 22%). A Tabela 31 e Figura 19 demonstram os percentuais das concentrações de cada metabólito em todos os valores de TDH aplicado durante a operação.

Como observado anteriormente RMV não apresentou produção de H_2 , assim sendo, a produção de metabólitos solúveis pode estar diretamente relacionada a este comportamento do reator, pois a geração de metabólitos pode influenciar o reator a seguir uma rota metabólica na qual não há favorecimento algum para produção de H_2 . Ao analisar os metabólitos solúveis detectados no TDH inicial de 8 h, foi observada uma grande concentração de ácido succínico, seguido pela presença do ácido propiônico, onde as concentrações representam 49% e 27%, respectivamente, dos metabólitos gerados no atual TDH. As elevadas concentrações destes ácidos podem indicar interferência e até um efeito nulo na produção de H_2 , já que são ácidos de efeito inibidor. Ao reduzir o TDH para 6h, não foi detectada grandes concentrações de ácidos inibidores, observando a presença dentre as três maiores concentrações de ácido isobutírico representando 10% e ácido butírico em concentração de 9%, entretanto, mesmo

não registrando significativas concentrações dos ácidos inibidores, foi detectado uma grande concentração de ácido acético, que representou 51% dos metabólitos gerados no TDH, a significativa concentração que abrangeu mais que a metade da concentração total do TDH aplicado, possivelmente pode ter direcionado a ocorrência de uma homoacetogênese, causando assim, o efeito nulo na produção de H_2 . Aplicando o TDH de 4 h, a concentração de ácido acético que no TDH anterior havia demonstrado significativa presença dentre os metabólitos gerados no TDH, elevou-se para 55%, o que possivelmente resultou em uma influência na nula produção de H_2 , pela ocorrência de homoacetogênese. No TDH de 4 h ainda foram detectados em concentrações bem menores o ácido isobutírico e propiônico com 14% cada. No TDH de 2 h foi observada uma maior concentração de ácido butírico em relação aos outros TDH, abrangendo 22% da concentração total gerada, além da presença de ácido propiônico com concentração de 18%. No entanto, embora a elevação na geração de ácido butírico e as concentrações de ácidos inibidores seja pequena, o grande causador da não produção de H_2 neste TDH, continua sendo as elevadas concentrações de ácido acético geradas, no atual TDH o ácido representou 52% da concentração total de metabólitos gerados, o que provavelmente mais uma vez, levou a ocorrência da homoacetogênese. Ao aplicar o menor valor de TDH de 1 h, a produção de metabólitos registrou um maior equilíbrio de concentrações, abrangendo uma maior amplitude de ácidos e detectando a presença de etanol. A presença do ácido acético foi bem mais modesta em relação às outras concentrações observadas nos TDH anteriores, representando 25% da concentração total dos metabólitos gerados. Ainda foi observada a presença do ácido isobutírico com 17%, propiônico com 16% e butírico com 10%, além de detectar pela primeira vez na operação de RMV, a presença de etanol representando 8% da concentração total de metabólitos gerados. Devido às concentrações dos ácidos e agora álcoois serem menores e com maior distribuição em relação aos TDH anteriores, a concentração de ácido propiônico é considerada elevada, pois representa a segunda maior concentração observada no TDH atual, o que possivelmente levou a ocorrência de um efeito inibidor, anulando a produção de H_2 .

Os possíveis efeitos inibidores por determinados ácidos e uma provável ocorrência da homoacetogênese, resulta em o reator seguir vias metabólicas nas quais a produção de H_2 é inexistente. Na literatura encontram-se estudos de outros autores, onde se podem observar os metabólitos solúveis gerados e as influências que os mesmo acarretam na produção de H_2 . Santos et al. (2014a) avaliaram a produção de H_2 utilizando dois RALF (R1 e R2) onde foram respectivamente alimentados com vinhaça em concentrações de 10 e 30 gDQO. L^{-1} . Ambos os

reatores foram mantidos em condição termofílica (55° C), pH ajustado em torno de 4,5 e inoculados com lodo de um UASB. Os valores de TDH variando descendentemente entre 6 e 1 h em R1 e 8 a 1 h no R2. Os autores registraram uma maior presença de ácido láctico sendo 30% da concentração total dos metabólitos gerados, seguido pela presença de ácido butírico com 20% e ácido isobutírico com 17% em R1. A maior presença de uma concentração mais elevada de ácido láctico e butírico no reator favoreceu a produção de H₂. Em R2 predominou-se a geração de ácido butírico com 26% da concentração total de metabólitos solúveis gerados, sendo que ainda foi observado a presença de ácido láctico com 25% e ácido propiônico com 14%. A presença de um ácido que acarreta um efeito inibidor na produção de H₂ pode ter influenciado nos baixos índices registrados no reator em relação à R1. Embora as concentrações dos ácidos inibidores no estudo realizado por Santos et al. (2014) foram detectadas, não ocasionaram uma interferência significativamente relevante para anular a produção de H₂, o que possivelmente ocorreu em RMV. Os autores ainda destacaram as elevadas concentrações de ácido butírico e as medianas de ácido acético, o que através dos resultados obtidos em relação a produção de H₂, descartou-se uma chance da ocorrência de homoacetogênese, divergente de RMV, onde a provável ocorrência da mesma pode ter sido responsável pela nula produção. As distintas concentrações de metabólitos gerados representa que os reatores dos autores e RMV foram posicionados durante a operação em rotas metabólicas contrárias.

Ferraz Jr. et al. (2015a) utilizaram distintos materiais suportes CE, Ch, PC e LPD em quatro RALF inoculados com efluentes do processo de fermentação. Os reatores foram mantidos em condição mesofílica (25 °C), ph em torno de 5,5 e TDH fixado em 24 h. Os autores destacaram que a geração dos produtos metabólitos solúveis não demonstraram uma influencia direta com relação à produção de H₂, pois os reatores preenchidos com Ch e CP foram direcionados durante a operação a uma rota viável para produção, onde os metabólitos que apresentaram maiores concentrações foram o ácido acético e butírico. Os autores relataram ainda que os reatores que utilizaram CE e LPD, os quais apresentaram as maiores taxas de produção de H₂, registraram as maiores concentrações de ácido propiônico e butírico, no entanto, esses reatores realizaram a produção de H₂ por meio da fermentação associada entre ácido acético e o etanol gerado. A produção de metabólitos solúveis no estudo de Ferraz Jr. et al. (2015a) diferencia-se de RMV, possivelmente pelas divergentes concentrações dos metabólitos, e pelos reatores realizarem a produção de H₂ mesmo apresentando concentrações elevadas de ácido propiônico em CE e LPD, demonstrando que mesmo não sendo

direcionados à uma via metabólica ideal, seguiram uma que se apresentou mais eficiente do que a que se enquadrava RMV.

Reis et al. (2015) utilizaram dois RALF (R5 e R10) para quantificar a produção de H_2 , utilizando inicialmente como principal fonte de carbono a glicose, sendo introduzida a vinhaça ao decorrer da operação. Os reatores tiveram concentrações diluídas para serem ajustadas em 5 e 10 gDQO. L^{-1} , pH ajustado entre 4 e 5, TDH variando entre 6 e 1 h, após a vinhaça prevalecer como principal e única fonte de carbono nos reatores. A temperatura foi mantida em condição mesofílica (22 °C) e os reatores inoculados com lodo de UASB. A geração dos produtos metabólitos solúveis foi distinta em relação aos dados observados em RMV, pois no primeiro estágio da operação dos reatores utilizados pelos autores, alimentando os reatores apenas com glicose no substrato, foi detectada maiores concentrações de etanol e ácido butírico. No entanto, no segundo estágio, ao acrescentar 25% de vinhaça no substrato, a produção metabólica demonstrou semelhança com os produtos gerados em RMV, onde os autores identificaram concentração dominante de ácido propiônico, o que acarretou um efeito inibidor, diminuindo a produção de H_2 . Ao elevar a concentração de vinhaça para 75% no substrato, a produção metabólica observada pelos autores tornou-se significativamente distinta de RMV, pois foi detectado neste estágio, a predominância de metanol juntamente com a geração de etanol, sendo que em RMV foi detectado apenas etanol em pequena concentração no último TDH aplicado, demonstrando as diferentes vias metabólicas tomadas pelos reatores de Reis et al. (2015) e RMV. Ao utilizar apenas vinhaça como fonte de carbono, os autores observaram que a produção de metabólitos favorecia uma fermentação mista, semelhante e ao mesmo tempo divergente a RMV, pois o presente trabalho registrou concentrações de vários produtos, no entanto, com uma produção nula de H_2 .

Tabela 31: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.

TDH	Acético	Butírico	Capróico	Cítico	Isobutírico	Isovalérico	Lático	Málico	Propiônico	Succínico	Valérico	Etanol
8	5	3	8	0,16	0	1,5	0	2,7	27	49	2,5	0
6	51	9	2	0	10	0,7	5	6,7	8	4,8	0,8	0
4	55	8	0	0	14	0	0	7	14	0	0	0
2	52	22	0	0	0	0	0	7	18	0	0	0
1	25	10	0	0	17	0	0	8	16	0	14	8,5

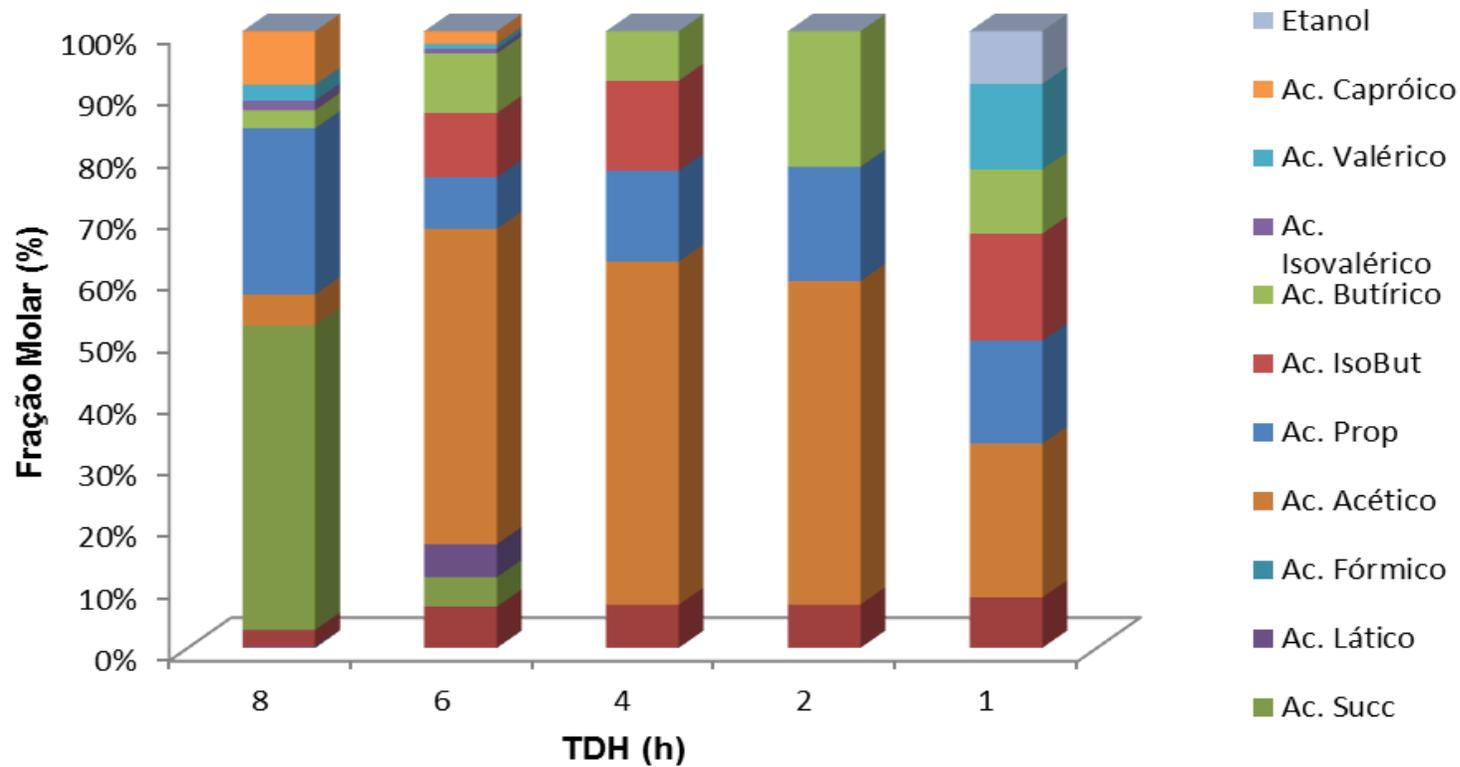


Figura 19: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMV.

5.4 Reator mesofílico sacarose (RMS)

5.4.1 Conversão de carboidratos

Através dos dados registrados de conversão de carboidratos em RMS, o reator apresentou reduções nos percentuais de conversões conforme o TDH era alterado de maneira descendente. As concentrações de carboidratos do afluente e efluente variaram durante a operação, onde a concentração afluente manteve-se na faixa entre 3776 e 4406 mg. L⁻¹ ocorrida nos TDH de 4 e 6 h, respectivamente e a concentração efluente não restringiram os valores entre 1028 a 2399 mg. L⁻¹, nos TDH de 8 e 1 h. Os percentuais de conversão de carboidratos sofreram variações constantes, iniciando-se no TDH de 8 h, onde RMS apresentou uma taxa de conversão de 84%, ao reduzir o TDH para 6 h, o percentual de conversão reduziu-se consideravelmente para 69%. No TDH de 4 h, novamente o índice de conversão rebaixou para 66%, porém em menor percentual em relação ao TDH anterior. Ao aplicar o TDH de 2 h, outro leve decaimento para 61%, no último TDH de 1 h, o percentual de conversão reduziu-se novamente para 42%. A Tabela 32 e Figura 20 demonstram as concentrações médias de afluente, efluente e conversão de carboidratos em cada TDH aplicado em RMS.

Tabela 32: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMS.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L⁻¹)	4388 ± 706	4406 ± 519	3776 ± 394	3985 ± 564	4053 ± 553
Efluente (mg.L⁻¹)	1028 ± 754	1231 ± 439	1267 ± 401	1938 ± 714	2399 ± 709
Conversão (%)	84 ± 2	69 ± 1	66 ± 2	61 ± 6	42 ± 5

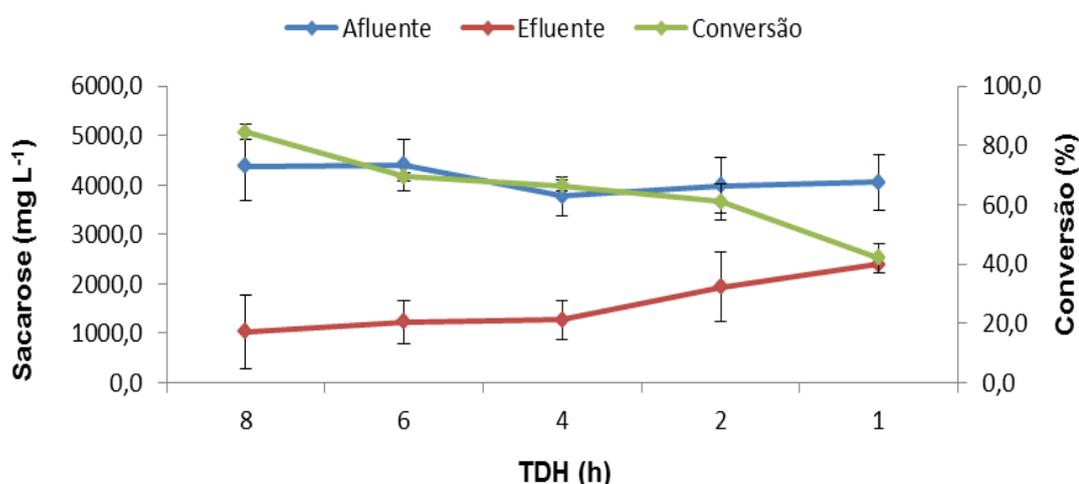


Figura 20: Concentrações e conversão médias de carboidratos em RMS.

O comportamento ilustrado na Figura 20 de conversão de carboidratos apresenta uma queda contínua nos percentuais de conversão conforme o TDH era reduzido, o que teoricamente reduziria as taxas de produção de H_2 , no entanto, outros parâmetros como a produção de metabólitos solúveis e pH, em que o reator foi condicionado podem ocasionar influência, resultando em um não acompanhamento prático da produção de H_2 em relação aos percentuais de conversão de carboidratos. Alguns autores apresentam estudos análogos aos resultados observados em RMS.

Lin et al. (2009) avaliaram a produção de H_2 utilizando um RALF inoculado com lodo advindo de uma ETE. O reator foi alimentado com sacarose em concentrações variando entre 5 e 40 gDQO. L^{-1} , a temperatura foi mantida em condição mesofílica (40 °C) e TDH variando entre 6 e 2 h. De acordo com os autores as maiores conversões de carboidratos foram registradas quando o reator foi operado com uma concentração de sacarose de 5 gDQO. L^{-1} , onde apresentou um percentual médio de 99% de conversão, no entanto, ao aplicar uma concentração de sacarose de 40 gDQO. L^{-1} , o percentual de conversão reduziu-se para 78%. As reduções nos índices de conversão observadas pelos autores assemelham-se ao comportamento registrado em RMS, onde o percentual de conversão de carboidratos foi reduzindo continuamente, embora a concentração de sacarose no presente estudo seja constante. A ocorrência desta diminuição tanto no estudo de Lin et al. (2009) como nos dados obtidos em RMS, podem estar relacionada à elevação na concentração de substrato e a redução de TDH, o que resultou em um aumento de carga orgânica que excedeu a capacidade máxima de consumo dos microrganismos presentes no leito.

Wu et al. (2012) estudaram a produção de H_2 utilizando um RLF onde foi adicionado íons de cálcio para potencializar a produção. O reator teve como fonte de inóculo lodo proveniente de uma ETE, foi alimentado com sacarose em concentração de 20 gDQO. L^{-1} , TDH variando entre 8 e 2 h, pH ajustado em torno de 6,8 e mantido em condição mesofílica ($40 \text{ }^\circ\text{C}$). As taxas de conversões de carboidratos registrada no trabalho dos autores variaram entre 99 e 90%, demonstrando uma maior eficiência de conversão em relação aos percentuais observados em RMS que variou descendentemente entre 84 e 42%. As variações observadas no comportamento da conversão de carboidratos no estudo de Wu et al. (2012) distinguem-se do comportamento registrado em RMS, no qual demonstra uma queda contínua conforme o TDH era reduzido, no entanto, os autores citam que as oscilações nos índices de conversão provavelmente relacionam-se com a adição de íons de cálcio durante a operação.

5.4.2 DQO

De maneira distinta do comportamento observado na conversão de carboidratos, a remoção da DQO apresentou variações em seus percentuais ao reduzir o TDH. As concentrações de afluente e efluente também oscilaram, apresentando valores entre 4677 e 5347 mg. L^{-1} nos TDH de 8 e 6 h, para afluente e 3932 à 4831 mg. L^{-1} , igualmente nos TDH de 8 e 6 h para o efluente. O menor percentual de remoção de DQO foi observado no TDH de 8 h, onde o reator apresentou 9%, ao reduzir o TDH para 6 h o índice de remoção elevou-se para 16%, continuando aumentando para 17% (maior valor observado na operação) no TDH de 4h. No entanto, ao aplicar o TDH de 2 h, o reator apresentou queda de remoção registrando 15%, assim como no TDH de 1 h, onde o percentual reduziu-se para 13%. O comportamento e as médias de concentrações e percentuais de remoção estão apresentados e ilustrados na Tabela 33 e Figura 21.

Tabela 33: Remoções médias de DQO em RMS.

TDH	8	6	4	2	1
Afluente (mg.L^{-1})	4677 ± 447	5347 ± 409	5122 ± 418	5166 ± 402	5092 ± 213
Efluente (mg.L^{-1})	3932 ± 736	4831 ± 575	4647 ± 818	4314 ± 677	4824 ± 1006
Remoção (%)	9 ± 1	16 ± 2	17 ± 2	15 ± 2	13 ± 4

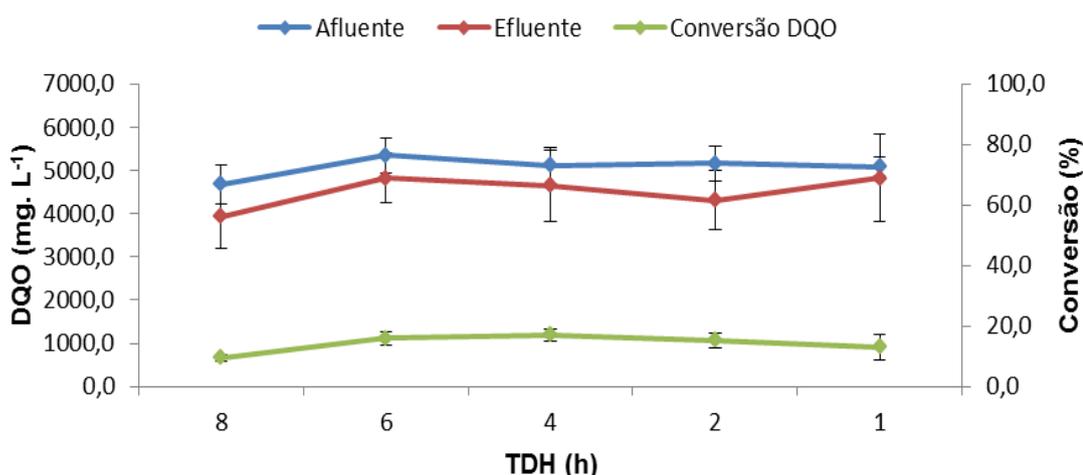


Figura 21: Remoções médias de DQO em RMS.

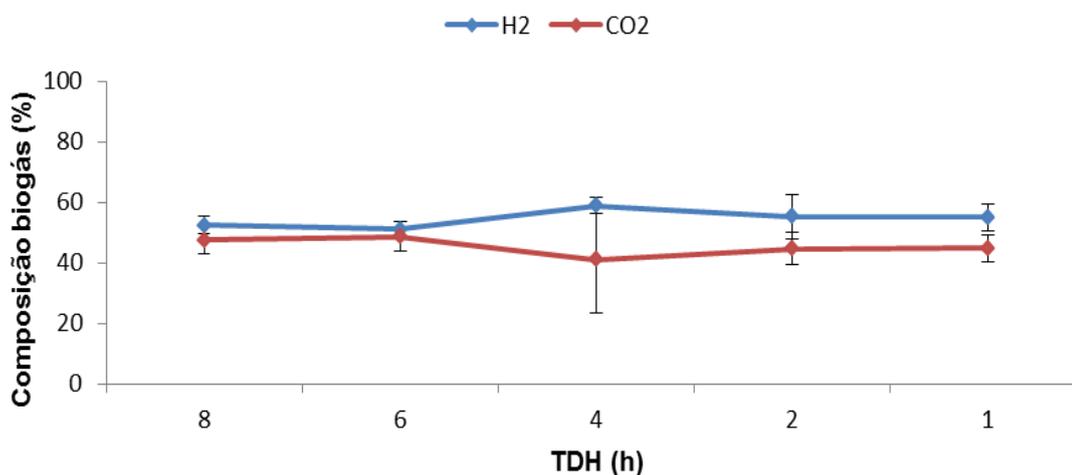
As oscilações de valores percentuais no comportamento da remoção de DQO observado em RMS, segundo citado por Antonopoulou et al. (2008) estão abaixo da média de remoção de DQO para reatores acidogênicos, pois o autor relata que um percentual médio ideal corre em torno de 20%. As quedas nos valores de remoção ocorridas durante a operação, podem estar relacionadas a uma expansão do leito devido à elevação da produção de biomassa ocorridas nos menores TDH de 2 e 1 h. De maneira contrária aos eventos descritos nos TDH menores, o baixo percentual de remoção no TDH inicial de 8 h possivelmente ocorreu devido ao processo de melhor adaptação da biomassa ao leito.

5.4.3 Composição do biogás

Através dos dados registrados durante a operação do RMS, o percentual de H₂ na composição de biogás gerado não apresentou significativas variações, sendo sempre superior aos percentuais de CO₂, mantendo-se na faixa entre 51 e 55%. No TDH de 8 h, o reator apresentou uma composição de H₂ no biogás gerado de 52%, ao reduzir o TDH o percentual sofreu uma leve queda de 1%. Ao aplicar o TDH de 4 h, o reator apresentou sua maior composição de H₂, sendo observados 59% de H₂ no biogás gerado. No entanto ao reduzir o TDH para 2 h, RMS demonstrou uma pequena queda no percentual de H₂ no biogás, reduzindo-se para 55%, percentual o qual se manteve contínuo no último TDH aplicado (1h). A Tabela 34 e Figura 22 apresentam e ilustram os percentuais médios e comportamento de RMS em relação à composição de biogás.

Tabela 34: Percentuais de H₂ e CO₂ no biogás de RMV.

TDH (h)	8	6	4	2	1
H ₂ (%)	52 ± 2,9	51 ± 2,5	59 ± 2,6	55 ± 7,4	55 ± 4,5
CO ₂ (%)	48 ± 4,4	49 ± 4,7	41 ± 17,5	45 ± 5,5	45 ± 4,4

Figura 22: Comportamento do percentual de H₂ no biogás do RMV durante a operação

A partir do comportamento registrado na composição do biogás gerado em RMS, observa-se que a eficiência do tratamento térmico realizado no lodo foi comprovada pela ausência de metano e principalmente destaca que os elevados percentuais de H₂ demonstraram que provavelmente as pequenas reduções de percentuais observadas, possivelmente ocorreram devido ao aumento da concentração de ácidos inibidores, no entanto, não houve ações significativas dos metabólitos solúveis produzidos que causassem interferência direta na composição de H₂ observado no biogás.

Lin et al. (2006) avaliaram a produção de H₂ em um RALF mantido em condições mesofílica (40 °C) e alimentado com sacarose diluída em concentrações que variaram entre 5 e 40 gDQO. L⁻¹. O reator foi inoculado com lodo de ETE misturado com gel silicone, o pH foi mantido por volta de 6,8 e o TDH reduzido entre 8,9 e 2,2 h. Os comportamento dos percentuais de H₂ no biogás gerado observado pelos autores, apresentaram variações em seus valores ao alterar pH e concentração de sacarose no substrato, o que faz analogia ao comportamento analisado em RMS, onde foi registrado baixa amplitude de variação. Entretanto, RMS demonstrou maior eficiência devido aos percentuais de H₂ atingirem maiores índices na composição, pois o estudo realizado por Lin et al. (2006) variou entre 39 e 47%.

Yuan et al. (2010) utilizaram um CSTR para mensurarem a produção de H_2 , utilizando como principal fonte de carbono a sacarose em concentração de $11,1 \text{ gDQO. L}^{-1}$. O reator foi mantido em condição mesofílica ($35 \text{ }^\circ\text{C}$), TDH variando entre 8 e 2 h e como fonte de inóculo foi utilizado culturas mistas. O comportamento registrado pelos autores em relação à composição de H_2 no biogás gerado assemelha-se ao observado no presente estudo, pois o percentual de H_2 eleva-se até certo período da operação, decaindo conforme os menores valores de TDH são aplicados, pois com a redução dos valores de TDH possivelmente a biomassa presente no reator começa a ser “lavada”, ou seja, começa a diminuir, reduzindo o consumo e a produção de H_2 . No entanto, os autores adicionam íons de cálcio, o que provavelmente estimulou os microrganismos presentes, elevando o percentual de H_2 no biogás conforme o TDH foi sendo reduzido. Embora no estudo realizado por Yuan et al. (2010) tenham utilizado adição de concentrações de íons de cálcio para potencializar a produção de H_2 , os resultados obtidos em RMS apresentam maior eficiência quanto à composição de H_2 no biogás, atingindo índices maiores.

5.4.4 PVH

A PVH obtida durante a operação do RMS apresentou comportamento que possivelmente esta atrelada aos valores de TCO aplicados. Ao dar início a operação com o TDH de 8 h, aplicou-se uma TCO de $13 \text{ gDQO. L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, registrando um valor de PVH de $3,9 \text{ L H}_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$. Com a redução do TDH para 6 h e o aumento da TCO para $21 \text{ gDQO. L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, o valor da PVH elevou-se para $6 \text{ L H}_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$. O valor da PVH continuou aumentando no TDH de 4 h, aonde chegou a $7,5 \text{ L H}_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$ com uma TCO de $26 \text{ gDQO. L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, sendo que o mesmo comportamento de elevação continua no valor de PVH ocorreu no TDH de 2 h, onde a PVH atingiu o ápice de $11 \text{ L H}_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$ durante a operação, aplicando uma TCO também mais elevada de $57 \text{ gDQO. L}^{-1}.\text{d}^{-1}$. No entanto, ao aplicar o menor TDH utilizado na operação de RMS (1 h), o valor da PVH reduziu-se para $9,4 \text{ L H}_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$, mesmo com o aumento do valor da TCO para $127 \text{ gDQO. L}^{-1}.\text{d}^{-1}$. A Tabela 35 e Figura 23 demonstram os valores médios e o comportamento da PVH durante a operação de RMS.

Tabela 35: PVH e TCO médios em cada TDH aplicado em RMS.

TDH (h)	8	6	4	2	1
PVH (L $H_2. \text{L}^{-1}. \text{d}^{-1}$)	4 ± 2	6 ± 2	$7,5 \pm 1$	11 ± 5	$9,4 \pm 1$
TCO (g DQO. $\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)	13 ± 2	21 ± 6	26 ± 7	57 ± 10	127 ± 26

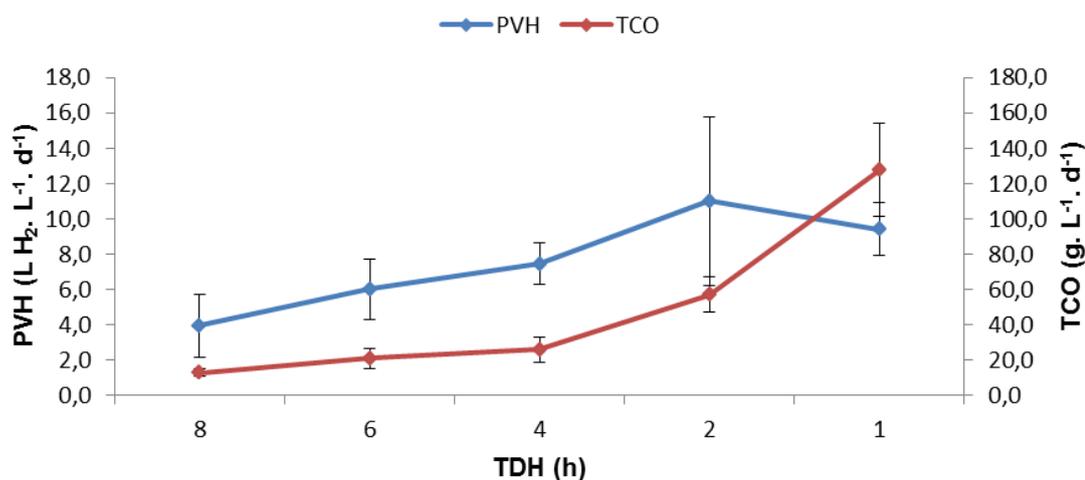


Figura 23: Comportamento da PVH em RMS.

O comportamento de contínua elevação nos valores de PVH, observado em RMS, pode estar relacionado a uma possível influência acarretada pela elevação nos valores da TCO. A redução de PVH no último TDH aplicado, demonstra que provavelmente a utilização de um valor de TCO muito elevado e baixos valores de TDH, pode direcionar o reator a condições impróprias. Na literatura encontram-se autores utilizando condições análogas para mensurar a produção de H₂.

Lin et al. (2009) utilizaram um RALF alimentado com sacarose em concentração variando entre 5 e 40 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ para realizar a mensuração da produção de H₂. O reator foi inoculado com lodo de ETE, o TDH reduzido entre 6 e 2 h e a temperatura mantida em condição mesofílica (40 °C). Os autores apresentaram uma variação ascendente de PVH durante a operação entre 0,18 à 1,8 L H₂. L⁻¹. d⁻¹, valores estes, inferiores aos dados registrados em RMS. Porém, mesmo utilizando valores de concentrações que sofreram variações durante a operação, o comportamento da PVH registrada pelos autores assemelha-se com RMS, pois apresentou um comportamento de elevação constante dos valores conforme o TDH era reduzido. Entretanto, RMS se apresenta mais eficiente com relação à PVH do que o observado por Lin et al (2009), pois além dos valores numéricos de PVH de maior amplitude, os autores tiveram que elevar a grandes concentrações de sacarose no substrato para atingir sua máxima PVH, o que diverge da concentração de sacarose constante utilizada em RMS.

Obazu et al. (2012) avaliaram a produção de H₂ através da utilização de cinco RALF, inoculados com lodo de ETE misturado com estrume e alimentados com sacarose em concentração fixa de 17,8 gDQO. L⁻¹.d⁻¹. A temperatura foi utilizada como parâmetro para analisar a produção de H₂, variando desta maneira entre 45 e 70 °C e o pH mantido por volta

de 7. De modo distinto aos resultados observados em RMS, os autores registram um comportamento instável de PVH, oscilando conforme a temperatura e o valor de pH eram alterados. Segundo os autores a maximização da PVH se dá a partir da temperatura, concentração de substrato e pH ideais, onde no estudo dos mesmos a máxima PVH ocorreu em temperatura termofílica (70 °C) e pH ajustado em 5,5, porém, o valor máximo obtido no estudo de Obazu et al. (2012) é inferior ao potencial máximo observado em RMS, onde foi utilizado temperatura mesofílica (30 °C) e pH abaixo de 4. Entretanto, mesmo utilizando uma concentração de sacarose que seja constante como em RMS, os autores assim como exemplificado anteriormente no estudo de Lin et al. (2009), utilizam altas concentrações de sacarose no substrato para obter elevados valores de PVH.

Wu et al. (2012) mensuraram a produção de H₂ através de um RLF utilizando sacarose como principal fonte de carbono em concentração de 20 gDQO. L⁻¹.d⁻¹. O reator foi inoculado com lodo de ETE, sendo adicionado ao leito concentrações de íons de cálcio de 50, 100 e 200 ppm. A temperatura foi mantida em condição mesofílica (40 °C), pH ajustado em 6,8 e o TDH variando entre 8 e 2 h. Os valores e o comportamento de PVH registrado e observado pelos autores, apresentam índices inferiores e distintos aos obtidos em RMS. Relacionado o estudo de Wu et al. (2012) com os dados observados em RMS, possivelmente a distinção nos resultados de PVH esta atrelada à adição pelos autores, de diferentes concentrações de íons de cálcio ao reator como meio nutriente durante a operação, resultando em um consumo de substrato de maior amplitude, ocorrendo desta maneira a potencialização nos valores de PVH.

5.4.5 HY

Os valores médios do HY em RMS demonstram um comportamento onde as maiores variações observadas ocorreram ao realizar reduções nos valores do TDH. No primeiro TDH aplicado de 8 h, RMS apresentou um HY de 2,5 mol H₂. mol sacarose⁻¹, ao reduzir o TDH para 6 h, o valor do HY elevou-se para 3,3 mol H₂. mol sacarose⁻¹, sendo o maior índice de HY registrado no reator. No entanto, ao aplicar um valor de TDH de 4 h, o HY registrado no reator apresentou queda para 2,9 mol H₂. mol sacarose⁻¹, valor este que é similar ao registrado no TDH de 2 h, onde o HY sofreu uma leve alteração, reduzindo seu valor para 2,8 mol H₂. mol sacarose⁻¹. Na última redução de TDH para 1 h, foi observado um decréscimo no valor de HY, onde RMS atingiu o menor índice de 2,2 mol H₂. mol sacarose⁻¹. Na Tabela 36 e Figura 24 estão demonstrados os valores médios e comportamento de HY em RMS.

Tabela 36: Médias dos valores de HY em cada TDH aplicado.

TDH (h)	8	6	4	2	1
HY (mol H ₂ . mol sac ⁻¹)	2,5 ± 0,1	3,3 ± 1	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,8	2,2 ± 0,7

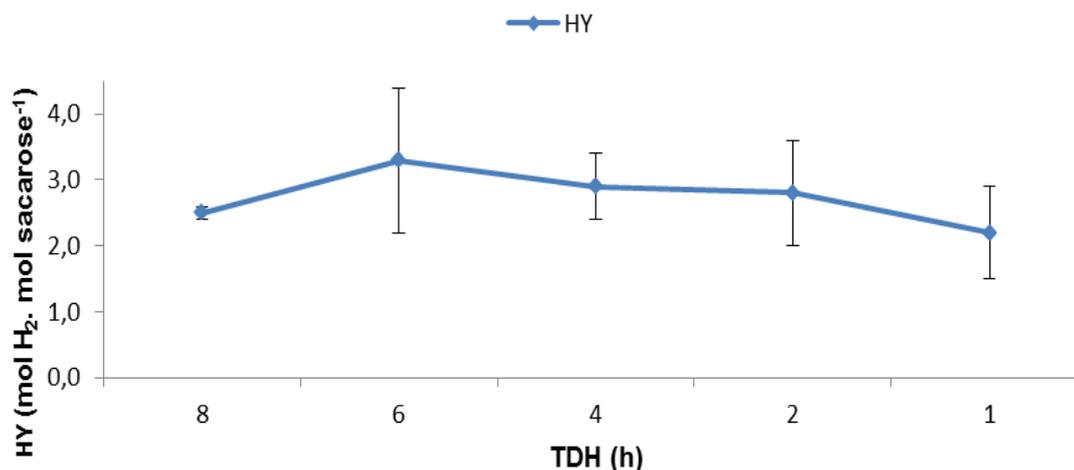


Figura 24: Comportamento do HY em RMS.

O comportamento de HY observado em RMS apresenta elevações e quedas nos valores registrados. Possivelmente as variações ocorridas nos TDH de 6 e 1 h foram influenciadas pela geração de ácidos inibidores a produção de H₂ dentre os produtos metabólicos solúveis. No TDH de 6 h, nota-se uma pequena concentração de ácido propiônico, o que pode dar indício de que a produção metabólica não ocasionou uma interferência, o que resulta em uma elevação do valor de HY. No entanto, no TDH de 1 h, a concentração de ácido propiônico foi razoavelmente elevada, o que provavelmente interferiu no valor de HY neste período de operação. Nos outros valores de TDH aplicados as concentrações de ácidos inibidores ocasionalmente podem ou não ter interferido nos resultados de HY dos períodos, pois não são elevadas. Na literatura encontram-se outros estudos de distintos autores que utilizam condições operacionais e resultados semelhantes à RMS.

Lin et al. (2009) estudaram a produção de H₂ em um RALF mantido em condição mesofílica (40 °C) e inoculado com lodo proveniente de uma ETE. O reator foi alimentado com sacarose como principal fonte de carbono em concentração variando entre 5 e 40 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ e TDH variando decendentemente entre 6 e 2 h. Segundo os autores, os dados compilados de HY foram superiores aos obtidos em RMS, demonstrando também, um comportamento com menores oscilações entre os valores registrados, o que resulta em uma

maior estabilidade do que à observada em RMS. As variações de concentração de sacarose no substrato não ocasionaram interferências no HY observado, no entanto, ao relacionar os resultados obtidos pelo estudo de Lin et al. (2009) com RMS, a produção de metabólitos solúveis provavelmente ocasionou maior influência no HY do presente estudo, pois as concentrações de ácido propiônico no reator dos autores foram relativamente baixas, apresentando uma leve elevação apenas no último TDH aplicado, onde mesmo assim não diminuiu drasticamente os valores compilados de HY.

Yuan et al. (2010) utilizaram um CSTR inoculado com cultura mista e suplementado durante a operação com íons de cálcio, para analisar a produção de H₂. Como fonte de carbono principal foi diluída em concentração de 11,1 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ a sacarose. O reator foi operado em condição mesofílica (35 °C) e TDH variando entre 8 e 4 h. De maneira distinta à observada em RMS, os autores apresentaram um comportamento de elevação contínua nos valores de HY, porém ao aplicar as concentrações de íons de cálcio, os valores de HY foram reduzidos. Apesar de Yuan et al. (2010) utilizar uma configuração de reator distinta, os índices de HY de seu estudo foram superiores aos dados compilados em RMS, os autores observaram menores concentrações de ácido propiônico dentre os metabólitos solúveis gerados em relação ao presente estudo, sendo que a possível interferência de tal ácido inibidor à produção de H₂ no reator dos autores, pode ter ocorrido no TDH inicial, onde demonstrou menor HY e maior concentração de ácido propiônico.

5.4.6 Metabólitos solúveis

De acordo com os dados compilados e a geração de metabólitos em RMS demonstrou diversas concentrações de metabólitos, dentre os quais se apresentaram produtos que ocasionaram interferência na produção de H₂. Os principais ácidos detectados no reator foram o ácido acético, butírico, capróico, fórmico, isobutírico, isovalérico, láctico, málico, propiônico, succínico e valérico. A geração de etanol também foi detectada dentre os metabólitos solúveis no último TDH aplicado. As concentrações dentre os ácidos e etanol gerados foram variadas, no entanto, a somatória das concentrações dos metabólitos gerados em cada TDH demonstram de maneira mais clara os valores, assim os totais foram 1561, 1275, 1415, 1016 e 1075 mg. L⁻¹, para os TDH de 8, 6, 4, 2 e 1 h, respectivamente. Os metabólitos com maiores concentrações podem causar interferência na produção de H₂, deste modo, os produtos solúveis que apresentaram maiores concentrações durante a operação

foram o ácido propiônico (máx.47%), ácido acético (máx. 41%), ácido isovalérico (máx. 24%), ácido butírico (máx. 20%) e etanol (máx. 20%).

A produção de H₂ em RMS, provavelmente foi que menos sofreu interferência dos produtos metabólitos solúveis gerados, quando relacionada aos outros reatores. Porém ocorreu a detecção de ácidos inibidores como registrado no TDH inicial de 8 h, onde 47% dos metabólitos gerados foi de ácido propiônico, o que provavelmente impossibilitou uma maior produção de H₂ neste TDH. Além do propiônico foi detectado ainda no TDH de 8 h, a presença de 24% de ácido isovalérico como segundo produto solúvel com maior concentração no TDH. Ao reduzir o TDH para 6 h, foi destacado a presença de uma maior concentração de ácido acético com 39%, seguido da geração de ácido láctico e propiônico com 16%, indicando que neste TDH provavelmente não ocorreu interferência de metabólitos na produção de H₂. Aplicando o TDH de 4 h, a concentração de ácido acético foi dominante outra vez, apresentando um percentual de 41% dos metabólitos gerados, seguido pelo ácido propiônico com 19%, ácido láctico com 14% e com a presença de uma maior concentração, em relação aos TDH aplicados anteriormente, o ácido butírico com também 14%. No TDH de 2 h, a maior concentração ainda foi de ácido acético, porém reduzida, representando 34%, seguida de uma elevação na concentração de ácido butírico para 20% e 16% de ácido láctico. Reduzindo o TDH para 1 h, as concentrações dos metabólitos gerados abrangem uma variedade de produtos maior, registrando o ácido acético com 27%, a geração de etanol com 20%, ácido butírico com 18%, ácido láctico e propiônico ambos com 12%. No último TDH aplicado embora tenha ocorrido uma maior distribuição na concentração dos ácidos e etanol, o percentual de ácido propiônico foi elevado, em relação as concentrações dos outros produtos, causando deste modo uma possível interferência na produção de H₂. Na tabela 37 e Figura 25 estão apresentadas as frações molares dos metabólitos gerados em cada TDH aplicado em RMS.

Ao analisar os metabólitos gerados em RMS, pode-se relatar uma probabilidade da ocorrência de interferência, mesmo que pequena, por ação das baixas concentrações de ácidos inibidores. O estudo realizado por Lin et al. (2009) apresenta resultados que possivelmente se enquadram nesta hipótese. Os autores utilizando um RALF alimentado com sacarose em concentração variando entre 5 e 40 gDQO. L⁻¹.d⁻¹ e mantido em condição mesofílica (40 °C), apresentaram metabólitos análogos aos observados em RMS, sendo que as concentrações de ácido propiônico, embora detectadas, provavelmente não causaram interferência direta e destacada na produção de H₂.

Tabela 37: Concentrações em fração molar (%) dos metabólitos solúveis.

TDH	Acético	Butírico	Capróico	Fórmico	Isobutírico	Isovalérico	Lático	Málico	Propiônico	Succínico	Valérico	Etanol
8	0	7	15	0	1	23	0	0	47	3	3	0
6	39	1	5	0	6	6	16	10	16	0	2	0
4	41	14	0	0	0	0	14	10	19	0	0	0
2	34	20	0	0	0	0	16	13	15	0	0	0
1	27	18	0	12	0	0	0	9	12	0	0	20

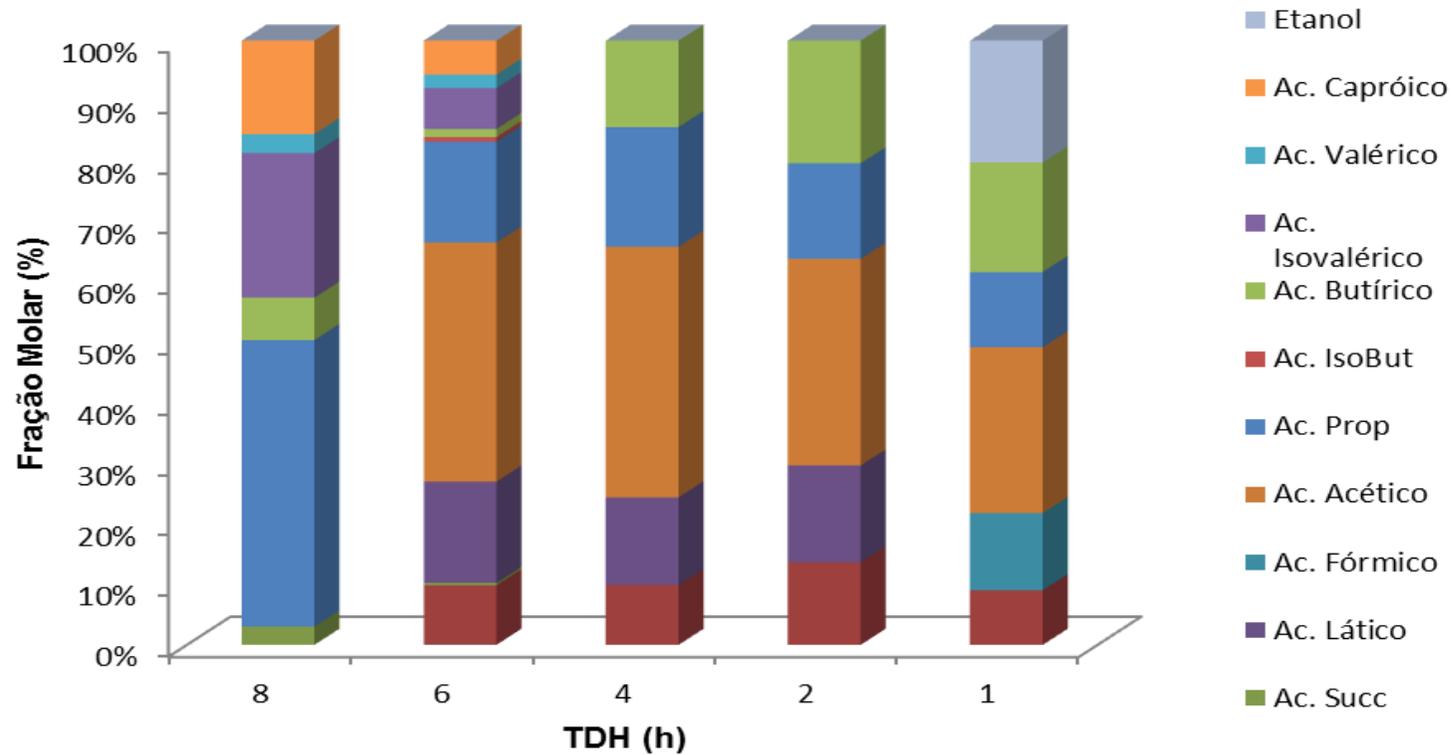


Figura 25: Fração molar (%) dos metabólitos solúveis detectados em RMS.

5.5 pH e sólidos suspensos

Os valores de pH nos afluentes foram ajustados diariamente, com base nos índices de pH mensurado na vazão efluente dos reatores. O monitoramento para que o pH no interior do reator não atingisse valores elevados foi constante, pois esta alteração poderia ativar a ação dos microrganismos metanogênicos. Para realizar o ajuste foram utilizados diferentes corretores de alcalinidade nos reatores. Deste modo, no RMM os valores de pH efluente mantiveram-se na faixa entre 6,7 e 7,3, que foi atingida pela correção realizada no pH afluente com o auxílio de NaOH (hidróxido de sódio). No RMC a correção do pH afluente ocorreu pela adição de ácido clorídrico diluído em 30% e uma pequena quantidade de ácido acético, resultando em uma faixa de pH efluente que variou entre 4,4 e 4,7. De maneira análoga realizada em RMC, a correção do pH afluente em RMV ocorreu pela adição de ácido clorídrico diluído à 30% e uma pequena concentração de ácido acético, variando o valor do pH efluente de 4,6 a 5,2. Em RMS foi adicionada NaOH para ajustar o pH afluente para controlar o pH efluente na faixa de 3,9 a 4,1. As Tabelas 38, 39, 40 e 41 demonstram os valores médios de pH afluente e efluente em RMM, RMC, RMV e RMS.

Tabela 38: Valores médios de pH em RMM.

TDH (h)	8	6	4	2	1
pH Afluente	6,76 ± 1,22	7,37 ± 0,58	7,09 ± 0,29	6,91 ± 0,27	7,17 ± 0,52
pH Efluente	4,15 ± 0,22	3,91 ± 0,12	3,96 ± 0,14	3,75 ± 0,10	3,79 ± 0,10

Tabela 39: Valores médios de pH em RMC.

TDH (h)	8	6	4	2	1
pH Afluente	4,9 ± 0,4	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,4	4,6 ± 0,1	5,7 ± 0,4
pH Efluente	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,4 ± 0,1

Tabela 40: Valores médios de pH em RMV.

TDH (h)	8	6	4	2	1
pH Afluente	4,9 ± 0,6	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	5,2 ± 0,4
pH Efluente	5,2 ± 0,4	4,9 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,8 ± 0,1

Tabela 41: Valores médios de pH em RMS.

TDH (h)	8	6	4	2	1
pH Afluente	8,1 ± 2,0	10,1 ± 0,5	10,0 ± 0,5	8,0 ± 1,3	6,3 ± 0,2
pH Efluente	4,1 ± 0,4	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1

Os valores médios de sólidos suspensos voláteis (SSV) em cada TDH aplicado nos reatores estão apresentados na Tabela 42. Em RMM os valores de SSV oscilaram entre 172,4

e 381,7 mg. L⁻¹, para RMC os valores não restringiram 13 e 278 mg. L⁻¹, no RMV a variação ocorreu entre 62,3 e 290,2 mg. L⁻¹ e em RMS os índices de SVV abrangeram os valores entre 52,3 e 166,6 mg. L⁻¹.

Tabela 42: Valores de SSV em RMM, RMC, RMV e RMS.

Reator	SSV (mg.L ⁻¹)				
	8	6	4	2	1
RMM	381,7 ± 131,3	314,3 ± 68,5	172,4 ± 64,6	189,6 ± 34,4	206 ± 93
RMC	278 ± 58,3	13 ± 5,7	78,1 ± 32,5	46,8 ± 13,2	112,6 ± 46,3
RMV	290,2 ± 116,3	62,3 ± 24,3	73,5 ± 4,3	134,6 ± 24,7	186,6 ± 19,8
RMS	166,6 ± 74,5	125,1 ± 18,0	56,1 ± 11,6	55,5 ± 20,7	52,3 ± 20,3

6. CONCLUSÕES

No presente estudo foi verificada a utilização de produtos e subprodutos da indústria sucroalcooleira, como principais fontes de carbono para produção de H_2 em reatores de configuração RALF condicionados em temperatura mesofílica.

No reator alimentado com caldo da cana-de-açúcar (RMC), os percentuais de conversão não foram tão elevados sendo que o reator apresentou uma significativa amplitude nos valores oscilados, possivelmente resultando em uma influência nos resultados de produção de H_2 , devido ao fato de uma adaptação instável da biomassa para com o substrato. Embora não ocorrido a detecção de metano no reator, devido ao controle do pH e tratamento térmico do lodo, foram observados tanto para a composição do biogás, como para PVH e HY, resultados apenas nos TDH extremos, ou seja, 8 e 1 h. Os valores registrados de composição de H_2 foram inferiores aos percentuais de CO_2 . Com relação à PVH e HY, os mais elevados valores registrados foram $1,5 L H_2. L^{-1}. d^{-1}$ e $1,2 mol H_2. mol sacarose^{-1}$, nos TDH de 1 e 8 h, respectivamente. Os baixos valores de produção de H_2 , podem também ter sofrido influência dos produtos metabólitos gerados, onde as principais concentrações foram de ácido propiônico no TDH de 8 h e ácido acético nos demais valores de TDH aplicados.

No RALF alimentado com melação (RMM) observou-se elevados percentuais de conversão de carboidratos, o que é resultado de uma boa adaptação da biomassa com o substrato. A composição do biogás gerado pelo reator durante a operação, embora os maiores percentuais fossem de CO_2 , apresentou H_2 em todos os valores de TDH aplicados. Conforme foram analisados os dados registrados no pelo reator em relação à PVH e HY, constatou-se que ocorreram em períodos distintos, sendo que o valor mais elevado da PVH foi de $4,8 L H_2. L^{-1}.d^{-1}$, ocorrido ao aplicar o TDH de 2. No HY observou-se um ápice de $1,4 mol H_2. mol sacarose^{-1}$, ao utilizar o TDH de 4 h. Nos produtos metabólitos solúveis gerados destacou-se as concentrações de ácido succínico no TDH de 8 h e ácido acético nos demais valores de TDH, como principais produtos. A geração de metano não foi detectada em nenhum período da operação, este fato se deve ao controle do pH em valores abaixo de 5 e à eficiência do tratamento térmico realizado no lodo.

De maneira distinta em relação aos demais reatores, o RALF alimentado com vinhaça da cana-de-açúcar (RMV), apresentou percentuais de conversão de carboidratos estáveis e elevados durante a operação, demonstrando uma boa adaptação da biomassa ao substrato inserido. O monitoramento dos valores de pH e tratamento térmico do lodo de

inoculação, resultaram em uma não detecção de metano no reator, no entanto, a produção de H_2 foi nula, tanto para composição do biogás gerado, quanto para PVH e HY. Possivelmente, causando interferência direta nos resultados de produção de H_2 , os produtos metabólitos solúveis apresentaram como sendo as concentrações mais elevadas, assim como em RMC, o ácido propiônico no TDH de 8 h e nos demais valores de TDH aplicados o ácido acético.

No RALF alimentado com o meio sintético sacarose (RMS) o comportamento descendente nos percentuais de conversão de carboidratos, demonstra uma boa relação entre a biomassa presente e o substrato adicionado, no entanto, possivelmente a redução nos valores de TDH pode ter causado uma “lavagem” do leito, o que não interferiu na produção de H_2 . Na composição do biogás, os maiores percentuais observados foram de H_2 , durante toda a operação. Na PVH registrada, o maior valor observado durante a operação foi de $11 \text{ L } H_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, ocorrida no TDH de 2 h. O maior HY foi registrado no TDH aplicado de 6 h, atingindo um valor de $3,3 \text{ mol } H_2 \cdot \text{mol } \text{sacarose}^{-1}$. Dentre os principais produtos metabólitos solúveis gerados destacaram-se as concentrações de ácido propiônico no TDH de 8 h e ácido acético no restante da operação.

Realizando a comparação entre as fontes de carbono utilizadas para avaliar a produção de H_2 , destacam-se maiores valores de conversão de carboidratos no RMM, porém devido à influência de diversos fatores hidrodinâmicos como pH e produção de metabólitos solúveis, a produção de H_2 não refletiu a estes índices. A interferência dos produtos metabólitos provavelmente ocorreu em maior escala no RMV, seguido de RMC onde não foi observado ou demonstrou baixa produção de H_2 . O reator que apresentou melhores resultados na produção de H_2 , tanto na composição do biogás, como na PVH e HY foi o RMS, registrando valores consideravelmente mais elevados em relação aos demais reatores.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANTONOPOULOU, G; GAVALA, H. N; SKIADAS, I. V; ANGELOPOULOS, K; LYBERATOS, G. Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 110–119, 2008.

APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 22th edition, American Public Health Association, Washington, D.C.2012.

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

BARROS, A.R.; ADORNO, M.A.T; SAKAMOTO, I.K.; MAINTINGUER, S.I.; VARESCHE, M.B.A.; SILVA, E.L. Performance evaluation and phylogenetic characterization of anaerobic fluidized bed reactors using ground tire and pet as support materials for biohydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3840-3847, 2011.

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

BRAGA, A. F. M; FERRAZ, A. D. N; ZAIAT, M. Thermophilic biohydrogen production using a UASB reactor: performance during long-term operation.

BULL, M.A.; STERRIT, R.M.; LESTER, J.N. Response of the anaerobic fluidized bed reactor to transient changes in process parameters. **Water Research**, v. 17, n. 11, p. 1563 - 1568, 1983.

CARDONA, C.; SÁNCHEZ, O. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2415–2457, 2007.

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

CHANG, S; LI, J; LIU, F. Continuous biohydrogen production from diluted molasses in an anaerobic contact reactor. **Front. Environ. Sci. Engin**, v. 5, p. 140-148, 2011.

CHEN, W.M.; TSENG, Z.J.; LEE.; K.S.; CHANG, J.S. Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* cgs5 isolated from anaerobic sewage sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1063 – 1070, 2005.

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

CHRISTOFORLETTI, C.A.; ESCHER, J.P.; CORREIA, J.E.; MARINHO, J.F.U.; FONTANETTI, C.S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, p. 2753 – 2759, 2013.

DA SILVA, G.; DE ARAUJO, E.; SILVA, D.; GUIMARAES, W. Ethanol fermentation of sucrose, sugarcane juice and molasses by *Escherichia coli* strain KO11 and *Klebsiella oxytoca* strain P2. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 395–404, 2005.

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

DELFORNO, T.P.; MOURA, A.G.L.; OKADA, D.Y.; VARESCHE, M.B.A. Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using egsb reactors. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 114–121, 2014.

DEL NERY, V. **Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo de partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo**. Dissertação de Mestrado, EESC/USP, São Carlos – SP, 1987.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, 350-356, 1956.

ENDO, G.; NOIKE, T.; MATSUMOTO, J. Characteristics of cellulose and glucose decomposition in anaerobic phase of anaerobic digestion. **Proc. Soc. Civ. Eng**, v. 325, p.61-68, 1982.

ESPAÑA-GAMBOA, E.; MIJANGOS-CORTES, J.; BARAHONA-PEREZ, L.; DOMINGUEZ-MALDONADO, J.; HERNÁNDEZ-ZARATE, G.; ALZATE-GAVIRIA, L. Vinasses: characterization and treatments. **Waste Management Resource**, p. 1-16, 2011.

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

FERRAZ JR, A. D. N; ETCHEBEHERE, C; ZAIAT, M. High organic loading rate on thermophilic hydrogen production and metagenomic study at an anaerobic packed-bed reactor treating a residual liquid stream of a Brazilian biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 186, p. 81–88, 2015a.

FERRAZ JR, A. D. N; ETCHEBEHERE, C; ZAIAT, M.. Mesophilic hydrogen production in acidogenic packed-bed reactors (APBR) using raw sugarcane vinasse as substrate: Influence of support materials. **Anaerobe**, v. 34, p. 94-105, 2015b.

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

FREIRE, W.J.; CORTEZ, L.A.B. **Vinhaça de cana-de-açúcar**. Série Engenharia Agrícola, Piracicaba: Livraria e Editora Agropecuária, 2000.

GOPAL, A.; KAMMEN, D. Molasses for ethanol: the economic and environmental impacts of a new pathway for the lifecycle greenhouse gas analysis of sugarcane ethanol. **Environmental Research Letters**, v. 4, p. 1–5, 2009.

GUO, W.-Q., N.-Q. REN, X.-J. WANG, W.-S. XIANG, Z.-H. MENG, J. DING, Y.-Y. QU AND L.-S. ZHANG. Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4981-4988, 2008.

HAN, W; CHEN, H; YAO, X; LI, Y. F; YANG, C. P; Biohydrogen production with anaerobic sludge immobilized by granular activated carbon in a continuous stirred-tank. **Journal of Forestry Research**, v. 21, p. 509-513, 2010.

HAN, W; WANG, B; ZHOU, Y; WANG, D. X; WANG, Y; YUE, L. R; LI, Y. F. fermentative hydrogen production from molasses wastewater in a continuous mixed immobilized sludge reactor. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 219-223, 2012.

HAN, W; CHEN, H; JIAO, A; WANG, Z; LI, Y; REN, N. Biological fermentative hydrogen and ethanol production using continuous stirred tank reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 843-847, 2012.

HAO, X; ZHOU, M; YU, H; SHEN, Q; LEI, L. Effect of Sodium Ion Concentration on Hydrogen Production from Sucrose by Anaerobic Hydrogen-producing Granular Sludge. **Chinese J. Chem. Eng**, v. 14, p. 511-517, 2006.

HAKULINEN, R.; SAKINOJA-SALONEN, M. An anaerobic fluidized bed reactor for the treatment of industrial wastewater containing chlorophenols. In COOPER, P.F.; ATKINSON, B. (Eds.) Biological fluidized bed treatment of water and wastewater, **WRC & Ellis Horwood**, p. 374 – 382, 1981.

HICKEY, R.F. & OWENS, R.W. Methane generation from high-strength industrial wastes with the anaerobic biological fluidized bed. **Biotechnology. Bioengineering**, v. 23, p. 399 – 413, 1981.

ISLAM, R.; CICEK, N.; SPARLING, R.; LEVIN, D. Effect of substrate loading on hydrogen production during anaerobic fermentation by *Clostridium thermocellum* 27405. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 72, p. 576 – 583, 2006.

JERIS, J.S.; OWNES, R.W. Pilot-scale high rate biological denitrification, **Journal W.P.C.F**, v. 47, p. 2043 – 2056, 1975.

KANNAN, A., UPRETI, R.K., 2008. Influence of distillery effluent on germination and growth of mung bean (*Vigna radiata*) seeds. **J. HAZARD. Mater**, v. 153, p. 609–615, 2008.

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

LAY, C.H.; WU, J. H.; HSIAO, C. L.; CHANG, J. J.; CHEN, C. C.; LIN, C. Y. Biohydrogen production from soluble condensed molasses fermentation using anaerobic fermentation. **Internacional Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 13445-13451, 2010.

LAZARO, C. Z., V. PERNA, C. ETCHEBEHERE AND M. B. A. VARESCHE. Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: The effects of temperature and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 6407-6418, 2014.

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

LEVIN, D.; 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.

LI, J; LI, B; ZHU, G; REN, N; BO, L; HE, J. 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, 2007.

LI, J; AI, B; REN, N. Effect of Initial Sludge Loading Rate on the Formation of Ethanol Type Fermentation for Hydrogen Production in a Continuous Stirred-Tank Reactor. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 32, p. 1271-1279, 2013.

LIMA, D. M. F; MOREIRA, W. K; ZAIAT, M. Comparison of the use of sucrose and glucose as a substrate for hydrogen production in an upflow anaerobic fixed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 15074–15083, 2013.

LIN, C.Y.; CHENG, C.; H. Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed micro flora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 832 – 840, 2006.

LIN, C.; WU, S.; CHANG, J.; CHANG, J. Biohydrogen production in a three-phase fluidized bed bioreactor using sewage sludge immobilized by ethylene–vinyl acetate copolymer. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3298-3301, 2009.

MIZUNO, O.; DINSDALE, R.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D.L.; NOIKE, T. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 59 – 65, 2000.

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

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.

MUNOZ-PÁEZ, K.M.; RUIZ-ORDÁZ, N.; GARCÍA-MENA, J.; PONCE-NOYOLA, M.T.; et al. Comparison of biohydrogen production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35 °C. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 12570-12579, 2013.

NANDY, T.; SHASTRY, S.; KAUL, S. Wastewater management in a cane molasses distillery involving bioresource recovery. **Journal of Environmental Management**, v. 65, p. 25 – 38, 2002.

NGOMA, L; MASILELA, P; OBASU, F; GRAY, V. M. The effect of temperature and effluent recycle rate on hydrogen production by undefined bacterial granules. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8986–8991, 2011.

OBASU, F.O.; NGOMA, L.; GRAY, V.M.; Interrelationships between bioreactor volume, effluent recycle rate, temperature, pH, %H₂, hydrogen productivity and hydrogen yield with undefined bacterial cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p.5579-5590, 2012.

OLIVEIRA, B.G., CARVALHO, J.L.N., CERRI, C.E.P., CERRI, C.C., FEIGL, B.J. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. **Geoderma**, v. 200–201, p. 77–84, 2013.

PANWAR, N.L. ;KAUSHIKB, S.C.; KOTHARIA, S. Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 1513-1524, 2011.

PARNAUDEAU, V.; CONDOM, N.; OLIVER, R.; CAZEVIEILLE, P.; RECOUS, S. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1553–1562, 2008.

PATTRA, S.; LAY, C.H.; LIN, C.Y.; THONG, S.O.; REUNGSANG, A. Performance and population analysis of hydrogen production from sugarcane juice by non-sterile continuous stirred tank reactor augmented with *Clostridium butyricum*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 8697 – 8703, 2011.

PENTEADO, E. D; LAZARO, C. Z; SAKAMOTO, I. K; ZAIAT, M. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 6137-6145, 2013.

PLANGKLANG, P.; REUNGSANG, A.; PATTRA, S. Enhanced bio-hydrogen production from sugarcane juice by immobilized *Clostridium butyricum* on sugarcane bagasse. **International journal of hydrogen energy**, v. 37, p. 15525 - 15532, 2012.

REIS, C. M. DOS; CAROSIA, M. F; SAKAMOTO, I. K; VARESCHE, M. B. A; SILVA, E. L. Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane vinasse in an anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, p. 8498-8509, 2015.

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

REN, N.-Q., J.-F. XU, L.-F. GAO, L. XIN, J. QIU AND D.-X. SU. Fermentative biohydrogen production from cellulose by cow dung compost enriched cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 2742-2746, 2010.

ROBERTIELLO, A. **Upgrading of agricultural and agroindustrial wastes: the treatment of distillery effluents (vinasses) in Italy.** *Agric. Wastes*, v. 4, p. 387– 395, 1982.

ROBLEDO-NARVÁEZ, P. N., K. M. MUÑOZ-PÁEZ, H. M. POGGI-VARALDO, E. RÍOS-LEAL, G. CALVA-CALVA, L. A. ORTEGA-CLEMENTE, N. RINDERKNECHT-SEIJAS, C. ESTRADA-VÁZQUEZ, M. T. PONCE-NOYOLA AND J. A. SALAZAR-MONTOYA. The influence of total solids content and initial pH on batch biohydrogen production by solid substrate fermentation of agroindustrial wastes. **Journal of Environmental Management** v. 128, p. 126-137, 2013.

ROSA, P. R. F., S. C. SANTOS, I. K. SAKAMOTO, M. B. A. VARESCHE AND E. L. SILVA. Hydrogen production from cheese whey with ethanol-type fermentation: Effect of hydraulic retention time on the microbial community composition. *Bioresource Technology* v. 161, p. 10-19, 2014.

ROSA, P. R. F., S. C. SANTOS, I. K. SAKAMOTO, M. B. A. VARESCHE AND E. L. SILVA. The effects of seed sludge and hydraulic retention time on the production of hydrogen from a cassava processing wastewater and glucose mixture in an anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 13118-13127, 2014.

ROYCHOUDBURY, S; COX, D; LEVANDOWSKY, M. Production of hydrogen by microbial fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 13, p. 407-410, 1988.

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

SANTOS, S. C., P. R. F. ROSA, I. K. SAKAMOTO, M. B. AMÂNCIO VARESCHE AND E. L. SILVA. Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 9599-9610, 2014b.

SANTOS, S. C., P. R. FERREIRA ROSA, I. K. SAKAMOTO, M. B. AMÂNCIO VARESCHE AND E. L. SILVA. Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 9000-9011, 2014a.

SHIDA, G.M. **Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fluidificado.** Dissertação de Mestrado, EESC/USP, São Carlos – SP, 2008.

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

SINGH, S. P; SRIVASTAVA, S. C; PANDEY, K. D; Hydrogen production by *rhodospseudomonas* as at the expense of vegetable starch, sugarcane juice and whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 19, p. 437-440, 1993.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1998) 20th ed. American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation, Whashington, DC, USA.

THOMPSON, L. J; GRAY, V. M; KALALA, B; LINDSAY, D; REYNOLDS, K. HOLY, A. V. Biohydrogen production by *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii* in carrier induced granules. **Biotechnol Lett**, v. 30, p. 271-274, 2008.

VAN GINKEL S.; SUNG S.W.; LAY J.J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environ Sci Technol**, v. 35, p. 4726 – 4730, 2001.

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

WALKER, M.; ZHANG, Y.; HEAVEN, S.; BANKS, C. Potential errors in the quantitative evaluation of biogas production in anaerobic digestion processes. **Bioresource Technology**, v.100, p.6339-6346, 2009.

WANG, C.H.; CHANG, J.S. Continuous biohydrogen production from starch with granulated mixed bacterial microflora. **Energy & Fuel**, v. 22, p. 93 – 97, 2008.

WANG, X; JIN, B. Process optimization of biological hydrogen production from molasses by a newly isolated *Clostridium butyricum* W5. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, p. 138-144, 2009.

WANG, B., Y. LI AND N. REN. Biohydrogen from molasses with ethanol-type fermentation: Effect of hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy** v. 38, p. 4361-4367, 2013.

WILKIE, A.; RIEDESEL, K.; OWENS, J. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstock. **Biomass and Bioenergy**, v. 19. p. 63–102, 2000.

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

WU, S. Y; CHY, C. Y; SHEN, Y. C. Effect of calcium ions on biohydrogen production performance in a fluidized bed bioreactor with activated carbon-immobilized cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 15496–15502, 2012.

YUAN, Z; YANG, H; ZHI, X; SHEN, J. Increased performance of continuous stirred tank reactor with calcium supplementation. **International Journal of Hydrogen Energy** v. 35, p. 2622-2626, 2010.

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

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

ZHU, G; LIU, C; LI, J; REN, N; LIU, L. HUANG, X. Fermentative hydrogen production from beet sugar factory wastewater treatment in a continuous stirred tank reactor using anaerobic mixed consortia. **Front. Environ. Sci. Eng.**, v. 7, p. 143-150, 2013.