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

CAMILA APARECIDA DE MENEZES

Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2018

CAMILA APARECIDA DE MENEZES

Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar

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

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2018

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.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

M541p

Menezes, Camila Aparecida de
Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar / Camila Aparecida de Menezes; orientador Edson Luiz Silva. São Carlos, 2018.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2018.

1. EGSB. 2. Digestão anaeróbia. 3. Homoacetogênese. 4. Mesofílico. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharela **CAMILA APARECIDA DE MENEZES.**

Título da dissertação: Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar".

Data da defesa: 16/04/2018.

Comissão Julgadora: **Resultado:**

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

Profa. Dra. **Sandra Imaculada Maintinguer** Aprovada
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Araraquara)

Prof. Dr. **Guilherme Peixoto** Aprovado
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Araraquara)

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:
Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiondo**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Luís Fernando Costa Alberto**

À minha avó Maria Ely (in memorian).

Por todo amor, carinho, dedicação e exemplo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Dr. Edson Luiz Silva pela orientação, pelo exemplo, pela dedicação, pelos ensinamentos e por ser tão presente na elaboração e execução deste projeto. Obrigada por enxergar sempre o melhor de mim.

Ao CNPq pelo apoio financeiro concedido por meio da Bolsa de Mestrado.

À Escola de Engenharia de São Carlos (USP) e ao Departamento de Engenharia Química (UFSCar) pelo suporte ao desenvolvimento dessa pesquisa.

Às professoras Dra. Mônica Lopes Aguiar (DEQ/UFSCar) e Dra. Márcia Damianovic (EESC/USP) pelas considerações valiosas no Exame de Qualificação.

Aos docentes, Prof. Dr. Davi Gasparini, Prof. Dr. Valdir Schalch, Prof. Dr. Eduardo Cleto Pires, Prof. Dr. Eduardo Mário Mendiondo, Profa. Dra. Márcia Damianovic e Prof. Dr. Eugênio Foresti, da Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento (USP) pelos conhecimentos transmitidos e pelos exemplos de docência a serem seguidos.

Aos técnicos do DEQ/UFSCar, em especial ao Oscar da Silva, ao Amadeus Gomes de Azevedo e à Alexandra Gonçalves pela presteza e imprescindibilidade na execução deste projeto e às auxiliares de limpeza do DEQ/UFSCar, pelo cuidado com o Laboratório de Controle Ambiental II.

Ao Alisson, Isabeú, Bruna e Adilson (lanchonete/Biblioteca UFSCar) pelos sorrisos, pelas conversas e por todos os momentos bons que fizeram os dias serem mais agradáveis.

Ao Magno Alves, por me incentivar a seguir esse caminho. Por ter percebido vocação e potencial em mim, antes mesmo que eu percebesse. Obrigada pelos conselhos sempre sábios, que hoje compreendo estarem todos corretos.

À turma de Pós-graduação (PPG-SHS/USP) 2016, pelo coleguismo nas disciplinas. Em especial à turma do “Rolê errado” (Danilo Ayabe, Hiago Schiano, Murilo Senhuki, David Schimitt, Andressa Bernal e Isabele) pelos momentos de descontração e amizade.

Aos colegas do LCAII/DEQ/UFSCar (Andreza, Talles, Lucas, Schayanna, Priscilla, Lívia, Andressa e Isabele). Agradeço à Andreza e Talles pela recepção e pela paciência com que me transmitiram os conhecimentos em relação às análises e operação dos reatores. Agradeço ao Lucas, peça fundamental para a execução desse projeto, pela presteza em ajudar e ensinar sempre. À Schayanna, Priscilla e Lívia, obrigada pelo convívio durante o segundo semestre de 2017.

À Andressa Bernal, pela amizade e carinho, pelos ouvidos solícitos e os conselhos sempre sábios. A lembrança que levo de 2017 só é completa por ter você. Obrigada por dividir

comigo toda sua sensatez, que me manteve equilibrada em tempos de desequilíbrio. Muito obrigada por ser um exemplo de honestidade, perfeccionismo, determinação e bondade de coração.

À Isabele Baima por ser meu suporte e meu lar. Obrigada por cuidar de mim, por me deixar cuidar de “tu” e pelos momentos maravilhosos de cumplicidade. Uma afinidade sem igual. Te agradeço por me dar exemplos de extrema força e resiliência. Muito obrigada por ter feito dos piores momentos os mais leves e alegres, por ter feito tudo deste ano ser suportável.

À professora Bruna Coêlho pela amizade que levarei pra vida, pelos momentos divertidos e pelos conselhos valiosos.

À minha família de São Carlos (Allita, Marina, Isabele e Andressa). Allita Rezende, por cuidar de mim na etapa crucial deste trabalho, por ser minha companheira de casa e grande amiga e por dividir comigo sua sabedoria. Marina pelo carinho, por se preocupar comigo e por esse sorriso que acalma.

Ao meu noivo Willame pela paciência, carinho e compartilhamento de experiências. Obrigada por sempre me ouvir, e se fazer presente mesmo estando tão longe. Muito obrigada por me fazer acreditar que tudo iria dar certo, você me fez crescer.

À Antonieta minha melhor amiga, por estar do meu lado desde a infância. Muito obrigada por ser tão linda por dentro e por fora, e por não deixar essa amizade morrer.

À Ana Luísa Curado, minha melhor amiga, madrinha, afilhada e irmã. Que sempre viu potencial em mim e sempre me ofereceu as palavras certas nos momentos que eu mais precisava. Agradeço Bilgs, por manter essa amizade com a distância. Você e o Sérgio Júnior me mostram o que eu “quero ser quando crescer”, muito obrigada a vocês.

Aos meus pais Lucimeire e Ildeu, muito obrigada pelo incentivo, amor e carinho. Ao meu irmão Carlos Eduardo, pelo carinho e parceria desde a infância. Aos meus familiares (Adir Júnior, Flávia, Tayná, Amanda, Ildeu Camilo, Cárita, Vanessa, Alyne e Ildeu Júnior) por sempre acreditarem em mim e pelo amor com que sempre me recebem ao retornar para casa.

À minha avó Maria Ely que se foi cedo demais, e que me deixou aqui tentando ser pelo menos um terço parecida com a mulher incrível que ela era. Ah minha Squeezinha, você não sabe quanta saudade deixou e quanta falta faz. Muito obrigada por ter me feito chegar até aqui. Não há um ser no mundo que eu ame mais do que você, e a quem eu deseje orgulhar mais.

A todos que fazem parte da minha vida e que contribuíram de alguma forma para meu crescimento pessoal e profissional.

Meus agradecimentos.

“Tive muitas aflições, mas venci nas orações
Em segredo com Deus eu falei, em gemidos eu desabafei
Quem escreveu minha história sabe tudo sobre mim
Cada erro, cada acerto pra chegar até aqui’

Shirley Cavalhaes

RESUMO

MENEZES, C.A. **Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar**. 2018. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

O presente estudo avaliou o efeito do TDH (tempo de detenção hidráulica) (24 a 1 h) na produção de H_2 em reator anaeróbio de leito granular expandido (*Expanded Granular Slugde Bed*) (ESGB) sob condições mesofílicas (30 ± 2 °C), com cultura mista e a partir do caldo de cana nas concentrações: 5, 10 e 15 g L^{-1}, nos reatores $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente. Foram atingidos valores máximos de produção volumétrica de H_2 (PVH) ao decrescer o TDH para: 1 h no $EGSB_5$ (6,96 L d^{-1} L^{-1}); 1 h no $EGSB_{10}$ (19,14 L d^{-1} L^{-1}); e 2 h no $EGSB_{15}$ (52,40 L d^{-1} L^{-1}). Os resultados corroboram a afirmação de que reatores de alta taxa como o EGSB suportam aplicação de cargas mais elevadas, visto que o rendimento de H_2 (*Hydrogen Yield*) (HY) máximo (0,73 mol H_2 mol^{-1} hexose) foi observado no $EGSB_{15}$ para a taxa de carregamento orgânico (TCO) igual a 182,9 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}. Os HY visualizados no presente estudo foram inferiores aos observados nos estudos em que utilizaram culturas puras, isto pode ocorrer devido ao fato de que o tratamento térmico não é capaz de selecionar apenas culturas produtoras de H_2. Foram identificados os possíveis consumos de H_2 em consequência à homoacetogênese, com percentuais máximos de ácido acético (HAc) de 59,0 %, 50,0 % e 25,0 % em relação aos demais metabólitos produzidos nos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente. Devido à provável ocorrência de homoacetogênese o H_2 detectado não pode ser inteiramente atribuído a presença de HAc, atribui-se então a produção de H_2 à rota de produção de ácido butírico (HBu). Coincidentemente com o HY máximo, as concentrações e percentuais de HBu foram de 1,95 g L^{-1} e 44,0 % para o $EGSB_{10}$ no TDH de 4 h, e de 4,07 g L^{-1} e 43,0 % para o $EGSB_{15}$ no TDH de 2 h. De modo geral, a redução do TDH de 24 a 1 h melhorou a produtividade de H_2. Observou-se devido à elevada PVH, que o caldo de cana pode ser uma alternativa viável para a produção de H_2 em larga escala.

Palavras-chave: EGSB. Digestão anaeróbia. Homoacetogênese. Mesofílico

ABSTRACT

MENEZES, C.A. **Hydrogen production and value-added compounds in mesophilic expanded granular bed reactors from sugarcane juice**. 2018. 110 f. Dissertation (Master's degree) – School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2018.

The present study evaluated HRT (hydrualic retention time) (24 to 1 h) effect on H_2 production in anaerobic expanded granular sludge bed reactor (ESGB) under mesophilic conditions (30 ± 2 ° C), with mixed culture and sugarcane juice concentration of 5, 10 and 15 g L^{-1} in $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ and $EGSB_{15}$, respectively. Maximum hydrogen production rates (HPR) were visualized by decreasing TDH to: 1 h in $EGSB_5$ (6.96 L d^{-1} L^{-1}); 1 h at $EGSB_{10}$ (19.14 L d^{-1} L^{-1}); and 2 h in $EGSB_{15}$ (52.40 L d^{-1} L^{-1}). Results attest that high rate reactors such as EGSB support higher loads application, since maximum hydrogen yield (HY) was observed in $EGSB_{15}$ for the highest organic loading rate (OLR) applied (0.73 mol H_2 mol^{-1} hexose in OLR 182.9 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}). HY visualized in present study were lower than those observed in studies using pure cultures, this may occur due to heat treatment is not able to select only H_2 producing cultures. Possible H_2 intakes were observed as a consequence of homoacetogenesis, with maximum acetic acid (HAc) 59.0%, 50.0% and 25.0% for $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ and $EGSB_{15}$, respectively. Due to probable occurrence of homoacetogenesis the H_2 production can't be entirely attributed to HAc, then H_2 production is attributed to butyric acid (HBu) route. Coincidentally with maximum HY, the HBu concentrations and percentages were 1.95 g L^{-1} and 44.0% for the $EGSB_{10}$ in TDH 4 h, 4.07 g L^{-1} and 43.0% for $EGSB_{15}$ in TDH 2 h. Overall, the TDH reduction from 24 to 1 h improved H_2 productivity. Due to high HPR observed the sugarcane juice can be a feasible alternative for H_2 production on large scale.

Keywords: EGSB. Anaerobic fermentation. Bio-hydrogen. Sugarcane juice. Mesophilic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1 - Fluxograma da produção integrada de açúcar e álcool 28
Figura 3.2 - Fluxograma da produção concomitante de etanol e hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar 30
Figura 3.3 - Visão geral dos processos utilizados para produção de hidrogênio 32
Figura 3.4 - Fluxograma da digestão anaeróbia 33
Figura 3.5 - Esquema simplificado do fluxo metabólito durante a fermentação anaeróbia de carboidratos simples para a produção de hidrogênio 35
Figura 3.6 - Fluxograma da produção de hidrogênio a partir do caldo de cana-de-açúcar 40
Figura 4.1 - Fluxograma das etapas de operação 48
Figura 4.2 - Instalação experimental do EGSB em modo contínuo 49
Figura 4.3 - Reatores EGSB utilizados na etapa experimental 50
Figura 4.4 - Grânulo de lodo 51
Figura 4.5 - Fluxograma do processo de inoculação 53
Figura 5.1 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_5$ 58
Figura 5.2 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_{10}$ 59
Figura 5.3 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_{15}$ 60
Figura 5.4 - Percentual médio de H_2 no biogás dos reatores 62
Figura 5.5 - Produção volumétrica de hidrogênio média no $EGSB_{10}$ 64
Figura 5.6 - Produção volumétrica de hidrogênio média no $EGSB_{15}$ 65
Figura 5.7 - Rendimento de hidrogênio médio para cada TDH aplicado no $EGSB_{10}$ 70
Figura 5.8 - Rendimento de hidrogênio médio para cada TDH aplicado no $EGSB_{15}$ 71
Figura 5.9 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_5$ 74
Figura 5.10 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_{10}$ 76
Figura 5.11 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_{15}$ 80
Figura 5.12 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_5$ 84
Figura 5.13 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_{10}$ 85
Figura 5.14 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_{15}$ 85
Figura 5.15 - Correlação entre o HY e a HAc/HBu para o $EGSB_{10}$ 86
Figura 5.16 - Remoção de DQO no $EGSB_5$ 89
Figura 5.17 - Remoção de DQO no $EGSB_{10}$ 90
Figura 5.18 - Remoção de DQO no $EGSB_{15}$ 90

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Conteúdo de energia dos combustíveis 31
Tabela 3.2 - Termodinâmica das reações 38
Tabela 3.3 - Rendimentos energéticos da produção sequencial de hidrogênio e metano do estudo em questão comparadas a outros estudos 43
Tabela 4.1 - Dimensões e volume dos reatores 50
Tabela 4.2 - Parâmetros dos lotes de caldo 52
Tabela 4.3 - Condições operacionais dos reatores 54
Tabela 4.4 - Frequência e metodologias das análises 55
Tabela 5.1 - Conversão de carboidratos no $EGSB_5$ 57
Tabela 5.2 - Conversão de carboidratos no $EGSB_{10}$ 58
Tabela 5.3 - Conversão de carboidratos no $EGSB_{15}$ 59
Tabela 5.4 - Percentual de H_2 no biogás produzido 62
Tabela 5.5 - Valores médios da PVH no $EGSB_{10}$ 64
Tabela 5.6 - Valores médios da PVH no $EGSB_{15}$ 65
Tabela 5.7 - PVH encontradas na literatura para RALF, FRB e EGSB 68
Tabela 5.8 - Valores médios do HY no $EGSB_{10}$ 69
Tabela 5.9 - Valores médios do HY no $EGSB_{15}$ 70
Tabela 5.10 - Desempenho dos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ na produção de hidrogênio comparado à literatura 73
Tabela 5.11 - Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_5$ 75
Tabela 5.12- Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_{10}$ 77
Tabela 5.13 - Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_{15}$ 79
Tabela 5.14 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_5$ 81
Tabela 5.15 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_{10}$ 82
Tabela 5.16 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_{15}$ 82

Tabela 5.17 - Concentração de HAc produzido pelo consumo de H_2 em relação ao total detectado nos reatores 83
Tabela 5.18 - Valores médios de pH afluente e efluente para os $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$. 88
Tabela 5.19 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_5$ 91
Tabela 5.20 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_{10}$..... 92
Tabela 5.21 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_{15}$..... 92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$Ac_{homoac.}$	Cálculo teórico da concentração de ácido acético produzido pela homoacetogênese
$Ac_{homo/total}$	Relação entre o ácido acético produzido pela homoacetogênese e o total detectado
APBR	Reator anaeróbio de leito empacotado (*Anaerobic Packed-Bed Reactor*)
A/M	Razão alimento microrganismo
CH_4	Metano
CO_2	Dióxido de carbono
CSTR	Reator tanque agitado contínuo (*Continuous Stirred-Tank Reactor*)
DQO	Demanda química de oxigênio
EGSB	Reator anaeróbio de leito granular expandido (*Expanded Granular Slugde Bed*)
EPR	Rendimento energético (*Energy Production Rate*)
EtOH	Etanol
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FBR	Reator de leito fluidificado trifásico (*Fluidized Bed Reactor*)
H_2	Hidrogênio
$\%H_2$	Percentual de hidrogênio
$H_{2\text{-teórico}}$	Rendimento teórico de hidrogênio
HAc	Ácido acético
HBu	Ácido butírico
HCa	Ácido capróico
HFo	Ácido fórmico
HIsoBu	Ácido isobutírico
HIsoVal	Ácido isovalérico
HLa	Ácido lático
HMa	Ácido málico
HPLC	Cromatografia líquida (*High Performance Liquid Cromatography*)
HPr	Ácido propiônico
HSu	Ácido succínico
HVa	Ácido valérico
HY	Rendimento de hidrogênio (*Hydrogen Yield*)
NAD^+	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida

pH	potencial Hidrogeniônico
PH_2	Pressão parcial de H_2
PRO-ÁLCOOL	Programa de incentivo à produção e uso de etanol como carburante
PVH	Produção volumétrica de hidrogênio
RALF	Reator anaeróbio de leito fluidificado
RALGF	Reator anaeróbio de leito granular fluidificado
SSF	Sólidos suspensos fixos
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TCO	Taxa de carregamento orgânico
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*)
Vmf	Velocidade de mínima fluidificação
σ	Desvio padrão
θc	Tempo de retenção celular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 23
2 OBJETIVO 25
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 26
3.1 O SETOR SUCROENERGÉTICO 26
3.1.1 Processamento da cana-de-açúcar 27
3.1.2 O caldo-de-cana na produção de etanol 28
3.1.3 Otimização do potencial energético da cana-de-açúcar 29
3.2 O HIDROGÊNIO COMO ALTERNATIVA 30
3.3 DETALHAMENTO DO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA 32
3.4 FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS 34
3.4.1 Metabolismo da fermentação de carboidratos 34
3.4.2 Termodinâmica da fermentação de carboidratos 37
3.4.3 Métodos de inibição da metanogênese 39
3.5 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE H_2 A PARTIR DO CALDO DE CANA 40
3.6 REATOR ANAERÓBIO DE LEITO GRANULAR EXPANDIDO 44
3.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 46
4 MATERIAL E MÉTODOS 48
4.1 VISUALIZAÇÃO INTEGRADA DAS ETAPAS DA PESQUISA 48
4.2 REATORES EGSB 49
4.3 MATERIAL SUPORTE E INÓCULO 50
4.4 ALIMENTAÇÃO E SUBSTRATO 51
4.5 PROCEDIMENTO DE PARTIDA DOS REATORES 53
4.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS 53
4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS 54
4.7.1 Determinação da concentração de carboidratos 54
4.7.2 Análises Físico-Químicas 54
4.7.3 Medida de produção volumétrica e composição do biogás 54
4.7.4 Determinação de Álcoois e Ácidos Orgânicos Voláteis 55
4.7.5 Frequência das análises 55
4.8 CÁLCULO DOS INDICADORES DE DESEMPENHO 55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 57

5.1 CONVERSÃO DE CARBOIDRATOS 57
5.2 COMPOSIÇÃO DO BIOGÁS 61
5.3 PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA DE HIDROGÊNIO 64
5.4 RENDIMENTO DE HIDROGÊNIO 69
5.5 METABÓLITOS SOLÚVEIS PRODUZIDOS 74
5.5.1 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_5$ 74
5.5.2 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_{10}$ 76
5.5.3 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_{15}$ 78
5.5.4 Análise comparativa dos metabólitos produzidos nos reatores EGSB 81
5.6 DEMAIS VARIÁVEIS OPERACIONAIS INFLUENTES 88
5.6.1 pH 88
5.6.2 DQO 89
5.6.3 Sólidos suspensos 91
6 CONCLUSÃO 93
7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS 94
REFERÊNCIAS 95
ANEXO A - REMOÇÃO DE DQO 108
ANEXO B - BALANÇO DE DQO 109

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico e a qualidade de vida dos cidadãos de um país dependem intrinsecamente da sua suficiência energética. O crescimento exponencial da população traz consigo a elevação da demanda de energia que ainda depende de combustíveis fósseis, que são não-renováveis e causadores de impactos ambientais negativos. Em complementação aos combustíveis fósseis, principalmente durante a crise do petróleo, houve a implantação do etanol no Brasil. O etanol garante suficiência energética e amortização da variação do preço do açúcar no mercado.

A produção de etanol no Brasil ocorre por meio da fermentação e destilação do caldo de cana-de-açúcar. O processo de destilação tem a vinhaça como principal resíduo. Estima-se que são gerados de 11 a 14 litros de vinhaça para cada litro de etanol (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000). Atualmente, a vinhaça é utilizada na fertirrigação das áreas de cultivo de cana-de-açúcar como forma de reaproveitamento de nutrientes (nitrogênio e fósforo). Porém, as concentrações elevadas de matéria orgânica (25 a 60 gDBO L^{-1}) e sais (potássio, cálcio e íons sulfato) podem causar impactos no solo e nos recursos hídricos (FERREIRA et al., 2010; SANTOS et al., 2014c). A alteração da comunidade microbiana do solo, a lixiviação do nitrato e a contaminação da água subterrânea são alguns dos problemas ambientais ocasionados pela vinhaça (SIQUEIRA; DAMIANO; SILVA, 2013).

Como tentativa de minimizar os impactos negativos da vinhaça e aproveitar o seu potencial energético, são frequentes os estudos sobre a produção de hidrogênio (H_2) via digestão anaeróbia a partir desta água residuária (REIS et al., 2015; LAZARO; VARESCHE; SILVA, 2015; KIYUNA; FUESS; ZAIAT, 2017). Contudo, são necessárias melhorias no processo de digestão anaeróbia para a aplicação da vinhaça de cana-de-açúcar na produção de bioenergia (H_2 por exemplo) em plantas de escala real (FUESS et al., 2017).

Ao avaliar a sustentabilidade ambiental dos combustíveis, o H_2 é a escolha mais lógica para o meio energético (DAS, 2009). O H_2 é considerado ambientalmente limpo, pois a célula combustível à base de hidrogênio produz como subproduto somente água (DUTTA, 2014), enquanto a queima do etanol libera gás carbônico. O H_2 tem elevado teor de energia por massa (120,0 MJ kg^{-1}), aproximadamente 2,6 vezes superior à do etanol (NI et al., 2006; DUTTA, 2014). Então, o fator chave para a utilização em massa do H_2, é sua produção a partir de fontes renováveis e baratas, como a digestão anaeróbia.

A facilidade de operação e as taxas elevadas de produção chamam a atenção para a produção de H_2 via digestão anaeróbia como uma alternativa de biocombustível para o futuro

(REUNGSANG; SITTIJUNDA; SREELA-OR, 2016; KHAN et al., 2017). A produção de H_2 via digestão anaeróbia em larga escala depende de rendimentos elevados, que por sua vez dependem da natureza do substrato (WANG; WAN, 2009). Enquanto os substratos complexos como a vinhaça possuem compostos recalcitrantes que podem inibir os microrganismos responsáveis pela digestão (SANTOS et al., 2014a), os substratos de fácil degradação (glicose e sacarose) apresentam resultados satisfatórios na produção de H_2 (SHIDA et al., 2012; FONTES LIMA; MOREIRA; ZAIAT, 2013; PUGAZHENDHI et al., 2017).

O caldo de cana é uma fonte natural de sacarose (aproximadamente 200 g L^{-1}) (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012), substrato simples que pode ser utilizado para produção de bioenergia em escala real. O estudo de Nualsri, Reungsang, Plangklang (2016), por exemplo, mostrou que o rendimento energético obtido no sistema sequencial de produção de H_2 e CH_4 a partir do caldo de cana (13,44 kJ $gDQO^{-1}$) foi superior ao rendimento energético da produção de etanol dos estudos de Dhaliwal et al. (2011) (10,72 kJ $gDQO^{-1}$) e de Limtong, Sringiew, Yongmanitchai (2007) (9,92 kJ $gDQO^{-1}$).

Encontram-se na literatura, estudos da produção de hidrogênio a partir do caldo de cana nos reatores batelada (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016) e reator tanque agitado contínuo (*Continuous Stirred-Tank Reactor*) (CSTR) (PATTRA et al., 2011; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016). Entretanto, a produção de H_2 a partir do caldo de cana em um reator de alta taxa não foi realizada até então.

Os reatores anaeróbios de alta taxa são configurações em que se pode aplicar tempo de detenção hidráulica (TDH) reduzidos e obter maior taxa de produção de biogás em comparação aos sistemas de taxa lenta. Os reatores de alta taxa têm como vantagem o desacoplamento do tempo de retenção celular (θc) do TDH, o requerimento de reatores com menores volumes e consequentemente custos de instalação reduzidos (VAN LIER et al., 2015; YESHANEW et al., 2016). O reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) (UASB) e o reator anaeróbio de leito granular expandido (*Expanded Granular Slugde Bed*) (EGSB) são exemplos de reatores anaeróbios de alta taxa difundidos (VAN LIER et al., 2015).

O reator EGSB é uma configuração em que a biomassa é mantida como agregados (grânulos) formados pela auto imobilização sem nenhum material de apoio. Outra característica importante do EGSB é a aplicação de recirculação, que propicia velocidade ascensional entre 0,139 e 0,167 cm s^{-1}, acarretando em aumento do contato lodo substrato. Este reator possui capacidade de reter elevada concentração de biomassa e suporta aplicação de TDH reduzidos.

A aplicação de TDH mais curtos em sistemas anaeróbios são ideais para a produção de metabólitos intermediários, como hidrogênio e ácidos orgânicos. Logo, este estudo propõe avaliar o desempenho do reator EGSB sob condições mesofílicas na produção contínua de H_2 utilizando o caldo de cana como substrato e reduzindo o TDH de 24 a 1 h.

2 OBJETIVO

Avaliar a produção de H_2 e metabólitos solúveis no reator EGSB utilizando cultura mista como inóculo, sob condições mesofílicas (30°± 2 ºC) e aplicando o caldo de cana-de-açúcar como fonte de carbono.

Os objetivos específicos foram:

i. Avaliar o efeito do tempo de detenção hidráulica (TDH) (24, 16, 8, 4, 2 e 1 h) na produção contínua de hidrogênio utilizando o caldo de cana como fonte de carbono nas concentrações fixas de 5, 10 e 15 g L^{-1} nos reatores denominados $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente.

ii. Analisar a influência das variáveis operacionais (pH, concentração e TDH) na produção de metabólitos solúveis nos reatores $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A presente seção contém consultas da literatura pertinentes para a contextualização deste estudo. Para a melhor compreensão do objetivo, a discussão dos resultados e a elaboração das conclusões, os temas incluem: o panorama do setor sucroenergético no Brasil e no mundo; o processo de produção da cana-de-açúcar e a extração do caldo de cana; o maior aproveitamento energético da cana-de-açúcar pela produção de bioenergia utilizando a vinhaça; o hidrogênio como biocombustível; o detalhamento do processo de digestão anaeróbia; a digestão anaeróbia do caldo de cana para produção de hidrogênio; e o reator EGSB na produção contínua de hidrogênio.

3.1 O SETOR SUCROENERGÉTICO

Atualmente, a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é a cultura agrícola mais expressiva no mundo. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), foram produzidas de 2014 a 2016, 1844 milhões de toneladas de cana-de-açúcar em média por ano. Os principais produtores de cana-de-açúcar são: Tailândia (4,7 % do total mundial), China (6,7 %), Índia (18,9 %) e Brasil (41,7 %) (OECD/FAO, 2017). Em 2017 foram produzidas no Brasil 657,2 milhões de toneladas de cana e a previsão para 2018 é de 647,6 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

Por ser uma cultura perene e típica de países tropicais, a cana possui enorme adaptabilidade ao solo e clima brasileiros. Pode ser utilizada na produção de açúcar, etanol e cachaça, além da alimentação de animais. O Brasil é produtor de açúcar a partir da cana desde o século XVII e de etanol desde meados do século XX (MANOCHIO et al., 2017). O país é responsável respectivamente por 20% e 25 % da produção de etanol e açúcar do mundo (BARBOSA; HYTÖNEN; VAINIKKA, 2017). O que correspondeu a 26,5 bilhões de litros de etanol e 38,7 milhões de toneladas de açúcar produzidos em 2017 (CONAB, 2017).

O modelo atual de produção integrada de açúcar e etanol surgiu devido à queda do preço do açúcar aliada a primeira crise do petróleo em 1956. Para manter o desenvolvimento econômico, o governo brasileiro substituiu o petróleo importado por fontes internas de energia (SOCCOL et al., 2010; DIAS et al., 2015). Então, a necessidade de produção de etanol fez com que destilarias fossem anexadas às plantas de açúcar já existentes. A situação favorável do etanol no Brasil impulsionou a criação do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) em 1975. O Proálcool foi descrito como sendo resposta à flutuação do preço do açúcar e às crises do

petróleo. O programa incentivou a geração intensa de etanol como sendo mais econômico e ambientalmente adequado, quando comparado aos combustíveis fósseis (ROSILLO-CALLE; CORTEZ, 1998; SOCCOL et al., 2010).

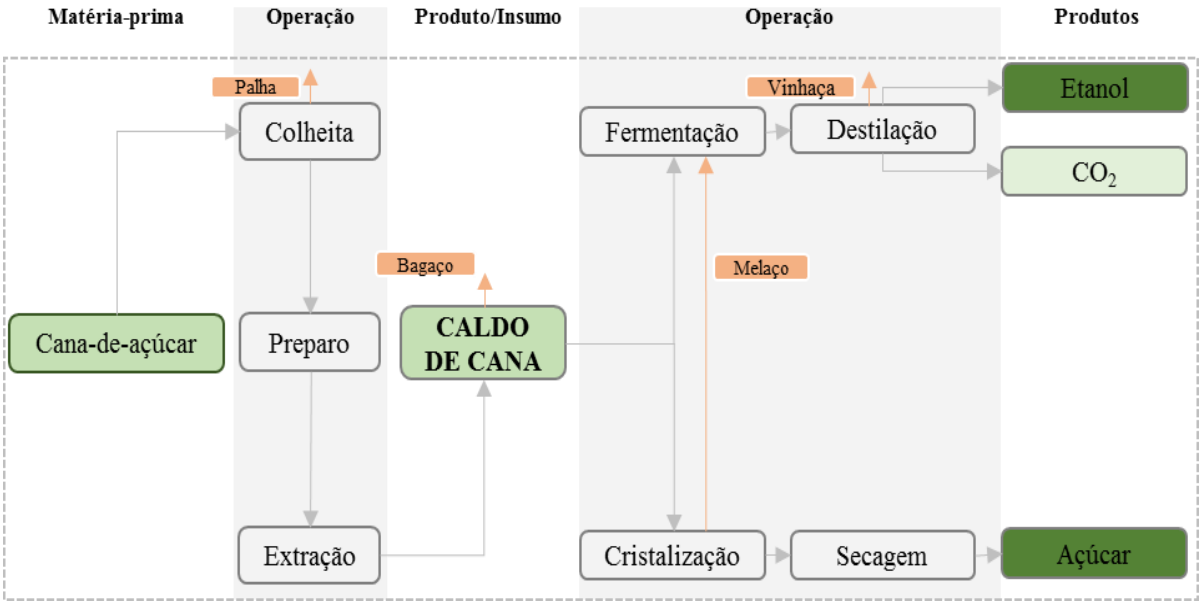
3.1.1 Processamento da cana-de-açúcar

Em uma usina com produção integrada de açúcar e etanol, a seção inicial é comum para os dois produtos finais. As etapas comuns são: plantio da cana-de-açúcar, recepção da cana, preparação, extração do caldo e tratamento do caldo (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000; DIAS et al., 2015). Após a maturação e colheita, a cana-de-açúcar é enviada dos campos de cultivo para a usina, onde é descarregada em esteiras. Nos casos em que a cana é cortada manualmente deve ser utilizado um sistema de limpeza para evitar perdas de açúcares. As impurezas minerais e vegetais são removidas e a cana limpa é enviada para preparação. Nos casos de corte mecanizado, a cana pode ser enviada diretamente para a etapa de preparação, sem a limpeza prévia.

A etapa de preparação consiste na uniformização e desfibração da cana. O material é cortado por uma série de facas e trituradores. A fibra obtida é encaminhada para moinho onde ocorre a extração do caldo. O moinho é formado por um conjunto de rolos onde a fibra de cana é pressionada separando o caldo do bagaço. Normalmente são empregados grupos de moinhos dispostos em série nos quais, o bagaço do primeiro moinho alimenta o segundo moinho, e assim sucessivamente. Esse processo promove maior extração de caldo do bagaço. Água quente é aplicada no processo de moagem, a partir do segundo moinho, para maior recuperação dos açúcares.

O caldo de cana extraído é enviado para uma tela para retenção dos fragmentos de fibras. Normalmente o caldo extraído no primeiro moinho é enviado para produção de açúcar, por conter maior pureza. O caldo dos demais moinhos, denominado caldo misto, é desviado para a produção de etanol. Apesar da etapa inicial comum, as seções seguintes têm suas especificidades, como pode ser visualizado na Figura 3.1.

Figura 3.1 - Fluxograma da produção integrada de açúcar e álcool



Fonte: Adaptado de Wilkie; Riedesel; Owens (2000); Barbosa; Hytönen; Vainikka (2017).

3.1.2 O caldo-de-cana na produção de etanol

O caldo de cana, insumo base da indústria sucroalcoleira, é um líquido viscoso amarelo-esverdeado de composição química variável. O caldo contém aproximadamente 70 % de água, 15 % de açúcares, 13 % de fibras e 2 % de impurezas. Dos açúcares (cerca de 200 g L^{-1}), 94 % correspondem à sacarose (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; PALACIOS-BERECHE et al., 2013). O dissacarídeo sacarose é constituído pelos monossacarídeos glicose e frutose (DEVESA; VÉLEZ, 2016).

Devido à facilidade de degradação, a sacarose é frequentemente utilizada para produção de biocombustíveis. No caso da produção de etanol, utiliza-se usualmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae* (levedura) na fermentação do caldo de cana. No processo de fermentação a levedura é adicionada aos reatores alimentados com caldo. A mistura permanece no reator por um período de 6 a 11 h. A sacarose é hidrolisada pela levedura e depois fermentada para etanol de acordo com a reação simplificada de Gay Lussac (Eq. (1) e (2)) (DIAS et al., 2015; MANOCHIO et al., 2017).

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \rightarrow 2C_6H_{12}O_6 \quad (1)$$

$$C_6H_{12}O_6 + \text{levedura} \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{biomassa} + \text{subprodutos} \quad (2)$$

O processo de fermentação ocorre com a temperatura entre 30 e 34 °C e produz um vinho com teor de etanol relativamente baixo (8 e 12 %) (MANOCHIO et al., 2017). O vinho é enviado para centrifugação para remover as células de fermento. As células sofrem tratamento químico com ácido sulfúrico para reduzir a contaminação bacteriana. E enquanto as células recicladas retornam para os reatores de fermentação o vinho centrifugado é enviado para o processo de destilação (DIAS et al., 2015).

No processo de destilação o etanol é separado do vinho devido aos diferentes pontos de ebulição dos componentes da mistura. O vinho é decomposto em dois fluxos: vapores com grau alcoólico entre 40 e 50 % e vinhaça (0,03 % de grau alcoólico). O vapor segue para o processo de retificação para atingir grau alcoólico de 96 %. A condensação do vapor retificado gera como produto final o etanol hidratado, que pode ser utilizado como combustível veicular. Entretanto, a produção do etanol anidro (99,7 % de grau alcoólico) requer uma etapa subsequente à destilação, a desidratação. Assim como o etanol hidratado, o etanol anidro pode ser utilizado como combustível veicular. Para este fim, o anidro é aplicado como aditivo à gasolina (MANOCHIO et al., 2017).

3.1.3 Otimização do potencial energético da cana-de-açúcar

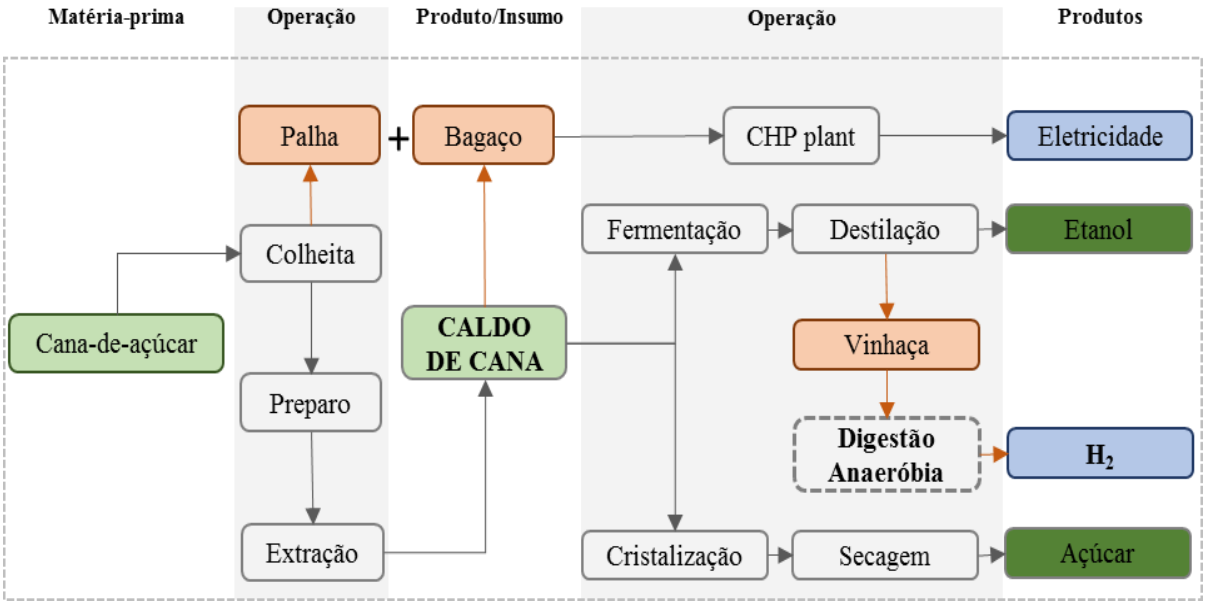
A vinhaça produzida na etapa de destilação é o principal efluente da produção de etanol. Para cada litro de etanol produzido, são gerados aproximadamente de 11 a 14 litros de vinhaça (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000). Considerando a produção atual de etanol mencionada (26,5 bilhões de litros no Brasil) (CONAB, 2017), estima-se que foram originados em média 331,3 bilhões de litros de vinhaça em 2017. A composição da vinhaça varia de acordo com a cana-de-açúcar e com o processo de produção aplicado. O líquido contém sais dissolvidos (potássio, cálcio e íons sulfato) e elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO), entre 25 e 60 g L^{-1} (BUITRÓN; CARVAJAL, 2010).

Atualmente a vinhaça é utilizada na fertirrigação das áreas de cana cultivadas (DIAS et al., 2015). Apesar do seu potencial fertilizante, devido as concentrações de nutrientes na forma de nitrogênio (0,2 a 0,7 mg L^{-1}) e fósforo (0,004 a 0,25 mg L^{-1}), a disposição é um problema devido à grande quantidade gerada (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). A mudança abrupta de disponibilidade de nutrientes devido ao lançamento contínuo, ocasiona enriquecimento de sais no solo, lixiviação do nitrato e impacto à comunidade microbiana (SANT'ANNA et al., 2009). Outros problemas incluem: a decomposição da vinhaça disposta nas lagoas e

consequente geração de odores; contaminação de águas subterrâneas; poluição de corpos hídricos; e elevado custo dos sistemas de distribuição de vinhaça (DIAS et al., 2015).

Estudos prévios mostraram eficiência do processo anaeróbio no tratamento de efluentes líquidos, incluindo componentes tóxicos como o fenol presente na vinhaça (SIQUEIRA; DAMIANO; SILVA, 2013). Então, uma alternativa para otimizar o potencial energético da cana-de-açúcar e mitigar os impactos negativos da disposição de vinhaça é a digestão anaeróbia desta água residuária para produção de H_2 (e CH_4) (Figura 3.2) (DJALMA NUNES FERRAZ JÚNIOR et al., 2014; REIS et al., 2015; LAZARO; VARESCHE; SILVA, 2015; KIYUNA; FUESS; ZAIAT, 2017).

Figura 3.2 - Fluxograma da produção concomitante de etanol e hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

3.2 O HIDROGÊNIO COMO ALTERNATIVA

Antes da inserção de um combustível no mercado, os custos sociais e ambientais devem ser considerados. Quando a sustentabilidade de um combustível são observadas, o H_2 é a escolha mais lógica para o meio energético (DAS, 2009). O H_2 é tomado como ambientalmente limpo, pois a célula combustível à base de hidrogênio produz como subproduto somente água (DUTTA, 2014). Além do que, a célula combustível é mais eficiente que motores de combustão interna (USEPA, 2018). Quando comparado aos demais combustíveis, inclusive o etanol, o H_2 tem elevado teor de energia por massa (Tabela 3.1) (NI et al., 2006; DUTTA, 2014).

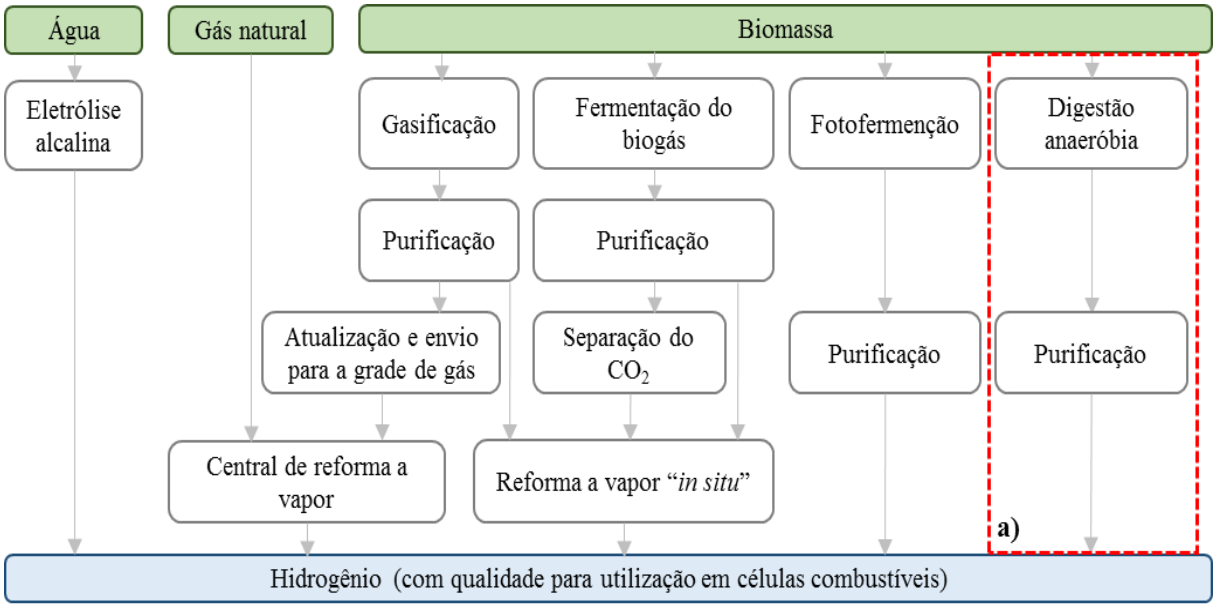
Tabela 3.1 - Conteúdo de energia dos combustíveis

Combustível	**Conteúdo energético (MJ/Kg)**
Hidrogênio	120,0
Gás natural	54,4
Propano	49,6
Gasolina da aviação	46,8
Gasolina automotiva	46,4
Etanol	45,6
Metanol	29,6
Madeira	19,7
Bagaço	9,6

Fonte: Adaptado de Ni et al. (2006); Dutta (2014).

Na Figura 3.3 estão dispostas as principais formas de produção de hidrogênio. Apesar do interesse na utilização do hidrogênio como combustível, a produção de H_2 ainda é majoritariamente a partir de combustíveis fósseis (95%). Os 5 % restantes são produzidos na eletrólise da água, um processo caro e de elevada demanda de energia (LJUNGGREN; WALLBERG; ZACCHI, 2011). O fator chave para a utilização em massa do H_2, é sua produção a partir de fontes renováveis e baratas (Figura 3.3, a) (DUTTA, 2014). A produção de H_2 via digestão anaeróbia têm recebido atenção considerável devido ao baixo custo, a facilidade de operação, a natureza ambientalmente adequada e as taxas elevadas de produção (REUNGSANG; SITTIJUNDA; SREELA-OR, 2016).

Figura 3.3 - Visão geral dos processos utilizados para produção de hidrogênio



Fonte: Adaptado de Miltner et al. (2010); e Dutta (2014).

3.3 PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo biológico de estabilização da matéria orgânica que ocorre na ausência de oxigênio e oferece diversas vantagens quando comparada aos processos aeróbios convencionais, desde o balanço energético ao consorcio microbiano. Por esses motivos, os sistemas de digestão anaeróbios são intensamente estudados e difundidos para o tratamento de efluentes industriais e domésticos. Além disso, a digestão anaeróbia é capaz de fornecer uma diversidade de metabólitos líquidos e gasosos com elevado valor agregado (DE CLERCQ et al., 2017). De forma geral, o processo de digestão anaeróbia pode ser divido em quatro etapas principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 3.4).

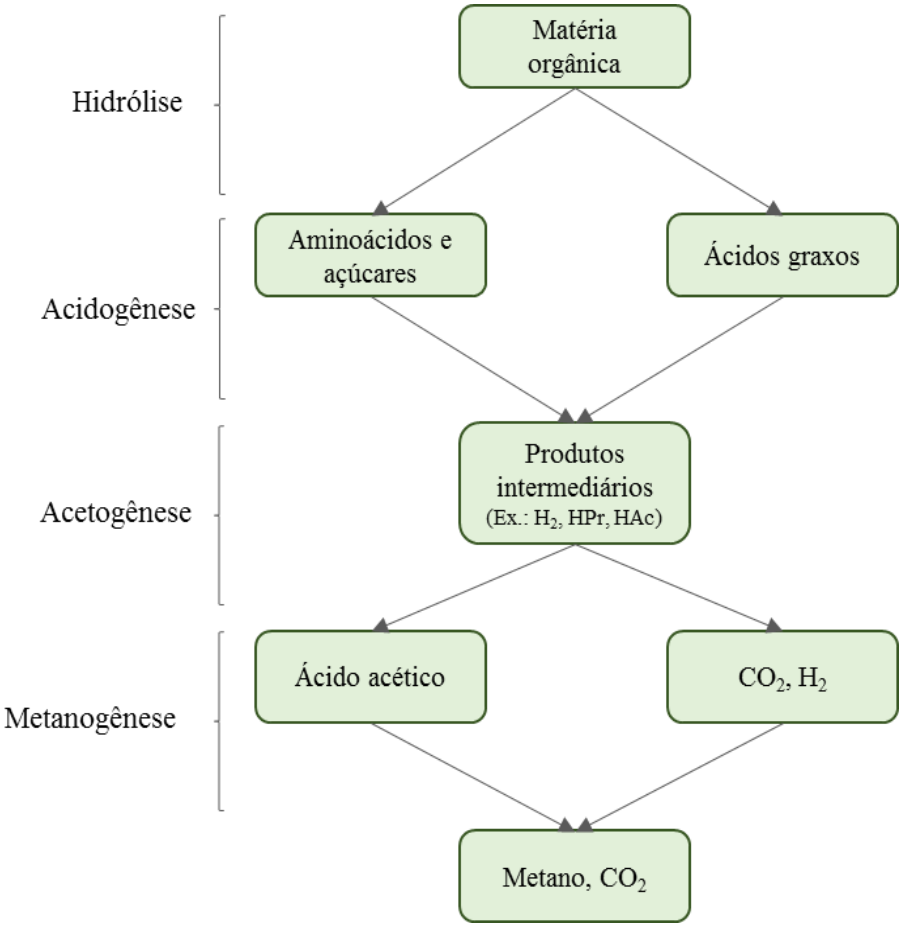
Na hidrólise ocorre o consumo de água para quebrar moléculas orgânicas complexas em materiais dissolvidos mais simples. Na acidogênese os produtos solúveis oriundos da hidrólise são convertidos a hidrogênio, bicarbonato, álcoois de cadeia curta e ácidos orgânicos de cadeia curta. Na acetogênese os microrganismos sintróficos fermentativos oxidam os produtos da acidogênese gerando acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (CO_2). Na metanogênese arqueias metanogênicas convertem principalmente, acetato e hidrogênio a metano (CH_4) e CO_2 (MOSEY, 1983).

A metanogênese ocorre a partir de dois caminhos metabólicos principais: 1) clivagem do acetato, formando metano e dióxido de carbono (metanogênese acetoclástica) e; 2) redução de dióxido de carbono com consumo de hidrogênio (metanogênese hidrogenotrófica) (THAUER et al., 2008). Para a produção de metano deve haver a remoção de acetato, e

consequentemente remoção de DQO da fase líquida, visto que nesse composto há cerca de 70% dos elétrons do substrato original (BATSTONE et al., 2002). Para a produção de hidrogênio deve-se garantir que o processo de digestão anaeróbia seja interrompido na fase de acidogênese, atestando a inibição das espécies metanogênicas hidrogenotróficas (WANG; WEI, 2008).

O consórcio microbiano que promove a fermentação dos compostos orgânicos, produzindo hidrogênio, tem velocidade de reação e capacidade de produção elevadas. Portanto, a inibição da metanogênese pode ocorrer pela redução do tempo de detenção hidráulica (TDH). Além disso, os microrganismos metanogênicos são sensíveis a variações de pH, carga orgânica, temperatura dentre outras variáveis que interferem diretamente em seu metabolismo (DE VRIEZE et al., 2012; VAN HAANDEL et al., 2014).

Figura 3.4 - Fluxograma da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Mosey (1983); Ghimire et al. (2015).

3.4 FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS

3.4.1 Metabolismo da fermentação de carboidratos

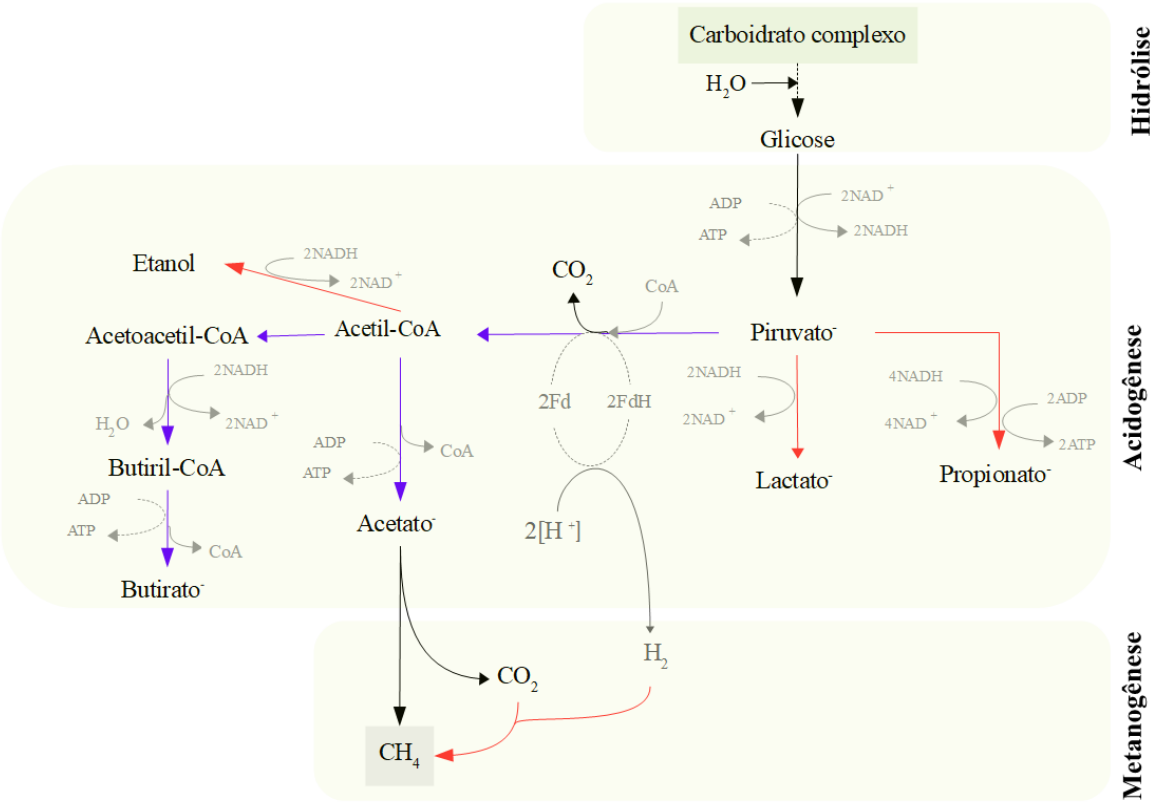
Produtos ricos em carbono e de fácil degradação como carboidratos simples (dissacarídeos e monossacarídeos) são as fontes de carbono mais utilizadas nos estudos de processos anaeróbios. Materiais ricos em sacarose e glicose são ideais para produzir biocombustíveis (etanol, metano, hidrogênio dentre outros), a partir da fermentação anaeróbia em cultura mista (LEE et al., 2014). Inúmeros microrganismos são capazes de crescer em meio contendo sacarose e retirar desse composto energia para seus processos metabólicos. Alguns trabalhos relatam que o gênero *Clostridium*, juntamente com *Enterobacter* e *Thermo-anaerobacterium* são predominantes durante a fase de hidrólise e acidogênese de açucares simples (VALDEZ-VAZQUEZ; POGGI-VARALDO, 2009; ELSHARNOUBY et al., 2013).

De acordo com a Figura 3.5, os processos de oxirredução da fase acidogênica são mediados por carreadores de elétrons. Em geral, as rotas metabólicas são condicionadas pelas coenzimas de difusão livre, chamadas de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) e a NAD-fosfato ($NADP^+$). As bactérias acidogênicas, por exemplo, usam o fluxo de elétrons entre as moléculas de NADH (forma reduzida) e NAD^+ (forma oxidada), transportando hidrogênio de uma cadeia carbônica para outra (MOSEY, 1983) (Eq. (3)). Em contrapartida, para manter o equilíbrio entre as concentrações de NAD^+ e NADH, parte do H_2 pode ser liberado no meio líquido (Eq. (4)).

$$\text{Piruvato}^- + \text{NADH} \rightarrow \text{Lactato}^- + \text{NAD}^+ \quad (3)$$

$$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2 + \text{NAD}^+ \quad (4)$$

Figura 3.5 - Esquema simplificado do fluxo metabólico durante a fermentação anaeróbia de carboidratos simples para a produção de hidrogênio



Fonte: Adaptado de Cai et al. (2011).

A diferença mais importante entre os caminhos metabólicos é a geração de energia, que pode afetar o crescimento celular e a acumulação final de metabólitos. O rendimento máximo de hidrogênio pode ser obtido se os fluxos metabólicos forem redirecionados para a via de formação de ácido acético (HAc), o que gera mais NADH para produção de hidrogênio. Nessa reação o rendimento teórico é de 4 mol de H_2 por mol de glicose (Eq. (5)) (CAI et al., 2011).

Glicose → Ácido acético

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2C_2H_4O_2 + 2CO_2 + 4H_2 \quad (5)$$

As bactérias acidogênicas se autorregulam quando o sistema apresenta distúrbios (STAMS et al., 2012). Para manter o equilíbrio bioquímico entre a célula e o meio, as bactérias conseguem desviar as rotas metabólicas. O que explica o desvio de rota de formação de HAc para ácido butírico (HBu) (HARPER; POHLAND, 1986). Nesse sentido a produção de ácidos

cai pela metade e o rendimento teórico de hidrogênio cai para 2 mol de H_2 por mol de glicose (Eq. (6)).

Glicose → Ácido butírico

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_8O_4 + 2CO_2 + 2H_2 \quad (6)$$

De acordo com o balanço estequiométrico das equações 5 e 6, a produção de H_2 depende da formação de HAc e HBu. Muitos autores mostram que a razão HAc/HBu pode ser usada como indicador da produção de H_2 (LOGAN, 2005; DE SÁ et al., 2011; AMORIM, 2012; SIVAGURUNATHAN; SEN; LIN, 2014). Khanal, (2003) utilizou reator acidogênico alimentado com sacarose e confirmou a existência de uma relação direta entre o acúmulo de HAc e HBu com a formação de H_2. Proporções maiores de HAc/HBu resultam em maiores rendimentos de H_2 (KHANAL, 2003; AMORIM, 2012). Porém, a relação HAc/HBu perde efeito quando o sistema passar a produzir ácido acético decorrente do consumo de H_2. O processo homoacetogênico leva a um consumo de 4 mols de H_2 para cada mol de ácido acético formado, como pode ser observado na Tabela 3.2 (SAADY, 2013).

Quando o processo de fermentação de glicose segue a rota metabólica do ácido lático (HLa) ou etanol (EtOH), o rendimento teórico da produção de hidrogênio tende a ser nulo. Pois todo o hidrogênio sequestrado pelos carreadores de elétrons é recuperado na fase final de formação desses metabólitos (Eq. (7) e Eq. (8)).

Glicose → Ácido lático

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_3H_6O_3 \quad (7)$$

Glicose → Etanol

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2 \quad (8)$$

Ao contrário de todas as rotas fermentativas envolvendo a formação de hidrogênio, o caminho metabólico que leva à formação de ácido propiônico (HPr) é o mais indesejável. Durante a formação do HPr há consumo de hidrogênio (CAI et al., 2011). O caminho metabólico a HPr acarreta em défice de 2 mol de H_2 por mol de glicose (Eq. (9)).

Glicose → Ácido propiônico

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2C_3H_6O_6 + 2H_2O \quad (9)$$

Um dos motivos para a acúmulo de HPr na fase acidogênica e desvio de rota metabólica de HBu para HPr é o acúmulo de hidrogênio no meio (presença em excesso de NADH) (WANG; ZHOU; LI, 2006). A produção de HPr gera mais NAD^+ do que a produção de HBu, adequando a proporção de NADH / NAD^+ dentro da célula (SIVAGURUNATHAN; SEN; LIN, 2014). Porém, em alguns casos o acúmulo de HPr pode ocorrer independente da presença em excesso de hidrogênio no meio (WANG; ZHOU; LI, 2006). Mudança nas espécies dominantes de populações acidogênicas causadas por variações de pH, tipo de substrato ou sobrecarga de material orgânico são as principais razões (WANG; ZHOU; LI, 2006; SIVAGURUNATHAN; SEN; LIN, 2014).

3.4.2 Termodinâmica da fermentação de carboidratos

De acordo com as equações descritas na Tabela 3.2, a hidrólise da sacarose é termodinamicamente favorável (exotérmica). O mesmo ocorre com a oxidação da glicose, mostrando que a degradação anaeróbia dos carboidratos simples são energeticamente benéficas ao metabolismo microbiano (GHIMIRE et al., 2015). A análise termodinâmica das reações de oxidação da glicose permite concluir que em condições normais de temperatura e pressão (CNTP) as reações que levam a formação (HAc e HBu) e consumo (HPr) de H_2 são concorrentes. Então, as rotas metabólicas e produtos gerados são dependentes do equilíbrio entre os metabólitos no sistema (KLEEREBEZEM; VAN LOOSDRECHT, 2010).

O hidrogênio dissolvido é variável chave no processo de digestão anaeróbia. Nos casos em que a pressão parcial de H_2 encontra-se elevada, há a inibição das fases de acidogênese/acetogênese. Com pressão parcial de H_2 elevada há também a formação de HPr (LAUWERS et al., 2013). Em baixa pressão parcial de H_2 a degradação de HBu e HPr tornam-se suficientemente exotérmicas. São também nas condições de baixa pressão parcial de H_2, que as reações tendem a respeitar o equilíbrio oxidando-se a HAc (STAMS; PLUGGE, 2009). De acordo com a termodinâmica, o propionato só pode ser convertido em acetato se a pressão parcial de H_2 no sistema for entre 10^{-4} e 10^{-6} atm (HARPER; POHLAND, 1986). O acúmulo de H_2 no meio é controlado, principalmente, pelo mecanismo sintrófico das metanogênicas hidrogenotróficas (HUANG et al., 2014). Em sistemas destinados à produção de H_2 esses organismos devem ser inibidos. Dentre os métodos de inibição pode-se citar: o método químico seletivo, o choque térmico aplicado a biomassa de inóculo e o controle de pH (WANG; WAN, 2009).

Tabela 3.2 - Termodinâmica das reações

Fase de digestão	**Reação**	$^{(a)}\Delta G^0$	$^{c}\Delta G_R$	$^{d}\Delta G_R$
Hidrólise				
Sacarose	$C_{12}H_{22}O_{11} + 2H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$	-43,6	---	---
Acidogênese				
Glicose a acetato	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2C_2H_3O_2^- + 2H^+ + 2CO_2 + 4H_2$	-217,2	-99,6	-48,2
Glicose a butirato	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_7O_2^- + H^+ + 2CO_2 + 2H_2$	-256,4	-177,7	-126
Glicose a etanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$	-234,9	---	---
Glicose a lactato	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_3H_5O_3^- + 2H^+$	-198,3	---	---
Glicose a propionato	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2C_3H_5O_2^- + 2H^+ + 2H_2O$	-359,15	-122,9	-185,3
Acetogênese (Sintrofismo)				
Homoacetogênese	$2CO_2 + 4H_2 \rightarrow C_2H_3O_2^- + H^+ + 2H_2O$	-94,9	+21,9	-29,4
Lactato a acetato	$C_3H_5O_3^- + H_2O \rightarrow C_2H_3O_2^- + CO_2 + 2H_2$	-8,8	-50,1	+1,3
Etanol a acetato	$C_2H_6O_2 + H_2O \rightarrow C_2H_3O_2^- + H^+ + 2H_2$	+9,5	-40,9	10,5
Butirato a acetato	$C_4H_7O_2^- + 2H_2O \rightarrow 2C_2H_3O_2^- + H^+ + 2H_2$	+47,5	-21,6	+29,8
Propionato a acetato	$C_3H_5O_2^- + 2H_2O \rightarrow C_2H_3O_2^- + CO_2 + 3H_2$	+71,6	-21,8	+29,6
Metanogênese				
Hidrogenotrófica	$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-130,7	12,9	-38,3
Acetoclástica	$C_2H_3O_2^- + H+ \rightarrow CH_4 + CO_2$	-35,7	---	---

Nota: os cálculos de energia livre de Gibbs (ΔG) foram determinados de acordo com os parâmetros descritos por Kleerebezem; Van Loosdrecht, (2010). [(a)] valores de energia livre de Gibbs em kJ mol^{-1} obedecendo as condição de pH 7,0 em CNTP; [(b)] valores de energia livre de Gibbs em kJ $mol(H_2)^{-1}$ obedecendo as condição de 25ºC, pH 7,0 e pressão parcial de H_2 de 1 atm; [(c)] valores de energia livre de Gibbs em kJ $mol(H_2)^{-1}$ obedecendo as condição de 25ºC, pH 7,0 e pressão parcial de H_2 de 10^{-8} atm; (---) reação que não sofre influência da pressão parcial de H_2 na variação de energia livre.

3.4.3 Métodos de inibição da metanogênese

O comprometimento da produção de H_2 pela atividade metanogênica pode ser solucionado de forma seletiva adicionando-se agentes químicos como o 2-Bromoetanosulfônico (2-BES) e clorofórmio (CF) (LIU et al., 2011). Esses inibidores afetam diretamente o mecanismo enzimático específico das rotas metabólicas quem envolvem o consumo de H_2 (LIU et al., 2011). Porém, o uso de desses agentes químicos pode encarecer o processo de produção de H_2, além de produzir efluente de qualidade ambiental duvidosa (CAVALCANTE et al., 2017).

Os principais métodos de inibição não seletivos da atividade metanogênica são pela redução do pH ou pré-tratamento térmico do lodo de inóculo. Ambos os métodos se baseiam nas características morfológicas das espécies produtoras de hidrogênio (*Clostridium* spp) e metano (arqueias metanogênicas). Em geral, as arqueias metanogênicas são facilmente inibidas em pH ácido (WANG et al., 2009). A presença de ácidos na forma não ionizada aumenta com o decréscimo do pH (INFANTES et al., 2012). Segundo Wang et al. (2009), concentração de AGV não ionizado superior a 5,0 mM, é suficiente para inibir a produção de metano sem comprometer as bactérias produtoras de H_2.

Diferentemente das arqueias metanogênicas, as bactérias gram-positivas do gênero *Clostridium* spp. são capazes de formar esporos quando submetidas a situações de estresse ambiental (pH, pressão, calor) (WANG et al., 2012; OLGUÍN-ARANEDA et al., 2014). Os esporos bacterianos são metabolicamente inativos e podem sobreviver por longos períodos no meio até germinar em ambiente adequado (OLGUÍN-ARANEDA et al., 2014). Por essa razão, choque térmico aplicado a biomassa de inóculo de reatores produtores de H_2 foi definido como método eficiente para eliminar as espécies produtoras de metano (KIM; HAN; SHIN, 2006; WANG; WEI, 2008).

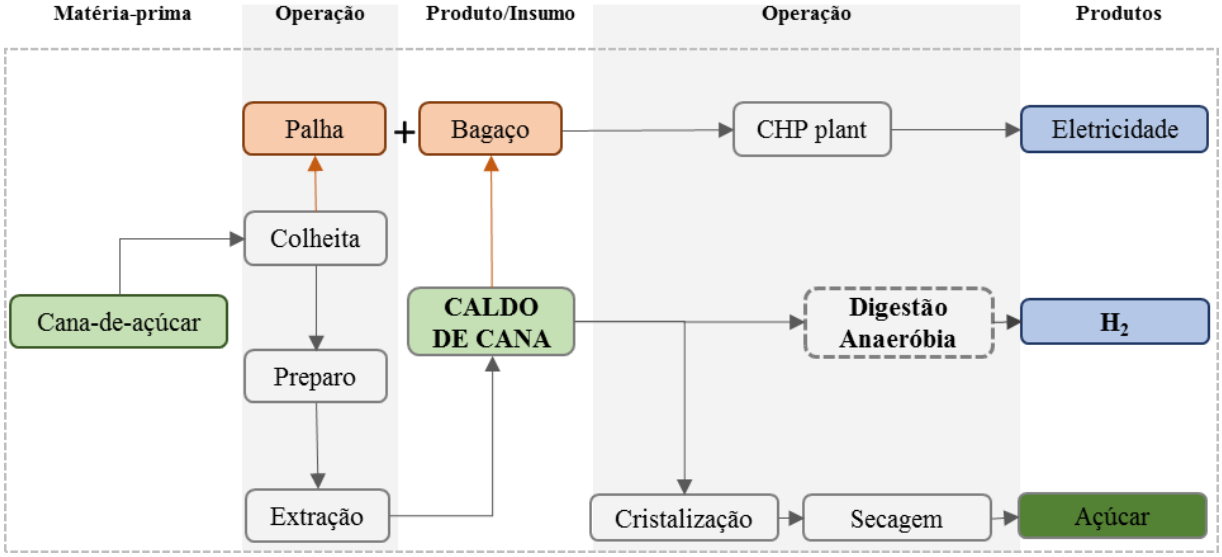
Mu, Yu e Wang (2007), comparam três métodos de pré-tratamento para enriquecer as bactérias produtoras de hidrogênio em lodo misto de reator metanogênico (pH ácido, pH base e choque térmico). Os autores concluíram que o método de pré-tratamento térmico era o melhor para a produção de H_2 entre os três métodos estudados. Adicionalmente, o método de pré-tratamento térmico aplicado ao lodo de inóculo e a manutenção do pH ácido (5,6 a 4,5) em reatores contínuos alimentados com substrato não estéreis melhora a eficiência de inibição da metanogênese em sistemas produtores de H_2.

3.5 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE H_2 A PARTIR DO CALDO DE CANA

A digestão anaeróbia de águas residuárias com elevadas concentrações de poluentes orgânicos é uma alternativa para produção contínua de bioenergia (SANTOS et al., 2014c). Várias águas residuárias têm sido utilizadas como substratos para a produção fermentativa de hidrogênio (glicerol, amido, vinhaça e soro de leite são alguns exemplos) (WANG; WAN, 2009). No caso da vinhaça, a presença de elevados níveis de sulfato, metais pesados e substâncias recalcitrantes como compostos fenólicos podem inibir a ação dos microrganismos na digestão anaeróbia (SANTOS et al., 2014a). Logo, a digestão anaeróbia de substratos complexos como a vinhaça, requerem adição de nutrientes e pós-tratamento (WANG; WAN, 2009).

Uma alternativa para tornar o setor sucroenergético mais compacto é a produção de H_2 (e CH_4) diretamente a partir do caldo de cana (Figura 3.6) (NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016). Ao contrário da vinhaça, o caldo de cana configura-se como um substrato de estrutura simples (composto majoritariamente por sacarose) (PALACIOS-BERECHE et al., 2013), e é portanto mais favorável a digestão anaeróbia. Assim como o etanol, a produção de hidrogênio a partir do caldo pode amortizar a variação do preço do açúcar no mercado e é uma diversificação para a cadeia da cana-de-açúcar.

Figura 3.6 - Fluxograma da produção de hidrogênio a partir do caldo de cana-de-açúcar



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Devido à facilidade de degradação, há uma variedade de estudos da produção de hidrogênio a partir dos substratos sintéticos de estrutura simples, glicose (SHIDA et al., 2012; FERRAZ JÚNIOR et al., 2014; KUMAR et al., 2014; PUGAZHENDHI et al., 2017) e sacarose (LIN et al., 2009; YUAN et al., 2010; WU; CHU; SHEN, 2012; MUNOZ-PÁEZ et al., 2013).

A primeira nota de utilização do caldo de cana como substrato para produção de hidrogênio foi em 1988. Aplicando os açúcares como substratos de simples degradação, Roychowdhury, Cox e Levandowsky, utilizaram o caldo de cana apenas como uma fonte natural alternativa aos substratos químicos puros (glicose e sacarose). O caldo voltou a ser estudado como substrato para produção de hidrogênio novamente a partir de 2011 na Tailândia. Desta vez, como alternativa de valorização da cana-de-açúcar, devido a produção de cana exceder o consumo no país (PATTRA et al., 2011; PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016).

Pattra et al. (2011) avaliaram a produção contínua de H_2 a partir do caldo de cana (25 $gDQO.L^{-1}$) por *Clostridium butyricum*, em CSTR (37 °C), sob condições não estéreis e pH fixo (6,0). Decrescendo o TDH de 36 a 4h, os autores observaram redução do consumo de carboidratos de 98,0 % para 65,5 %. Os percentuais de hidrogênio ($\%H_2$) no reator foram de 6,3 %, 24,2 %, 17,0 % e 19,1 %, nos TDH 36, 24, 12 e 4 h, respectivamente. A produção volumétrica de hidrogênio (PVH) aumentou de 0,15 para 2,09 L d^{-1} L^{-1}, e o rendimento de hidrogênio (*Hydrogen Yield*) (HY) de 0,05 para 1,00 mol H_2 mol^{-1} de hexose, ao decrescer o TDH de 12 para 4 h. O HBu foi o metabólito de concentração mais elevada (máximo de 9,5 gDQO L^{-1}), indicando rota butírica. Os valores máximos de PVH e HY foram detectados no menor TDH aplicado. A maior redução do TDH foi dificultada pela configuração do reator. No CSTR as células microbianas encontram-se em suspensão. Sendo carreadas pelo fluxo em TDH reduzidos.

Para averiguar a influência da imobilização da biomassa, Plangklang, Reungsang e Pattra (2012) realizaram ensaios em batelada (37 °C) com células livres e imobilizadas de *Clostridium butyricum*. Para concentração fixa de caldo (25 $gDQO.L^{-1}$), os autores variaram o pH de 4,5 a 7,0. Obtiveram para o pH 6,5 produções de H_2 máximas. As PVH foram de 3,00 e 3,11 L d^{-1} L^{-1}, e os HY de 1,33 e 1,34 mol H_2 mol^{-1} de hexose para células livres e imobilizadas, respectivamente. Então, fixando o pH em 6,5 variaram a concentração de 20 a 40 $gDQO.L^{-1}$. A concentração de 25 $gDQO.L^{-1}$ apresentou melhores HY e PVH. O metabólito mais expressivo em ambos os sistemas foi o HBu, representando 83 % dos metabólitos totais para células livres, e 86 % para imobilizadas. As células imobilizadas apresentaram maior robustez em relação ao

sistema de células livres. Ao elevar a concentração para 40 gDQO L^{-1} a PVH decresceu de 3,11 para 3,06 L H_2 L^{-1} d^{-1} para células imobilizadas e de 3,00 para 1,79 L H_2 L^{-1} d^{-1} para células livres. A redução dos efeitos inibitórios para células imobilizadas foi atribuída ao acúmulo de HAc nesses sistemas.

Comparando culturas mistas, lodo destinado ao tratamento de esgoto (granulares e em suspensão), em relação à cultura pura, *Clostridium butyricum*, (células livres e imobilizadas), Nualsri, Reungsang e Plangklang (2016) avaliaram a produção sequencial de hidrogênio e metano a partir do caldo de cana, sacarose, glicose e xilose (25 gDQO.L^{-1}), em ensaios em batelada (30 °C). A sacarose e o caldo obtiveram HY máximos (1,33 e 1,40 mol H_2 mol^{-1} de hexose) para cultura pura imobilizada. No caso da aplicação do caldo de cana em cultura mista, os ensaios com inóculo granular apresentaram HY superior aos ensaios com células suspensas (0,77 contra 0,71 mol H_2 mol^{-1} de hexose). O metabólito com maior concentração detectada no efluente acidogênico foi o HBu (>60% para culturas mistas). No geral, o estudo mostrou que o rendimento energético na acidogênese é superior para células imobilizadas. Entretanto, o rendimento energético após a metanogênese foi superior com o efluente acidogênico do reator contendo cultuas mistas (91,77 %) quando comparado ao de cultura pura (90,35 %).

Avaliando a produção sequencial de hidrogênio e metano a partir do caldo de cana (25 gDQO.L^{-1}), Nualsri, Kongjan, Reungsang (2016), verificaram a influência do TDH decrescido de 12 a 2 h no CSTR para produção de H_2 (*Clostridium butyricum*) e de 12 a 2 d no reator UASB (cultura mista) para produção de CH_4, ambos em 37 °C. Com o decréscimo do TDH de 12 para 3 h, a PVH, o %H_2 e o HY aumentaram de 1,18 para 17,50 L d^{-1} L^{-1}, de 20,8 a 30,3 %, e de 0,30 para 1,32 mol H_2 mol^{-1} hexose, respectivamente. O TDH de 2 h apresentou instabilidade na produção de hidrogênio, com decréscimo da PVH para 17,40 L d^{-1} L^{-1}, do %H_2 para 26,6 % e do HY para 1,28 mol H_2 mol^{-1} hexose. A concentração de HLa decresceu de 7,23 para 2,23 gDQO L^{-1}, ao reduzir o TDH de 12 para 2 h. No TDH ótimo (3 h) 53 % do total de ácidos foi composto por HBu, sugerindo rota butírica. A concentração de HBu seguiu a tendência da produção de hidrogênio, aumentando de 3,08 para 6,76 gDQO L^{-1}, com a redução do TDH de 12 para 3 h.

Nualsri, Kongjan, Reungsang (2016) concluíram que os resultados foram satisfatórios quando comparado aos de outros estudos. O sistema sequencial de produção de hidrogênio e metano obteve no TDH ótimo (3 h para H_2 e 3 d para CH_4) remoção de carboidratos de 97,5 %. Na Tabela 3.3 seguem os rendimentos energéticos (*Energy Production Rate*) (EPR) das produções de H_2 e CH_4, bem como a EPR do sistema completo. Comparado aos sistemas

alimentados com substratos complexos, o EPR do CSTR alimentado com caldo de cana foi elevado (189,00 kJ L^{-1} d^{-1}).

Tabela 3.3 - Rendimentos energéticos da produção sequencial de hidrogênio e metano do estudo em questão comparadas a outros estudos

Substrato	**Reator**	**Temp.**	**TDH**	**EPR (kJ L^{-1} d^{-1})**	**Total**	**Ref.**
	H_2 / CH_4	°C	H / D	H_2 / CH_4	EPR (kJ L^{-1} d^{-1})	
Melaço	PBR	35	6	30,24	100,08	Park et al. (2010)
	PBR	35	6	69,84		
Rejeitos Alimentares	CSTR	37	2	51,84	167,04	Elbeshbishy e Nakhla (2011)
	CSTR	37	7	115,20		
Águas res. Açucaradas	CSTR	35	5	33,05	105,41	Wang et al. (2013)
	UASB	35	15	72,36		
Manipueira	UASB	55	-	5,72	29,12	Intanoo et al. (2014)
	UASB	55	-	23,40		
Soro de látex	UASB	55	36	16,20	41,76	Kongjan; Jariyaboon; O-Thong (2014)
	UASB	55	9	25,56		
Água res. oléo de palma	ASBR	55	48	19,87[a]	113,47	Mamimin et al. (2015)
	UASB	35	15	93,60[a]		
Água res. oléo de palma	UASB	55	48	20,52[a]	135,72	Kumari e Das (2015)
	CSTR	37	5	115,20[a]		
Caldo de cana	CSTR	37	3	**189,00**	**270,00**	Nualsri, Kongjan, Reungsang, (2016)
	UASB	30	3	81,00		

Nota: PBR: reator de leito empacotado; CSTR: reator tanque agitado contínuo; UASB: reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo; ASBR: bateladas sequenciais [a] calculado a partir dos dados originais

Fonte: Adaptado de Nualsri, Kongjan e Reungsang (2016)

Apesar da realização do estudo da produção sequencial de H_2 e CH_4 a partir do caldo apresentar elevado rendimento energético (NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016), há a carência de maiores averiguações sobre as variáveis que interferem na produção de H_2, como: pH, TDH, temperatura, concentração e inóculo (WANG; WAN, 2009). O aprimoramento das condições de produção de H_2 a partir do caldo de cana incluem investigações sobre:

i. a influência da temperatura, pois todos estudos foram realizados somente na faixa mesofílica (30 e 37 ° C) (PATTRA et al., 2011; PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016);

ii. a variação da concentração de substrato, visto que que a faixa testada permaneceu entre 20 e 40 gDQO L^{-1} (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012);

iii. o inóculo, observando que os estudos utilizaram somente cultura pura (*Clostridium butyricum*) (PATTRA et al., 2011; PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016); e

iv. a aplicação de reatores de alta taxa, pois os estudos foram realizadas somente em testes batelada (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012; NUALSRI; REUNGSANG; PLANGKLANG, 2016) e em CSTR (PATTRA et al., 2011; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016). Os reatores de alta taxa permitem a aplicação de TDH mais reduzidos em relação aos apresentados pelos estudos, e em alguns casos concentrações mais elevadas (SCHMIDT; AHRING, 1996; SEGHEZZO et al., 1998)

3.6 REATOR ANAERÓBIO DE LEITO GRANULAR EXPANDIDO

Os reatores anaeróbios de alta taxa são configurações em que se pode aplicar TDH reduzidos e obter maior taxa de produção de biogás, em comparação aos sistemas de taxa lenta (VAN LIER et al., 2015). De acordo com o tipo de crescimento de biomassa os reatores de alta taxa podem ser classificados em: crescimento microbiano disperso e crescimento microbiano aderido (GONÇALVES et al., 2001). A vantagem dos reatores de alta taxa é o desacoplamento

do tempo de retenção celular (θc) do TDH, e portanto, o sistema de alta taxa requer reatores com volumes e custos reduzidos (VAN LIER et al., 2015; YESHANEW et al., 2016). Ao decorrer dos anos, vários tipos de reatores anaeróbios de alta taxa foram desenvolvidos, tais como: reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), o reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF), o reator anaeróbio de leito empacotado (*Anaerobic Packed-Bed Reactor*) (APBR) e o EGSB (VAN LIER et al., 2015).

O reator UASB possui como principais vantagens, em relação aos demais reatores anaeróbios, a capacidade de reter concentrações de biomassa elevadas e aplicação de TDH curtos. No UASB a biomassa é mantida como agregados, denominados grânulos, formados pela auto imobilização (sem nenhum material de apoio). Na granulação microbiana, uma célula se adere a outra requerendo energia para voltar ao seu estado original. O diâmetro dos grânulos pode variar de 0,14 a 5,00 mm (SCHMIDT; AHRING, 1996). São desvantagens atreladas ao UASB, a formação de zonas estagnadas, curtos circuitos e resistências à transferência de massa lodo-água residuária, devido à velocidade de fluxo ascendente baixas (0,014 a 0,042 cm s^{-1}) (BRITO; MELO, 1997; DINSDALE; HAWKES; HAWKES, 2000).

As zonas estagnadas dentro do UASB reduzem a eficiência de tratamento. Para a melhoria do contato lodo-água residuária e maior utilização do volume do reator, foi desenvolvido o reator EGSB (SEGHEZZO et al., 1998). O EGSB é considerando uma atualização do UASB convencional, em que é aplicada recirculação com velocidade ascensional entre 0,139 e 0,167 cm s^{-1} (DINSDALE; HAWKES; HAWKES, 2000; VAN LIER et al., 2015). Ao contrário do UASB, a resistência a transferência de massa no EGSB é inexistente (KATO et al., 1994; BRITO; MELO, 1997). E ainda comparando os reatores, o EGSB comporta altas taxas de carregamento orgânico e águas residuárias com elevada toxicidade, devido a diluição pela recirculação, sem a necessidade de meio suporte como no RALF (SEGHEZZO et al., 1998; DINSDALE; HAWKES; HAWKES, 2000).

Em relação à produção de H_2, Guo et al. (2008), observaram o desempenho do reator EGSB (35°) inoculado com cultura mista a partir do melaço da cana (2 a 10 gDQO.L^{-1}) com TDH decrescendo de 6 a 1 h. Os autores verificaram PVH (17,04 L.d^{-1} L^{-1}) e HY (mol H_2 mol^{-1} de hexose) máximos ao aumentar a concentração de 8 para 10 gDQO L^{-1} no TDH de 2 h (TCO de 120,0 kgDQO m^{-3} d^{-1}). Na fase de maior produtividade, os metabólitos predominantes foram EtOH e HAc (89,1 % do total gerado). Os autores verificaram estabilidade da operação com o sistema EGSB, e alto potencial deste reator para produção de H_2. Ainda segundo os autores, o sistema EGSB obteve resultados superiores aos obtidos nos reatores com biomassa suspensa e na maioria dos reatores de biomassa imobilizada, até então.

Guo et al. (2008a), observaram a produção contínua de H_2 em reator EGSB (30°C) com cultura mista a partir de água residuária contendo amido (4 a 18 gDQO.L^{-1}) como substrato, decrescendo o TDH de 24 a 4 h. O HY máximo (0,88 mol H_2 mol^{-1} hexose) foi observado para o TDH de 8 h e TCO de 0,5 kg $m^{-3}d^{-1}$. A PVH máxima (1,6 L d^{-1} L^{-1}) foi visualizada no TDH de 8 h e TCO de 1,0 kg $m^{-3}d^{-1}$. Os metabólitos predominantes no TDH ótimo (8 h com TCO de 0,5 kg $m^{-3}d^{-1}$) foram o EtOH (0,85 g L^{-1}) e o HAc (0,81 g L^{-1}). Os autores concluíram que os resultados obtidos no sistema EGSB foram superiores ao sistema de células suspensas no tratamento de água residuária contendo amido.

Ngoma et al. (2011), avaliaram o impacto da temperatura (45 °C e 75 °C) e da recirculação (1,3 a 3,2 L min^{-1}) na produção de H_2 a partir da sacarose (17,8 g L^{-1}) em um reator anaeróbio de leito granular fluidificado (RALGF), variação do EGSB. O experimento durou 11 dias e a cada dia a vazão de alimentação foi acrescida em 900 mL h^{-1} (4500 a 13500 mL h^{-1}), TDH de 2,3 a 0,8 h. No sistema a 45 °C, a PVH máxima de 50,40 a 208,80 L d^{-1} L^{-1} e o HY máximo de 0,3 a 1,24 mol H_2 mol^{-1} de hexose, foram obtidos ao elevar a taxa de recirculação de 1,3 para 3,5 L min^{-1} na máxima vazão de alimentação (13500 mL h^{-1}, TDH de 0,8 h). A elevação da recirculação foi diretamente proporcional ao aumento da PVH e do HY. Provavelmente, devido ao aumento da turbulência e remoção do H_2 não solubilizado, deslocando o equilíbrio do reator a favor da produção de H_2.

Variando a taxa de recirculação e consequentemente a velocidade ascensional (0,07 cm s^{-1} a 0,125 cm s^{-1}), Bárcenas-Ruiz et al. (2016), analisaram o efeito do pré-tratamento do inóculo na granulação da biomassa comparando lodo exposto ao calor (EGSB1), com o exposto a lavagem celular (EGSB2) na produção de hidrogênio a partir da glicose (10 g L^{-1}) em TDH fixo (10 h). Houve aumento da PVH de 0,90 a 1,30 L d^{-1} L^{-1} com o aumento da velocidade ascensional de 0,07 a 0,125 cm s^{-1}. O HY e o %H_2 permaneceram estáveis independentemente da velocidade ascensional entre 0,30 a 0,50 mol H_2 mol^{-1} hexose e entre 50,0 e 60,0 %, respectivamente. Os autores observaram que os grânulos formados no EGSB1 (tratamento térmico) obtiveram maior resistência à manipulação.

3.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa acerca da utilização do caldo de cana na geração de hidrogênio tem como objetivo apresentar um possível substrato para produção deste biocombustível em larga escala. Frisando que, o intuito principal não é a exclusão do etanol, já bem estabelecido e com grande aceitação no mercado, mas sim a eventual diversificação da cadeia da cana-de-açúcar.

Baseando-se nas informações apresentadas, principalmente no que concerne à escassez de trabalhos sobre a produção de H_2 a partir do caldo de cana, como: a ausência de estudos em reatores de alta taxa; utilizando inóculos mistos; e averiguando uma amplitude maior de concentrações. O presente trabalho procura contribuir com: (i.) a pesquisa do desempenho de reatores de alta taxa (EGSB) (30 ± 2 °C) inoculado com cultura mista, na produção de H_2 a partir do caldo de cana; e (ii.) particularmente com a averiguação da influência do TDH (24 a 1 h) na produção de H_2 a partir de concentrações fixas de caldo em 5, 10 e 15 g L^{-1}.

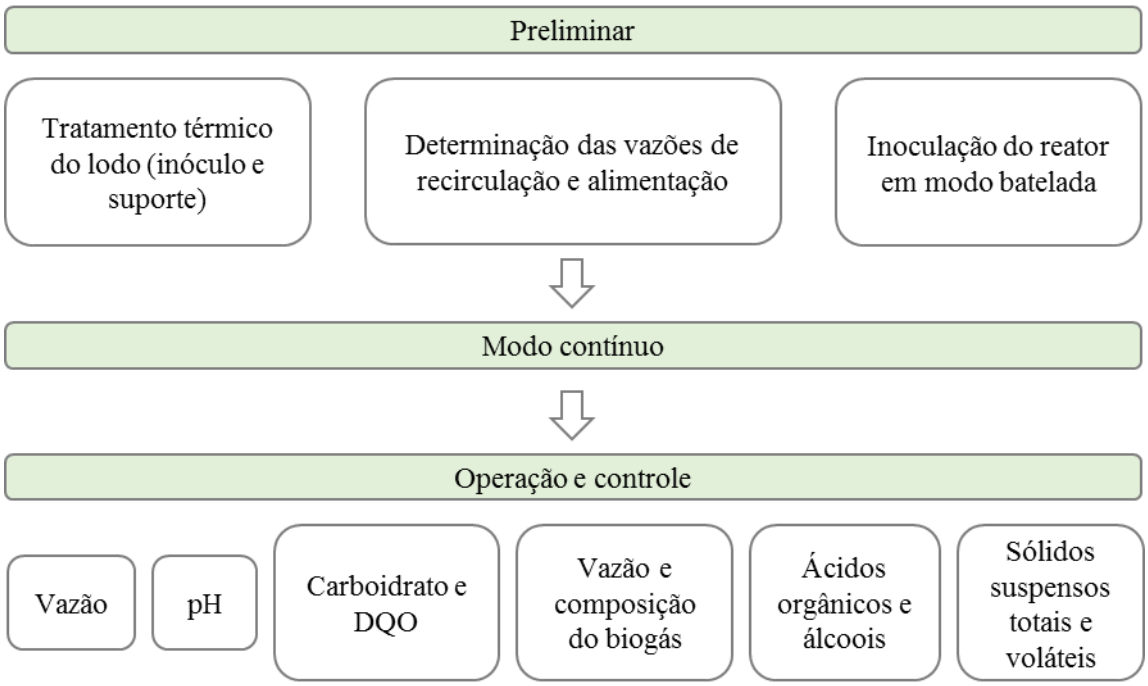
4 MATERIAL E MÉTODOS

Estão descritas nessa seção todas as metodologias aplicadas no desenvolvimento desse trabalho. A abordagem inclui o planejamento dos experimentos, confecção dos reatores e montagem do aparato experimental. São apresentados o preparo dos afluentes, as variáveis analisadas e os procedimentos analíticos.

4.1 VISUALIZAÇÃO INTEGRADA DAS ETAPAS DA PESQUISA

Na Figura 4.1 estão explicitados de maneira simplificada, os procedimentos de montagem, inoculação e operação dos reatores da etapa experimental.

Figura 4.1 - Fluxograma das etapas de operação



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Visando otimizar a produção de hidrogênio utilizando o caldo de cana como substrato, os reatores foram operados sob condições mesofílicas (30 ± 2°C). O lodo granular proveniente de um reator UASB aplicado no tratamento do efluente de um abatedouro de aves foi utilizado como inóculo e meio suporte. Por questões práticas durante a operação, e ao longo da metodologia e discussão dos resultados, foram atribuídas siglas aos reatores:

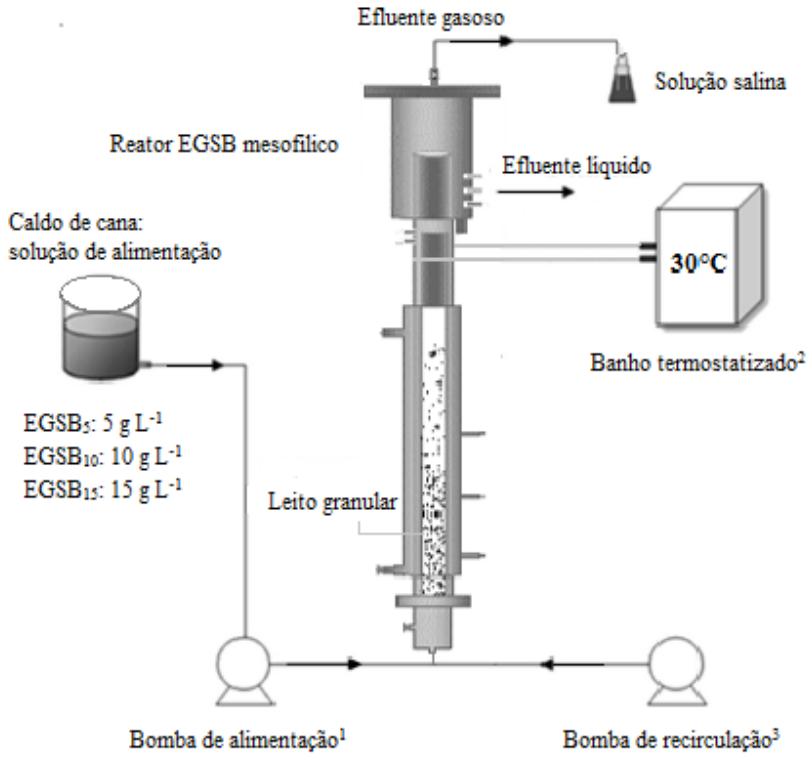
$EGSB_5$ - reator com concentração de carboidratos do caldo afluente em 5 g L^{-1}.
$EGSB_{10}$ - reator com concentração de carboidratos do caldo afluente em 10 g L^{-1}.
$EGSB_{15}$ - reator com concentração de carboidratos do caldo afluente em 15 g L^{-1}.

4.2 REATORES EGSB

Para o desenvolvimento da etapa experimental desse trabalho foram utilizados três reatores EGSB. Para manutenção da temperatura em 30 ± 2 °C foi utilizado banho termostatizado. A recirculação da água do banho, e consequente troca de calor, ocorreu por meio de serpentina (tubo em "U") na parte interna e encamisamento da parte externa dos reatores. Na alimentação foram utilizadas bombas dosadoras, com as vazões calibradas na etapa preliminar. Na recirculação foram aplicadas bombas diafragma, com vazões fixadas em 1,3 vezes a velocidade de mínima fluidificação (Vmf) fluidificação dos grânulos.

Na Figura 4.2 abaixo, estão esquematizados os aparatos experimentais utilizados.[1][2][3]

Figura 4.2 - Instalação experimental do EGSB em modo contínuo



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

[1] Bomba dosadora EXATTA; modelo EX 00504; Vazão máxima: 2 L h^{-1}; Pressão: 4 bar.
[2] Banho termostatizado Marconi; modelo MA-184.
[3] Bomba de recirculação ECOSAN. Vazão 10 a 200 L h^{-1}. Pressão: 6 kg cm^{-2}.

As dimensões e volumes dos reatores construídos em acrílico transparente (Figura 4.3), são apresentados na Tabela 4.1.

Figura 4.3 - Reatores EGSB utilizados na etapa experimental

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 4.1 - Dimensões e volume dos reatores

Reator	**Altura (cm)**	**Diâmetro (cm)**	**Volume (cm^3)**
$EGSB_5$	150,0	4,08	1961,1
$EGSB_{10}$	150,0	4,08	1961,1
$EGSB_{15}$	152,0	3,40	1380,0

4.3 MATERIAL SUPORTE E INÓCULO

O lodo granular anaeróbio de um reator UASB destinado para o tratamento das águas residuárias geradas no abatedouro de aves, Avícola Dakar S/A (Tietê/SP) foi utilizado como material suporte e inóculo. Uma parcela do lodo foi peneirada visando separação dos grânulos, utilizados como material suporte, para aderência e adaptação da biomassa imobilizada.

Para propiciar a produção de hidrogênio, inibiu-se a metanogênese no lodo. A seleção das bactéria acidogênicas esporulantes ocorreu por meio do tratamento térmico, como proposto por Kim, Han e Shin (2006). Os grânulos do lodo peneirado (Figura 4.4) foram aquecidos a 100

ºC por uma hora, posteriormente encaminhado a um banho de gelo até atingir a temperatura de 25 ºC (MAINTINGUER et al., 2008).

Figura 4.4 - Grânulo de lodo

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Foram adicionados grânulos preenchendo 30% do volume total de cada reator, ou seja, da altura total dos reatores (150,0 cm), 50,0 cm foram preenchidos com grânulos termicamente pré-tratados. Para manter a altura do leito expandida entre 20 e 30%, em relação à altura do leito empacotado, a vazão de recirculação foi empiricamente fixada em 0,120 L min^{-1} para os $EGSB_5$ e $EGSB_{10}$, e 0,083 L min^{-1} para o $EGSB_{15}$, durante toda etapa operacional.

A fração destinada ao inóculo, 10% do volume do preparo do tanque (barrilete) de inoculação, foi triturada e posteriormente submetida ao tratamento térmico conforme proposto por Kim, Han e Shin (2006). No caso do lodo destinado ao inóculo, a temperatura foi elevada a 90 °C permanecendo por 10 minutos sob constante homogeneização. Analogamente aos grânulos, foi posteriormente encaminhado a um banho de gelo até atingir a temperatura de 25 ºC (MAINTINGUER et al., 2008).

4.4 ALIMENTAÇÃO E SUBSTRATO

Durante toda a operação o sistema foi alimentado com um preparo de substrato e meio nutricional. O caldo de cana-de-açúcar, utilizado como substrato orgânico na alimentação dos reatores $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ foi coletado na usina Ipiranga (Descalvado-SP), produtora de etanol e açúcar. Na Tabela 4.2 estão detalhados os parâmetros dos lotes de caldo coletados.

Tabela 4.2 - Parâmetros dos lotes de caldo

Componente	**Concentração ± σ**
Carboidratos totais (g L^{-1})	163,3 ± 39,9
DQO_{total} (g L^{-1})	205,3 ± 47,1
N-NTK (mg L^{-1})	4237,0 ± 0,0
P-PO_4^{-3} (mg L^{-1})	245,0 ± 100,0
Potássio (mg L^{-1})	1579,0 ± 550,0
Cálcio (mg L^{-1})	317,0 ± 179,0
Magnésio (mg L^{-1})	288,6 ± 27,0
Zinco (mg L^{-1})	2,4 ± 1,0
Cobre (mg L^{-1})	0,4 ± 0,3
SST (mg L^{-1})	12811,0 ± 211,0
SSV (mg L^{-1})	2436,0 ± 124,0

Para assegurar o desenvolvimento bacteriano foram adicionados suplementos inorgânicos à alimentação. O meio nutricional é uma adaptação de Rego (2016) do utilizado por Endo (1982)[4]: (g L^{-1}): NH_4HCO_3 (variável, entre 1,50 e 4,75 g L^{-1}); K_2HPO_4 0,125; $MgCl_2.6H_2O$ 0,015; $CuSO_4.5H_2O$ 0,005; e $CoCl_2.5H_2O$ $1,25.10^{-4}$.

Segundo a adaptação de Rego (2016) para o meio Endo (1982), o NH_4HCO_3 (bicarbonato de amônio) deve ser adicionado ao barrilete de alimentação na concentração de 0,563 g L^{-1}. Entretanto, para a manutenção do pH efluente do $EGSB_5$ entre 4,4 e 4,6 foi necessária a adição de bicarbonato de amônio na concentração de 1,5 g L^{-1}. Para a manutenção do pH do $EGSB_{10}$ entre 4,3 e 4,7 foi necessária a adição de bicarbonato de amônio na concentração de 3,5 g L^{-1}. Para a manutenção do pH do $EGSB_{15}$ entre 3,8 e 4,5 foi necessária a adição de bicarbonato de amônio na concentração de 4,75 g L^{-1}. As concentrações de bicarbonato de amônio foram ajustadas empiricamente, por meio da visualização da estabilização nos valores de pH efluente.

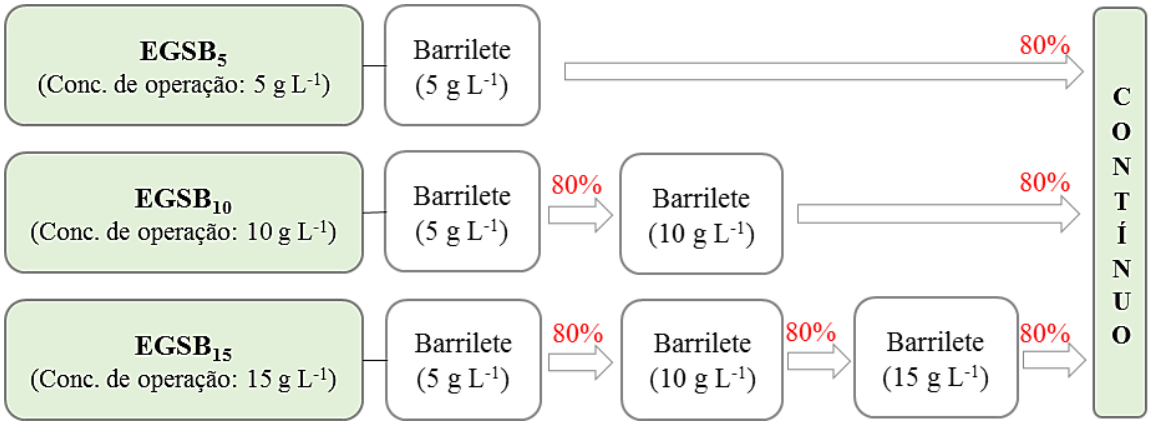
No preparo dos barriletes de alimentação eram adicionados o meio nutricional, conforme o volume do barrilete, e o caldo diluído para as concentrações 5, 10 e 15 g L^{-1} para o $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente.

[4] 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.

4.5 PROCEDIMENTO DE PARTIDA DOS REATORES

Na etapa de adaptação, ou partida, os reatores permaneceram em circuito fechado modo batelada) por 18 dias. Inicialmente todos os reatores foram inoculados com a concentração de carboidratos iguais a 5 g L^{-1}. Após o consumo de 80% do carboidrato introduzido, as concentrações de carboidratos na inoculação do $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ foram ajustadas para 10 g L^{-1}. Novamente após 80% de consumo do carboidrato, a concentração do $EGSB_{15}$ foi ajustada para 15 g L^{-1}. Após o consumo de carboidratos dos reatores em suas respectivas concentrações de operação, os mesmos foram ajustados para a operação em modo contínuo. Para avaliar a adaptação da biomassa ao substrato, a análise de carboidratos foi realizada diariamente nesta etapa. O fluxograma apresentado na Figura 4.5, explicita a dinâmica de inoculação.

Figura 4.5 - Fluxograma do processo de inoculação



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Os barriletes de inoculação foram preparados com volumes totais iguais a 8 L, sendo 800 mL destinados ao inóculo triturado e pré-tratado, e 7,2 L à mistura de água, meio nutricional e caldo, de acordo com a demanda de concentração afluente. O pH foi ajustado entre 4,0 e 5,0. Este valor foi alcançado mediante a adição de ácido clorídrico (30% v/v), com máximo de 2,0 mL L^{-1}, além de ácido acético glacial. Para retirar o oxigênio dissolvido no meio líquido, foi adicionado gás nitrogênio no barrilete sob fluxo constante por 15 minutos.

4.6 CONDIÇÕES OPERACIONAIS

Durante a operação do reator em modo contínuo, os decréscimos nos TDH foram realizados ao observar-se variação inferior a 10% por um período de 10 dias consecutivos dos

parâmetros: “remoção de carboidrato” e “produção volumétrica de hidrogênio”. Na Tabela 4.3 estão apresentados os respectivos dias em que cada reator permaneceu em cada TDH.

Tabela 4.3 - Condições operacionais dos reatores

Fase	TDH (h)	$EGSB_5$		$EGSB_{10}$		$EGSB_{15}$	
		Vazão (mL h^{-1})	Operação (dias)	Vazão (mL h^{-1})	Operação (dias)	Vazão (mL h^{-1})	Operação (dias)
1	24	85,8	24	88,3	24	55,6	24
2	16	123,6	40	128,8	40	88,9	40
3	8	244,5	35	250,8	65	175,2	35
4	4	452,5	30	487,3	46	351,9	51
5	2	942,6	46	926,2	13	701,3	38
6	1	1951,3	21	1904,2	18	1334,0	25

4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.7.1 Determinação da concentração de carboidratos

A determinação da concentração de carboidratos (sacarose) no afluente e efluente dos reatores foi determinada pela técnica espectrofotométrica de acordo com a metodologia de Dubois et al. (1956).

4.7.2 Análises Físico-Químicas

As medidas de pH, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos voláteis (SSV) e totais (SST), foram realizadas com base no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (EATON et al., 2005).

4.7.3 Medida de produção volumétrica e composição do biogás

A produção volumétrica do biogás gerado foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Walker et al. (2009). De acordo com essa metodologia, o volume do biogás é mensurado por meio do deslocamento da coluna de líquido contendo solução salina acidificada.

A análise para determinação dos componentes presentes no biogás produzido foi realizada por cromatografia gasosa. Para tanto, 1,0 mL de amostra do biogás foi coletada no topo dos reatores utilizando-se uma seringa *gas tight*. O gás coletado foi analisado em

cromatógrafo gasoso marca Shimadzu modelo GC-2010, Japan, equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna capilar Carboxen 1010 PLOT (30 m x 0,53 mm) Sigma-Aldrich, sendo o argônio utilizado como gás de arraste.

4.7.4 Determinação de Álcoois e Ácidos Orgânicos Voláteis

A determinação e quantificação de álcoois e ácidos orgânicos voláteis foi realizada por cromatografia gasosa e por cromatografia líquida de alta performance (*High Performance Liquid Cromatography*) (HPLC) em HPLC Shimadzu, conforme proposto por (ROSA et al., 2014).

4.7.5 Frequência das análises

Na Tabela 4.4 encontram-se a frequência de realização das análises.

Tabela 4.4 - Frequência e metodologias das análises

Análise	**Frequência**	**Metodologia**
Vazão	Diária	Eaton et al. (2005)
pH	Diária	
DQO	3x na semana	
SST e SSV	3x na semana	
Carboidratos	3x na semana	Dubois et al. (1956)
Produção volumétrica	3x na semana	Walker et al. (2009)
Análise	**Frequência**	**Instrumento analítico**
Metabólitos solúveis	3x na semana	Shimadzu GC-17ª
Composição do biogás	3x na semana	Shimadzu GC-2010

4.8 CÁLCULO DOS INDICADORES DE DESEMPENHO

Neste item estão apresentadas as principais equações utilizadas nesse estudo, os quais abrangem a taxa de carregamento orgânico aplicada teórica (10); a produção volumétrica de H_2 (11); o rendimento de H_2 (12); o rendimento teórico de H_2 ($H_{2\text{-teórico}}$) (mmol L^{-1}) (13) (LUO et al., 2011); e a produção de ácido acético pela homoacetogênese ($Ac_{homoac.}$) (mmol L^{-1}) (14)

(AROOJ et al., 2008a; LUO et al., 2011). As concentrações de HAc, HBu e HPr foram utilizadas em mmol.

$$TCO_{aplicada\ teórica} = \left[\frac{\text{Concentração de Carboidratos } (kg\ m^{-3})}{TDH_{teórico}(d)}\right] \qquad kg_{carboidrato}\ m^{-3} d^{-1} \quad (10)$$

$$PVH = \left[\frac{\frac{\text{Volume de } H_2(L) \text{produzido}}{\text{tempo}(h)}}{\text{Volume real}_{reator}(L)}\right] \qquad L\ h^{-1} L^{-1} \quad (11)$$

$$HY = \left[\frac{PVH\ (mol\ H_2\ d^{-1} m^{-3})}{Carboidrato_{consumido}(mol_{hexose.}\ d^{-1} m^{-3})}\right] \qquad mol\ H_2\ mol^{-1}\ hexose \quad (12)$$

$$H_{2\text{-teórico}} = 2\ [HBu] + 2\ [HAc] - [HPr] \qquad (13)$$

$$Ac_{homoac.} = \frac{(2\ [HAc] + 2\ [HBu] - [HPr] - H_2)}{6} \qquad (14)$$

Em que, [HAc] é a concentração de ácido acético; [HBu] é a concentração de ácido butírico; [HPr] é a concentração de ácido propiônico; e H_2 é a produção molar diária de hidrogênio expressas em mmol L^{-1}.

Para calcular o HAc teórico produzido pela homoacetogênese ($Ac_{homoac.}$) presume-se que: i) o HAc é formado somente através da fermentação; ii) o total de HAc detectado é a soma entre as concentrações formadas a partir da glicose e a partir do consumo de H_2 do meio; iii) o H_2 é somente consumido na formação de HPr, e iv) as únicas rotas produtoras de H_2 são as de produção dos HAc e HBu (CASTELLÓ et al., 2018).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados de desempenho de produção de hidrogênio em reatores EGSB mesofílicos (30°± 2 ºC), utilizando caldo de cana como substrato orgânico. Os reatores $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ foram operados com concentrações de substrato afluente fixas em 5, 10 e 15 g L^{-1} com os TDH decrescidos de 24 a 1 h.

5.1 CONVERSÃO DE CARBOIDRATOS

São apresentados na Tabela 5.1 e Figura 5.1 os dados de conversão de carboidratos para o $EGSB_5$. A redução do TDH de 24 para 1 h ocasionou no aumento da TCO de 5,2 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1} para 119,4 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}. A conversão de carboidratos permaneceu estável em todas as fases. Observou-se aumento do desvio dos dados das fases, 97,5 ± 0,6 % para 94,5 ± 2,5 % com o decréscimo do TDH de 24 h para 1 h.

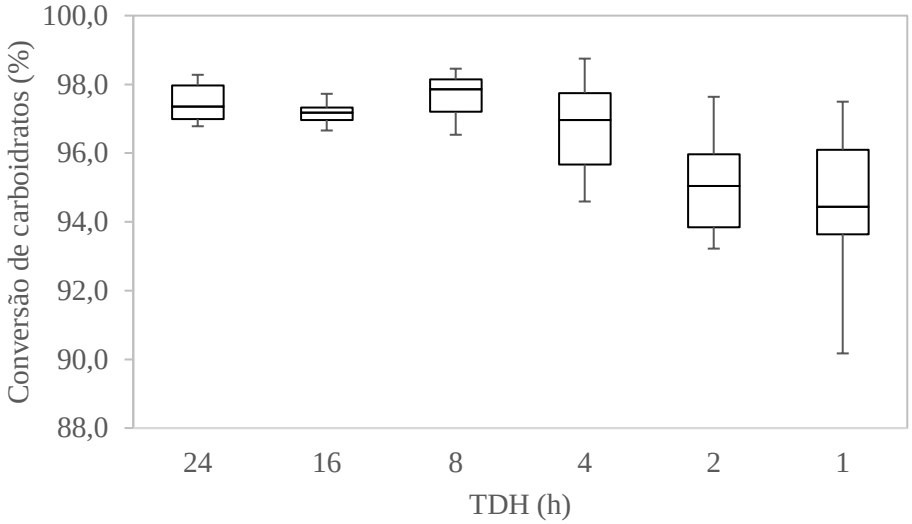
Tabela 5.1 - Conversão de carboidratos no $EGSB_5$

Fase	TDH (h)	TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})	C_{aflu} (g L^{-1})	C_{eflu} (g L^{-1})	Conversão (%)
1	24	5,2	5,16 ± 0,24(7)	0,13 ± 0,03(7)	97,5 ± 0,6
2	16	7,6	5,02 ± 0,24(8)	0,14 ± 0,02(8)	97,2 ± 0,4
3	8	15,0	5,20 ± 0,61(8)	0,20 ± 0,04(8)	97,7 ± 0,7
4	4	27,7	5,30 ± 1,01(8)	0,17 ± 0,08(8)	96,8 ± 1,4
5	2	57,7	5,72 ± 0,67(8)	0,28 ± 0,09(8)	95,1 ± 1,5
6	1	119,4	4,60 ± 0,37(7)	0,25 ± 0,11(7)	94,5 ± 2,5

C_{aflu}: concentração de carboidrato afluente; C_{eflu}: concentração de carboidrato efluente.
Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.1 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_5$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Na Tabela 5.2 e Figura 5.2 é possível visualizar a conversão de carboidratos para o $EGSB_{10}$. A redução do TDH de 24 para 1 h acarretou no aumento da TCO de 10,8 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1} para 233,0 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}. A conversão de carboidratos permaneceu estável em todas as fases, entre 93,8 ± 5,2 % e 98,7 ± 0,6 %, para os TDH iguais a 24 h e 4 h, respectivamente.

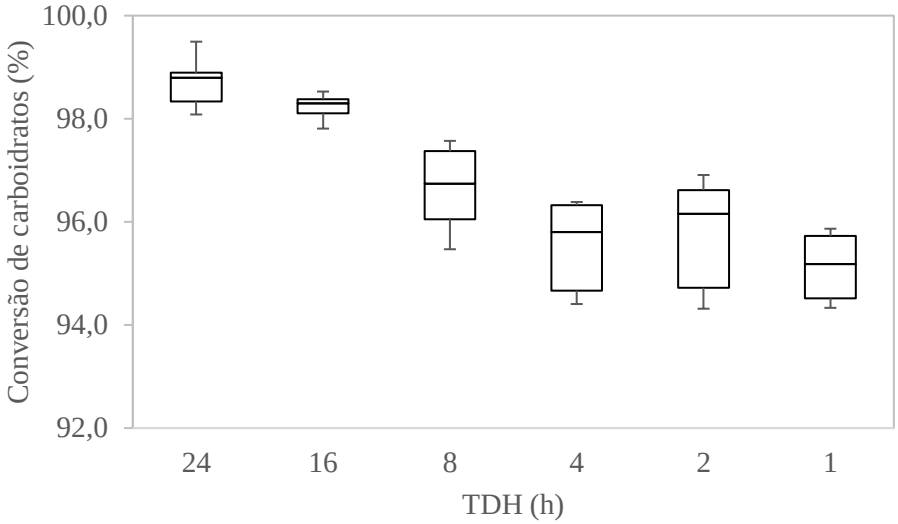
Tabela 5.2 - Conversão de carboidratos no $EGSB_{10}$

Fase	**TDH (h)**	**TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})**	**C_{aflu} (g L^{-1})**	**C_{eflu} (g L^{-1})**	**Conversão (%)**
1	24	10,8	10,17 ± 0,36$^{(8)}$	0,13 ± 0,05$^{(8)}$	98,7 ± 0,6
2	16	15,8	10,02 ± 0,60$^{(8)}$	0,19 ± 0,06$^{(8)}$	98,1 ± 0,6
3	8	30,7	10,03 ± 1,33$^{(8)}$	0,34 ± 0,10$^{(8)}$	96,7 ± 0,8
4	4	59,6	11,00 ± 0,45$^{(7)}$	0,76 ± 0,66$^{(7)}$	93,8 ± 5,2
5	2	113,3	9,71 ± 0,46$^{(6)}$	0,52 ± 0,35$^{(6)}$	94,5 ± 3,9
6	1	233,0	11,09 ± 0,34$^{(6)}$	0,58 ± 0,28$^{(6)}$	94,8 ± 2,4

C_{aflu}: concentração de carboidrato afluente; C_{eflu}: concentração de carboidrato efluente.
Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.2 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Estão expostos na Tabela 5.3 e Figura 5.3 os dados de conversão de carboidratos para o $EGSB_{15}$. A redução do TDH de 24 para 1 h acarretou no aumento da TCO de 14,5 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1} para 348,0 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}. Houve decréscimo na conversão de carboidratos de 88,6 ± 4,1 % para 78,6 ± 3,4 % com o decréscimo de TDH de 24 para 8 h. Na redução do TDH de 8 h para 4 h observou-se acréscimo na conversão de carboidratos para 93,7 ± 5,3 %, valor máximo observado na fase. Em seguida houve outro decréscimo de 93,7 ± 5,3 % para 73,8 ± 5,6 % ao diminuir o TDH de 4 h para 1 h.

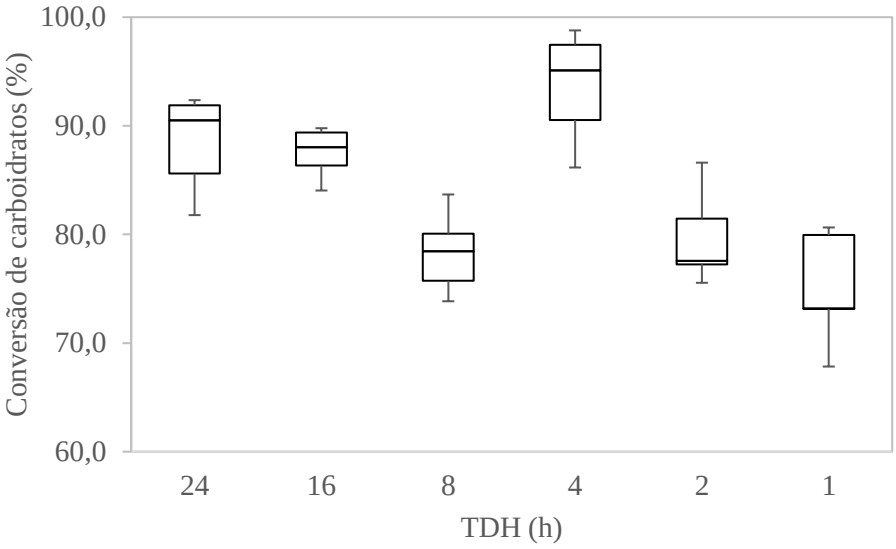
Tabela 5.3 - Conversão de carboidratos no $EGSB_{15}$

Fase	**TDH (h)**	**TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})**	**C_{aflu} (g L^{-1})**	**C_{eflu} (g L^{-1})**	**Conversão (%)**
1	24	14,5	15,30 ± 0,17$^{(8)}$	1,74 ± 0,65$^{(8)}$	88,6 ± 4,1
2	16	23,2	15,06 ± 0,33$^{(8)}$	1,98 ± 0,69$^{(8)}$	86,9 ± 4,5
3	8	45,7	13,58 ± 1,04$^{(8)}$	2,92 ± 0,58$^{(8)}$	78,6 ± 3,4
4	4	91,8	14,40 ± 2,47$^{(7)}$	0,42 ± 0,21$^{(7)}$	93,7 ± 5,3
5	2	182,9	16,42 ± 0,14$^{(6)}$	3,42 ± 0,70$^{(6)}$	79,1 ± 4,2
6	1	348,0	14,61 ± 2,33$^{(7)}$	3,76 ± 0,63$^{(7)}$	73,8 ± 5,6

C_{aflu}: concentração de carboidrato afluente; C_{eflu}: concentração de carboidrato efluente.
Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.3 - Boxplot da conversão de carboidratos do $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

A elevada remoção de carboidratos nos três reatores pode ser atribuída à manutenção da temperatura na faixa mesofílica (25 a 40 °C), considerada ótima para digestão anaeróbia (ELBESHBISHY et al., 2017). A faixa mesofílica possibilita taxas de crescimento de microrganismos mais elevadas e menor seletividade dos microrganismos quando comparada a faixa termofílica (AKUTSU et al., 2009). Com a maior adaptação da população mesofílica, em relação a termofílica, há uma maior taxa de consumo de substratos (TAYLOR et al., 1985). Considerando que o RALF é uma configuração de reator que se assemelha ao EGSB, Ferreira (2016) avaliou a produção de H_2 a partir do caldo de cana (5 gDQO L^{-1}) em RALF termofílico (55 °C), e obteve remoção de carboidrato decrescendo de 71,6 % a 36,0 % com a redução do TDH de 8 para 1 h. Portanto, valores inferiores aos apontados nesse estudo (97,7 % a 94,5 %) sob condições mesofílicas para a concentração igual a 5 g L^{-1} ($EGSB_5$) (8 a 1 h).

Ainda sobre o efeito da temperatura na conversão de carboidratos, El-Kahlout, Rahma e El-Ashgar (2017) avaliando a produção de H_2 em RALF termofílico (65 °C) utilizando sacarose como substrato (20 gDQO L^{-1}), observaram conversões entre 85,0 % e 70,0 % ao decrescer o TDH de 8 a 4 h. As conversões de carboidratos do estudo de El-Kahlout, Rahma e El-Ashgar (2017) foram inferiores às do $ESGB_{15}$ (20,07 gDQO L^{-1}) deste estudo (Tabela 5.3) e também menores que às observadas por Wu, Chu e Shen (2012) (99,1 % e 91,2 %) com o decréscimo do TDH de 8 a 4 h, utilizando sacarose (20 gDQO L^{-1}) em RALF mesofílico (40 °C).

Outros fatores que influenciam no crescimento dos microrganismos são a fonte de carbono e a concentração de substrato afluente (WANG; WAN, 2009). A otimização da concentração de substrato afluente é importante para evitar a inibição pelo substrato. Em fluxo contínuo, TCO superiores a 100 kg m^{-3} d^{-1} normalmente inibem a produção de hidrogênio (VAN GINKEL; LOGAN, 2005; NASR et al., 2012; ELBESHBISHY et al., 2017). De fato, observou-se no $EGSB_{15}$, redução do consumo de carboidrato para 79,1 % e 73,8 % para as TCO de 182,9 e 348,0 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}, respectivamente.

Ferraz júnior et al., (2014) avaliaram o impacto da TCO na produção de H_2 em APBR (35 °C) com TDH fixo em 8 h e concentração de glicose variando de 2,2 a 17,1 g L^{-1} (TCO de 6,5 a 51,4 kgDQO m^{-3} d^{-1}). O consumo de substrato foi de 100 % para as TCO de 6,5 e 27,7 kgDQO m^{-3} d^{-1}, contudo houve redução do consumo para 85 % ao elevar a TCO para 51,4 kgDQO m^{-3} d^{-1}.

Ao elevar a TCO pela redução do TDH (6 a 2 h) mantendo a concentração de sacarose afluente constante (5, 10, 20 e 40 g L^{-1}) nos reator de leito fluidificado trifásico (*Fluidized Bed Reactor*) (FBR) (40 °C), Lin et al. (2009) obtiveram resultados semelhantes aos do presente estudo. A conversão de carboidrato para os reatores com concentrações de sacarose afluente iguais a 5 e 10 g L^{-1} permaneceram superiores a 94,0 %. Entretanto, com a decréscimo do TDH de 6 para 2 h foi observada redução da conversão de 98,5 % para 71,7 % e de 86,9 % para 61,8 % para reatores com concentrações de sacarose afluente de 20 g L^{-1} e 40 g L^{-1}, respectivamente. A elevada conversão de carboidratos aponta utilização eficiente da fonte de carbono, enquanto a redução da conversão indica elevada razão alimento microrganismo (A/M).

Elevada A/M também foi a hipótese levantada por Amorim, Sader e Silva (2012) ao avaliar a produção de H_2 em RALF (30 °C) alimentados com glicose (2 a 25 g L^{-1}), variando o TDH de 8 a 1 h. Os autores observaram conversão elevada de glicose (superior a 89 %) para a concentração afluente igual a 2 g L^{-1}. Contudo, ao reduzir o TDH de 8 a 1 h, houve a redução da conversão de 36,0 % para 20,0 % para o reator com concentração de glicose afluente de 20 g L^{-1}, indicando inibição pelo substrato. A redução da conversão de carboidratos com a redução do TDH, e consequente aumento da TCO, foram observadas em outros estudos (SHIDA et al., 2012; WU; CHU; SHEN, 2012; REIS; SILVA, 2014; SIVAGURUNATHAN et al., 2016).

5.2 COMPOSIÇÃO DO BIOGÁS

Durante a operação dos três reatores ($EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$), a composição do biogás ficou restrita a H_2 e CO_2. A ausência de CH_4 nos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ atesta a

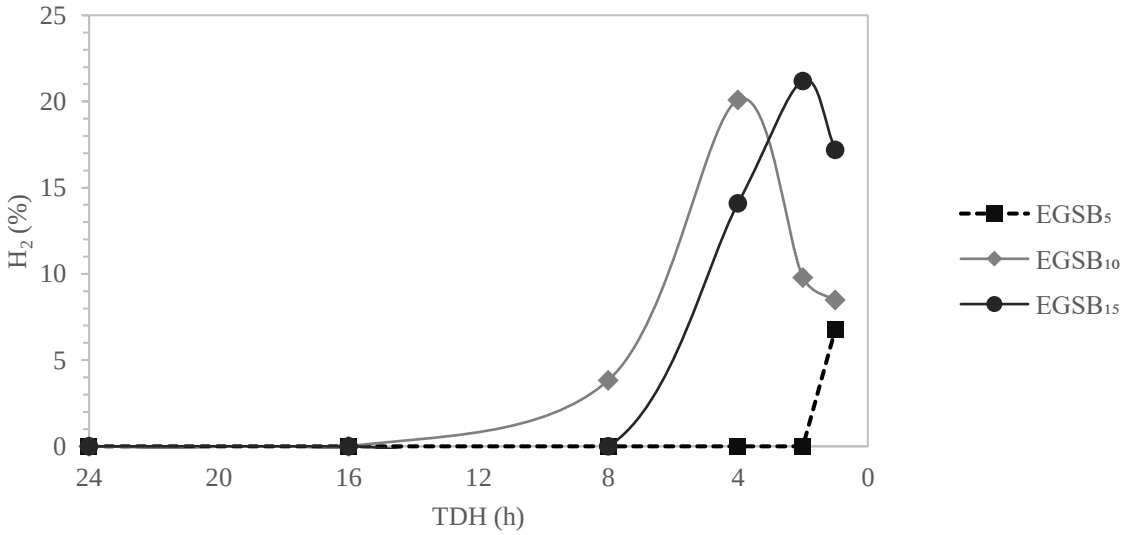
efetividade do tratamento térmico e da manutenção do pH dos reatores entre 4,0 e 5,0 na inibição de arqueias metanogênicas. Estão exibidos na Tabela 5.4 e Figura 5.4, o percentual de H_2 produzido nos reatores conforme o TDH aplicado.

Tabela 5.4 - Percentual de H_2 no biogás produzido

Fase	**TDH**	**%H_2**		
		$EGSB_5$	**$EGSB_{10}$**	**$EGSB_{15}$**
1	24	0,0 ± 0,0(7)	0,0 ± 0,0(8)	0,0 ± 0,0(8)
2	16	0,0 ± 0,0(8)	0,0 ± 0,0(8)	0,0 ± 0,0(8)
3	8	0,0 ± 0,0(8)	3,83 ± 1,4(8)	0,0 ± 0,0(8)
4	4	0,0 ± 0,0(8)	20,1 ± 2,8(7)	14,1 ± 2,8(7)
5	2	0,0 ± 0,0(8)	9,8 ± 2,3(6)	21,2 ± 3,1(6)
6	1	6,8 ± 1,9(7)	8,5 ± 1,4(6)	17,2 ± 2,1(7)

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.4 - Percentual médio de H_2 no biogás dos reatores



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

No $EGSB_5$ foi observado hidrogênio na composição (6,8 ± 1,9 %) apenas no TDH de 1 h. Não foi constatado hidrogênio no biogás do $EGSB_{10}$ nos TDH de 24 h e 16 h. No $EGSB_{10}$ foi observado acréscimo de 3,83 ± 1,4 % para 20,1 ± 2,8 % de H_2 ao reduzir o TDH de 8 h para 4 h. Ao diminuir o TDH de 4 h para 1 h, visualizou-se redução do percentual de hidrogênio no biogás de 20,1 ± 2,8 % para 8,5 ± 1,4 %. O $EGSB_{15}$ apresentou hidrogênio como componente

do biogás a partir do TDH de 4 h (14,1 ± 2,8%). O percentual de hidrogênio permaneceu igual a 21,2 ± 3,1 % e 17,2 ± 2,1 % nos TDH de 2 h e 1h, respectivamente.

A estabilidade do %H_2 no $EGSB_{15}$ nos TDH de 4 a 1 h (entre 14,1 e 17,2 %) pode estar atrelada à configuração do reator. No reator EGSB é aplicada uma vazão de recirculação (0,087 L min^{-1}) que resulta em maior velocidade ascensional, provocando turbulência e aumentando o desprendimento do H_2 do meio (NGOMA et al., 2011). Lin et al. (2009), utilizando uma configuração de reator em que também é aplicada vazão de recirculação (FBR), observaram estabilidade no %H_2 (entre 40,2 e 46,1 %) variando o TDH de 6 a 2 h para as concentrações de sacarose iguais a 5 a 40 g L^{-1}.

Zhao et al., (2008), entretanto, otimizando a produção de hidrogênio em reator UASB (30 °C), que tem como característica velocidade ascensional baixa e maior suscetibilidade a resistência à transferência de massa (BRITO; MELO, 1997), perceberam oscilação no %H_2 (de 25,9 a 50,0 %) para concentração de sacarose afluente de 10 g L^{-1} nos TDH entre 10 h e 20 h.

Estabilidade no % H_2 foi observada por Salem et al., (2018), utilizando substrato sintético contendo 10 g L^{-1} de sacarose em CSTR (35 °C), que provoca a mistura completa semelhante a simulada pelo EGSB. O %H_2 foi de 45,0; 48,5 e 54,5 % nos TDH iguais a 24, 18 e 12 h, respectivamente.

Pattra et al. (2011) também em CSTR (37 °C) utilizaram caldo de cana (25 g L^{-1}) na produção contínua de H_2 por *Clostridium butyricum* em sob condições não-estéreis, nos TDH de 36 a 4 h. Os %H_2 de 24,2 %, 17,0 % e 19,1 % para os TDH de 24, 12 e 4 h, respectivamente, foram semelhantes ao do presente estudo. Os autores detectaram o HBu como metabólito predominante (9,6 g L^{-1}).

Teoricamente, para a formação de 1 mol de HBu a partir da sacarose, 4 mols de H_2 são formados (item 3.4.1 - Eq. (6)). E para formação de 1 mol de HAc a partir da sacarose, 8 mols de H_2 são formados (item 3.4.1- Eq. (5)). Portanto, a maior produtividade de H_2 está associada à geração destes ácidos (FONTES LIMA; MOREIRA; ZAIAT, 2013). O %H_2 constatado no $EGSB_{15}$ pode então ser justificado pelo favorecimento da rota de produção de HBu e HAc, pois, as concentrações destes ácidos somaram 66,0 % e 58,0 % do total de metabólitos nos TDH de 2 e 1 h, respectivamente.

Analogamente ao $EGSB_{15}$ deste estudo, a relação entre a produção de H_2 e rota de produção de HAc e HBu foi observada por Shida et al., (2009) utilizando RALF (30 °C) alimentado com substrato sintético a base de glicose (2 g L^{-1}), decrescendo o TDH de 8 a 1 h. Com o percentual de HAc entre 46,9 e 53,8 % e HBu entre 34,5 e 42,2 %, os autores visualizaram %H_2 constante entre 28,0 e 38,0 %.

5.3 PRODUÇÃO VOLUMÉTRICA DE HIDROGÊNIO

No $EGSB_5$ houve PVH apenas no TDH de 1 h (6,96 ± 2,40 L d^{-1} L^{-1}). A PVH do $EGSB_{10}$ está apresentada na Tabela 5.5 e Figura 5.5. Foi constatado aumento da PVH de 11,74 ± 4,60 L d^{-1} L^{-1} para 19,14 ± 2,74 L d^{-1} L^{-1} com a redução do TDH de 4 h para 1 h.

Tabela 5.5 - Valores médios da PVH no $EGSB_{10}$

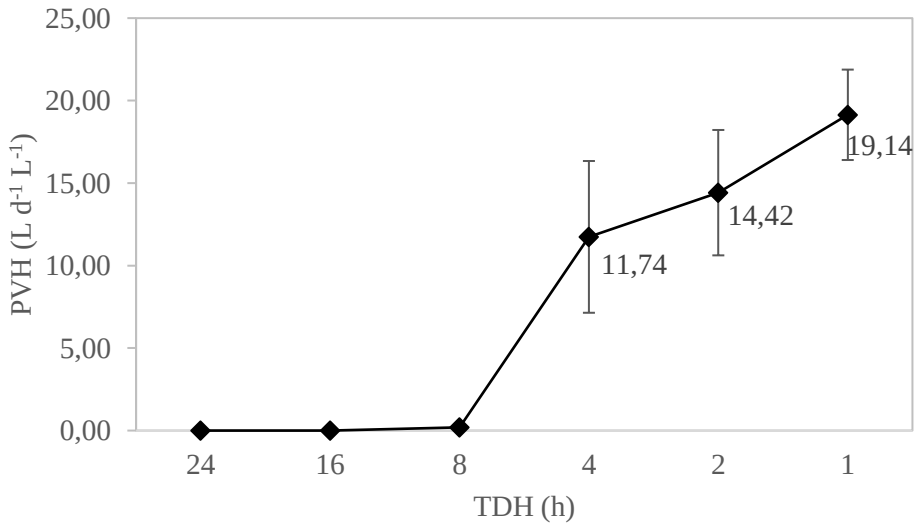
Fase	TDH (h)	TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})	PVH (L d^{-1} L^{-1})	PVH' (mmol h^{-1} L^{-1})
1	24	10,8	0,00 ± 0,00(8)	0,00 ± 0,00(8)
2	16	15,8	0,00 ± 0,00(8)	0,00 ± 0,00(8)
3	8	30,7	0,19 ± 0,08(8)	0,31 ± 0,45(8)
4	4	59,6	11,74 ± 4,6(7)	18,95 ± 7,43(7)
5	2	113,3	14,42 ± 3,80(6)	23,28 ± 6,13(6)
6	1	233,0	19,14 ± 2,74(6)	30,89 ± 4,42(6)

PVH: produção volumétrica de hidrogênio.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.5 - Produção volumétrica de hidrogênio média no $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

A PVH do $EGSB_{15}$ está apresentada na Tabela 5.6 e Figura 5.6. Houve um aumento da PVH de 4,91 L d^{-1} L^{-1} para 52,49 L d^{-1} L^{-1} com a redução do TDH de 4 h para 2 h. Observou-se estabilidade na PVH ao decrescer o TDH 2 h para 1 h (46,36 ± 6,96 L d^{-1} L^{-1}).

Tabela 5.6 - Valores médios da PVH no $EGSB_{15}$

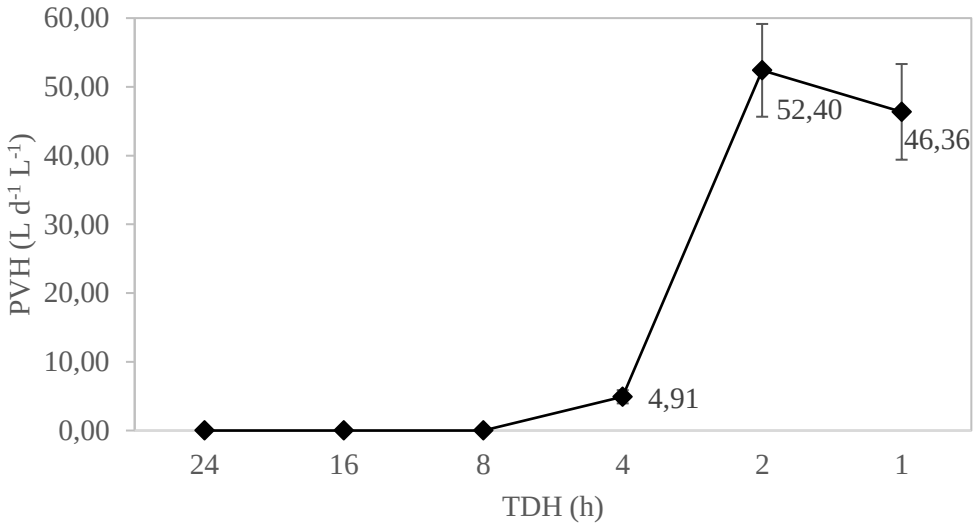
Fase	TDH (h)	TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})	PVH (L d^{-1} L^{-1})	PVH' (mmol h^{-1} L^{-1})
1	24	14,5	0,00 ± 0,00(8)	0,00 ± 0,00(8)
2	16	23,2	0,00 ± 0,00(8)	0,00 ± 0,00(8)
3	8	45,7	0,00 ± 0,00(8)	0,00 ± 0,00(8)
4	4	91,8	4,91 ± 0,96(7)	7,93 ± 1,55(7)
5	2	182,9	52,40 ± 6,75(6)	84,58 ± 10,90(6)
6	1	348,0	46,36 ± 6,96(7)	74,83 ± 11,20(7)

PVH: produção volumétrica de hidrogênio.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.6 - Produção volumétrica de hidrogênio média no $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

O aumento da PVH está associado ao aumento da TCO devido à elevação da disponibilidade de substrato a ser convertido em H_2 (KUMAR et al., 2017). De modo geral, as PVH demonstraram tendência de elevação ao longo da redução dos TDH e consequente

aumento das TCO aplicadas, 59,6 a 233,0 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1} para o $EGSB_{10}$ e 91,8 a 348 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1} para o $EGSB_{15}$.

Salem et al. (2017) operaram CSTR (35 °C) em TDH fixo (12 h), e utilizaram o aumento da disponibilidade de substrato como justificativa da elevação da PVH de 9,9 a 16,5 L d^{-1} L^{-1} com o acréscimo da concentração de sacarose de 10 para 30 g L^{-1}.

Ning et al., (2013) avaliaram o efeito da concentração de substrato, com a sacarose variando de 1 a 9 g L^{-1} e TDH de 10 h em reator UASB (36 °C). Os autores observaram aumento da PVH com o aumento da concentração, e consequente aumento da TCO. A PVH máxima foi de 2,89 L d^{-1} L^{-1} para a concentração de substrato igual a 7 g L^{-1}.

O aumento da PVH como efeito da redução do TDH para concentrações afluente fixas (aumento da TCO) foram reportados por outros estudos (LIN et al., 2009; SHIDA et al., 2009; BARROS et al., 2010; SIVAGURUNATHAN et al., 2017).

Pugazhendhi et al. (2017) investigaram a produção de H_2 em RALF (37 °C) a partir da glicose (15 g L^{-1}). A PVH aumentou de 5,46 para78,40 L d^{-1} L^{-1} com o decréscimo do TDH de 12 para 1,5 h.

Os resultados obtidos nos $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ para TDH reduzidos podem estar associados à imobilização da biomassa, visto que no EGSB o TDH é independente do θc (SCHMIDT; AHRING, 1996). Ao contrário do EGSB, o CSTR pode apresentar produção de H_2 inferiores devido à lavagem da biomassa (SIVAGURUNATHAN et al., 2016).

Yuan et al. (2010) investigaram a produção de H_2 em CSTR (35 °C) alimentado com substrato sintético a base de sacarose (11,1 g L^{-1}), decrescendo o TDH de 8 a 2 h. Os autores observaram PVH máxima de 14,0 L d^{-1} L^{-1} no TDH de 4 h. Porém, ao decrescer o TDH para 2 h, houve redução na PVH para 12, 8 L d^{-1} L^{-1}.

A PVH máxima de 2,09 L d^{-1} L^{-1} foi obtida também ao decrescer TDH para 4 h no estudo realizado por Pattra et al. (2011) em CSTR (37 °C) alimentado com 25 gDQO L^{-1} de caldo de cana, os autores não aplicaram TDH inferiores a 4h.

A variação de TDH de 12 a 2 h foi realizada por Nualsri, Kongjan e Reungsang (2016) que utilizaram, similarmente a Pattra et al. (2011), 25 gDQO L^{-1} de caldo de cana em CSTR (37 °C). Com o decréscimo do TDH de 12 para 3 h, a PVH aumentou de 1,18 para 17,50 L d^{-1} L^{-1}. Contudo, a redução do TDH de 3 para 2 h provocou instabilidade na produção de H_2, com decréscimo da PVH para 17,40 L d^{-1} L^{-1}. No presente estudo, a PVH (52,40 L d^{-1} L^{-1}) ao decrescer o TDH para 2 h no $EGSB_{15}$ (20,07 gDQO L^{-1}) foi superior às dos estudos de Pattra et al. (2011) e Nualsri, Kongjan e Reungsang (2016), assegurando a hipótese de influência da configuração do reator quanto à imobilização da biomassa na PVH.

Outro aspecto atrelado a configuração do reator que pode ter contribuído para os resultados obtidos é a vazão de recirculação, que ocasiona em maior velocidade ascensional. Apesar da velocidade ascensional nos reatores permanecer fixa em 0,153 cm s^{-1}, é possível fazer um comparativo entre as PVH observadas no EGSB (BÁRCENAS-RUIZ et al., 2016) com as observadas em configurações de reatores em que não é aplicada vazão de recirculação (FERRAZ JÚNIOR et al., 2014).

Bárcenas-Ruiz et al. (2016) analisaram o efeito do pré-tratamento do inóculo na granulação da biomassa comparando lodo exposto ao calor (EGSB1) (25 °C), com o exposto a lavagem celular (EGSB2) (25 °C) na produção de hidrogênio a partir da glicose (10 g L^{-1}) em TDH fixo (10 h). Os autores observaram aumento da PVH de 0,90 a 1,30 L d^{-1} L^{-1} com o aumento da velocidade ascensional de 0,07 a 0,125 cm s^{-1} no EGSB1. A elevação da velocidade ascensional provoca elevação da transferência de massa devido ao maior contato entre biomassa e substrato, e conseguinte elevação da velocidade das reações.

É possível observar de modo divergente ao EGSB, que no caso de APBR o leito empacotado fornece resistência à transferência de massa, colmatação do leito e instabilidade na produção de hidrogênio. Ferraz Júnior et al. (2014) avaliaram o impacto da TCO na produção de H_2 em APBR (35 °C), com concentração de glicose variando entre 2,2 e 17,1 g L^{-1} e TDH fixo em 8 h. Os autores visualizaram acréscimo da PVH de 1,7 para 6,5 L d^{-1} L^{-1} com o aumento da TCO de 6,5 para 51,4 kg m^{-3} d^{-1} e concluíram que os resultados desse reator são inferiores aos apontados em RALF, devido aos inconvenientes supracitados.

Identifica-se analogia entre os comportamentos dos reatores EGSB ($EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$) (Tabela 5.5 e Tabela 5.6) e RALF quanto à PVH. Amorim, Sader e Silva (2012), avaliaram o efeito do TDH (8 a 1 h) na produção de H_2 em RALF (30 °C) alimentado com substrato sintético à base de glicose (2, 4, 10 e 25 g L^{-1}). Os autores visualizaram para a concentração de glicose igual a 10 g L^{-1}, acréscimo da PVH de 3,12 a 35,04 L d^{-1} L^{-1} ao decrescer o TDH de 8 a 1 h. Para a concentração de glicose igual a 25 g L^{-1} houve o acréscimo da PVH de 1,92 a 17,04 L d^{-1} L^{-1} ao decrescer o TDH de 8 a 2 h, entretanto houve decréscimo da PVH para 14,64 L d^{-1} L^{-1} com a redução do TDH para 1 h.

Na Tabela 5.7 estão apresentadas as PVH de reatores EGSB, FBR e RALF encontrados na literatura para diferentes carboidratos, comparados aos valores do presente estudo.

Tabela 5.7 - PVH encontradas na literatura para RALF, FRB e EGSB

Reator	Substrato	C_{aflu} (g L^{-1})	TDH (h)	PVH (L d^{-1} L^{-1})	Referência
EGSB	Melaço	10	6 - 1	17,04 (2 h)	Guo et al. (2008)
EBSB	Amido	4 - 18	24 - 4	1,60 (8 h)	Guo et al. (2008a)
RALF	Glicose	2	8 - 1	23,28 (1 h)	Amorim et al. (2009)
		5	6 - 2	8,88 (2 h)	
FRB	Sacarose	10	6 - 2	18,00 (2 h)	Lin et al., 2009)
		20	6 - 2	37,68 (2 h)	
RALF	Glicose	2	8 - 1	27,60 (1 h)	Shida et al. (2009)
RALF	Glicose	4	8 - 1	29,04 (1 h)	Barros et al. (2010)
RALF	Sacarose	20	8 - 2	20,40 (2 h)	Wu, Chu, Shen (2012)
		5	24 - 1	6,96 (1 h)	
EGSB	Caldo	10	24 - 1	19,14 (1 h)	Este estudo
		15	24 - 1	52,40 (2 h)	

Em parêntesis o TDH ótimo para a PVH; C_{aflu}: concentração de carboidrato afluente

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Analisando os dados da Tabela 5.7, observa-se que o caldo de cana se mostra favorável à obtenção de elevadas PVH, com resultados similares aos obtidos em estudos utilizando substrato sintético à base de sacarose para as mesmas concentrações aplicadas (LIN et al., 2009; WU; CHU; SHEN, 2012).

Ao analisar a influência da natureza do substrato, compara-se os resultados obtidos no presente estudo, com os de Ramos (2016) em RALF (55 °C) na produção de H_2 a partir da vinhaça de cana de açúcar (10 gDQO L^{-1}). O autor observou PVH igual a 13,20 L d^{-1} L^{-1} ao decrescer o TDH para 1 h. Valor inferior ao do $EGSB_{10}$ deste estudo no mesmo TDH (1 h) (19,14 L d^{-1} L^{-1}). Similarmente a Ramos (2016), Ferreira (2016) avaliou a produção de H_2 em RALF termofílico (55 °C) a partir da vinhaça (5 gDQO L^{-1}) e do caldo de cana (5 gDQO L^{-1}). Ferreira (2016) observou que a PVH máxima de 158,4 L d^{-1} L^{-1} para o caldo foi superior a PVH máxima de 12,94 L d^{-1} L^{-1} obtida para a vinhaça, ambas no TDH de 1 h.

A produção de hidrogênio consiste em converter açúcares simples em H_2, CO_2 e ácidos orgânicos (ZHANG; ZANG, 2016). Como o caldo de cana contém maior concentração de açúcares simples (94 % de sacarose) (PLANGKLANG; REUNGSANG; PATTRA, 2012), a maior PVH obtida a partir do caldo de cana quando comparada a PVH obtida a partir da vinhaça,

pode ser atribuída aos compostos recalcitrantes presentes nesta última (SANTOS et al., 2014a). A complexidade da vinhaça, que contém elevado conteúdo de polissacarídeos (celulose, lignina, hemicelulose), fazem com que a produtividade de H_2 seja reduzida (FU et al., 2017).

A interferência da complexidade do substrato foi atestada por Reis et al. (2015), que variaram a proporção de diluição de vinhaça e glicose com concentração total fixa de 10 gDQO L^{-1} para produção de H_2 em RALF (22 °C) e TDH fixo de 6 h. Os autores observaram decréscimo da PVH de aproximadamente 2,64 para 1,44 L d^{-1} L^{-1}, ao elevar a proporção de vinhaça de 0 para 100 %. Observa-se que as PVH apontadas por Reis et al. (2015) em condições mesofílicas são inferiores às PVH (6,96 L d^{-1} L^{-1}) deste estudo para o $EGSB_5$ (6,78 gDQO L^{-1}). Os resultados demonstram que para a produção biológica de hidrogênio em larga escala, o caldo composto basicamente por sacarose pode ter maior aplicabilidade em relação a vinhaça, e às águas residuárias complexas em geral.

5.4 RENDIMENTO DE HIDROGÊNIO

O $EGSB_5$ obteve HY apenas no TDH de 1 h (0,21 ± 0,07). Na Tabela 5.8 e Figura 5.7 estão apresentados o HY do $EGSB_{10}$. Houve aumento do HY de 0,15 ± 0,14 para 0,54 ± 0,23 mol H_2 mol $^{-1}$ hexose, com a redução do TDH de 8 h para 4 h. Ao decrescer o TDH de 4 h para 1 h, observou-se redução do HY para 0,23 ± 0,03 mol H_2 mol $^{-1}$ hexose.

Tabela 5.8 - Valores médios do HY no $EGSB_{10}$

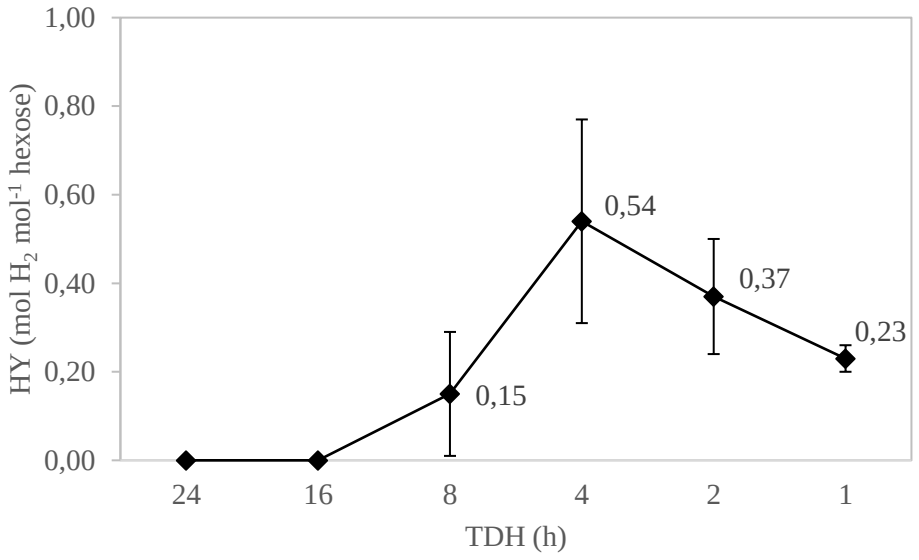
Fase	**TDH (h)**	**TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})**	**HY (mol H_2 mol^{-1} hexose)**
1	24	10,8	0,00 ± 0,00$^{(8)}$
2	16	15,8	0,00 ± 0,00$^{(8)}$
3	8	30,7	0,15 ± 0,14$^{(8)}$
4	4	59,6	0,54 ± 0,23$^{(7)}$
5	2	113,3	0,37 ± 0,13$^{(6)}$
6	1	233,0	0,23 ± 0,03$^{(6)}$

HY: rendimento de hidrogênio.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.7 - Rendimento de hidrogênio médio para cada TDH aplicado no $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Na Tabela 5.9 e Figura 5.8 está exposto o HY do $EGSB_{15}$ de acordo com os TDH aplicados. Neste reator o HY apresentou o mesmo comportamento da PVH, aumentando de 0,21 ± 0,07 para 0,73 ± 0,07 mol H_2 mol $^{-1}$ hexose ao reduzir o TDH de 4 h para 2 h. Ao decrescer o TDH de 2 h para 1h, verificou-se redução do HY para 0,44 ± 0,11 mol H_2 mol $^{-1}$ hexose.

Tabela 5.9 - Valores médios do HY no $EGSB_{15}$

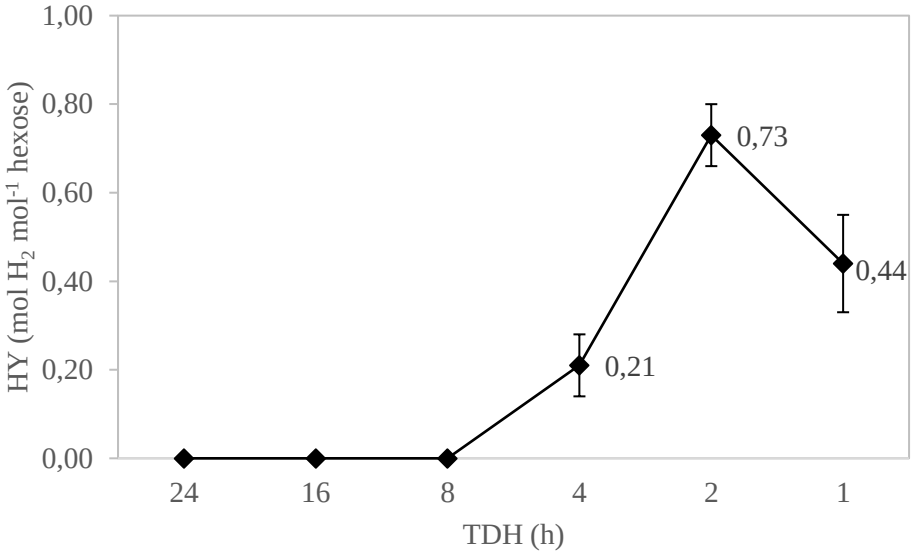
Fase	**TDH (h)**	**TCO ($kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1})**	**HY (mol H_2 mol^{-1} hexose)**
1	24	14,5	0,00 ± 0,00$^{(8)}$
2	16	23,2	0,00 ± 0,00$^{(8)}$
3	8	45,7	0,00 ± 0,00$^{(8)}$
4	4	91,8	0,21 ± 0,07$^{(7)}$
5	2	182,9	0,73 ± 0,07$^{(6)}$
6	1	348,0	0,44 ± 0,11$^{(7)}$

HY: rendimento de hidrogênio.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.8 - Rendimento de hidrogênio médio para cada TDH aplicado no $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Assim como no caso da redução do consumo de substrato (discutida no item 5.1), a sobrecarga do sistema devido à elevação da TCO, pode ser a causa do decréscimo do HY na redução do TDH de 4 para 2 h no $EGSB_{10}$, e de 2 para 1 h no $EGSB_{15}$. Nualsri, Kongjan, Reungsang (2016) avaliaram a produção de H_2 em CSTR (37 °C) contendo cultura pura (*Clostridium butyricum*) para a concentração afluente de caldo de cana fixa em 25 g L^{-1}. Houve aumento do HY de 0,3 para 1,34 mol H_2 mol^{-1} hexose com o decréscimo do TDH de 12 a 3 h. Entretanto, o HY decaiu para 1,28 mol H_2 mol^{-1} hexose com a redução do TDH de 3 para 2 h.

Independendo da natureza do substrato, a sobrecarga do sistema com a elevação da TCO foi reportada por outros pesquisadores (SHIDA et al., 2009, 2012; WU; CHU; SHEN, 2012; FERRAZ JÚNIOR et al., 2014).

Santos et al., (2014b) analisando o efeito do TDH (8 a 1 h) na produção de H_2 a partir da vinhaça (30 gDQO L^{-1}) em RALF (55 °C), observaram aumento do HY para 0,79 mmol H_2 $gDQO_{adicionada}^{-1}$ ao reduzir o TDH de 8 para 6 h. E redução do HY para 0,19 mmol H_2 $gDQO_{adicionada}^{-1}$ ao decrescer o TDH para 0,5 h.

Sivagurunathan et al. (2016) avaliando o efeito do TDH (3 a 1,5 h) na produção de H_2 em reator UASB (37 °C) alimentado com galactose (15 g L^{-1}), observaram aumento do HY de 1,47 para 2,25 mol H_2 mol^{-1} hexose ao decrescer o TDH de 3 para 2 h. Entretanto, ao reduzir o TDH para 1,5 h, houve a redução do HY para 1,44 mol H_2 mol^{-1} hexose.

Ottaviano et al. (2017) operaram RALF (55 °C) para a produção de hidrogênio a partir do soro de queijo (4,9 $g_{lactose}$ L^{-1}) com TDH variando de 8 a 0,5 h. O HY aumentou de 2,50 para

3,67 mol H_2 mol^{-1} lactose ao decrescer o TDH de 8 para 4 h. Contudo, a redução do TDH para 0,5 h ocasionou no decréscimo do HY para 0,57 mol H_2 mol^{-1} lactose.

Na Tabela 5.10 é possível comparar a produtividade de hidrogênio deste trabalho, com a de estudos sobre produção de hidrogênio a partir do caldo de cana relatados na literatura.

Observa-se que apesar da PVH dos $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ serem superiores as dos estudos apresentados, os HY são inferiores.

A utilização de cultura pura nos estudos apresentados na Tabela 5.10 é uma hipótese para os HY serem superiores aos do presente estudo, em que foi utilizada cultura mista. Diferentemente de um sistema contendo culturas puras, um sistema anaeróbio de produção contendo culturas mistas pode conter microrganismos consumidores de hidrogênio, como bactérias homoacetogênicas (WANG; WEI, 2008).

No estudo de Tunçay et al. (2017) em bateladas (35 °C) utilizando cultura mista pré-tratada termicamente na produção de H_2 a partir da sacarose (30 gDQO L^{-1}), foi observado HY de 0,34 mol H_2 mol^{-1} hexose. Resultado inferior aos de Plangklang, Reungsang e Pattra (2012) (HY igual a 1,34 mol H_2 mol^{-1} hexose) e Nualsri, Reungsang e Plangklang (2016) (HY igual a 1,40 mol H_2 mol^{-1} hexose), ambos utilizando caldo de cana (25 g L^{-1}) nos testes em batelada com cultura pura imobilizada (*Clostridium butyricum*).

Tabela 5.10 - Desempenho dos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ na produção de hidrogênio comparado à literatura utilizando caldo de cana como substrato orgânico

Reator	**Caldo ($g\ L^{-1}$)**	**Temperatura (°C)**	**TDH ótimo (h)**	**Inóculo**	**HY ($mol\ H_2\ mol^{-1}$ hexose)**	**PVH ($L\ d^{-1}\ L^{-1}$)**	**Referência**
CSTR	25	37	4	*C. butyricum*	1,00	2,09	Pattra et al. (2011)
Batelada	25	37	-	*C. butyricum*	1,34	3,11	Plangklang, Reungsang, Pattra (2012)
Batelada	25	30	-	*C. butyricum*	1,40	-	Nualsri, Reungsang, Plangklang (2016)
CSTR	25	37	3	*C. butyricum*	1,32	17,50	Nualsri, Kongjan, Reungsang (2016)
	5		1	Cultura mista	0,21	6,96	
EGSB	10	30	1	Cultura mista	0,54	19,14	Este estudo
	15		2	Cultura mista	0,73	52,4	

Fonte: Elaborado pela autora (2018)

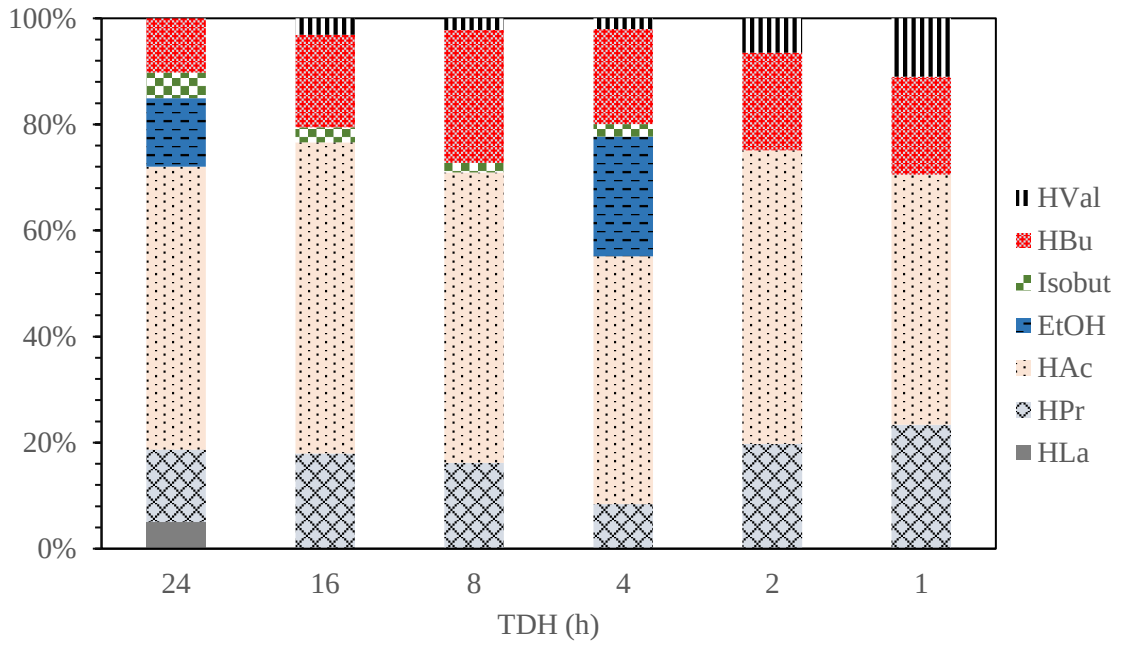
5.5 METABÓLITOS SOLÚVEIS PRODUZIDOS

A capacidade de autorregulação dos microrganismos é a chave do equilíbrio químicos nos reatores. Ou seja, para manter o equilíbrio entre a célula e meio, as bactérias desviam as rotas metabólicas (KLEEREBEZEM; VAN LOOSDRECHT, 2010). O diagnóstico dos metabólitos líquidos produzidos possibilita a depreensão das rotas seguidas e consequentemente formação de hipóteses acerca da variáveis operacionais que influenciaram o metabolismo microbiano.

5.5.1 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_5$

Os principais metabólitos produzidos no $EGSB_5$ foram: HAc, HPr, HBu e ácido valérico (HVal). O HLa foi detectado em pequena concentração (0,17 g L^{-1}) apenas no TDH de 24 h. O EtOH foi detectado igualmente em pequena concentração apenas nos TDH de 24 h (0,22 g L^{-1}) e 4 h (0,57 g L^{-1}). Os percentuais molares relativos dos metabólitos estão dispostos na Figura 5.9. As demais concentrações dos metabólitos estão dispostas na Tabela 5.11.

Figura 5.9 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_5$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.11 - Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_5$

	Metabólitos	**TDH (h)**					
		24	**16**	**8**	**4**	**2**	**1**
g L^{-1}	HLa	0,17 ± 0,06	ND	ND	ND	ND	ND
%		5,0					
g L^{-1}	HPr	0,37 ± 0,06	0,46 ± 0,05	0,43 ± 0,16	0,34 ± 0,08	0,49 ± 0,05	0,62 ± 0,14
%		14,0	18,0	16,0	8,0	20,0	23,0
g L^{-1}	HAc	1,19 ± 0,12	1,22 ± 0,12	1,17 ± 0,26	1,53 ± 0,34	1,12 ± 0,13	1,02 ± 0,20
%		53,0	59,0	55,0	47,0	55,0	47,0
g L^{-1}	EtOH	0,22 ± 0,06	ND	ND	0,57 ± 0,01	ND	ND
%		13,0			23,0		
g L^{-1}	HIsoBu	0,16 ± 0,03	0,09 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,11 ± 0,01	ND	ND
%		5,0	3,0	2,0	2,0		
g L^{-1}	HBu	0,33 ± 0,14	0,53 ± 0,08	0,78 ± 0,09	0,86 ± 0,08	0,55 ± 0,13	0,59 ± 0,01
%		10,0	17,0	25,0	18,0	18,0	18,0
g L^{-1}	HVal	ND	0,11 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,11 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,40 ± 0,08
%			3,0	2,0	2,0	6,0	11,0

HLa: ácido lático; HPr: ácido propiônico; HAc: ácido acético; HMa: ácido málico; HFo: ácido fórmico; HSuc: ácido succínico; EtOH: etanol; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HVal: ácido valérico; HCa: ácido capróico; ND: não detectado.

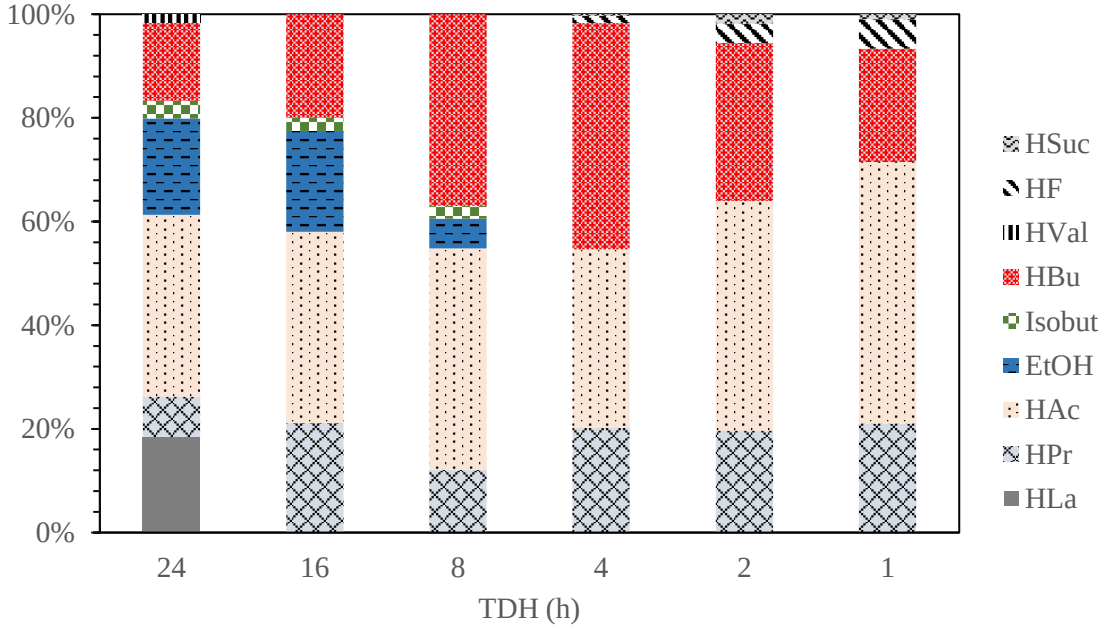
Constatou-se predominância de HAc em todas os TDH aplicados. Nos TDH de 24, 16 e 8 h as concentrações de HAc permaneceram constantes, e foram de 1,19; 1,22 e 1,17 g L^{-1}, respectivamente. Ao decrescer o TDH de 4 a 1 h, observou-se decréscimo da concentração de HAc de 1,53 para 1,02 g L^{-1}. Contudo o percentual molar do HAc em todos os TDH manteve-se entre 47,0 e 59,0 % em relação aos demais metabólitos.

Comportamento semelhante ao do HAc foi observado para o HPr nos TDH de 24 a 8 h. O percentual molar do HPr manteve-se entre 14,0 e 18,0 % para estes TDH. Entretanto, ao decrescer o TDH de 4 a 1 h, a concentração aumentou de 0,34 para 0,62 g L^{-1} para o HPr, com acréscimo no percentual molar de 8,0 para 23,0 %. Na redução do TDH de 4 a 1 h observou-se o acréscimo igualmente do percentual molar de HVal de 2,0 para 11,0 %, com aumento da concentração de HVal de 0,11 para 0,40 g L^{-1}. A concentração de HBu aumentou de 0,33 para 0,86 com o decréscimo do TDH de 8 para 4 h. O percentual molar de HBu permaneceu constante (18,0 %) ao reduzir o TDH de 4 a 1 h.

5.5.2 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_{10}$

No $EGSB_{10}$ os metabólitos produzidos continuamente em todos os TDH se restringiram a HAc, HBu e HPr. Os percentuais molares relativos dos metabólitos estão dispostos na Figura 5.10. As demais concentrações dos metabólitos podem ser visualizadas na Tabela 5.12.

Figura 5.10 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.12- Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_{10}$

	Metabólitos	**TDH (h)**					
		24	**16**	**8**	**4**	**2**	**1**
g L^{-1}	HLa	1,36 ± 0,12	ND	ND	ND	ND	ND
%		18,0					
g L^{-1}	HPr	0,47 ± 0,20	0,93 ± 0,13	0,71 ± 0,22	0,76 ± 0,16	1,21 ± 0,23	1,25 ± 0,29
%		8,0	21,0	12,0	20,0	20,0	21,0
g L^{-1}	HAc	1,72 ± 0,54	1,32 ± 0,09	2,03 ± 0,30	1,05 ± 0,14	2,20 ± 0,29	2,43 ± 0,41
%		35,0	37,0	43,0	34,0	44,0	50,0
g L^{-1}	HFo	ND	ND	ND	ND	0,14 ± 0,03	0,21 ± 0,10
%						4,0	6,0
g L^{-1}	HSuc	ND	ND	ND	ND	0,18 ± 0,04	0,09 ± 0,04
%						2,0	1,0
g L^{-1}	EtOH	0,70 ± 0,21	0,53 ± 0,11	0,21 ± 0,05	ND	ND	ND
%		19,0	19,0	6,0			
g L^{-1}	HIsoBu	0,25 ± 0,07	0,13 ± 0,03	0,17 ± 0,03	ND	ND	ND
%		3,0	3,0	2,0			
g L^{-1}	HBu	1,09 ± 0,47	1,05 ± 0,19	2,57 ± 0,31	1,95 ± 0,35	2,22 ± 0,11	1,55 ± 0,48
%		15,0	20,0	37,0	44,0	30,0	22,0

HLa: ácido lático; HPr: ácido propiônico; HAc: ácido acético; HMa: ácido málico; HFo: ácido fórmico; HSuc: ácido succínico; EtOH: etanol; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HVal: ácido valérico; ND: não detectado.

Os ácidos com concentrações representativas no $EGSB_{10}$ em todos os TDH foram o HAc e HBu. O percentual molar relativo de HAc aumentou de 35,0 para 43,0 % ao decrescer o TDH de 24 para 8 h. Houve decréscimo do percentual de HAc de 43,0 para 34,0 % ao reduzir o TDH de 8 para 4 h. Entretanto, o percentual de HAc retomou o crescimento de 34,0 % para 54,0 % ao reduzir o TDH de 4 para 1 h. As concentrações mínima e máxima de HAc foram de 1,05 e 2,43 g L^{-1} nos TDH de 4 e 1 h, respectivamente.

O percentual molar relativo de HBu aumentou de 15,0 para 44,0 % ao decrescer o TDH de 24 para 4 h. Com redução para 22,0 % ao decrescer o TDH para 1 h. As concentrações mínima e máxima de HBu foram de 1,05 e 2,57 g L^{-1} nos TDH de 16 e 4 h, respectivamente. Observa-se que a concentração, e portanto percentual máximo de HBu, coincide com a concentração mínima de HAc no TDH de 4 h, em que se observou HY máximo (0,54 mol H_2 mol^{-1} hexose).

O HPr foi detectado em todos os TDH, com concentração mínima de 0,47 g L^{-1} no TDH de 24 h. A concentração de HPr aumentou de 0,71 para 1,25 g L^{-1} ao decrescer o TDH de 8 para 1 h, entretanto o percentual molar relativo de HPr permaneceu constante em aproximadamente 20,0 % nesses TDH.

O EtOH e o ácido isobutírico (HIsoBu) foram detectados somente nos TDH de 24 a 8 h. Enquanto o percentual molar relativo de EtOH decresceu de 19,0 para 6,0 %, o percentual e HIso permaneceu constante (3,0 %) ao decrescer o TDH de 24 para 8 h. Os ácidos fórmico (HFo) e succínico (HSuc) foram detectados somente nos TDH de 2 e 1 h. As concentrações de HFo foram de 0,14 e 0,21 g L^{-1}, e as de HSuc foram de 0,18 e 0,09 g L^{-1} nos TDH de 2 e 1 h, respectivamente.

5.5.3 Metabólitos solúveis detectados durante a operação do reator $EGSB_{15}$

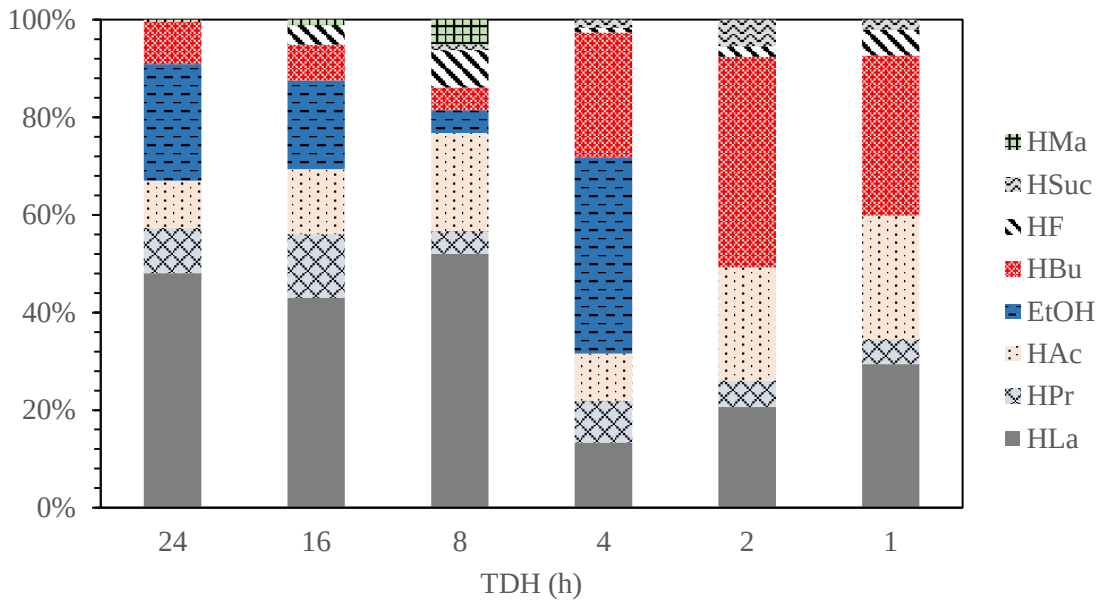
Os principais metabólitos produzidos no $EGSB_{15}$ foram: HLa, HAc, HBu e HPr. Os HFo, HSu e ácido málico (HMa) foram detectados em pequenas concentrações. A concentração de HMa aumentou de 0,07 para 0,69 g L^{-1} com o decréscimo do TDH de 24 para 8 h, e foi inexistente nos demais TDH. A concentração de HFo permaneceu entre 0,11 e 0,69 g L^{-1} para os TDH de 16 a 1 h, enquanto a concentração de HSuc (entre 0,14 e 0,69 g L^{-1}) foi detectada somente nos TDH de 8 a 1 h. As demais concentrações dos metabólitos estão dispostas na Tabela 5.13. Os percentuais molares relativos dos metabólitos estão dispostos na Figura 5.11.

Tabela 5.13 - Concentração (g L^{-1}) e fração molar (%) dos metabólitos detectados durante a operação do $EGSB_{15}$

	Metabólitos	**TDH (h)**					
		24	**16**	**8**	**4**	**2**	**1**
g L^{-1}	HLa	4,73 ± 0,55	3,22 ± 0,80	4,76 ± 0,36	1,54 ± 0,43	1,99 ± 0,13	2,75 ± 0,38
%		48,0	43,0	52,0	13,0	21,0	29,0
g L^{-1}	HPr	0,76 ± 0,41	0,80 ± 0,16	0,35 ± 0,18	1,00 ± 0,14	0,43 ± 0,14	0,40 ± 0,12
%		9,0	13,0	5,0	9,0	5,0	5,0
g L^{-1}	HAc	0,63 ± 0,06	0,66 ± 0,16	1,23 ± 0,70	1,11 ± 0,19	1,49 ± 0,10	1,58 ± 0,21
%		10,0	13,0	20,0	10,0	23,0	25,0
g L^{-1}	HMa	0,07 ± 0,05	0,13 ± 0,06	0,69 ± 0,49	ND	ND	ND
%		0,0	1,0	5,0			
g L^{-1}	HFo	ND	0,15 ± 0,03	0,36 ± 0,14	0,11 ± 0,03	0,69 ± 0,11	0,25 ± 0,13
%			4,0	8,0	1,0	2,0	5,0
g L^{-1}	HSuc	ND	ND	0,14 ± 0,03	0,20 ± 0,05	0,69 ± 0,11	0,25 ± 0,06
%				1,0	2,0	5,0	2,0
g L^{-1}	EtOH	1,20 ± 0,21	0,70 ± 0,12	0,22 ± 0,05	4,66 ± 1,26	ND	ND
%		24,0	18,0	5,0	40,0		
g L^{-1}	HBu	0,83 ± 0,45	0,54 ± 0,16	0,42 ± 0,15	2,96 ± 0,51	4,07 ± 0,74	3,00 ± 0,73
%		9,0	7,0	5,0	26,0	43,0	33,0

HLa: ácido lático; HPr: ácido propiônico; HAc: ácido acético; HMa: ácido málico; HFo: ácido fórmico; HSuc: ácido succínico; EtOH: etanol; HIsoBu: ácido isobutírico; HBu: ácido butírico; HVal: ácido valérico; HCa: ácido capróico; ND: não detectado.

Figura 5.11 - Porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos no $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

O HLa foi o metabólito predominante nos TDH de 24 a 8 h. Com percentual molar relativo entre 43,0 e 52,0 %, a concentração de HLa foi de 4,73; 3,22 e 4,76 g L^{-1} para os TDH de 24, 16 e 8 h, respectivamente. Houve decréscimo da concentração (percentual molar) de HLa de 4,76 g L^{-1} (52,0 %) para 1,74 g L^{-1} (13,0 %) ao reduzir o TDH de 8 para 4 h. Visualizou-se novo acréscimo da concentração (percentual molar) de HLa de 1,74 g L^{-1} (13,0 %) para 2,75 g L^{-1} (29,0 %) ao reduzir o TDH de 4 para 1 h.

Foi observada redução na concentração de EtOH de 1,20 para 0,22 g L^{-1} ao decrescer o TDH de 24 a 8 h. No TDH de 4 h a concentração de EtOH foi expressiva (4,66 g L^{-1}), correspondendo a 40,0 % do total de metabólitos no $EGSB_{15}$ para o TDH mencionado. Nos demais TDH aplicados (2 e 1 h) não foi detectado EtOH, ficando clara a alteração da comunidade microbiana no reator com a elevação da TCO. A confirmação da afirmação só pode ser realizada mediante análise microbiológica da biomassa presente no $EGSB_{15}$.

Ao contrário do HLa, os HAc e HBu foram detectados em baixas concentrações nos TDH de 24 a 8 h. A concentração de HAc (percentual molar) aumentou de 0,63 g L^{-1} (10,0 %) para 1,23 g L^{-1} (20,0 %) com o decréscimo do TDH de 24 para 8 h. Nos demais TDH aplicados, o percentual molar relativo de HAc não foi superior a 25,0 %. Diferentemente do HBu, que apesar da baixa concentração no TDH de 24 a 8 h (máximo de 0,83 g L^{-1}), apresentou percentual molar de 43,0 % no TDH de 2 h. Destaca-se que para o percentual máximo de HBu (4,07 g L^{-1} de HBu) foram observadas PVH e HY máximas para o reator.

5.5.4 Análise comparativa dos metabólitos produzidos nos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$

A ausência de hidrogênio no $EGSB_5$, apesar da elevada porcentagem de HAc em todos os TDH aplicados (>47,0 %), pode estar atrelada a ocorrência de homoacetogênese no reator ($2CO_2 + 4H_2 \rightarrow C_2H_4O_2 + 2H_2O$). O ΔG da formação de HAc a partir do consumo de H_2 é termodinamicamente favorável (-94,9). Esta mesma hipótese pode ser levantada para ausência, ou baixo $\%H_2$ nos TDH de 24 a 8 h no $EGSB_{10}$, pois visualiza-se percentual de HAc superiores a 35 % nesses TDH. A homoacetogênese foi a justificativa apontada por Rego (2016) ao operar RALF mesofílico (30 °C) com concentração de caldo afluente de 5 gDQO L^{-1}. O autor não observou hidrogênio no biogás produzido nos TDH de 6 a 2 h, apesar do percentual de HAc ter se mantido entre 56 % e 79 %.

Os cálculos de $H_{2\text{-teórico}}$ (Eq. (13)) (LUO et al., 2011) e $Ac_{homoac.}$ (Eq. (14)) (AROOJ et al., 2008a; LUO et al., 2011) estão dispostos nas Tabelas 5.14, 5.15 e 5.16 para o $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente.

Tabela 5.14 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_5$

TDH	**HAc**	**HPr**	**HBu**	**Prod. molar de H_2**	**H_2 teórico**	**$HAc_{homoac.}$**	
(h)		mmol/L		mmol/dia	mol H_2/mol hexose	mmol/dia	mmol/L
24	19,79	5,05	3,78	0,00	1,52	14,44	7,02
16	20,33	6,23	6,04	0,00	1,68	23,00	7,75
8	19,43	5,76	8,90	0,00	1,83	49,78	8,48
4	25,46	4,59	9,77	0,00	2,37	119,25	10,98
2	18,70	6,67	6,23	0,00	1,56	162,81	7,20
1	16,97	8,42	6,64	235,26	1,40	263,69	5,63

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.15 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_{10}$

TDH	**HAc**	**HPr**	**HBu**	**Prod. molar de H_2**	**H_2 teórico**	**$HAc_{homoac.}$**	
(h)		mmol/L		mmol/dia	mol H_2/mol hexose	mmol/dia	mmol/L
24	28,68	6,35	12,39	0,00	1,37	26,77	12,63
16	21,96	12,58	11,92	0,00	0,99	28,42	9,20
8	33,75	9,53	29,19	37,43	2,10	110,49	18,36
4	17,45	10,22	22,15	386,64	1,24	70,01	5,99
2	36,68	16,28	25,22	458,11	1,94	321,96	14,48
1	40,40	16,87	17,55	601,58	1,78	654,06	14,31

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.16 - Cálculo do H_2 teórico e do HAc teórico produzido pela homoacetogênese no $EGSB_{15}$

TDH	**HAc**	**HPr**	**HBu**	**Prod. molar de H_2**	**H_2 teórico**	**$HAc_{homoac.}$**	
(h)		mmol/L		mmol/dia	mol H_2/mol hexose	mmol/dia	mmol/L
24	10,50	10,21	9,44	0,00	0,36	6,59	4,95
16	11,04	10,86	6,11	0,00	0,28	8,34	3,91
8	20,44	4,71	4,73	0,00	0,55	31,97	7,60
4	18,56	13,53	33,60	128,54	1,09	106,39	12,60
2	24,79	5,82	46,17	884,73	1,63	234,31	13,92
1	26,25	5,37	34,00	815,34	1,38	478,40	14,94

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Na Tabela 5.17 visualiza-se a concentração estimada de $HAc_{homoac.}$ em relação ao HAc total detectado para cada reator ($HAc_{homo/total}$).

Tabela 5.17 - Concentração de HAc produzido pelo consumo de H_2 em relação ao total detectado nos reatores

TDH (h)	**$HAc_{homo./total}$**		
	$EGSB_5$	$EGSB_{10}$	$EGSB_{15}$
24	35%	44%	47%
16	38%	42%	36%
8	44%	54%	37%
4	43%	34%	68%
2	39%	40%	56%
1	33%	35%	57%

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Observa-se por meio da Tabela 5.17 que a homoacetogênese provavelmente ocorreu nos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$. O fenômeno não é totalmente inesperado, visto que, o tratamento térmico não seleciona exclusivamente as bactérias produtoras de hidrogênio. Assim como as bactérias produtoras de H_2, as homoacetogênicas, *Acetobacterium* e *Sporomusa* por exemplo, são esporulantes e tolerantes ao tratamento térmico (KRAEMER; BAGLEY, 2007). A confirmação da homoacetogênese pode ser realizada mediante análise microbiológica da biomassa dos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$. Contudo, demais estudos levantaram a hipótese de homoacetogênese com base na análise do HY e das concentrações dos metabólitos detectados durante a operação dos reatores (KIM; HAN; SHIN, 2006; SI et al., 2015; MURI et al., 2018).

Os valores de $HAc_{homo/total}$ se mostraram independentes da concentração de carboidratos afluente, com médias para os $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ entre 39,0 e 50,0 %. Média semelhante foi detectada no estudo de Arooj et al. (2008a). Os autores observaram $HAc_{homo/total}$ de 41 % durante a produção de H_2 em CSTR (35 °C) utilizando amido como substrato (20 gDQO L^{-1}), com TDH decrescendo de 18 a 4 h. Assim como no presente estudo, Arooj et al. (2008a) relataram baixo HY (máximo de 0,92 mol H_2 mol^{-1}hexose) atribuído ao consumo do H_2 produzido. Os autores sugeriram que a rota de produção de HBu foi responsável pelo H_2 detectado no reator. A mesma afirmação é válida para o $EGSB_{15}$ (20,07 gDQO L^{-1}), visto que, nos TDH em que houveram produção de H_2 (4 a 1 h) a $HAc_{homo/total}$ foi superior a 50,0 % e o HBu foi o metabólito predominante.

Arooj et al. (2008b), avaliando a produção de H_2 a partir do amido (20 gDQO L^{-1}) em reatores de bateladas sequenciais (ASBR) (35 °C), observaram que a $HAc_{homo/total}$ permaneceu em 40,0 % para os TDH decrescendo de 18 a 4 h. O HY seguiu comportamento semelhante ao

de Arooj et al. (2008a), com valor máximo de 0,51 mol H_2 mol^{-1} $hexose_{add}$ (0,52 mol H_2 mol^{-1} hexose, considerando o consumo de 97,75 %) para o TDH de 12 h.

A $HAc_{homo/total}$ se mostrou além de independente da concentração, independente da natureza do substrato. Comprovando esta afirmação, visualiza-se a $HAc_{homo/total}$ média de 46,0 % observada por Castelló et al. (2018) na produção de H_2 em CSTR (30 °C) a partir de soro de queijo (30 gDQO L^{-1}). Os autores ainda constataram a homoacetogênese analisando a relação entre o $H_{2\text{-teórico}}$ e o HY. O $H_{2\text{-teórico}}$ foi 7 vezes superior ao HY máximo obtido (0,9 mol H_2 mol^{-1}lactose).

No presente estudo, nota-se a possível homoacetogênese também ao observar que $H_{2\text{-teórico}}$ foi de 2 a 8 vezes superior ao HY para o $EGSB_{10}$, e de 2 a 5 vezes superior ao HY para o $EGSB_{15}$ nos TDH de 4 a 1 h. A análise em relação ao $H_{2\text{-teórico}}$ e o HY pode ser visualizada para o $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ nas Figuras 5.12, 5.13 e 5.14, respectivamente. Resultado semelhante de $H_{2\text{-teórico}}$ 2 a 4 vezes superior ao HY, foi observado por Gavala, Skiadas e Ahring (2006), ao avaliar a produção de H_2 em UASB (35 °C) a partir da glicose (10 g L^{-1}) inoculado com cultura mista termicamente pré-tratada, decrescendo o TDH de 12 a 2 h. Os resultados verificados pelos autores, como elevado consumo de carboidrato (> 87,0%), HY entre (0,80 e 0,50 mol H_2 mol^{-1} hexose) e HAc, HBu e EtOH como metabólitos predominantes, foram próximos aos do presente estudo para o $EGSB_{10}$ (10 g L^{-1}). O $EGSB_{10}$ apresentou remoção de carboidrato superior a 93,0%, HY máximo de 0,54 mol H_2 mol^{-1} hexose e HAc e HBu como metabólitos predominantes.

Figura 5.12 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_5$

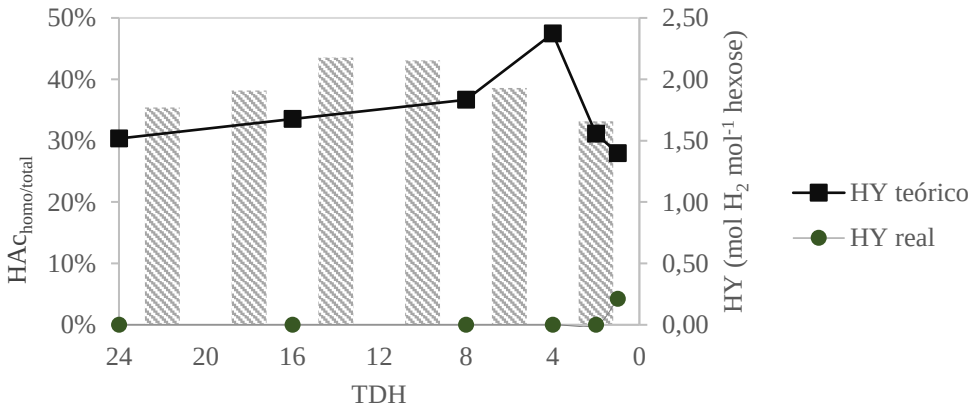


Figura 5.13 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_{10}$

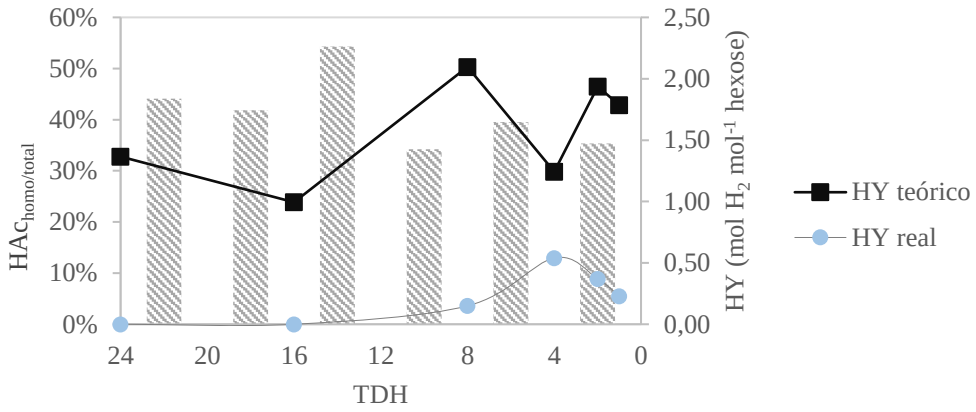
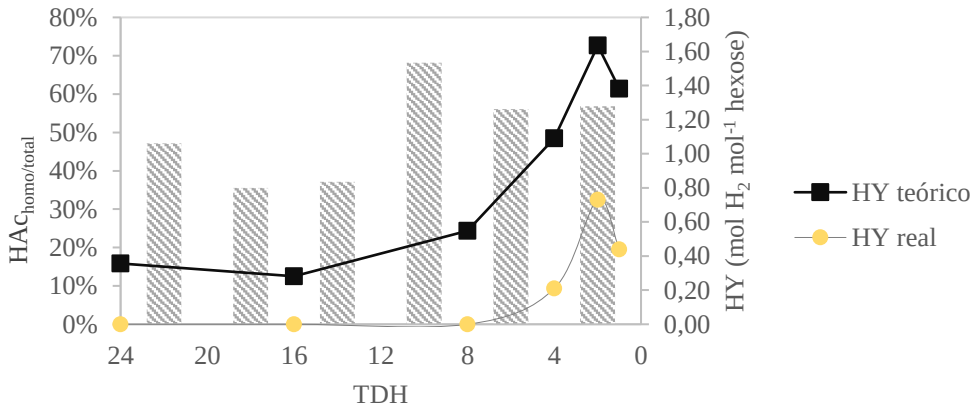


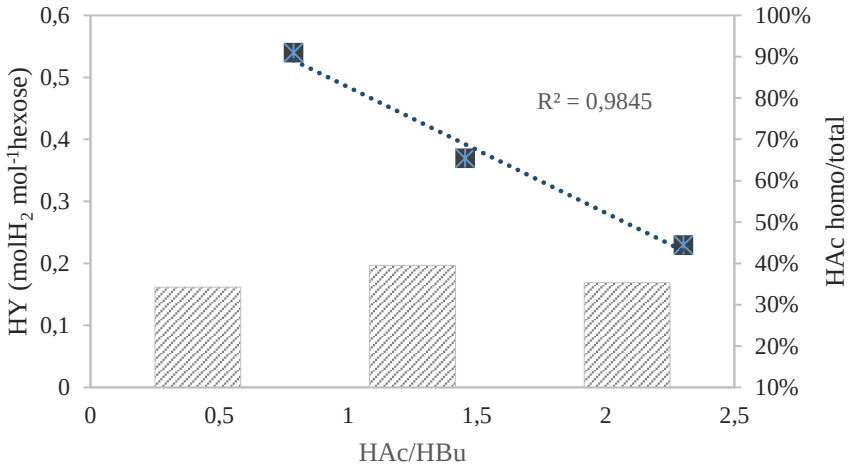
Figura 5.14 - $H_{2\text{-teórico}}$, HY e sua relação com o $HAc_{homo/total}$ no $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborados pela autora (2018).

Devido à provável ocorrência de homoacetogênese nos reatores, o H_2 detectado não pode ser inteiramente atribuído a presença de HAc, atribui-se então, a produção de H_2 à rota de produção de HBu no $EGSB_{15}$. Munoz-Páez et al. (2013) definiram ainda que para a relação HAc/HBu < 0,79, a rota butírica é predominante. No $EGSB_{15}$ foi observada HAc/HBu de 1,11; 1,80 e 4,32 para os TDH de 24, 16 e 8 h, respectivamente, coincidentes com a não detecção de H_2. Contudo, para os TDH de 4, 2, e 1 h, em que houve produção de H_2, a HAc/HBu foi de 0,55; 0,53 e 0,77, nesta ordem. Para o $EGSB_{10}$ o HY máximo (0,54 mol H_2 mol^{-1}hexose) foi coincidente com a ocorrência de rota butírica no TDH de 4 h (HAc/HBu igual a 0,78). Para o $EGSB_{10}$, o decaimento do HY teve elevada correlação (R^2 = 0,9845) com a elevação da HAc/HBu, para a produção de HAc via homoacetogênese constante (Figura 5.15).

Figura 5.15 - Correlação entre o HY e a HAc/HBu para o $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

No TDH de 2 h em que foi observado HY máximo de 0,73 mol H_2 mol^{-1} hexose no $EGSB_{15}$, o metabólito com concentração mais expressiva foi o HBu (43 % do total de metabólitos). Em comparação ao rendimento teórico obtido na conversão de sacarose a HBu, em que 4 mol de H_2 são formados para cada mol de sacarose (item 3.4.1 - Eq. (6)), infere-se que apenas 37 % do substrato foi convertido em H_2 no TDH ótimo para o $EGSB_{15}$.

Do mesmo modo, Pattra et al. (2011) em CSTR (37 °C) inoculado com cultura pura (*Clostridium butyricum*) alimentado com caldo de cana igual (25 g L^{-1}), observaram que o HBu foi o metabólito de concentração mais elevada (9,5 gDQO L^{-1}) no TDH ótimo (4 h). Entretanto, a relação HAc/HBu no TDH de 4 h foi igual a 1,02, o que indica concentrações de HBu e HAc aproximadas. Portanto, o HAc (item 3.4.1 - Eq. (6)) com rendimento teórico superior ao HBu, pode ser a causa da superioridade do HY visualizado por Pattra et al. (2011) (1,00 mol H_2 mol^{-1} hexose) em relação ao HY máximo obtido neste estudo no $EGSB_{15}$ (20,07 gDQO L^{-1}) (0,73 mol H_2 mol^{-1} hexose).

A rota butírica foi sugerida por Plangklang, Reungsang, Pattra (2012) e Nualsri, Reungsang, Plangklang, 2016) em estudos batelada mesofílicos (37 °C/30 °C) utilizando o caldo de cana (25 gDQO L^{-1}) a partir de cultura pura, portanto reduzindo as possibilidades de ocorrência de homoacetogênese.

Nualsri, Kongjan e Reungsang (2016) aplicando caldo igualmente na concentração de 25 gDQO L^{-1} em CSTR (37 °C), visualizaram também a rota butírica como sendo preponderante na operação, com detecção de HLa e EtOH. Pattra et al. (2011), verificaram concentração de HLa variando de 24,0 a 34,0 % e de EtOH variando de 17,0 a 29,0 % ao

decrescer o TDH de 36 para 4 h. Com o somatório do percentual relativo de HLa e EtOH igual a 63,0 % para o TDH de maior HY (1,00 molH_2 mol^{-1}hexose), os autores declararam possibilidade de produção simultânea de EtOH e H_2.

A visualização de HLa e EtOH no processo de digestão anaeróbia se deriva da produção de HLa pela rota heterolática (ZHOU et al., 2017). *Lactobacillus brevis*, *L. fermentum*, *L. parabuchneri* e *L. reuteri*, são exemplos de microrganismos que degradam a glicose formando HLa e EtOh (heterofermentativos obrigatórios) (CASTILLO MARTINEZ et al., 2013). A identificação dos microrganismos heterofermentativos obrigatórios no $EGSB_{15}$, em que houve produção conjunta de HLa e EtOH pode ser confirmada somente mediante análise microbiológica da biomassa do reator.

No CSTR (37 °C) alimentado com caldo de cana (25 gDQO L^{-1}) operado por Nualsri, Kongjan e Reungsang (2016), a concentração de HLa inicialmente elevada (7,20 gDQO L^{-1}) decresceu para 2,20 gDQO L^{-1} ao reduzir o TDH de 12 para 2 h. O inverso foi observado para a concentração de HBu que aumentou de 3,00 para 6,70 gDQO L^{-1}, coincidindo com e elevação de HY de 0,30 para 1,30 molH_2 mol^{-1} hexose ao reduzir o TDH de 12 para 3 h. Comportamento semelhante ao do CSTR foi observado pelo $EGSB_{15}$ deste estudo, com redução da concentração de HLa de 4,73 para 1,99 g L^{-1} e aumento da concentração de HBu de 0,83 para 4,07 g L^{-1} com o decréscimo do TDH de 24 para 2 h (HY máximo de 0,73 molH_2 mol^{-1}hexose).

Os estudos detalhados indicam que apesar da fermentação a HLa não ser benéfica à produção de H_2 devido à competição pelo substrato (Eq. (7)), ambos os metabólitos podem ser detectados simultaneamente (PATTRA et al., 2011; NUALSRI; KONGJAN; REUNGSANG, 2016). Pugazhendhi et al. (2017), avaliando a produção de H_2 a partir de glicose (15 g L^{-1}) em reator anaeróbio de leito fixo (37 °C) inoculado com cultura mista termicamente pré- tratada e decrescendo o TDH de 12 a 1,5 h, visualizaram elevada concentração de HLa junto ao TDH de maior produção de H_2 (1,5 h). Inferindo rota butírica, os autores observaram PVH de 5,46 a 78,4 L d^{-1} L^{-1} e HY de 1,30 a 2,33 mol H_2 mol^{-1} hexose com a redução do TDH de 12 a 1,5 h.

O $EGSB_{15}$ do presente estudo apresentou HY inferiores aos do trabalho desenvolvido por Pugazhendhi et al. (2017), contudo a PVH dos reatores foram semelhantes (Figura 5.6), com percepção dos mesmos metabólitos gerados (HBu, HAc, HPr e HLa). Apesar do HY inferior, a maior PVH volumétrica do $EGSB_{15}$ do presente estudo pode ser explicada pela configuração do reator. O EGSB proporciona elevado desprendimento do H_2 dissolvido quando comparado ao reator anaeróbio de leito fixo, devido a turbulência gerada pela maior velocidade ascensional (NGOMA et al., 2011).

5.6 DEMAIS VARIÁVEIS OPERACIONAIS INFLUENTES

5.6.1 pH

No geral, os metabólitos líquidos e gasosos produzidos em sistemas anaeróbios em que são utilizadas culturas microbianas dependem fortemente do pH. Para cada metabólito há uma faixa ótima de pH em que seu microrganismo produtor é beneficiado, ou coibido (ANTONOPOULOU et al., 2008). Um exemplo desta afirmação, é a inibição da produção de HPr na faixa de pH entre 6,0 e 6,5 (REN; WANG; HUANG, 1997). Como a fermentação à HPr acarreta no consumo de hidrogênio do meio, leva-se a crer que a faixa de pH entre 6,0 e 6,5 é ideal para produção de H_2. Contudo, em pH próximo de 4,5 a produção de HBu e HAc é privilegiada. Portanto, o sucesso da produção biológica de hidrogênio depende da manutenção do pH abaixo de 5,0. Além da produção de HBu e HAc, a manutenção de pH (<5,0) e TDH reduzidos são um modo de inibir o desenvolvimento das arqueias metanogênicas em reatores anaeróbios (HAWKES et al., 2007).

É possível observar mediante os dados apresentados na Tabela 5.18 que o pH foi condicionado abaixo da faixa de valores indicada (4,0 - 5,0) para os $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$. A manutenção do pH efluente dos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ nos valores indicados na Tabela 5.18 foi feito mediante adição de NH_4HCO_3 nas concentrações de 1,5; 3,5 e 4,75 g L^{-1}, respectivamente. As concentrações de bicarbonato de amônio foram ajustadas empiricamente, por meio da visualização da estabilização nos valores de pH efluente. Observou-se que a taxa de bicarbonato adicionada em relação a concentração dos reatores foi de aproximadamente 0,32 grama NH_4HCO_3 por grama de substrato.

Tabela 5.18 - Valores médios de pH afluente e efluente para os $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$

Fase	TDH (h)	$EGSB_5$		$EGSB_{10}$		$EGSB_{15}$	
		$pH_{afluente}$	$pH_{efluente}$	$pH_{afluente}$	$pH_{efluente}$	$pH_{afluente}$	$pH_{efluente}$
1	24	7,75 ± 0,25$^{(7)}$	4,54 ± 0,07$^{(7)}$	7,75 ± 0,11$^{(8)}$	4,26 ± 0,13$^{(8)}$	7,99 ± 0,26$^{(8)}$	3,76 ± 0,10$^{(8)}$
2	16	7,39 ± 0,09$^{(8)}$	4,52 ± 0,10$^{(8)}$	7,85 ± 0,36$^{(8)}$	4,40 ± 0,18$^{(8)}$	7,90 ± 0,23$^{(8)}$	3,99 ± 0,22$^{(8)}$
3	8	7,39 ± 0,06$^{(8)}$	4,42 ± 0,06$^{(8)}$	7,40 ± 0,16$^{(8)}$	4,31 ± 0,11$^{(8)}$	8,11 ± 0,10$^{(8)}$	3,90 ± 0,13$^{(8)}$
4	4	7,25 ± 0,37$^{(8)}$	4,52 ± 0,49$^{(8)}$	8,53 ± 0,19$^{(7)}$	4,59 ± 0,10$^{(7)}$	7,64 ± 0,58$^{(7)}$	4,51 ± 0,37$^{(7)}$
5	2	7,48 ± 0,19$^{(8)}$	4,58 ± 0,16$^{(8)}$	7,56 ± 0,23$^{(6)}$	4,69 ± 0,24$^{(6)}$	7,24 ± 0,09$^{(6)}$	4,32 ± 0,21$^{(6)}$
6	1	6,34 ± 0,47$^{(7)}$	4,68 ± 0,10$^{(7)}$	8,39 ± 0,47$^{(6)}$	4,63 ± 0,22$^{(6)}$	7,40 ± 0,18$^{(7)}$	4,47 ± 0,16$^{(7)}$

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

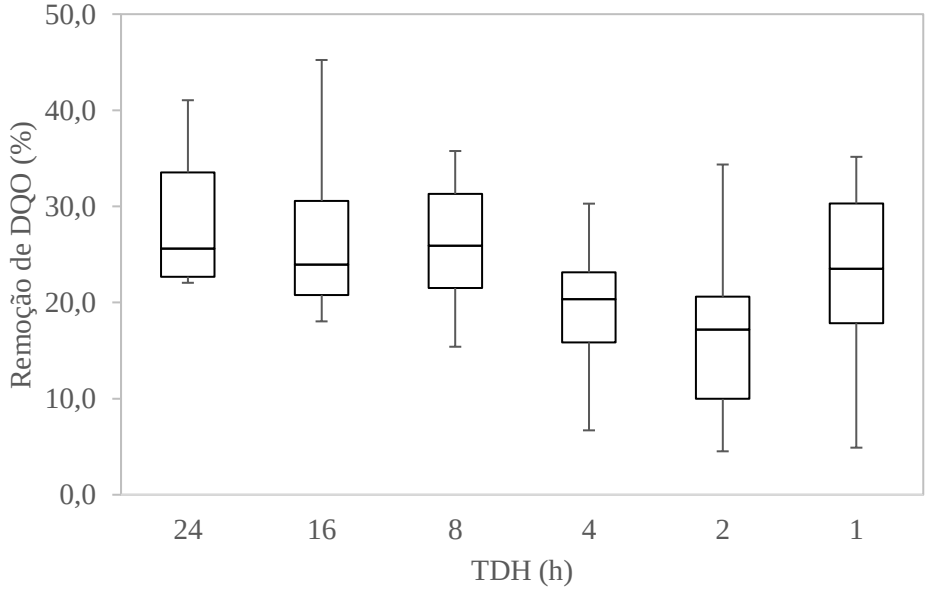
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Há uma discordância entre este estudo e o de Plangklang, Reungsang e Pattra (2012) em relação ao pH ótimo para produção de hidrogênio a partir do caldo de cana. Os autores avaliaram a produção de H_2 a partir do caldo (25 g L^{-1}) em batelada inoculada com cultura pura (*Clostridium butyricum*) variando o pH inicial de 4,5 a 7,0, e observaram maiores HY (1,34 molH_2 mol^{-1}hexose) e PVH (L d^{-1} L^{-1}) para o pH inicial igual a 6,5 (final de 4,13). A faixa de pH com maior produtividade de H_2 foi inferior à observada nos reatores do presente estudo. As diferenças para os valores de pH ótimo observadas pelos estudos, são atribuídas às demais condições operacionais como: inóculo, temperatura, tipo de reator e concentração de substrato (WANG; WAN, 2009).

5.6.2 DQO

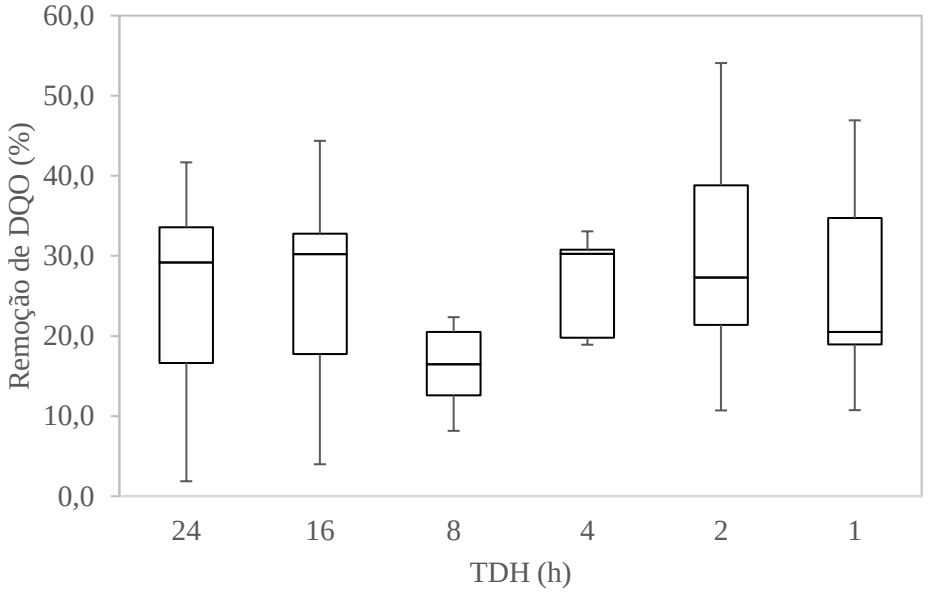
As desvantagens da produção de hidrogênio pela digestão anaeróbia incluem o baixo aproveitamento energético e a baixa remoção de DQO (20 %) (ANTONOPOULOU et al., 2008). Com interrupção dos compostos na etapa de acidogênese, os metabólitos não são completamente oxidados, e portanto, conferem DQO ao sistema. São apresentados nas Figura 5.16, Figura 5.17 e Figura 5.18, a eficiência de remoção de DQO dos $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$, respectivamente. As DQO afluente e efluente, e os cálculos das eficiências de remoção estão dispostos no Anexo A.

Figura 5.16 - Remoção de DQO no $EGSB_5$



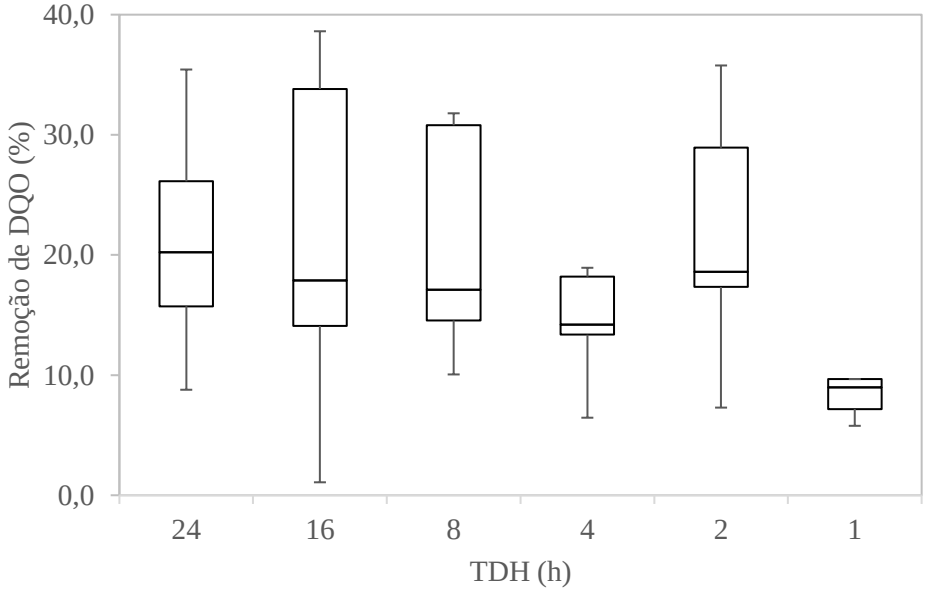
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.17 - Remoção de DQO no $EGSB_{10}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 5.18 - Remoção de DQO no $EGSB_{15}$



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

A remoção de DQO se manteve entre 13,5 e 26,4 % para o $EGSB_5$, 16,7 e 30,3 % para o $EGSB_{10}$ e 9,6 e 21,8 % para o $EGSB_{15}$. A eficiência visualizada pode ser atribuída à conversão de açúcares em H_2, CO_2 e no desenvolvimento de novas células. Estima-se que 10 % da matéria orgânica biodegradável é utilizada para crescimento microbiano (KHANAL, 2003).

A DQO efluente de um reator acidogênico é composta dos metabólitos líquidos solubilizados, do carboidrato não removido e da sua biomassa. O somatório das DQO equivalente destes parâmetros (Eq. (12)) deve teoricamente ser equiparado a DQO efluente mensurada no método espectrofotométrico. O cálculo das DQO equivalentes, do somatório das DQO equivalentes e da diferença entre o somatório das DQO equivalente e a DQO real estão dispostas no Anexo B.

A diferença entre o somatório das DQO equivalente e a DQO real foi inferior a 18,0 % para o $EGSB_5$, 20,0 % para o $EGSB_{10}$ e 8,0 % para o $EGSB_{15}$. Esta diferença pode ser atribuída a erros analíticos, como não detecção de algum metabólito pelo método utilizado.

5.6.3 Sólidos suspensos

As concentrações de sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) dos reatores $EGSB_5$, $EGSB_{10}$ e $EGSB_{15}$ estão dispostos nas Tabelas 5.19, 5.20 e 5.21, respectivamente. Os SSV foram responsáveis por 90,0 % em relação aos SST para os três reatores. Não foi observado carreamento elevado de biomassa com a redução do TDH. Esta é uma forma de atestar a efetividade do EGSB em manter o θc celular independente do TDH aplicado.

Tabela 5.19 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_5$

Fase	TDH (h)	TCO (kg m^{-3} d^{-1})	SST (mg L^{-1})	SSF (mg L^{-1})	SSV (mg L^{-1})
1	24	5,2	149,17 ± 54,63$^{(7)}$	1,00 ± 0,00$^{(7)}$	141,67 ± 56,72$^{(7)}$
2	16	7,6	335,63 ± 108,09$^{(8)}$	28,13 ± 18,11$^{(8)}$	307,50 ± 92,89$^{(8)}$
3	8	15,0	448,13 ± 108,72$^{(8)}$	60,00 ± 36,45$^{(8)}$	388,45 ± 114,36$^{(8)}$
4	4	27,7	269,37 ± 151,67$^{(8)}$	21,25 ± 14,57$^{(8)}$	269,28 ± 151,31$^{(8)}$
5	2	57,7	463,12 ± 217,73$^{(8)}$	34,17 ± 19,85$^{(8)}$	434,37 ± 203,21$^{(8)}$
6	1	119,4	677,00 ± 210,37$^{(7)}$	84,28 ± 34,81$^{(7)}$	576,81 ± 199,35$^{(7)}$

SST: sólidos suspensos totais; SSF: sólidos suspensos fixos; SSV: sólidos suspensos voláteis.
Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.20 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_{10}$

Fase	TDH (h)	TCO ($kg\ m^{-3}\ d^{-1}$)	SST ($mg\ L^{-1}$)	SSF ($mg\ L^{-1}$)	SSV ($mg\ L^{-1}$)
1	24	10,8	240,00 ± 47,76(7)	5,00 ± 0,38(7)	235,00 ± 47,76(7)
2	16	15,8	363,33 ± 96,31(8)	8,89 ± 1,03(8)	354,44 ± 91,93(8)
3	8	30,7	1102,67 ± 344,63(8)	52,00 ± 36,33(8)	1050,67 ± 316,47(8)
4	4	59,6	925,33 ± 351,55(8)	41,33 ± 24,67(8)	884,00 ± 336,70(8)
5	2	113,3	710,67 ± 137,49(8)	109,33 ± 26,08(8)	601,33 ± 118,08(8)
6	1	233,0	340,00 ± 59,75(7)	0,00 ± 0,00(7)	340,00 ± 59,75(7)

SST: sólidos suspensos totais; SSF: sólidos suspensos fixos; SSV: sólidos suspensos voláteis.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 5.21 - Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no $EGSB_{15}$

Fase	TDH (h)	TCO ($kg\ m^{-3}\ d^{-1}$)	SST ($mg\ L^{-1}$)	SSF ($mg\ L^{-1}$)	SSV ($mg\ L^{-1}$)
1	24	14,5	545,33 ± 283,68(7)	0,00 ± 0,00(7)	545,33 ± 283,68(7)
2	16	23,2	374,67 ± 138,35(8)	0,00 ± 0,00(8)	374,67 ± 138,35(8)
3	8	45,7	437,33 ± 212,53(8)	12,00 ± 0,06(8)	425,33 ± 201,98(8)
4	4	91,8	1089,33 ± 234,09(8)	18,33 ± 2,34(8)	964,00 ± 213,78(8)
5	2	182,9	1048,56 ± 422,71(8)	20,00 ± 37,71(8)	1034,00 ± 422,80(8)
6	1	348,0	858,67 ± 117,51(7)	23,33 ± 11,54(7)	833,33 ± 97,64(7)

SST: sólidos suspensos totais; SSF: sólidos suspensos fixos; SSV: sólidos suspensos voláteis.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

6 CONCLUSÃO

Com suporte nos resultados obtidos durante a operação dos reatores EGSB (30 ± 2 °C) para a produção de hidrogênio e metabólitos solúveis a partir do caldo de cana, conclui-se que:

i. de modo geral, a redução do TDH de 24 a 1 h melhorou a produtividade de hidrogênio. Foram visualizados valores máximos de PVH para os TDH de 1 h no $EGSB_5$ (5 g L^{-1}) (6,96 L d^{-1} L^{-1}), 1 h no $EGSB_{10}$ (10 g L^{-1}) (19,14 L d^{-1} L^{-1}) e 2 h no $EGSB_{15}$ (15 g L^{-1}) (52,40 L d^{-1} L^{-1}). Os resultados corroboram a afirmação de que reatores de alta taxa como o EGSB suportam aplicação de cargas mais elevadas, com HY máximo observado no reator de maior concentração aplicada ($EGSB_{15}$) (0,73 mol H_2 mol^{-1} hexose na TCO igual a 182,9 $kg_{carboidrato}$ m^{-3} d^{-1}/ TDH de 2 h);

ii. a redução do TDH e manutenção do pH entre 4,0 e 5,0 beneficiaram o aumento do HY pela rota de produção de HBu nos reatores. As concentrações de HAc observadas foram atribuídas à possível ocorrência de homoacetogênese. A aplicação de TDH mais elevados (24, 16 e 8 h) no reator de maior concentração ($EGSB_{15}$) provavelmente influenciou na manutenção da rota heterolática, com produção simultânea de EtOH e HLa.

7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Devido à carência de estudos na literatura sobre a digestão anaeróbia do caldo de cana, e da observação de que esse substrato pode ser uma alternativa viável de produção de hidrogênio em larga escala, sugere-se:

i. aplicar TCO mais elevadas, mantendo o TDH e variando a concentração;

ii. realizar estudos sobre o efeito da temperatura (mesofílica, termofílica e hipertermofílica) na produção de H_2;

iii. utilizar outras configurações de reatores de alta taxa, como o UASB, que pode ter maior aplicabilidade em escala real;

iv. verificar a possibilidade da co-digestão de caldo com vinhaça, visando reduzir a carência nutricional da vinhaça e aumentar o rendimento da produção de H_2 a partir desta;

v. avaliar a produção sequencial de H_2 e CH_4;

vi. realizar análise econômica da viabilidade de produção de hidrogênio (e metano) a partir do caldo de cana quando comparada à produção de etanol.

Sugere-se adicionalmente investigação detalhada de estratégias para controle da homoacetogênese em processos de digestão anaeróbia para produção de H_2.

REFERÊNCIAS

AKUTSU, Y.; LI, Y.-Y.; HARADA, H.; YU, H.-Q. Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 6, p. 2558–2566, 2009.

AMORIM, E. L. C; BARROS, A. R.; RISSATO ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H.; SILVA, E. L. Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 783–790, 2009.

AMORIM, E. L. C.; SADER, L. T.; SILVA, E. L. Effect of substrate concentration on dark fermentation hydrogen production using an anaerobic fluidized bed reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 5, p. 1248–1263, 2012.

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, n. 1, p. 110–119, 2008.

AROOJ, M. F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. Continuous biohydrogen production in a CSTR using starch as a substrate. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 13, p. 3289–3294, 2008a.

AROOJ, M. F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 22, p. 6509–6514, 2008b.

BARBOSA, L.; HYTÖNEN, E.; VAINIKKA, P. Carbon mass balance in sugarcane biorefineries in Brazil for evaluating carbon capture and utilization opportunities. **Biomass and Bioenergy**, v. 105, p. 351–363, 2017.

BÁRCENAS-RUIZ, C. D.; CARRILLO-REYES, J.; ARELLANO-GARCÍA, L.; CELIS, L. B.; ALATRISTE-MONDRAGÓN, F.; RAZO-FLORES, E. Pretreatment and upward liquid velocity effects over granulation in hydrogen producing EGSB reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 107, p. 75–84, 2016.

BARROS, A. R.; CAVALCANTE DE AMORIM, E. L.; REIS, C. M.; SHIDA, G. M.; SILVA, E. L. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 8, p. 3379–3388, 2010.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 65–73, 2002.

BRITO, A. G.; MELO, L. F. **A Simplified Analysis of Reaction and Mass Transfer in UASB and EGSB ReactorsEnvironmental Technology**, 1997.

BUITRÓN, G.; CARVAJAL, C. Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: Effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 9071–9077, 2010.

CAI, G.; JIN, B.; MONIS, P.; SAINT, C. Metabolic flux network and analysis of fermentative hydrogen production. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 4, p. 375–387, 2011.

CASTELLÓ, E.; BRAGA, L.; FUENTES, L.; ETCHEBEHERE, C. Possible causes for the instability in the H2production from cheese whey in a CSTR. **International Journal of Hydrogen Energy**, p. 1–12, 2018.

CASTILLO MARTINEZ, F. A.; BALCIUNAS, E. M.; SALGADO, J. M.; DOMÍNGUEZ GONZÁLEZ, J. M.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. de S. Lactic acid properties, applications and production: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 70–83, 2013.

CAVALCANTE, W. de A.; LEITÃO, R. C.; GEHRING, T. A.; ANGENENT, L. T.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review. **Process Biochemistry**, v. 54, p. 106–119, 2017.

CONAB. Observatório Agrícola: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. Safra 2017/18. Primeiro levantamento. Abril/2017. v. 4, n. 1, p. 62, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.

DAS, D. Advances in biohydrogen production processes: An approach towards commercialization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7349–7357, 2009.

DE CLERCQ, D.; WEN, Z.; GOTTFRIED, O.; SCHMIDT, F.; FEI, F. A review of global strategies promoting the conversion of food waste to bioenergy via anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. May, p. 204–221, 2017.

DE SÁ, L. R. V.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; CAMMAROTA, M. C.; MATOS, A.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Simultaneous analysis of carbohydrates and volatile fatty acids by HPLC for monitoring fermentative biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 23, p. 15177–15186, 2011.

DE VRIEZE, J.; HENNEBEL, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation. **Bioresource Technology**, v. 112, n. 2012, p. 1–9, 2012.

DEVESA, V.; VÉLEZ, D. **Cadmium: Properties and Determination**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2016.

DHALIWAL, S. S.; OBEROI, H. S.; SANDHU, S. K.; NANDA, D.; KUMAR, D.; UPPAL, S. K. Enhanced ethanol production from sugarcane juice by galactose adaptation of a newly isolated thermotolerant strain of Pichia kudriavzevii. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5968–5975, 2011.

DIAS, M. O.; MACIEL FILHO, R.; MANTELATTO, P. E.; CAVALETT, O.; ROSSELL, C. E. V.; BONOMI, A.; LEAL, M. R. L. V. Sugarcane processing for ethanol and sugar in Brazil. **Environmental Development**, v. 15, p. 35–51, 2015.

DINSDALE, R.; HAWKES, F. R.; HAWKES, D. L. Anaerobic digestion of short chain organic acids in an expanded granular sludge bed reactor. **Water Research**, v. 34, n. 9, p. 2433–2438, 2000.

DJALMA NUNES FERRAZ JÚNIOR, A.; WENZEL, J.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Effect of organic loading rate on hydrogen production from sugarcane vinasse in thermophilic acidogenic packed bed reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 30, p. 16852–16862, 2014.

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, n. 3, p. 350–356, 1956.

DUTTA, S. A review on production, storage of hydrogen and its utilization as an energy resource. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1148–1156, 2014.

EATON, A. et al. PHA: standard methods for the examination of water and wastewater. In: **Centennial Edition., APHA, AWWA, WEF, Washington, DC**. Centennial ed. [s.l: s.n.]

ELBESHBISHY, E.; DHAR, B. R.; NAKHLA, G.; LEE, H. S. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. October 2015, p. 656–668, 2017.

ELBESHBISHY, E.; NAKHLA, G. Comparative study of the effect of ultrasonication on the anaerobic biodegradability of food waste in single and two-stage systems. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 11, p. 6449–6457, 2011.

ELSHARNOUBY, O.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G.; EL NAGGAR, M. H. A critical literature review on biohydrogen production by pure cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 12, p. 4945–4966, 2013.

EL-KAHLOUT, K.; RAHMA, A. A. A.; EL-ASHGAR, N. M. Biohydrogen Production by Modified Anaerobic Fluidized Bed Reactor (AFBR) Using Mixed Bacterial Cultures in Thermophilic Condition. **Journal of Islamic University-Gaza**, v. 25, n. 3, p. 21–32, 2017.

FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; ZAIAT, M.; GUPTA, M.; ELBESHBISHY, E.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G. Impact of organic loading rate on biohydrogen production in an up-flow anaerobic packed bed reactor (UAnPBR). **Bioresource Technology**, v. 164, p. 371–379, 2014.

FERREIRA, T. B. **Produção de hidrogênio e metabólitos solúveis a partir de subprodutos da indústria sucroalcooleira em reator anaeróbio de leito fluidificado termofílico**, Dissertação (mestrado), Departamento de Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, São Carlos, 2016.

FONTES LIMA, D. M.; 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, n. 35, p. 15074–15083, 2013.

FU, S.-F.; XU, X.-H.; DAI, M.; YUAN, X.-Z.; GUO, R.-B. Hydrogen and methane production from vinasse using two-stage anaerobic digestion. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 107, n. 189, p. 81–86, 2017.

FUESS, L. T.; KIYUNA, L. S. M.; FERRAZ, A. D. N.; PERSINOTI, G. F.; SQUINA, F. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Applied Energy**, v. 189, p. 480–491, 2017.

GAVALA, H. N.; SKIADAS, I. V.; AHRING, B. K. Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 9, p. 1164–1175, 2006.

GHIMIRE, A.; FRUNZO, L.; PIROZZI, F.; TRABLY, E.; ESCUDIE, R.; LENS, P. N. L.; ESPOSITO, G. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. **Applied Energy**, v. 144, p. 73–95, 2015.

GONÇALVES, R. F.; CHERNICHARO, C. A. D. L.; ONOFRE, C.; ALÉM SOBRINHO, P.; TAKAYUKI KATO, M.; COSTA, R. H. R. Da; MANSUR, M.; ZAIAT, M. Pós-tratamento de efluentes de reactores anaeróbios por reatores com biofilme. In: **Pós-tratamento de efluentes de reactores anaerobios**. [s.l: s.n.]70p. 171–278.

GUO, W. Q.; REN, N. Q.; CHEN, Z. B.; LIU, B. F.; WANG, X. J.; XIANG, W. S.; DING, J. Simultaneous biohydrogen production and starch wastewater treatment in an acidogenic expanded granular sludge bed reactor by mixed culture for long-term operation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 24, p. 7397–7404, 2008a.

GUO, W. Q.; REN, N. Q.; WANG, X. J.; XIANG, W. S.; MENG, Z. H.; DING, J.; QU, Y. Y.; ZHANG, L. S. Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 4981–4988, 2008b.

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

HAWKES, F. R.; HUSSY, I.; KYAZZE, G.; DINSDALE, R.; HAWKES, D. L. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 2, p. 172–184, 2007.

HUANG, W.; WANG, Z.; ZHOU, Y.; NG, W. J. The role of hydrogenotrophic methanogens in an acidogenic reactor. **Chemosphere**, 2014.

INFANTES, D.; GONZÁLEZ DEL CAMPO, a.; VILLASEÑOR, J.; FERNÁNDEZ, F. J. Kinetic model and study of the influence of pH, temperature and undissociated acids on acidogenic fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 66, p. 66–72, jul. 2012.

INTANOO, P.; RANGSANVIGIT, P.; MALAKUL, P.; CHAVADEJ, S. Optimization of separate hydrogen and methane production from cassava wastewater using two-stage upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) system under thermophilic operation. **Bioresource Technology**, v. 173, p. 256–265, 2014.

KATO, M. T.; FIELD, J. A.; KLEEREBEZEM, R.; LETTINGA, G. Treatment of low strength soluble wastewaters in UASB reactors. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 77, n. 6, p. 679–686, 1994.

KHAN, M. A.; NGO, H. H.; GUO, W.; LIU, Y.; ZHANG, X.; GUO, J.; CHANG, S. W.; NGUYEN, D. D.; WANG, J. Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy. **Renewable Energy**, 2017.

KHANAL, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 2004, p. 1123–1131, 2003.

KIM, S. H.; HAN, S. K.; SHIN, H. S. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 199–207, 2006.

KIYUNA, L. S. M.; FUESS, L. T.; ZAIAT, M. Unraveling the influence of the COD/sulfate ratio on organic matter removal and methane production from the biodigestion of sugarcane vinasse. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 103–112, 2017.

KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. A Generalized Method for Thermodynamic State Analysis of Environmental Systems. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 1–54, 2010.

KONGJAN, P.; JARIYABOON, R.; O-THONG, S. Anaerobic digestion of skim latex serum (SLS) for hydrogen and methane production using a two-stage process in a series of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 33, p. 19343–19348, 2014.

KRAEMER, J. T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 5, p. 685–695, 2007.

KUMAR, G.; PARK, J. H.; KIM, M. S.; KIM, D. H.; KIM, S. H. Hydrogen fermentation of different galactose-glucose compositions during various hydraulic retention times (HRTs). **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 35, p. 20625–20631, 2014.

KUMAR, G.; SIVAGURUNATHAN, P.; SEN, B.; KIM, S. H.; LIN, C. Y. Mesophilic continuous fermentative hydrogen production from acid pretreated de-oiled jatropha waste hydrolysate using immobilized microorganisms. **Bioresource Technology**, v. 240, p. 137–143, 2017.

KUMARI, S.; DAS, D. Improvement of gaseous energy recovery from sugarcane bagasse by dark fermentation followed by biomethanation process. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 354–363, 2015.

LAUWERS, J.; APPELS, L.; THOMPSON, I. P.; DEGRÈVE, J.; VAN IMPE, J. F.; DEWIL, R. Mathematical modelling of anaerobic digestion of biomass and waste: Power and limitations. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 39, n. 4, p. 383–402, ago. 2013.

LAZARO, C. Z.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Sequential fermentative and phototrophic system for hydrogen production: An approach for Brazilian alcohol distillery wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 31, p. 9642–9655, 2015.

LEE, W. S.; CHUA, A. S. M.; YEOH, H. K.; NGOH, G. C. A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, n. 2014, p. 83–99, jan. 2014.

LIMTONG, S.; SRINGIEW, C.; YONGMANITCHAI, W. Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated Kluyveromyces marxianus. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 17, p. 3367–3374, 2007.

LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S.; CHANG, J. S. Biohydrogen production in a three-phase fluidized bed bioreactor using sewage sludge immobilized by ethylene-vinyl acetate copolymer. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 13, p. 3298–3301, 2009.

LIU, H.; WANG, J.; WANG, A.; CHEN, J. Chemical inhibitors of methanogenesis and putative applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1333–1340, 2011.

LJUNGGREN, M.; WALLBERG, O.; ZACCHI, G. Techno-economic comparison of a biological hydrogen process and a 2nd generation ethanol process using barley straw as feedstock. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 20, p. 9524–9531, 2011.

LOGAN, B. E. Inhibition of Biohydrogen Production by Undissociated Acetic and Butyric Acids. **Environmental Science Technology**. v. 39, n. 23, p. 9351–9356, 2005.

LUO, G.; KARAKASHEV, D.; XIE, L.; ZHOU, Q.; ANGELIDAKI, I. Long-term effect of inoculum pretreatment on fermentative hydrogen production by repeated batch cultivations: Homoacetogenesis and methanogenesis as competitors to hydrogen production. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, n. 8, p. 1816–1827, 2011.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C. S.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 16, p. 4309–4317, 2008.

MAMIMIN, C.; SINGKHALA, A.; KONGJAN, P.; SURARAKSA, B.; PRASERTSAN, P.; IMAI, T.; O-THONG, S. Two-stage thermophilic fermentation and mesophilic methanogen process for biohythane production from palm oil mill effluent. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 19, p. 6319–6328, 2015.

MANOCHIO, C.; ANDRADE, B. R.; RODRIGUEZ, R. P.; MORAES, B. S. Ethanol from biomass: A comparative overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 80, n. June, p. 743–755, 2017.

MILTNER, A.; WUKOVITS, W.; PRÖLL, T.; FRIEDL, A. Renewable hydrogen production: A technical evaluation based on process simulation. **Journal of Cleaner Production**, v. 18, n. SUPPL. 1, p. S51–S62, 2010.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888–903, 2015.

MOSEY, F. E. Mathematical Modelling of the anaerobic digesiton process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science & Technology**, v. 15, p. 209–232, 1983.

MU, Y.; YU, H. Q.; WANG, G. Evaluation of three methods for enriching H2-producing cultures from anaerobic sludge. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 947–953, 2007.

MUNOZ-PÁEZ, K. M.; RUIZ-ORDÁZ, N.; GARCÍA-MENA, J.; PONCE-NOYOLA, M. T.; RAMOS-VALDIVIA, A. C.; ROBLES-GONZÁLEZ, I. V.; VILLA-TANACA, L.; BARRERA-CORTÉS, J.; RINDERKNECHT-SEIJAS, N.; POGGI-VARALDO, H. M. Comparison of biohydrogen production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35°C. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 28, p. 12570–12579, 2013.

MURI, P.; MARINŠEK-LOGAR, R.; DJINOVIĆ, P.; PINTAR, A. Influence of support materials on continuous hydrogen production in anaerobic packed-bed reactor with immobilized hydrogen producing bacteria at acidic conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 111, n. October 2017, p. 87–96, 2018.

NASR, N.; ELBESHBISHY, E.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G.; HESHAM EL NAGGAR, M. Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 122–126, 2012.

NGOMA, L.; MASILELA, P.; OBAZU, F.; GRAY, V. M. The effect of temperature and effluent recycle rate on hydrogen production by undefined bacterial granules. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 8986–8991, 2011.

NI, M.; LEUNG, M. K. H.; SUMATHY, K.; LEUNG, D. Y. C. Potential of renewable hydrogen production for energy supply in Hong Kong. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 10, p. 1401–1412, 2006.

NING, Y. Y.; WANG, S. F.; JIN, D. W.; HARADA, H.; SHI, X. Y. Formation of hydrogen-producing granules and microbial community analysis in a UASB reactor. **Renewable Energy**, v. 53, p. 12–17, 2013.

NUALSRI, C.; KONGJAN, P.; REUNGSANG, A. Direct integration of CSTR-UASB reactors for two-stage hydrogen and methane production from sugarcane syrup. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 40, p. 17884–17895, 2016.

NUALSRI, C.; REUNGSANG, A.; PLANGKLANG, P. Biochemical hydrogen and methane potential of sugarcane syrup using a two-stage anaerobic fermentation process. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 88–99, 2016.

OECD/FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026**. [s.l: s.n.]

OLGUÍN-ARANEDA, V.; BANAWAS, S.; SARKER, M. R.; PAREDES-SABJA, D. Recent advances in germination of Clostridium spores. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 2015, p. 1–8, ago. 2014.

OTTAVIANO, L. M.; RAMOS, L. R.; BOTTA, L. S.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Continuous thermophilic hydrogen production from cheese whey powder solution in an anaerobic fluidized bed reactor: Effect of hydraulic retention time and initial substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 8, p. 4848–4860, 2017.

PALACIOS-BERECHE, R.; MOSQUEIRA-SALAZAR, K. J.; MODESTO, M.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A.; SERRA, L. M.; LOZANO, M. A. Exergetic analysis of the integrated first- and second-generation ethanol production from sugarcane. **Energy**, v. 62, p. 46–61, 2013.

PARK, M. J.; JO, J. H.; PARK, D.; LEE, D. S.; PARK, J. M. Comprehensive study on a two-stage anaerobic digestion process for the sequential production of hydrogen and methane from cost-effective molasses. **Renewable Energy**, v. 35, n. 12, p. 6194–6202, 2010.

PATTRA, S.; LAY, C. H.; LIN, C. Y.; O-THONG, S.; 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, n. 14, p. 8697–8703, 2011.

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, n. 20, p. 15525–15532, 2012.

PUGAZHENDHI, A.; ANBURAJAN, P.; PARK, J. H.; KUMAR, G.; SIVAGURUNATHAN, P.; KIM, S. H. Process performance of biohydrogen production using glucose at various HRTs and assessment of microbial dynamics variation via q-PCR. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 45, p. 27550–27557, 2017.

RAMOS, L. R. **Aplicação de biorreatores anaeróbios em diferentes temperaturas para produção de hidrogênio a partir de águas residuárias agroindustriais**. Dissertação (mestrado), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

REGO, G. C. **Produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidificado mesofílico a partir de diferentes substratos orgânicos da indústria sucroalcooleira**. Dissertação (mestrado), Departamento de Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, São Carlos, 2016.

REIS, C. M.; SILVA, E. L. Simultaneous Coproduction of Hydrogen and Ethanol in Anaerobic Packed-Bed Reactors. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–10, 2014.

REIS, C. M. dos; CAROSIA, M. F.; SAKAMOTO, I. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; 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, n. 27, p. 8498–8509, 2015.

REN, N.; WANG, B.; HUANG, J. C. Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 54, n. 5, p. 428–433, 1997.

REUNGSANG, A.; SITTIJUNDA, S.; SREELA-OR, C. Methane production from acidic effluent discharged after the hydrogen fermentation of sugarcane juice using batch fermentation and UASB reactor. **Renewable Energy**, v. 86, p. 1224–1231, 2016.

ROSILLO-CALLE, F.; CORTEZ, L. A. B. Towards proalcool II-A review of the Brazilian bioethanol programme. **Biomass and Bioenergy**, v. 14, n. 2, p. 115–124, 1998.

ROYCHOWDHURY, S.; COX, D.; LEVANDOWSKY, M. Production of hydrogen by microbial fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 13, n. 7, p. 407–410, 1988.

SAADY, N. M. C. Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 30, p. 13172–13191, 2013.

SALEM, A. H.; MIETZEL, T.; BRUNSTERMANN, R.; WIDMANN, R. Effect of cell immobilization, hematite nanoparticles and formation of hydrogen-producing granules on biohydrogen production from sucrose wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 40, p. 25225–25233, 2017.

SALEM, A. H.; BRUNSTERMANN, R.; MIETZEL, T.; WIDMANN, R. Effect of pre-treatment and hydraulic retention time on biohydrogen production from organic wastes. **International Journal of Hydrogen Energy**, p. 1–10, 2018.

SANT'ANNA, S. A. C.; FERNANDES, M. F.; IVO, W. M. P. M.; COSTA, J. L. S. Evaluation of Soil Quality Indicators in Sugarcane Management in Sandy Loam Soil. **Pedosphere**, v. 19, n. 3, p. 312–322, 2009.

SANTOS, S. C.; FERREIRA ROSA, P. R.; SAKAMOTO, I. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 17, p. 9000–9011, 2014a.

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9599–9610, 2014b.

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Organic loading rate impact on biohydrogen production and microbial communities at anaerobic fluidized thermophilic bed reactors treating sugarcane stillage. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 55–63, 2014c.

SCHMIDT, J. E.; AHRING, B. K. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, n. 3, p. 229–246, 1996.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p. 175–190, 1998.

SHIDA, G. M.; BARROS, A. R.; REIS, C. M. dos; AMORIM, E. L. C. de; RISSATO ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H.; SILVA, E. L. Long-term stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat treated anaerobic sludge inoculum. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 9, p. 3679–3688, 2009.

SHIDA, G. M.; SADER, L. T.; CAVALCANTE DE AMORIM, E. L.; SAKAMOTO, I. K.; MAINTINGUER, S. I.; SAAVEDRA, N. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; 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, n. 22, p. 16925–16934, 2012.

SI, B.; LIU, Z.; ZHANG, Y.; LI, J.; XING, X. H.; LI, B.; DUAN, N.; LU, H. Effect of reaction mode on biohydrogen production and its microbial diversity. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 8, p. 3191–3200, 2015.

SIQUEIRA, L. M.; DAMIANO, E. S. G.; SILVA, E. L. Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogás production in fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 48, n. 13, p. 1707–1716, 2013.

SIVAGURUNATHAN, P.; ANBURAJAN, P.; KUMAR, G.; ARIVALAGAN, P.; BAKONYI, P.; KIM, S. H. Improvement of hydrogen fermentation of galactose by combined inoculation strategy. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 3, p. 353–357, 2017.

SIVAGURUNATHAN, P.; ANBURAJAN, P.; KUMAR, G.; KIM, S.-H. Effect of hydraulic retention time (HRT) on biohydrogen production from galactose in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 46, p. 21670–21677, 2016.

SIVAGURUNATHAN, P.; SEN, B.; LIN, C. Y. Overcoming propionic acid inhibition of hydrogen fermentation by temperature shift strategy. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 33, p. 19232–19241, 2014.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. de S.; MEDEIROS, A. B. P.; KARP, S. G.; BUCKERIDGE, M.; RAMOS, L. P.; PITARELO, A. P.; FERREIRA-LEITÃO, V.; GOTTSCHALK, L. M. F.; FERRARA, M. A.; SILVA BON, E. P. da; MORAES, L. M. P. de; ARAÚJO, J. de A.; TORRES, F. A. G. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4820–4825, 2010.

STAMS, A. J. M.; PLUGGE, C. M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. **Nature reviews. Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 568–77, ago. 2009.

STAMS, A. J. M.; SOUSA, D. Z.; KLEEREBEZEM, R.; PLUGGE, C. M. Role of syntrophic microbial communities in high-rate methanogenic bioreactors. **Water science and technology**, v. 66, n. 2, p. 352–362, jan. 2012.

TAYLOR, P.; RUDD, T.; HICKS, S. J.; LESTER, J. N. Comparison of the treatment of a synthetic meat waste by mesophilic and thermophilic anaerobic fluidized bed reactors. **Environmental Technology Letters**, v. 6, n. 1–11, p. 209–224, 1 jan. 1985.

THAUER, R. K.; KASTER, A.-K.; SEEDORF, H.; BUCKEL, W.; HEDDERICH, R. Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 579–591, 2008.

TUNÇAY, E. G.; ERGUDER, T. H.; EROGLU, I.; GUNDUZ, U. Experimental investigation of an adsorptive thermal energy storage. **International journal of energy research**, v. 41, n. 25 October 2017, p. 1891–1902, 2017.

TURETTA, A. P. D.; KUYPER, T.; MALHEIROS, T. F.; COUTINHO, H. L. da C. A framework proposal for sustainability assessment of sugarcane in Brazil. **Land Use Policy**, v. 68, n. August, p. 597–603, 2017.

USEPA. **Fuel economy guide**, 2018 [s.l: s.n.].

VALDEZ-VAZQUEZ, I.; POGGI-VARALDO, H. M. Hydrogen production by fermentative consortia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 5, p. 1000–1013, 2009.

VAN GINKEL, S. W.; LOGAN, B. Increased biological hydrogen production with reduced organic loading. **Water Research**, v. 39, n. 16, p. 3819–3826, 2005.

VAN HAANDEL, A.; DE VRIEZE, J.; VERSTRAETE, W.; DOS SANTOS, V. S. Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewaters. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, n. 11, p. 1751–1759, 2014.

VAN LIER, J. B.; VAN DER ZEE, F. P.; FRIJTERS, C. T. M. J.; ERSAHIN, M. E. Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 4, p. 681–702, 2015.

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, n. 24, p. 6339–6346, 2009.

WANG, jianlong; WAN, W. Comparison of different pre-treatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from intertidal sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 3, p. 2934–29417, 2008.

WANG, B.; LI, Y.; WANG, D.; LIU, R.; WEI, Z.; REN, N. Simultaneous coproduction of hydrogen and methane from sugary wastewater by an "aCSTRH-UASBMet" system. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 19, p. 7774–7779, 2013.

WANG, G.; PAREDES-SABJA, D.; SARKER, M. R.; GREEN, C.; SETLOW, P.; LI, Y. Q. Effects of wet heat treatment on the germination of individual spores of Clostridium perfringens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 4, p. 824–836, 2012.

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 799–811, 2009.

WANG, J.; WEI, W. Comparison of different pre-treatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from intertidal sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 3, p. 2934–2941, 2008.

WANG, L.; ZHOU, Q.; LI, F. T. Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, n. 2, p. 177–182, 2006.

WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, J.; MENG, L. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 5, p. 848–853, maio 2009.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000.

WU, S. Y.; CHU, 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, n. 20, p. 15496–15502, 2012.

YESHANEW, M. M.; FRUNZO, L.; LUONGO, V.; PIROZZI, F.; LENS, P. N. L.; ESPOSITO, G. Start-up of an anaerobic fluidized bed reactor treating synthetic carbohydrate rich wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 456–464, 2016.

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, n. 7, p. 2622–2626, 2010.

ZHANG, J.; ZANG, L. Enhancement of biohydrogen production from brewers' spent grain by calcined-red mud pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 73–79, 2016.

ZHAO, B. H.; YUE, Z. B.; ZHAO, Q. B.; MU, Y.; YU, H. Q.; HARADA, H.; LI, Y. Y. Optimization of hydrogen production in a granule-based UASB reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 10, p. 2454–2461, 2008.

ZHOU, M.; YAN, B.; WONG, J. W. C.; ZHANG, Y. Bioresource Technology Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste : A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 68–78, 2017.

ANEXO A - Remoção de DQO

Tabela 7.1 - Concentração afluente, efluente e remoção de DQO no $EGSB_5$

Fase	TDH (h)	TCO (kg m^{-3} d^{-1})	DQO_{aflu} (g L^{-1})	DQO_{eflu} (g L^{-1})	Remoção (%)
1	24	5,2	6,51 ± 0,30$^{(7)}$	4,77 ± 0,59$^{(7)}$	26,4 ± 11,4
2	16	7,6	7,09 ± 1,18$^{(8)}$	5,11 ± 0,87$^{(8)}$	27,3 ± 9,7
3	8	15,0	7,12 ± 0,62$^{(8)}$	5,23 ± 0,37$^{(8)}$	26,2 ± 7,1
4	4	27,7	8,55 ± 1,15$^{(8)}$	6,54 ± 1,09$^{(8)}$	14,4 ± 8,2
5	2	57,7	8,53 ± 0,91$^{(8)}$	6,35 ± 0,84$^{(8)}$	13,5 ± 10,7
6	1	119,4	6,78 ± 0,33$^{(7)}$	5,21 ± 0,60$^{(7)}$	22,8 ± 10,5

DQO_{aflu}: DQO afluente; DQO_{eflu}: DQO efluente.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Tabela 7.2 - Concentração afluente, efluente e remoção de DQO no $EGSB_{10}$

Fase	TDH (h)	TCO (kg m^{-3} d^{-1})	DQO_{aflu} (g L^{-1})	DQO_{eflu} (g L^{-1})	Remoção (%)
1	24	10,8	13,96 ± 2,44$^{(8)}$	10,29 ± 1,72$^{(8)}$	25,1 ± 14,1
2	16	15,8	12,41 ± 1,62$^{(8)}$	9,69 ± 1,65$^{(8)}$	20,3 ± 19,1
3	8	30,7	13,97 ± 1,11$^{(8)}$	10,76 ± 1,34$^{(8)}$	16,7 ± 13,9
4	4	59,6	15,45 ± 2,62$^{(7)}$	12,27 ± 0,99$^{(7)}$	18,5 ± 15,1
5	2	113,3	18,71 ± 6,46$^{(6)}$	12,34 ± 2,20$^{(6)}$	30,3 ± 15,6
6	1	233,0	14,45 ± 0,73$^{(6)}$	10,62 ± 1,69$^{(6)}$	26,1 ± 13,8

DQO_{aflu}: DQO afluente; DQO_{eflu}: DQO efluente.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Tabela 7.3 - Concentração afluente, efluente e remoção de DQO no $EGSB_{15}$

Fase	TDH (h)	TCO (kg m^{-3} d^{-1})	DQO_{aflu} (g L^{-1})	DQO_{eflu} (g L^{-1})	Remoção (%)
1	24	14,5	21,11 ± 2,35$^{(8)}$	16,11 ± 1,70$^{(8)}$	20,8 ± 8,6
2	16	23,2	20,00 ± 1,23$^{(8)}$	17,00 ± 3,54$^{(8)}$	14,9 ± 12,2
3	8	45,7	19,69 ± 6,95$^{(8)}$	14,44 ± 1,78$^{(8)}$	21,8 ± 18,7
4	4	91,8	24,63 ± 4,08$^{(7)}$	20,65 ± 2,90$^{(7)}$	15,8 ± 6,3
5	2	182,9	20,07 ± 3,56$^{(6)}$	15,15 ± 1,54$^{(6)}$	9,6 ± 9,1
6	1	348,0	23,12 ± 5,01$^{(7)}$	19,32 ± 3,57$^{(7)}$	13,4 ± 8,8

DQO_{aflu}: DQO afluente; DQO_{eflu}: DQO efluente.

Entre parêntesis encontra-se o número de amostras utilizadas para cálculo das médias.

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

ANEXO B - Balanço de DQO

Tabela 7.4 - DQO mesurada em relação ao somatório das DQO equivalentes dos metabólitos e SSV para o $EGSB_5$

Fase	Metabólitos											Ceflu	SSV	DQO_{Σ}	DQO_{medida}	≠
	HLa	HPr	HAc	HMa	HFo	HSuc	EtOH	HIsoBu	HBu	HVal	HCa	(g L^{-1})				
1	0,19	0,57	1,27	0,00	0,00	0,00	0,46	0,29	0,61	0,00	0,00	0,15	0,19	3,71	4,77	-22,2%
2	0,00	0,70	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,97	0,22	0,00	0,16	0,41	3,92	5,11	-23,3%
3	0,00	0,65	1,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	1,43	0,16	0,00	0,22	0,52	4,32	5,23	-17,3%
4	0,00	0,51	1,63	0,00	0,00	0,00	1,18	0,20	1,57	0,23	0,00	0,19	0,36	5,88	6,54	-10,1%
5	0,00	0,75	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,45	0,00	0,31	0,58	4,29	6,35	-32,4%
6	0,00	0,94	1,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,06	0,83	0,00	0,28	0,77	4,97	5,21	-4,5%

Tabela 7.5 - DQO mesurada em relação ao somatório das DQO equivalentes dos metabólitos e SSV para o $EGSB_{10}$

Fase	Metabólitos											Ceflu	SSV	DQO_{Σ}	DQO_{medida}	≠
	HLa	HPr	HAc	HMa	HFo	HSuc	EtOH	HIsoBu	HBu	HVal	HCa	(g L^{-1})				
1	1,53	0,71	1,84	0,00	0,00	0,00	1,46	0,45	1,98	0,00	0,33	0,15	0,31	8,76	10,29	-14,8%
2	0,00	1,41	1,41	0,00	0,00	0,00	1,11	0,24	1,91	0,00	0,00	0,21	0,47	6,77	9,69	-30,1%
3	0,00	1,07	2,16	0,00	0,00	0,00	0,44	0,31	4,68	0,00	0,00	0,38	1,41	10,45	10,76	-2,9%
4	0,00	1,15	1,12	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	3,55	0,00	0,00	0,85	1,18	7,88	12,27	-35,8%
5	0,00	1,82	2,35	0,00	0,05	0,17	0,00	0,00	4,04	0,00	0,00	0,58	0,81	9,82	12,34	-20,4%
6	0,00	1,89	2,59	0,00	0,07	0,08	0,00	0,00	2,81	0,00	0,00	0,65	0,46	8,56	10,62	-19,4%

Tabela 7.6 - DQO mesurada em relação ao somatório das DQO equivalentes dos metabólitos e SSV para o $EGSB_{15}$

Fase	Metabólitos											Ceflu	SSV	DQO_{Σ}	DQO_{medida}	≠
	HLa	HPr	HAc	HMa	HFo	HSuc	EtOH	HIsoBu	HBu	HVal	HCa	(g L^{-1})				
1	5,31	1,14	0,67	0,05	0,00	0,00	2,51	0,00	1,51	0,00	0,00	1,95	0,73	13,89	16,11	-13,8%
2	3,62	1,22	0,71	0,09	0,05	0,00	1,45	0,00	0,98	0,00	0,00	2,22	0,50	10,84	17,00	-36,2%
3	5,35	0,53	1,31	0,50	0,13	0,13	0,45	0,00	0,76	0,00	0,00	3,28	0,57	12,99	14,44	-10,0%
4	1,73	1,52	1,19	0,00	0,04	0,19	9,73	0,00	5,38	0,00	0,00	0,47	1,29	21,54	20,65	4,3%
5	2,23	0,65	1,59	0,00	0,04	0,65	0,00	0,00	7,40	0,00	0,00	3,84	1,39	17,79	15,15	17,4%
6	3,09	0,60	1,68	0,00	0,09	0,24	0,00	0,00	5,45	0,00	0,00	4,22	1,12	16,48	19,32	-14,7%

Fonte: Elaborado pela autora (2018).