

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

PEDRO HERLLEYSON GONÇALVES CARDOSO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA MANIPUEIRA EM REATOR
ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO: efeito do pH**

**MACEIÓ
2013**

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

PEDRO HERLLEYSON GONÇALVES CARDOSO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA MANIPUEIRA EM REATOR
ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO: efeito do pH**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante Amorim

**MACEIÓ
2013**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

C268p

Cardoso, Pedro Herleyson Gonçalves.

Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbico de leito fluidificado : efeito do pH / Pedro Herleyson Gonçalves Cardoso. – 2013.
59 f.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2013.

Bibliografia: f. 54-59.

1. Biohidrogênio – Produção. 2. Reator anaeróbico de leito fluidificado. 3. Manipueira – Demanda química de oxigênio. 4. Fator pH. 5. Manipueira – Substrato. I. Título.

CDU: 628.35:62-622



Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Centro de Tecnologia – CTEC
Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamentos – PPGRHS



**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DA MANIPUEIRA EM REATOR
ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO: EFEITO DO PH**

PEDRO HERLLEYSON GONÇALVES CARDOSO

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Alagoas e aprovada no dia 26 de setembro do ano de 2013.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

(Orientador – PPGRHS/UFAL)

Prof.ª Dr.ª Karina Ribeiro-Salomon

(PPGRHS /UFAL)

Prof. Dr. Paulo Eduardo Vieira Cunha

À minha família pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Tem alguns pensamentos, ideologias e pessoas em minha vida que, ao longo do tempo vivido, descobri que sem eles eu não sou ninguém. Descobri minha base.

Agradeço primeiramente a Deus pela permissão dada para conclusão deste curso e por todas as graças que obtive durante a realização do mesmo.

À minha família, principalmente aos meus pais Francisco Cardoso de Lima e Maria Erileide Gonçalves Cardoso que não mediram esforços e sempre me apoiaram, permitindo alcançar minhas metas e realizar meus objetivos. Agradeço aos meus irmãos Diêgo Gonçalves Cardoso e Hingred Gonçalves Cardoso pelas contribuições contínuas em minha vida acadêmica. Agradeço ao Luís Karlos Kaká Lá Piere pela amizade, carinho, apoio e pelo incentivo em momentos importantes; obrigado por todos os bons momentos compartilhados.

Dentro de tantas opções, temos que fazer escolhas!

Agradeço a Universidade Federal de Alagoas (UFAL), bem como ao Programa de Pós graduação em Recursos Hídricos e Saneamento (PPGRHS) por ter me acolhido e me dado à oportunidade de me tornar uma pessoa útil à sociedade.

Tenho que agradecer muito a algumas pessoas que contribuíram para a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante Amorim pelo apoio, paciência, orientação e incentivo durante momentos críticos nesta pesquisa e por ter feito às vezes “o impossível” em várias ocasiões.

À Prof^a. Dr^a. Karina Ribeiro Salomon e ao Prof. Dr. Roberto Augusto Caffaro Filho que tornou tudo mais significativo, agradeço pela orientação em momentos decisórios em meu plano de dissertação.

À técnica do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) Florilda Vieira da Silva pelas orientações e treinamento em laboratório, onde foi “peça” essencial na parte prática das análises laboratoriais desta pesquisa.

À minha amiga de curso e de projetos Lívia Maria Batista Vilela. Obrigado pela amizade, pelas ajudas constantes, desde a coleta até os momentos de pia e vidraria!

Agradeço as casas de farinha do município de Santa Luzia do Norte-AL, nas pessoas do Carlos Alberto e Cleide, pela parceria e apoio no fornecimento do substrato (manipueira) utilizado nesta pesquisa.

Agradeço ao CNPq pelo apoio técnico e financeiro. Obrigado a todos os alunos de iniciação científica e os de mestrado engajados no projeto “Formação e capacitação de recursos humanos laboratorial para a produção biológica de hidrogênio a partir de resíduo de manipueira”. Obrigado por todos os momentos compartilhados.

Enfim, agradeço a todos os que de forma direta ou indireta me ajudaram a concluir esta pesquisa.

*“A noção de ‘resto’ não
existe na natureza”*

Jean Dorst

RESUMO

O pH é um parâmetro fundamental em reatores anaeróbios, podendo influenciar na velocidade de produção de hidrogênio e inibir a ação de microrganismos hidrogenotróficos, pois pode afetar a atividade da hidrogenase, bem como na via de metabolismo. Neste contexto, a presente pesquisa objetivou estudar a melhor condição operacional em relação ao fator pH em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF) para uma maior produção biológica de hidrogênio a partir da água residuária do processamento da mandioca (a manipueira) acrescida de suplementos. O reator utilizado, em escala de laboratório, possuía altura de 190 cm e volume total 4192 cm^3 , o volume útil utilizado foi 2,7 L. Utilizou-se, como material suporte para adesão microbiana, a argila expandida com diâmetro de 2,8 à 3,35 mm. Para a partida do reator utilizou-se, como inóculo, lodo de uma lagoa anaeróbia que tratava resíduo líquido de suinocultura, o mesmo passou por um tratamento térmico para que houvesse uma seleção de microrganismos, resultando principalmente nos anaeróbios hidrogenotróficos. Utilizou-se a temperatura ambiente para a operação do reator (25 a 30 °C), e o Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) aplicado foi de 2h. Para o substrato (manipueira), adotou-se uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) teórica inicial de 4000 mg.L^{-1} . Para este estudo foram avaliados diferentes valores de pH, na faixa de 4,0 a 5,3. Neste sentido, de acordo com os resultados verificados pode-se dizer que a realização do experimento foi eficiente para a produção de biohidrogênio a partir da manipueira em RALF, observando-se um pH ótimo de 4,9 com uma produção volumétrica verificada de 0,31 L/h/L e rendimento de 3,5 mol H_2 /mol glicose, a uma taxa de conversão de manipueira em hidrogênio de 88%. A rota fermentativa do ácido butírico foi a que predominou neste valor de pH. As percentagens dos metabólitos solúveis no pH de 4,9 foram: 4% de ácido acético, 54% de ácido butírico, 4% de ácido propiônico, 22% de ácido capróico e 16% de etanol.

Palavras-chave: Biohidrogênio. Reator anaeróbio de leito fluidificado. Manipueira. pH.

ABSTRACT

The pH is an important parameter in anaerobic reactors, may influence the rate of hydrogen production and inhibit the action of microorganisms hidrogenotróficos, it may affect the activity of hydrogenase as well as the route of metabolism. In this context, the present research aimed to study the best operating condition in relation to the pH factor in Anaerobic Fluidized Bed Reactor (RALF) for enhanced biological production of hydrogen from wastewater processing cassava (manipueira) plus supplements. The reactor used in laboratory scale possessed height of 190 cm and total volume 4192 cm³ net volume used was 2.7 L. It was used as support material for microbial adhesion, expanded clay having a diameter of 2.8 to 3.35 mm. For starting the reactor was used as the inoculum, an anaerobic lagoon sludge that was liquid swine waste, it has undergone a heat treatment so that there was a selection of microorganisms, resulting mainly in anaerobic hidrogenotróficos . It was used for room temperature operation of the reactor (25 to 30°C), and the hydraulic retention time (HRT) was applied 2 h. For substrate (cassava), took it a Chemical Oxygen Demand (COD) theoretical initial 4000 mg.L⁻¹. For this study we evaluated different pH values in the range 4.0 to 5.3 . In this sense, according to the results obtained can be said that the experiment was effective for biohydrogen production from cassava in RALF, observing an optimum pH of 4.9 with a production volume checked 0,31 L/h/L and 3.5 mol H₂/mol yield glucose, a conversion rate of hydrogen in cassava 88%. The route of butyric acid fermentation is the most prevalent in this pH value. The percentages of metabolites soluble in this pH were: 4% acetic acid, 54% butyric acid, 4% propionic acid, 22% caproic acid and 16% ethanol.

Keywords: Biohydrogen. Anaerobic fluidized bed reactor. Cassava wastewater. pH.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	RALF utilizado no experimento	27
Figura 2 -	Bomba de recirculação utilizada no experimento	28
Figura 3 -	Bomba de alimentação utilizada no experimento	28
Figura 4 -	Efluente do processamento da mandioca e macaxeira (Manipueira)	30
Figura 5 -	Material suporte utilizado no experimento, antes e depois de submetido ao tratamento físico	32
Figura 6 -	Realização do tratamento térmico do lodo utilizado no experimento	33
Figura 7 -	Quantificação do hidrogênio	36
Figura 8 -	Resumo experimental utilizado nesta pesquisa	37
Figura 9 -	Acompanhamento da DQO afluente e efluente ao longo dos dias de adaptação	39
Figura 10 -	Acompanhamento das concentrações de Carboidratos do afluente e efluente ao longo dos dias de adaptação.....	40
Figura 11 -	Variação das concentrações de ácidos voláteis totais afluente e efluente ao longo dos dias de adaptação.....	40
Figura 12 -	Produção Volumétrica de Hidrogênio ao longo dos dias de adaptação.....	41
Figura 13 -	DQO afluente e efluente do RALF, e eficiência percentual de conversão.....	43
Figura 14 -	Carboidratos afluente e efluente, e eficiência percentual de conversão.....	43
Figura 15 -	Produção Média de AVT no RALF para cada pH efluente analisado.....	44
Figura 16 -	Produção volumétrica de hidrogênio para cada pH efluente analisado.....	45
Figura 17 -	Variação da concentração dos SSV Afluente e Efluente.....	46
Figura 18 -	Relação do rendimento de hidrogênio a concentração do substrato consumido para cada pH efluente analisado.....	48
Figura 19 -	Relação do rendimento de hidrogênio a concentração de SSV para cada pH efluente analisado.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Vazões teóricas e aplicadas em função do TDH	29
Tabela 2 -	Características da manipueira bruta coletada	31
Tabela 3 -	Valores médios de pH verificados na fase de adaptação.....	38
Tabela 4 -	Valores do rendimento de hidrogênio, bem como a eficiência de conversão para cada pH efluente	47
Tabela 5 -	Valores verificados da quantificação dos metabólitos solúveis orgânicos produzidos do RALF	50
Tabela 6 -	Percentagens verificadas em relação a quantificação dos metabólitos solúveis orgânicos produzidos do RALF	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH	Potencial hidrogeniônico
%	Por Cento
±	Mais ou Menos
AL	Alagoas
AVT	Ácidos Voláteis Totais
C	Carbono
cm	centímetros
CO ₂	Dióxido de Carbono
CTEC	Centro de Tecnologia
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Eq.	Equação
g	grama
h	horas
H ₂	Gás Hidrogênio
HY	Rendimento de Hidrogênio
Kj	Kilojoule
L	litros
m ³	Metros cúbicos
mg	miligrama
mM	milimol
mm	milímetros
N	Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de Sódio
°C	Graus Celsius
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TDH	Tempo de Detenção Hidráulico
TOC	Carbono Orgânico Total
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
ΔG	Energia de Gibis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	Produção de Hidrogênio	18
3.2	Produção Biológica de Hidrogênio	18
3.2.1	Rotas Fermentativas	19
3.2.2	Parâmetros que Afetam a Produção de Hidrogênio	20
3.3	Manipueira	21
3.4	Produção de Hidrogênio a partir da manipueira	22
3.4.1	Produção de Hidrogênio a partir da manipueira em RALF	23
3.5	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado	24
3.5.1	Material Suporte em RALF	24
3.5.2	Produção de Hidrogênio em RALF	25
3.6	Considerações Finais	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado	27
4.1.1	Manipueira como Substrato	29
4.1.2	Material Suporte para Aderência Microbiana	32
4.2	Partida e Inóculo para o RALF	33
4.2.1	Tratamento térmico do inóculo	33
4.2.2	Inoculação do RALF	34
4.2.3	Adaptação microbiana no RALF	34
4.3	Operação do RALF para Obtenção do pH ótimo	34
4.4	Análises Físico-químicas e de Cromatografia	35
4.5	Produção Volumétrica de Biohidrogênio	35
4.6	Eficiência de Conversão de Manipueira em Hidrogênio	36
4.7	Resumo Experimental	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Adaptação Microbiana no RALF	38
5.1.1	Considerações sobre a fase de adaptação	42
5.2	Efeito do pH na produção de hidrogênio	42
5.3	Avaliação da Eficiência de Conversão de Manipueira em Hidrogênio	47
5.4	Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos	49
6	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

O termo sustentabilidade nunca foi tão falado nos últimos anos. Visto que a humanidade desloca-se em ritmo acelerado resultando em impactos ambientais negativos; o aproveitamento dos recursos naturais de maneira correta é o mais importante passo para reverter esse quadro. Dentre as ações que podem ser tomadas está o uso de fontes de energia renovável.

Neste sentido, é que nas últimas décadas, com o elevado crescimento populacional, tem aumentado o consumo de energia e conseqüentemente tem levado ao uso excessivo de combustíveis fósseis. Devido a essa crescente demanda e a necessidade de combustíveis limpos, por causa da poluição atmosférica gerada pelo uso dos combustíveis fósseis, muitos estudos tem focado a produção de hidrogênio como fonte de energia alternativa (YAMIN et al., 2000; ROJAS, 2010).

O hidrogênio, dito como uma alternativa para o futuro, é uma das fontes de energias complementares com características muito interessantes, porque é uma fonte de energia limpa, cuja utilização produz apenas água ao invés do monóxido e dióxido de carbono, um dos principais gases emitidos pela queima do petróleo e um dos responsáveis pelo efeito estufa. Além disso, o hidrogênio pode ser produzido a partir de matéria orgânica renovável. Apresenta-se 2,75 vezes mais conteúdo energético do que os hidrocarbonetos (YAMIN et al., 2000; FERNANDES, 2008; AMORIM, 2009; ROJAS, 2010; REIS, 2010; CAPPELLETTI et al., 2011). Assim pode-se obter hidrogênio de três principais formas, que são as mais estudadas: a reforma de combustível, eletrólise e a produção biológica, sendo que essa última torna-se atrativa por se tratar de tecnologia de baixo custo e por demandar pouca energia no processo de geração (DAS & VEZIROGLU, 2001; WANG & WAN, 2009).

Deste modo, a produção biológica de hidrogênio pode ser realizada através da fotossíntese: biofotólise (algas verdes e cianobactérias) e fotodecomposição de compostos orgânicos (bactérias fotossintetizantes); e através da fermentação: fermentação de compostos orgânicos (bactérias fermentativas), sendo que a fermentação é tecnicamente mais simples e o hidrogênio pode ser obtido de matéria orgânica presente em águas residuárias, como resíduos agroindustriais contendo hidratos de carbono (DAS & VEZIROGLU, 2001; WANG & WAN, 2009; CAPPELLETTI et al., 2011).

Enfatiza-se a produção fermentativa de hidrogênio, sendo tecnicamente mais simples, contudo é um processo complexo e influenciado por diversos fatores, tais como: potencial

hidrogeniônico (pH), substrato, tempo de detenção hidráulica (TDH), temperatura, material suporte e método de tratamento do inóculo (WANG & WAN, 2009). Os efeitos destes fatores sobre a produção fermentativa de hidrogênio foram relatados por grande número de estudos nos últimos anos (FERNANDES, 2008; AMORIM, 2009; BARROS et al., 2010; MAINTINGUER et al., 2008; REIS, 2010; INFANTES et al. 2011; AMORIM, 2012). Assim, esforços crescentes têm sido feitos a fim de verificar a viabilidade da utilização de carboidratos ricos em resíduos e águas residuárias provenientes de diferentes fontes para a produção fermentativa de hidrogênio (PEIXOTO, 2008; LAMAISON, 2009; AMORIM et al., 2011; CAPPELLETTI et al., 2011).

Assim sendo, tem-se a manipueira que é um resíduo líquido gerado durante a prensagem da mandioca triturada para produção de farinha ou na lavagem da mandioca ralada para extração e purificação de fécula. Possui elevada DQO, em torno de 70 g.L^{-1} , e alto efeito tóxico devido à presença de cianeto que pode chegar a 400 mg.L^{-1} . É, por isso, um dos resíduos de maior impacto ao meio biótico (SILVA, 2009). De acordo com Cappelletti et al. (2011), em seu estudo sobre o efeito da concentração de substrato inicial sobre consumo de DQO, pH e produção de H_2 durante a fermentação da manipueira, relatou que os seus resultados obtidos demonstraram que as águas residuárias do processamento de mandioca, um efluente altamente poluente, pode ser empregada com sucesso como substrato para a produção de H_2 , isto em reatores em sistema de batelada.

Alguns estudos utilizando a manipueira, como substrato, já foram desenvolvidos e seus resultados indicam a viabilidade deste resíduo na produção de hidrogênio, tais como: Cappelletti et al. (2011); Lamaison (2009), Amorim et al., 2011 e Amorim (2012). Porém, apenas Amorim (2012) estudou a produção de hidrogênio e quais rotas fermentativas foram favoráveis para um maior rendimento, contudo não analisou o efeito do pH no processo. Até então todos os estudos referentes ao tema foram testados em reatores em batelada.

Os RALF são reatores não convencionais, contendo um leito com partículas inertes de pequenas dimensões, submetido um fluxo ascendente para provocar a fluidificação. Essas partículas, tendo densidade maior que os microrganismos, oferecem maior superfície específica para fixação destes, como também permite a aplicação de cargas hidráulicas relativamente grandes sem ocorrer o arraste das mesmas. A fina camada biológica (biofilme) que desenvolve em torno das partículas permite boa difusão do substrato para as camadas mais profundas dessa película, reduzindo ao mínimo ou eliminando as camadas inativas (LEME, 2010).

Deste modo, nos sistemas de leito fluidificado, a turbulência criada pelo fluido ascendente e pelo gás produzido contribui para uma alta taxa de transferência de massa nas partículas suporte. Devido a esse maior grau de agitação em comparação com os outros tipos de reatores, de leito fixo por exemplo, há uma grande interação entre o líquido e a biomassa. O uso de partículas resulta numa maior área superficial e numa alta concentração de biomassa ativa (MENDONÇA, 2004; REIS, 2010).

De acordo com o exposto, apesar da literatura apresentar alguns estudos relacionados à produção biológica de hidrogênio em RALF, tais como: Wu et al. (2003), Shida (2008), Lin et al. (2009), Barros et al. (2009), Amorim (2009) e Amorim, (2012). Contudo, esta tecnologia necessita-se de estudos específicos em alguns parâmetros que podem influenciar na produção de hidrogênio neste tipo de reator.

Alguns aspectos que influenciaram a produção deste gás neste tipo de reator já foram estudados como: temperatura (ZHANG & SHEN, 2005; REIS, 2010; INFANTES et al. 2011), tipo de inóculo (OH et al., 2003; KIM et al. 2006; MAINTINGUER et al. 2008; LUO et al. 2010a; ZIEBRA & PECCIA, 2011), material suporte (CHANG et al., 2002; LEITE, 2005; BARROS et al., 2010), substrato (PEIXOTO, 2008; LAMAISON, 2009; CAMPPELLETTI et al., 2009), e Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) (CHEN et al., 2001; SHIDA, 2008; BARROS et al., 2010; AMORIM, 2012). Entretanto, outros parâmetros para a produção biológica de hidrogênio no RALF precisam ser mais bem explorados, como o efeito do pH em função da água residuária utilizada.

O pH é um parâmetro fundamental em reatores anaeróbios, podendo influenciar na velocidade de produção de hidrogênio e inibir a ação de microrganismos hidrogenotróficos que atuam como reguladores da pressão parcial do H₂ no sistema. Influencia nas atividades de bactérias produtoras de hidrogênio, e na produção de hidrogênio fermentativo, porque pode afetar a atividade da hidrogenase, bem como a via de metabolismo. Por isso a escolha do pH deve envolver dois aspectos, o pH da água residuária a ser tratada e o pH que leva as melhores condições para a produção de hidrogênio (FERNANDES, 2008; BARROS et al., 2010; WANG & WAN, 2009; LUO et al. 2010b; AMORIM et al., 2010; INFANTES et al. 2011).

Neste contexto, este estudo avaliou o efeito do pH na produção biológica de hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF), utilizando como substrato a manipueira. Este estudo também avaliou a composição dos metabólitos solúveis presentes no efluente do reator durante sua operação, indicando qual a melhor rota fermentativa que enquadra-se a produção do biogás.

Esta pesquisa fez parte do projeto de “Formação e capacitação de recursos humanos laboratorial para a produção biológica de hidrogênio a partir de resíduo de manipueira”, desenvolvido no Centro de Tecnologia (CTEC) pertencente à Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Otimizar o rendimento da produção de biohidrogênio a partir de um substrato real oriundo do procesamento da mandioca e macaxeira (manipueira) em reator anaeróbio de leito fluidificado.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o pH para otimizar a produção volumétrica de biohidrogênio;

Avaliar o pH para otimizar o rendimento de biohidrogênio;

Avaliar a composição percentual dos metabólitos solúveis quantificados no efluente do reator durante sua operação, indicando qual a melhor rota fermentativa que enquadra-se a produção do biohidrogênio.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No âmbito das discussões sobre a questão energética, aprofundada pelo cenário internacional de estimativa de escassez do petróleo e pelas mudanças no clima, ocasionadas pela queima de combustíveis fósseis, surgem pesquisas e estudos técnicos, econômicos e de impactos socioeconômicos e ambientais. Principalmente de energias alternativas ou renováveis voltados para o desenvolvimento de alternativas na produção de energia, a partir de matéria orgânica de origem animal e vegetal, a biomassa. Existem outras fontes também como a partir da força dos ventos, a chamada energia eólica; através da captação da luz do sol, a energia solar, e a partir de pequenas centrais hidroelétricas, as quais atendem a demandas em áreas periféricas ao sistema de transmissão (PACHECO, 2006).

Nesta busca por fontes alternativas, o Brasil apresenta grande diferencial em relação a outros países, pois a sua biodiversidade, permite a geração de energia por vários meios. Inclui-se as fontes de energia renováveis como a hidrelétrica e também a busca pelo desenvolvimento de fontes alternativas como a utilização da biomassa, para produção de combustíveis renováveis, como o etanol, o biodiesel, e, mais recentemente, o biohidrogênio.

3.1 Produção de Hidrogênio

Os principais processos para a produção de hidrogênio são: a partir de combustíveis fósseis (através do craqueamento térmico de gás natural, oxidação natural de hidrocarbonetos pesados, gaseificação do carvão e reforma catalítica de gás natural), a partir da água (através da eletrólise da água, fotólise da água, eletrólise do vapor e decomposição termoquímica da água) e a produção biológica (DAS & VEZIROGLU, 2001).

3.2 Produção Biológica de Hidrogênio

A produção biológica de hidrogênio pode ser realizada através da fotossíntese (biofotólise e fotodecomposição) e através da fermentação de compostos orgânicos.

A biofotólise é realizada por algas verdes e cianobactérias, e consiste em um processo que converte energia solar em energia química armazenada, útil a célula. Este processo acontece quando um sistema biológico sofre ação da luz, resultando na decomposição de um

substrato (quase sempre água) e na produção de hidrogênio (DAS & VEZIROGLU, 2001; MANISH & BANERJEE, 2008).

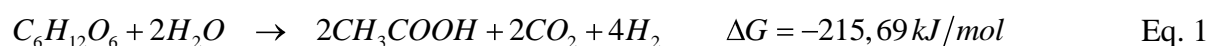
A fotodecomposição de compostos orgânicos é realizada por bactérias fotossintetizantes que são capazes de degradar a glicose à CO_2 e H_2 . Estas bactérias apresentam alta conversão de H_2 e consomem diversos substratos orgânicos, possibilitando a produção do hidrogênio (DAS & VEZIROGLU, 2001; MANISH & BANERJEE, 2008).

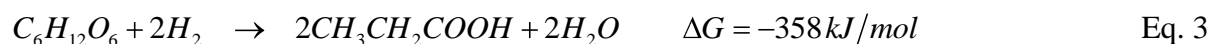
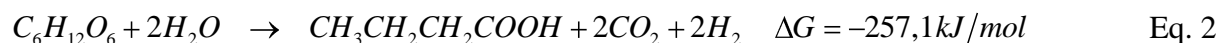
A fermentação de compostos orgânicos é realizada por bactérias fermentativas em que o hidrogênio é liberado pela ação da hidrogenase como meio de eliminar os elétrons gerados durante a degradação de carboidratos, ou seja a ação dessa enzima atua na quebra das moléculas maiores em outras menores. Estas bactérias possuem alta velocidade de produção de hidrogênio e podem produzir constantemente, durante o dia e a noite, crescendo e se multiplicando rápido para fornecer microrganismos para o sistema de produção (DAS & VEZIROGLU, 2001; MANISH & BANERJEE, 2008; MAINTINGUER et al., 2008).

3.2.1 Rotas Fermentativas

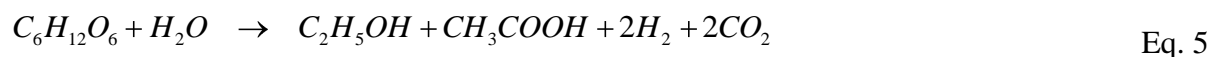
A digestão anaeróbia divide-se em duas principais fases: a acidogênica e a metanogênica, sendo que a produção de hidrogênio só é realizada na fase acidogênica, pois na metanogênese ocorre a conversão do hidrogênio formado em metano e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 1997).

O hidrogênio pode ser produzido a partir de vários compostos contendo matéria orgânica. O ácido acético e o ácido butírico são os principais metabólitos gerados no tratamento de efluentes, sendo considerados indicadores da produção de hidrogênio, já que a produção desses ácidos leva a formação de hidrogênio. A formação do ácido acético produz mais hidrogênio do que a formação do ácido butírico. A Equação 1 e a Equação 2 expressam as rotas fermentativas do ácido acético e do ácido butírico, respectivamente. Enquanto estas rotas fermentativas supracitadas indicam a produção de H_2 , existe uma rota fermentativa que consome hidrogênio, que é representada pela produção do ácido propiônico, descrita na Equação 3. O ácido propiônico reage com a glicose consumindo hidrogênio (ZHENG & YU, 2005).





A produção de outros metabólitos, tais como o etanol deve ser evitada pois considera-se substância inibidora da produção de hidrogênio. A formação do etanol, a partir da glicose não produz nem consome hidrogênio, porém consome o substrato que poderia ser utilizado na formação de hidrogênio. A rota fermentativa do etanol está descrita na Equação 4 (WAN & CHANG, 2008). Contudo, Zhu et al. (2009) observaram nos estudos deles sobre digestão acidogênica, que há uma possibilidade de produção simultânea de etanol e hidrogênio, de acordo com a equação 5.



3.2.2 Parâmetros que Afetam a Produção de Hidrogênio

Por se tratar de um processo natural e biológico, a produção do biohidrogênio poderá sofrer influência de alguns fatores, como por exemplo: a temperatura, o tratamento térmico do inóculo e o TDH.

Zhang & Shen (2005), em um reator em batelada, observaram que a temperatura influencia na produção de hidrogênio. Na faixa de 25 a 40°C ocorrem as melhores eficiências do processo, principalmente devido a condição próxima do ideal (35 °C). Maintinguer et al. (2008), em um reator em batelada, observou que o tratamento térmico do inóculo influencia na produção de hidrogênio. Concluiu que o pré-tratamento do inóculo (choque térmico) foi eficiente para a seleção microbiana de espécies produtoras de hidrogênio e que o pH de 5,5 no início do experimento, auxiliou na inibição de espécies consumidoras de hidrogênio.

Outro parâmetro que é de significativa importância para a produção do biohidrogênio é o pH, podendo influenciar na produção volumétrica final deste gás. Neste contexto, o efeito do pH se manifesta sob diferentes formas, podendo interferir na atividade enzimática dos microrganismos, alterando a estrutura molecular das enzimas, podendo também alterar o

equilíbrio químico de certos compostos envolvidos no processo, aumentando ou diminuindo a sua toxicidade (WANG & WAN, 2009; LUO et al. 2010b; NELSON & COX, 2011).

Sugere-se que a escolha do pH para a operação no reator deva envolver dois aspectos, o pH da água residuária a ser tratada e o pH que leva as melhores condições para a produção de hidrogênio (com base no processo de digestão anaeróbia). Algumas pesquisas mostraram que o pH ideal para a produção de hidrogênio está na faixa de 5,0 a 6,5 (VAN GINKEL et al., 2001; MIZUNO et al., 2002; FANG & LIU, 2002; LIN & CHANG, 2004; KHANAL et al., 2004; CHEN et al., 2005; MU et al., 2007; SHIN, 2007; ACEVES-LARA et al., 2008; LI et al., 2008), mesmo trabalhando com culturas, substratos e reatores diferentes. Entretanto, necessita-se de outros estudos que contemplem outros substratos, de preferência os reais em substituição aos sintéticos, em outros tipos de reatores, como por exemplo os contínuos em vez dos sistemas em batelada, tudo isso em outras condições operacionais para que se possa otimizar cada vez mais esta tecnologia.

3.3 Manipueira

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é um produto agrícola tipicamente brasileiro e caracteriza-se por ser tolerante às condições de seca e baixa fertilidade do solo (CAPPELLETTI et al., 2011). A manipueira é o líquido resultante da prensagem da massa de mandioca triturada na produção de farinha ou no processo de extração e purificação da fécula.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de mandioca, é o terceiro maior produtor, cujo processamento para a produção de farinha e fécula dá origem a cerca de 5 a 7 litros de águas residuárias por kg de raiz de mandioca processada. Esta água residuária é rica em carboidratos. Tem cerca de 20 e 50 g.L⁻¹ de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e 5 a 15 g.L⁻¹ de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), o que o torna um poluente considerável. Seu alto teor de matéria orgânica qualifica esse efluente para ser usado como substrato em processos biotecnológicos, incluindo a produção biohidrogênio. Além disso, este efluente apresenta uma elevada relação C/N e alguns macros e micronutrientes, sugerindo que poderia ser macro suplementado com micro elementos para utilização como matéria-prima para a produção de processos de base biológica, como a produção de biohidrogênio (CAPPELLETTI et al., 2011; REGINATTO et al., 2011).

A manipueira é o principal efluente, em termos de agressão à natureza, produzido no processo de beneficiamento da mandioca. Apresenta-se fisicamente na forma de suspensão

aquosa e, quimicamente, como uma miscelânea de compostos: goma (5 a 7%), glicose e outros açúcares, proteínas, células descamadas e derivados cianogênicos (ácido cianídrico, cianetos e aldeídos), substâncias diversas e diferentes sais minerais, muitos dos quais fontes de macro e micronutrientes para as plantas (CORDEIRO, 2006; SILVA, 2009).

A manipueira tem o mesmo conteúdo líquido solúvel da raiz, contendo de 20 a 40g.L⁻¹ de carboidratos. Apesar do seu conteúdo energético, a manipueira, na maioria das vezes, é descartada em correntes de água sem qualquer aproveitamento econômico, outras vezes ela é aproveitada para fertilização do solo. Porém o descarte da manipueira sem prévio tratamento é considerado um fator de preocupação ambiental por conta do seu alto teor de carboidratos que pode resultar no esgotamento do oxigênio em ambientes aquáticos, prejudicando os animais que vivem nesse tipo de habitat (WOSIACKI e CEREDA, 2002).

3.4 Produção de Hidrogênio a partir da manipueira

A maioria dos estudos piloto referentes à produção de hidrogênio foram utilizados efluentes sintéticos como a glicose, sacarose, e hexose, porém algumas pesquisas testaram a manipueira como substrato, contudo estes estudos foram realizados em reatores em batelada.

Cappelletti et al. (2011) estudou o efeito da concentração da manipueira no crescimento celular e na produção de hidrogênio, por uma cultura pura de *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824, em uma série de ensaios em batelada. Utilizou-se a ativação da cepa, como preparação da cultura pura para a fermentação. O inóculo foi pré-cultivado e enriquecido novamente, porém em condições específicas para a produção de H₂. O Reator funcionou a temperatura em torno de 36°C. Concluiu que em concentrações menores de DQO, como 10000, 7500 e 5000 mg.L⁻¹ resultaram em maiores rendimentos de hidrogênio, sendo que o melhor rendimento se deu na menor concentração de manipueira (5000 mg.L⁻¹), e alcançou 2,41 moles H₂/mol glicose, com base no limite teórico por fermentação, de 4 moles H₂/mol glicose. A produção de H₂ se deu na faixa de pH de 5,0 a 7,0.

Lamaison (2009) estudou a aplicação da manipueira como substrato para a produção de hidrogênio por processo fermentativo, em uma série de ensaios em batelada. Utilizou-se como inóculo, lodo de tratamento anaeróbio de efluentes da suinocultura, temperatura em torno de 35°C e TDH de 2 dias. Concluiu que houve uma produção aceitável para as condições postas, e alcançou 1,82 mol de H₂/mol de glicose, em cargas de DQO que variaram de 2352 a 3202 mg.L⁻¹, com pH ótimo na faixa de 5,0 a 5,5.

Cheng et al. (2011) estudaram o uso da manipueira como substrato na produção de hidrogênio, em ensaios em batelada. Utilizou temperatura de 31°C e DQO de 10400 mg.L⁻¹. Espécies de *Clostridium* foram usadas como inóculo principal. Concluiu que houve uma variação na produção de H₂ de 2,91 a 6,07 mol H₂/mol hexose, com pH ótimo de 6,3.

Os resultados das pesquisas demonstram que a manipueira pode ser utilizada como substrato para a produção de hidrogênio e novas pesquisas devem ser estimuladas a fim de buscar tecnologias que aumentem a produção de hidrogênio a partir da manipueira. Sugere-se testes com substrato real (manipueira) em RALF, verificando parâmetros específicos como o pH, por exemplo.

3.4.1 Produção de Hidrogênio a partir da manipueira em RALF

Estudos sobre produção de hidrogênio foram realizados testando substratos (glicose, frutose, hexose, efluentes industriais, entre outros) em diversas condições operacionais, obtendo resultados satisfatórios, porém todos foram realizados em reatores em batelada, e os que foram realizados em reatores contínuos, os mesmos não utilizaram a manipueira como substrato. Amorim (2012) foi o estudo pioneiro no Brasil a pesquisar produção de hidrogênio a partir da manipueira em RALF.

Amorim (2012) avaliou a produção de hidrogênio a partir da manipueira como fonte de carbono em RALF operado sob aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico (TCO). O material suporte para a aderência da biomassa foi argila expandida e o reator foi inoculado com lodo anaeróbio pré-tratado termicamente. O aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico foi realizado mantendo a DQO afluente constante durante toda a operação do reator e variando o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 horas até 1 hora. Foi constatado que a produção volumétrica de hidrogênio aumentou de 0,20 até 2,04 L.h⁻¹.L⁻¹, quando foi reduzido o TDH de 8 h para 1 h. E o rendimento sofreu um incremento de 0,31 até 1,91 mol H₂.mol glicose⁻¹, com a redução do TDH de 8 para 2 h. Ao reduzir o TDH para 1 h, o rendimento sofreu uma redução, atingindo o valor de 1,20 mol H₂.mol glicose⁻¹. Os metabólitos solúveis presentes durante a operação do reator foram o ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol. As análises microscópicas indicaram a presença de bacilos, os quais são morfologias semelhantes às espécies dos gêneros *Clostridium sp.* e *Enterobacter sp.*, que são conhecidas como potenciais produtoras de hidrogênio em processos fermentativos.

3.5 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado

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

Assim, tem-se o reator anaeróbio de leito fluidificado que está inserido no grupo dos sistemas de alta taxa com crescimento bacteriano aderido (CAMPOS & PEREIRA, 1999). De acordo com Chernicharo (1997), os reatores anaeróbios de alta taxa podem ser classificados em dois grandes grupos de acordo com o tipo de crescimento de biomassa no sistema, crescimento microbiano disperso e crescimento microbiano aderido.

O reator de leito fluidificado consiste em um vaso cilíndrico contendo meio suporte inorgânico o qual é fluidificado pela velocidade ascendente do líquido criada pelas taxas de escoamento de alimentação e recirculação. Um separador no topo do reator garante a eficiência de separação do líquido, biogás e sólido. Este tipo de reator foi desenvolvido por Jewell e colaboradores nos anos 70. E o primeiro reator industrial, deste tipo, foi construído em 1986 para o tratamento de água residuária de cervejaria (CAMPOS & PEREIRA, 1999; LEME, 2010).

Nesse tipo de reator, a fase sólida é formada pelas biopartículas (material suporte + biofilme), as quais destinam-se à retenção da biomassa no reator, enquanto que a fase líquida, é constituída pelo afluente a ser tratado, e, fase gasosa por sua vez, é oriunda da geração interna de biogás no caso do processo anaeróbio. Esses reatores, basicamente, apresentam duas regiões distintas, a primeira de reação, onde ocorre a degradação do material orgânico e formação do biofilme; e a segunda, de sedimentação, a qual é responsável pela separação das biopartículas e decantação do efluente na parte superior do reator. O RALF conta com o separador de fases e sistema de recirculação, os quais, respectivamente, destinam-se à coleta de gases e controle da velocidade ascensional empregada na região de reação (MENDONÇA, 2004).

3.5.1 Material Suporte em RALF

Em um RALF, nota-se que o material suporte para a aderência microbiana é um dos principais componentes para que o processo seja realizado de forma eficiente e viável. Neste

contexto, o material suporte deve apresentar resistência à abrasão, superfície porosa favorável à colonização de microrganismos, facilidade para alcançar a fluidificação e capacidade de favorecer a transferência de massa entre o meio e o biofilme (BARROS et al., 2010).

Em RALF, a energia de fluidificação depende da densidade e do tamanho do material suporte. O leito do material tem suas partículas envolvidas por microrganismos, as quais permanecem suspensas pelo resultado do movimento vertical ascendente da massa líquida quando são utilizadas, partículas suporte de densidade maior que a da água residuária a ser tratada (CAMPOS & PEREIRA, 1999; LEME, 2010).

Deste modo, neste tipo de reator, diversos materiais podem servir como suporte para aderência de microrganismos, tais como o poliestireno, pneu inservível triturado, PET (BARROS et al., 2010), e argila expandida (cinasita) (SHIDA 2008; AMORIM, 2009; REIS, 2010; AMORIM, 2012). Contudo, a argila expandida mostrou-se mais viável e vantajosa, apresentando bom desempenho na produção de hidrogênio, além de ser um material de fácil acesso, de baixo custo e apresentam boas características de fluidificação

3.5.2 Produção de Hidrogênio em RALF

Algumas pesquisas já foram realizadas utilizando o RALF visando à produção de hidrogênio, sendo que estes obtiveram resultados satisfatórios e viáveis (SHIDA, 2008; BARROS et al., 2010; AMORIM, 2009; REIS, 2010), contudo estes estudos utilizaram efluentes sintéticos a base de glicose. Não utilizaram a manipeira como substrato, neste sentido tem-se a necessidade de utilizar um resíduo real, pois o mesmo permite estudar características autênticas e próprias do substrato.

Shida (2008) avaliou a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica com efluente sintético contendo 2000 mg.L^{-1} de glicose. Concluiu que o rendimento de produção de hidrogênio aumentou com a redução do TDH de 8h para 2h, e obteve um rendimento de 1,84 e 2,29 moles de H_2/mol de glicose. Além disso, foram alcançados bons desempenhos de produção de hidrogênio sob condições de pH em torno de 4,0.

Barros et al. (2010) pesquisou a influência de diferentes materiais suporte na produção de hidrogênio utilizando concentração de glicose de 4000 mg L^{-1} . Concluiu que o material suporte de pneu triturado obteve o melhor desempenho, apresentando o melhor rendimento de

hidrogênio de 2,15 mol H₂/mol glicose. Verificou também que a produção de H₂ aumentou com a redução do TDH de 8h para 1h.

Amorim (2009) estudou o efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio com concentração de glicose de 2000, 4000, 10000 e 25000 mg L⁻¹. Concluiu que a concentração de 4000 mg.L⁻¹, com adição de alcalinidade, apresentou a distribuição mais favorável dos metabólitos solúveis para a produção de hidrogênio, obteve um rendimento máximo de 2,52 mol H₂/mol glicose. Além disso, observou que o conteúdo de hidrogênio no biogás aumentou com a redução do TDH, sendo que o ótimo foi o de 2h. A faixa de pH entre 3,7 e 6,8 foi satisfatório para a produção de H₂.

Reis (2010) estudou o efeito da velocidade ascensional e o TDH na produção de hidrogênio com efluente sintético contendo 5000 mg.L⁻¹ de glicose. Concluiu que o aumento da velocidade ascensional aplicada proporcionou um aumento da produção volumétrica de hidrogênio, e obteve um rendimento de 2,55 mol H₂/mol glicose. Além disso, observou-se que o conteúdo de hidrogênio no biogás aumentou com o TDH ótimo de 2h.

3.6 Considerações Finais

A produção de biohidrogênio combinada com o tratamento de resíduos orgânicos, integra os princípios do desenvolvimento sustentável e da minimização e tratamento de resíduos, numa clara aproximação às chamadas tecnologias verdes.

Neste contexto, embora a produção de hidrogênio seja uma tecnologia nova, estudos referentes ao tema já encontram-se bastante avançado. Esse avanço pode ser justificado pela alta necessidade de diminuição dos impactos negativos provocados pela sociedade civil de modo geral (expansão populacional, criação de novos produtos provindos de materiais-prima finitas, entre outros). No entanto necessita-se de uma otimização desta tecnologia para que a mesma se promova de modo contínuo.

Portanto, verificou-se no levantamento bibliográfico realizado que há uma preocupação para a realização de pesquisas para a produção de novas fontes de energias renováveis. Neste estudo com ênfase na produção de hidrogênio, principalmente o biohidrogênio que é uma das alternativas que vem se destacando cada vez mais no meio científico e que conseqüentemente pelo avanço das pesquisas, chegará a sociedade de modo equitativo, que poderá usufruir desta tecnologia, preservando de maneira direta e indireta o meio ambiente.

4 METODOLOGIA

Os procedimentos experimentais que foram realizados para a obtenção do mais adequado pH para a produção de hidrogênio a partir da manipueira em RALF, bem como os metabólitos solúveis produzidos no período operacional estudado serão descritos a seguir.

4.1 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado

O RALF utilizado foi contruído, em escala de laboratório, em acrílico transparente com uma espessura de 5 mm, possuindo uma altura de 190 cm e 5,3 cm de diâmetro interno (Figura 1).

Figura 1 – RALF utilizado no experimento



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

O volume total do reator foi de 4192 cm³ e foi preenchido com o material suporte (argila expandida com diâmetro de 2,8 mm a 3,35 mm) até a altura de 90 cm da base do reator. O volume útil foi de 2,7 L.

O valor da velocidade de fluidificação para a partícula de argila expandida que foi utilizado durante a operação do sistema foi $1,612 \text{ cm.s}^{-1}$ (1,3 vez velocidade mínima de fluidificação) (AMORIM et al., 2012). A bomba responsável pela recirculação e fluidificação foi uma ECOSAN-Bomba dosadora (Figura 2).

Figura 2 – Bomba de recirculação utilizada no experimento



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Acoplou-se ao reator uma bomba DOSITEC, modelo DLX MA/A para a alimentação do mesmo (Figura 3). A vazão da bomba de alimentação foi em função do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) (Tabela 1). Para regular a vazão da bomba responsável pela recirculação utilizou-se o método do volume em um determinado tempo.

Figura 3 – Bomba de alimentação utilizada no experimento



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Na Tabela 1 encontram-se as vazões teóricas e as vazões aplicadas para cada TDH proposto por Amorim (2012). Observa-se que os dados em relação à vazão na operação do RALF mantiveram-se estável ao longo do período de adaptação.

Tabela 1 – Vazões teóricas e aplicadas em função do TDH

TDH (h)	Vazão Teórica (mL/h)	Vazão Aplicada (mL/h)
8	524	505 ± 29,58
6	698,70	696 ± 8
4	1048	1054,71 ± 62,70
2	2096	1999,5 ± 241,19

Fonte: Autor desta dissertação (2013)

Utilizou-se a temperatura ambiente para a operação do reator, a qual variou entre 25 e 30°C, ou seja, próxima a faixa mesofílica. Utilizou-se o TDH de 2h, pois de acordo com Amorim (2012), que avaliou a produção de hidrogênio a partir da manipueira em RALF, alcançou rendimento máximo com este TDH, sendo considerado ótimo para produção de H₂.

4.1.1 Manipueira como Substrato

O RALF foi operado com manipueira (Figura 4) como substrato para produção de hidrogênio. Coletou-se a manipueira em casas de farinha de mandioca localizada no município de Santa Luzia do Norte – AL.

A manipueira foi armazenada em recipientes de 10 litros. Os recipientes foram mantidos em freezer a -15°C até o uso, quando ela foi descongelada, caracterizada, e posteriormente diluída.

Figura 4 – Efluente o processamento da mandioca e macaxeira (Manipueira)



Fonte: Silva (2009).

Preparou-se em laboratório, uma solução afluyente para alimentação do RALF, que consistiu na manipueira diluída em água (DQO 4000 mg.L⁻¹) acrescida de suplementos, conforme o Quadro 1.

Quadro 1 – Suplementação inserida a manipueira utilizada como substrato para produção de hidrogênio no RALF

Composto	Concentração mg.L ⁻¹
Uréia	125
Sulfato de Níquel	1
Sulfato Ferroso	5
Cloreto Férrico	0,5
Cloreto de Cálcio	47
Cloreto de Cobalto	0,08
Óxido de Selênio	0,07
Fosfato de potássio monobásico	85
Fosfato de potássio dibásico	21,7
Fosfato de sódio dibásico	33,4

Fonte: Amorim et al. (2012)

Para saber a real característica do substrato utilizado no experimento, necessitou-se de uma caracterização prévia realizada de acordo com Silva (2009), para que a manipueira bruta fosse analisada e utilizada de maneira prática e eficiente, além de conhecer o real fator de poluição da mesma. Na Tabela 2 estão reportados os valores médios, mínimos e máximos obtidos da caracterização prévia das amostras de manipueira bruta coletada e analisadas, no que diz respeito aos parâmetros físico-químicos.

Tabela 2 - Características da manipueira bruta coletada

Análises (Nº de amostras)	Mínimo (mg/L)	Máximo (mg/L)	Desvio Padrão	Resultados (mg/L)	Literatura ¹ (mg/L)
AVT (4)	2162,81	6167,92	1637,09	4222,66	6392,00
Carboidrato (5)	1291,53	5866,86	3591,55	13505,99	3754,00
TOC (5)	4653,00	6135,00	634,00	5782,20	28900,00
Cloretos (4)	72,17	357,06	124,05	184,10	-
DBO (5)	15016,41	17528,46	1369,54	15823,01	29330,00
DQO (5)	21854,90	26134,96	1826,16	24005,79	66190,00
Fósforo Total (4)	34,23	56,11	12,66	51,81	700,00
Nitrogênio Total (2)	2541,00	2695,00	108,89	2618,00	1730,00
pH (3)	4,20	4,30	0,07	4,30	5,53
Relação DQO/DBO (5)	1,50	1,60	0,10	1,50	2,30
Relação C/N (1)	2,20	2,20	0,00	2,20	16,70
Sólidos Totais (4)	6220,00	10648,00	3122,61	10312,50	58000,00
Sólidos Voláteis (4)	3716,00	8150,00	1913,14	6465,00	42900,00
Sólidos Fixos (4)	2498,00	6732,00	1998,60	1998,60	13600,00
Sólidos Sedimentáveis (4)	2,00	3,00	0,50	2,33	5,50
Sulfato (4)	17,47	18,45	0,42	18,04	-
Turbidez (3)	1435,00	1600,00	99,87	1485,00	2969,25

¹ Valores verificados de acordo com Amorim (2012) e Silva (2009).

Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Destaca-se na caracterização realizada a quantidade de carboidratos contido na manipueira. A literatura indica que a manipueira tem grande potencial para produção de hidrogênio, já que é rica em carboidratos (CAPPELLETTI et al., 2011).

Adotou-se uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) teórica inicial de 4000 mg.L⁻¹ de manipueira, pois de acordo com Amorim *et al.* (2009), que avaliou a produção de hidrogênio em diferentes concentrações do substrato glicose em RALF e alcançou rendimento máximo com esta referida DQO. O estudo de Amorim (2012) também utilizou esta DQO, julgando eficiente para o processo de produção de H₂.

4.1.2 Material Suporte para Aderência Microbiana

A adaptação da população microbiana aconteceu no próprio reator, utilizando-se a argila expandida para a adesão dos microrganismos. O RALF foi preenchido por partículas de argila expandida (cinasita) selecionadas na faixa granulométrica de 2,8 mm a 3,35 mm e que possuam densidade maior que a da água.

Baseado no estudo realizado por Amorim (2009), o volume ocupado com o material suporte foi o volume correspondente a uma altura de 90 cm da base do reator (aproximadamente 1986 cm³), e possuiu as características físicas levantadas por Ortega et al. (2001).

A argila expandida (Figura 5) foi adquirida como pedras para uso de jardinagem, sendo que nas mesmas realizou-se um pré-tratamento físico, observando a densidade delas em relação à densidade da água, de acordo com a metodologia de Amorim (2009) e Amorim (2012). Esta metodologia consiste basicamente em um processo de trituração e peneiramento, classificando aquelas que se encontrassem na faixa granulométrica compreendida entre 2,8 e 3,35 mm. Posteriormente realizou-se o teste de densidade em um recipiente contendo água para classificar aquelas que possuíam densidade aparente maior que a da água, ou seja, as pedras que sedimentaram no recipiente.

Figura 5 – Material suporte utilizado no experimento, antes e depois de submetido ao tratamento físico



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

4.2 Partida e Inóculo para o RALF

A adaptação da população microbiana realizou-se no próprio reator, por meio de lodo utilizado como inóculo no RALF. Coletou-se o lodo em uma lagoa anaeróbia que trata resíduos de uma suinocultura localizada no bairro de Santa Amélia, Maceió- AL.

Nogueira (1986) recomenda a inoculação, pois tem a vantagem de reduzir o tempo de partida e alcançar mais depressa o período de estabilização do reator com produção normal de biogás.

4.2.1 Tratamento térmico do inóculo

O lodo (Figura 6) passou por um pré-tratamento térmico a fim de impedir o crescimento de microrganismos metanogênicos consumidores de hidrogênio e permitir a formação de esporos das bactérias produtoras de hidrogênio.

A metodologia utilizada neste tratamento seguiu a proposta sugerida por Maintinguer et al. (2008) que é uma adaptação daquela utilizada por Kim et al. (2006). Consiste no aquecimento prévio do lodo por 10 minutos a uma temperatura de 90°C e, posterior esfriamento em banho de gelo até que este atinja a temperatura de 25°C.

Figura 6 – Realização do tratamento térmico do lodo utilizado no experimento



Fonte: Amorim (2012).

4.2.2 Inoculação do RALF

Preparou-se 15L da solução final para partida do RALF contendo solução afluyente (manipueira + suplementos) e inóculo. A proporção da solução final foi composta por 10% de lodo pré-tratado e 90% de solução afluyente.

O reator permaneceu em recirculação com se estivesse em batelada por 48 horas. Nesse momento, o sistema foi alimentado com uma solução final para partida do reator composta da solução afluyente de manipueira e inóculo pré-tratado.

4.2.3 Adaptação microbiana no RALF

Antes de iniciar o estudo propriamente dito com os testes de pHs, houve uma adaptação da população microbiana em função do TDH para que esta desenvolvesse o processo de modo que não houvesse interferência pelo motivo da mal adaptação dos microrganismos produtores de hidrogênio ao meio. Esta adaptação realizou-se em um período de sessenta dias.

Stronach *et al.* (1987) recomendam a introdução gradual do resíduo até a carga desejada. Segundo Hobson & Wheatley (1993), a partida de um reator anaeróbio é relativamente fácil, pois as bactérias presentes no inóculo aumentam de número, sofrem mutações e expressam diferentes atividades enzimáticas conforme se adaptam ao substrato.

Neste contexto, inicialmente utilizou-se o TDH de 8 horas que funcionou por dez dias, após este utilizou-se o TDH de 6 horas por dez dias e posteriormente o de 4 horas por 40 dias, até chegar ao TDH de 2 horas que foi o tempo foco do estudo.

4.3 Operação do RALF para Obtenção do pH ótimo

A operação do RALF foi conduzida continuamente, durante 129 dias, a fim de avaliar o efeito do pH no processo de produção de biohidrogênio utilizando a manipueira como substrato, afim de obter o pH ótimo para um maior rendimento de produção biológica de hidrogênio. Para esse estudo foram avaliados diferentes valores de pH. Sendo eles: 4,0; 4,1; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5; 4,6; 4,7; 4,8; 4,9; 5,0; 5,1; 5,2 e 5,3; valores estes embasado na faixa de pH

necessário ao metabolismo bacteriano para a produção de hidrogênio (WU et al., 2010; NELSON & COX, 2011), como também em estudos realizados e em andamento. Os ajustes para o controle do pH foram realizado com soluções de ácido clorídrico 10 Molar.

4.4 Análises Físico-químicas e de Cromatografia

As amostras da manípueira foram coletadas em dois pontos do RALF, na entrada (afluente) e na saída (efluente) para análises físico-químicas. As análises de cromatografia foram realizadas apenas em amostras da saída do RALF (Efluente).

A frequência das análises foi de três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira), exceto o hidrogênio, pH e vazão que necessitaram de verificações diárias, com a finalidade de monitoramento para o desenvolvimento eficiente do processo de produção de H₂, como também a verificação de cromatografia que realizou-se uma vez em cada fase do estudo (cada valor de pH). As metodologias utilizadas nas análises foram as realizadas por Amorim (2009).

4.5 Produção Volumétrica de Biohidrogênio

A produção volumétrica de hidrogênio foi medida por meio do aparelho MilliGas-counter do fabricante Ritter, tipo MGC-1 V3.1 PMMA (Figura 7). A metodologia seguida foi a baseada no trabalho de Peixoto (2008). Utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 5 mol. L⁻¹ precedendo o aparelho para que o CO₂ presente no biogás ficasse retido na solução e apenas o gás hidrogênio fosse medido (AMORIM, 2009).

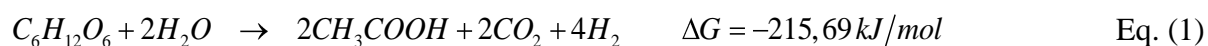
Figura 7 – Quantificação do hidrogênio



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

4.6 Eficiência de Conversão de Manipueira em Hidrogênio

Realizou-se a avaliação da eficiência de conversão do substrato (manipueira) em biogás (hidrogênio) de acordo com o que foi realizado por Cappelletti et al. (2011), Amorim (2009) e Amorim (2012). Esta metodologia consiste no número de moles de hidrogênio produzido em função da quantidade teórica de hidrogênio que poderia ser obtida caso houvesse a conversão de todo substrato em hidrogênio. A partir da Equação (1), pode-se observar que a produção teórica máxima de hidrogênio é de 4 mol H_2 .mol glicose⁻¹. Esta equação descreve a rota do ácido acético.



Calculou-se o rendimento de hidrogênio a partir da manipueira com base nos valores da produção volumétrica de hidrogênio, como também a partir dos metabólitos solúveis produzidos. Utilizou-se pressão atmosférica local de aproximadamente 1atm e volume útil do reator de 2,7 L com TDH de 2h.

4.7 Resumo Experimental

A Figura 8 mostra o resumo do período utilizado para a realização dos experimentos.

Figura 8 – Resumo experimental utilizado nesta pesquisa



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir apresenta-se os resultados e discussão dos valores verificados após análise do experimento realizado para obtenção do melhor resultado de pH para a produção de hidrogênio a partir da manipeira em RALF, bem como, quais os metabólitos solúveis produzidos no período reacional estudado.

5.1 Adaptação Microbiana no RALF

A adaptação foi realizada em função do TDH, sendo que a mesma foi controlada através da vazão.

A temperatura ambiente utilizada não variou muito ficando entre o intervalo de 27 a 32°C. Verificou-se 28,4°C como o valor médio de temperatura utilizada nesta fase de adaptação. Amorim (2012) em seu estudo de produção de hidrogênio em RALF a partir da manipeira verificou a mesma faixa de temperatura.

Utilizou-se o ácido clorídrico 10 Molar para equilíbrio do pH da solução afluente. A Tabela 3 mostra os valores médios do pH afluente e efluente verificados em cada TDH da fase de adaptação.

Tabela 3 – Valores médios de pH verificados na fase de adaptação

TDH (h)	pH Afluente	pH Efluente
8	4,25 ± 0,03	4,25 ± 0,04
6	4,16 ± 0,11	4,19 ± 0,05
4	3,74 ± 0,41	4,51 ± 0,53

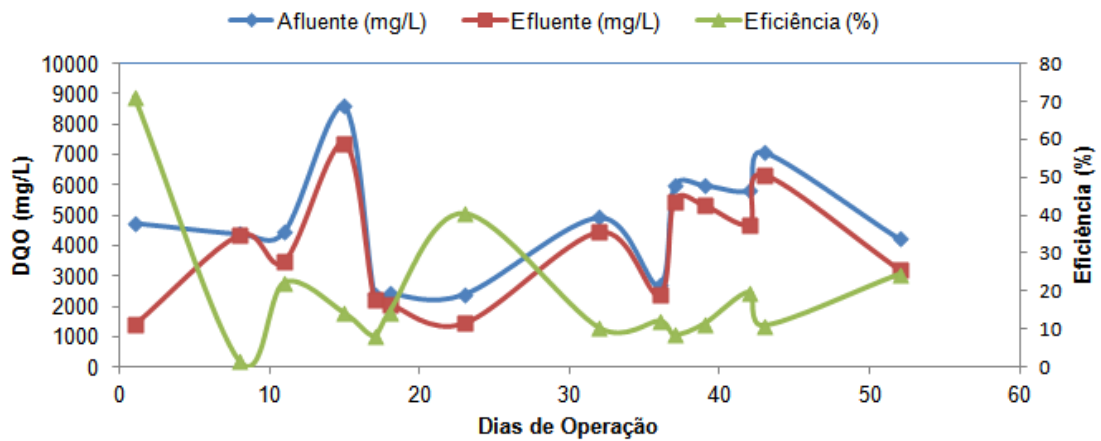
Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Observou-se que o pH afluente não teve altas variações sendo que o mínimo verificado foi 3 e o máximo de 4,47 ambos no TDH de 4h. Já os valores de pH efluente teve uma variação maior de 3,77 a 5,7 ambos no TDH de 4h.

Em relação ao desempenho do reator, nos sessenta dias de adaptação acompanhados, notou-se que a eficiência do RALF foi satisfatório com média de remoção de DQO de 19,14% estando em acordo com Barana (2000) que verificou remoção de 21,15% em reator

acidogênico tratando manipueira. A Figura 09 mostra os valores de DQO ao longo dos dias de adaptação microbiana do RALF, bem como os valores das eficiências de conversão.

Figura 09 – Acompanhamento da DQO afluyente e efluente ao longo dos dias de adaptação



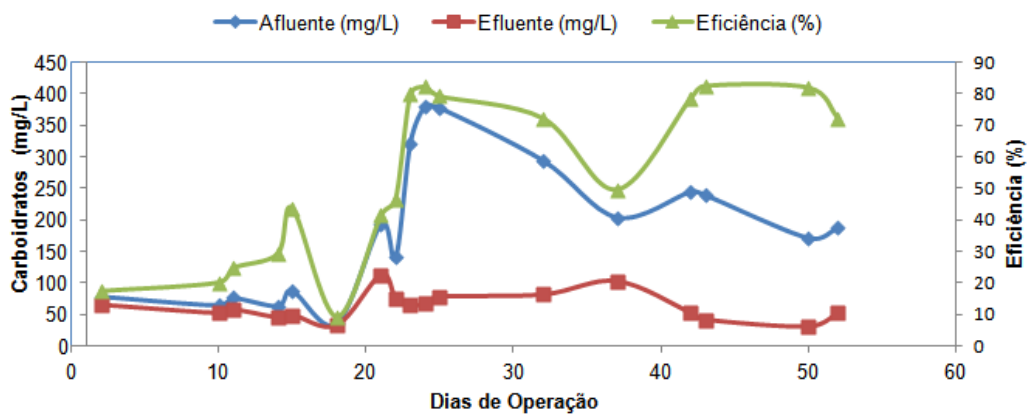
Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Chernicharo (1997) sugeriu um limite de 30% de remoção de DQO na fase acidogênica. Amorim (2012) nas mesmas condições do estudo atual verificou 25,33% de remoção de DQO, valor próximo do verificado neste estudo.

Isto pode mostrar que o RALF desempenhou de forma satisfatória a fase acidogênica da digestão anaeróbia, a qual ocorre a produção de ácidos e consequentemente a produção de hidrogênio. Pode-se dizer que possivelmente o tratamento térmico do inóculo de acordo com Maintinguer et al. (2008) foi eficiente, pois selecionou os microrganismos adequados ao processo anaeróbio.

O substrato consumido (carboidratos) também teve resultados almejados, verificou-se média de 123,46 mg/L. A Figura 10 mostra o comportamento nos dias de adaptação.

Figura 10 - Acompanhamento das concentrações de Carboidratos do afluente e efluente ao longo dos dias de adaptação

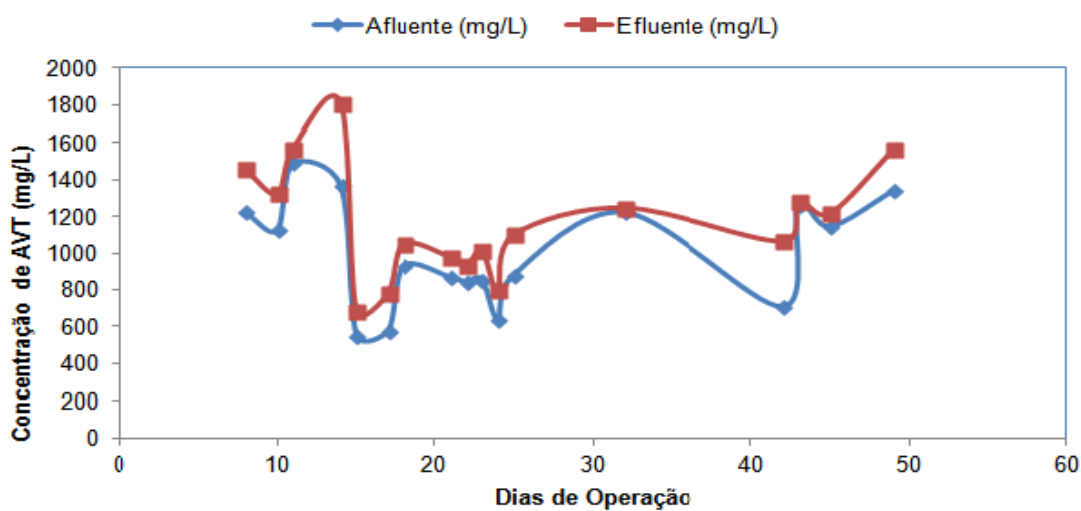


Fonte: Autor desta dissertação (2013).

A eficiência média de remoção de carboidratos foi de 53,57%. Amorim (2012) verificou 65% para eficiência de remoção de carboidratos, valor próximo ao averiguado neste estudo.

Em relação aos AVT, a Figura 11 mostra o acompanhamento dos valores medidos do afluente, efluente e da produção no reator, em toda a fase de adaptação microbiana.

Figura 11 - Variação das concentrações de ácidos voláteis totais afluente e efluente ao longo dos dias de adaptação



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

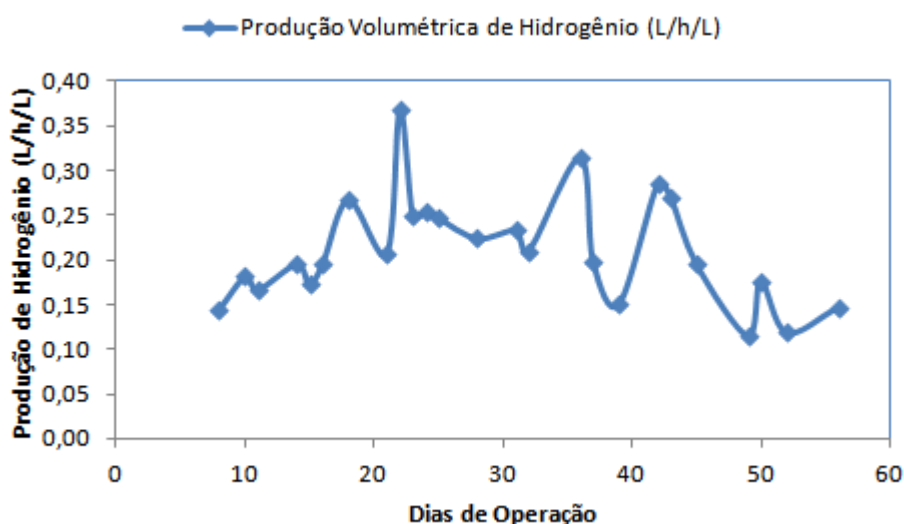
Nesta fase de adaptação, a produção média de ácidos voláteis totais no RALF foi de 166,95 mg/L. No Afluente verificou-se valor médio de 1002,41 mg/L e no efluente observou-se valor médio de 1169,36 mg/L.

De acordo com Barana (2000) um aumento da taxa de alimentação num processo contínuo de digestão anaeróbia já estabilizado, provocará um aumento da concentração de ácidos voláteis, hidrogênio molecular e dióxido de carbono no reator acidogênico.

Neste sentido, observou-se esse acréscimo a partir do 17º dia de adaptação, no qual notou-se uma leve variação.

Na fase de adaptação houve produção de hidrogênio conforme observa-se na Figura 12 que mostra o acompanhamento da produção volumétrica de hidrogênio, o qual obteve valor mínimo de 0,12 L/h/L e o máximo foi de 0,31L/h/L ambos no TDH de 4h. A média da produção volumétrica foi de $0,21 \pm 0,06$ L/h/L, considerando toda a fase de adaptação. Amorim (2012) obteve média de produção volumétrica de 1,97 L/dia/L nas mesmas condições operacionais do estudo atual. Observou-se que no estudo de Amorim (2012) considerou o valor da densidade da argila no cálculo da produção volumétrica de hidrogênio e o presente estudo considerou o valor medido em proveta do volume útil do RALF de 2700 mL, justificando a diferença entre os valores averiguados.

Figura 12 - Produção Volumétrica de Hidrogênio ao longo dos dias de adaptação



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

5.1.1 Considerações sobre a fase de adaptação

Pode-se dizer que, tratando-se de uma adaptação em um processo anaeróbio, nesta fase ocorreram os dois processos esperados. No primeiro, sólidos degradáveis foram hidrolisados a moléculas menores, solúveis. No segundo processo, as bactérias formadoras de ácidos utilizaram esses compostos intermediários solúveis como fonte de energia e para o crescimento, resultando em produtos de fermentação e biomassa celular.

O procedimento de partida e inoculação do RALF foi eficiente, provavelmente pela realização do tratamento térmico do inóculo, tendo como consequência a remoção adequada de DQO na fase acidogênica e pelo valor verificado do substrato consumido (carboidratos).

Maintinguer et al. (2008), em um reator em batelada, observou que o tratamento térmico do inóculo influencia na produção de hidrogênio. Concluiu que o pré-tratamento do inóculo (choque térmico) foi eficiente para a seleção microbiana de espécies produtoras de hidrogênio.

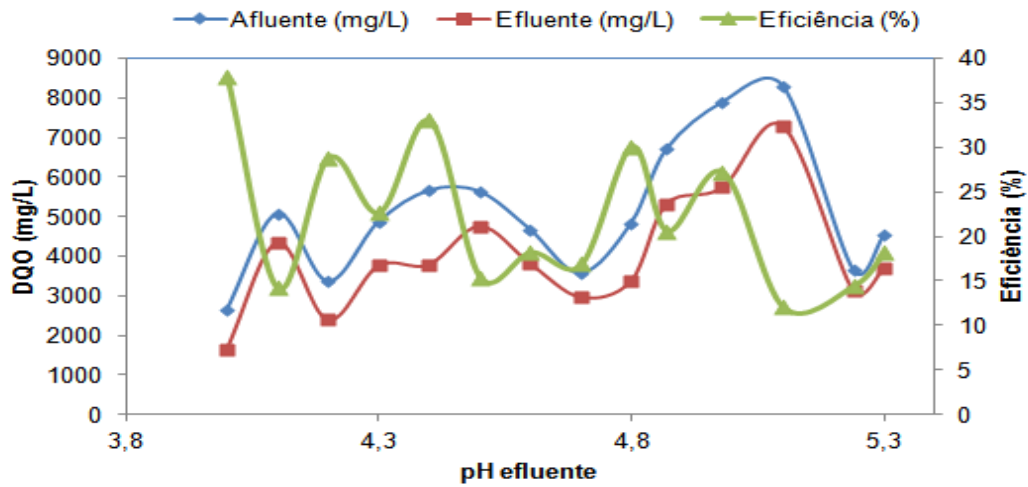
Portanto, a realização da fase de adaptação foi satisfatória para a produção de biohidrogênio a partir da manipueira em RALF.

5.2 Efeito do pH na produção de hidrogênio

Para o estudo do pH, observou-se que para a obtenção do TDH de 2 horas, aplicou-se da vazão teórica de $2096,0 \text{ mL.h}^{-1}$, uma vazão real de $1999,50 \text{ mL.h}^{-1} \pm 241,19$. A faixa de temperatura verificada nesta fase foi de 26°C (mínima) a 31°C (máxima). A faixa de pH estudada variou entre 4,0 e 5,3.

Em relação à DQO, verificou-se que houve uma variação da DQO Afluente de $2642,63 \text{ mg.L}^{-1}$ (valor mínimo) a $8289,16 \text{ mg.L}^{-1}$ (valor máximo), no pH 4,0 e pH 5,1 respectivamente. De acordo com Amorim (2012), isso se deve ao fato da utilização de um substrato real, ou seja, suas características são difíceis de controlar e, apesar dos cuidados com armazenamento e da caracterização, as amostras de manipueira possuíam peculiaridades que podem ter interferido no controle da concentração inicial, como por exemplo, uma rápida fermentação. A Figura 13 mostra os valores médios de DQO verificados na entrada e na saída do RALF, como também a eficiência média para cada pH efluente analisado.

Figura 13 - DQO afluente e efluente do RALF, e eficiência percentual de conversão

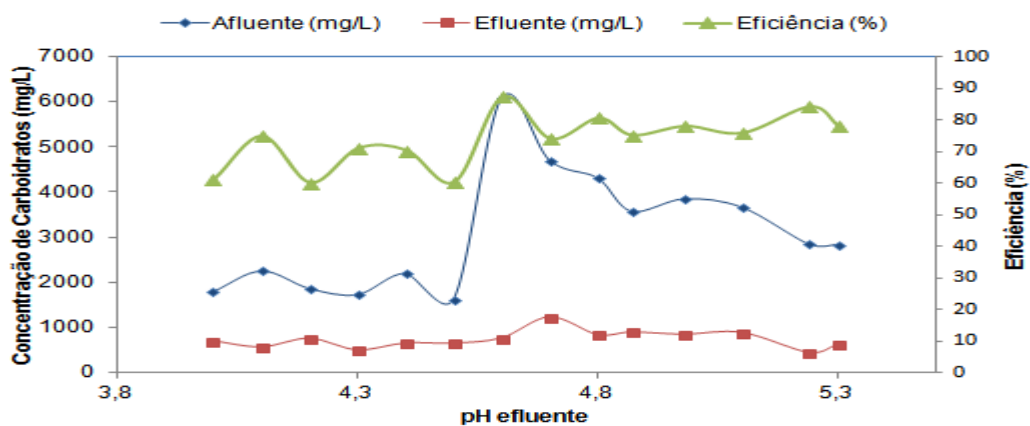


Fonte: Autor desta dissertação (2013).

No que diz respeito à taxa percentual de conversão, notou-se que a eficiência do RALF, assim como na fase de adaptação, também foi satisfatória com média de remoção de DQO de 22,14%. Mostrando mais uma vez que o RALF satisfaz de forma segura a fase acidogênica da digestão anaeróbia na qual ocorre a produção de hidrogênio.

Tratando-se de carboidratos, a Figura 14 mostra os valores médios verificados para cada valor de pH efluente estudado. Observou-se que a eficiência média de remoção de carboidratos foi de 73,66%. Amorim (2012) verificou 65% para eficiência de remoção de carboidratos, valor próximo do verificado neste estudo. A concentração dos carboidratos totais foi analisada em forma de glicose.

Figura 14 - Carboidratos afluente e efluente, e eficiência percentual de conversão

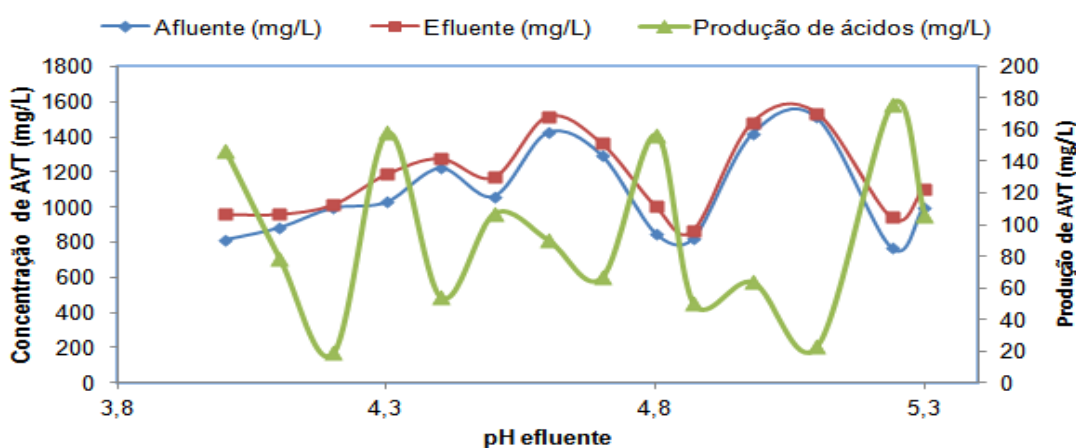


Fonte: Autor desta dissertação (2013).

A concentração de carboidratos afluente variou de 1633,03 mg.L⁻¹ (valor mínimo) a 6092,49 mg.L⁻¹ (valor máximo), para o pH efluente 4,5 e 4,6 respectivamente. Já a concentração de carboidratos efluente variou de 445,81 mg.L⁻¹ (valor mínimo) a 1221,30 mg.L⁻¹ (valor máximo), para o pH efluente 5,2 e 4,7 respectivamente. Verificou-se que não houve variações significativas ao longo do estudo, obtendo eficiências de remoção semelhante, no que diz respeito a cada valor de pH estudado.

A Figura 15 mostra o monitoramento dos Ácidos Voláteis Totais (AVT) no RALF. Verificou-se nos AVT valores médios afluentes de máximo 1423,37 mg.L⁻¹ e mínimo 764,71 mg.L⁻¹ nos pHs efluentes de 4,6 e 5,2 respectivamente. Já nos AVT efluentes, verificou-se valor máximo de 1534,90 mg.L⁻¹ e mínimo de 868,22 mg.L⁻¹, respectivamente nos valores de pH efluente de 5,1 e 4,9.

Figura 15 - Produção Média de AVT no RALF para cada pH efluente analisado



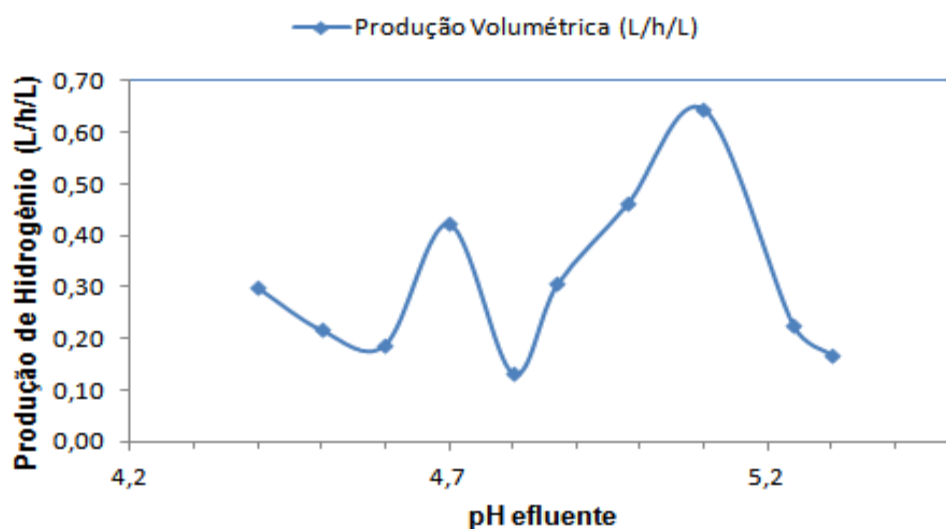
Fonte: Autor desta dissertação (2013).

No que diz respeito a esta produção de AVT no processo reacional no RALF, observou-se uma maior produção de 176,47 mg/L no pH efluente de 5,2. No pH efluente de 4,2 foi notado a menor produção de ácidos de 18,94 mg/L.

De acordo com a Figura 7, pode-se verificar que nos pHs efluente 4,0; 4,3; 4,8 e 5,2 foram os que mais produziram ácidos totais, já nos pHs efluente 4,2 e 5,1 foram os que menos produziram ácidos totais. Observou-se também que nos pHs efluente 4,1; 4,4; 4,7; 4,9 e 5,0 ficaram na mesma faixa de produção de ácidos totais, obteve-se uma produção média em relação ao experimento como todo, nem mínimo nem máximo. Já nos pHs 4,5 e 5,3 obtiveram uma produção um pouco maior que a produção média, tendo em vista o experimento como todo.

Tratando-se de produção volumétrica de hidrogênio, a Figura 16 mostra o acompanhamento desta produção para cada pH efluente analisado, onde o valor mínimo foi de 0,13 L/h/L observado no pH efluente de 4,8 e o máximo foi de 0,65 L/h/L observado no pH efluente de 5,1. A média da produção volumétrica foi de 0,31 L/h/L, considerando toda a fase analisada com TDH de 2 horas.

Figura 16 – Produção volumétrica de hidrogênio para cada pH efluente analisado



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

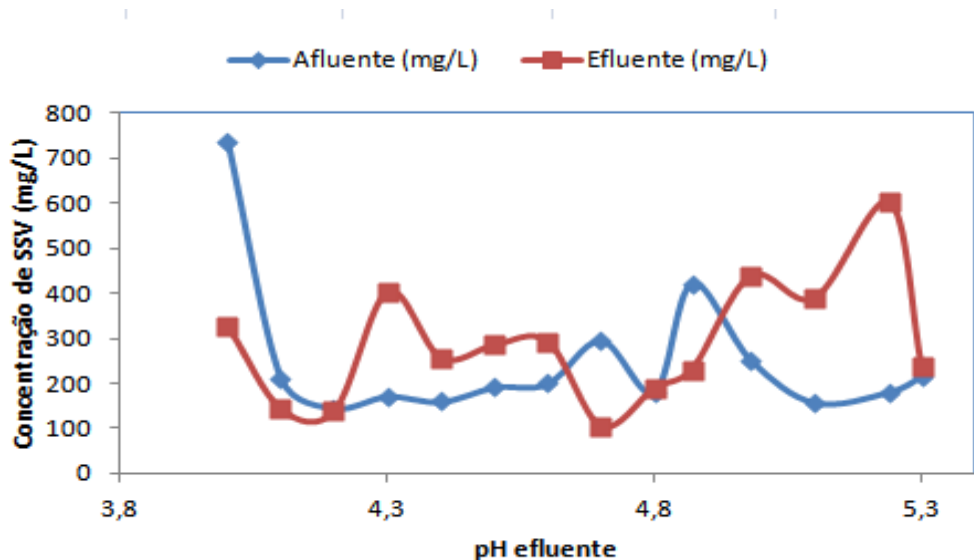
Nota-se que há valores de produção volumétrica de hidrogênio semelhantes nos pHs 4,4 (0,30 L/h/L) e 4,9 (0,31 L/h/L), 4,6 (0,19 L/h/L) e 5,2 (0,23 L/h/L), 4,7 (0,42 L/h/L) e 5,0 (0,46 L/h/L). No pH 5,1 há um pico com o valor máximo produzido.

Estes valores de produção volumétrica semelhantes provavelmente indicam que neste pH analisado desenvolveu a mesma rota fermentativa, favorecendo ou não a produção de H_2 (WU et al., 2010). Nesta fase da digestão anaeróbica que acontece a produção de hidrogênio, há produção de ácidos orgânicos, cujas rotas fermentativas podem favorecer a produção deste biogás, que é o caso da rota do ácido acético, já outras rotas podem desfavorecer a produção, que é o caso da rota do ácido propiônico, por exemplo (ZHENG & YU, 2005; WAN & CHANG, 2008; ZHU et al., 2009). Pode-se dizer que, uma alta produção volumétrica não afirma a possibilidade de ter-se um alto rendimento de hidrogênio, pois a rota fermentativa na qual o processo se desenvolve irá influenciar na produção dos ácidos orgânicos favoráveis.

Verificando a produção de hidrogênio (Figura 8), observou-se que possivelmente houve uma coerência de quantidade produzida, quando relacionada com a produção de AVT (Figura 7).

Em relação à biomassa reacional, a mesma foi analisada por meio dos Sólidos Suspensos Voláteis (SSV). A Figura 17 mostra o comportamento dos SSV em cada pH analisado.

Figura 17 - Variação da concentração dos SSV Afluente e Efluente



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Os SSV afluente variou de 146 mg/L (pH 4,2) a 738 mg/L (pH 4,0). Já no efluente, essa variação foi de 142 mg/L (pH 4,1) a 604 mg/L (pH 5,2).

Analisando a biomassa efluente, nota-se que nos pHs 4,0; 4,3; 5,0 e 5,1 o comportamento foi semelhante no que diz respeito as concentrações dos SSV 328 mg/L, 404 mg/L, 439 mg/L e 390 mg/L, respectivamente. Verifica-se um pico no pH 5,2 (604 mg/L), onde provavelmente tenha apresentado um maior metabolismo em forma acelerada, ou uma quantidade maior de microrganismos ativos no meio. Já nos pHs 4,1 (142 mg/L), 4,2 (138 mg/L) e 4,7 (104 mg/L) foram as menores concentrações verificadas, onde possivelmente teve-se uma menor quantidade de biomassa ativa. Pode-se dizer que, quanto maior a quantidade de biomassa ativa, maior o metabolismo, que por consequência terá uma melhor digestão anaeróbia que posteriormente viabilizará as vias fermentativas, produzindo o biogás desejado, ou seja, o hidrogênio.

5.3 Avaliação da Eficiência de Conversão de Manipueira em Hidrogênio

Na Tabela 4 observa-se o acompanhamento do rendimento da produção de hidrogênio, como também as eficiências de conversão da manipueira em hidrogênio para cada pH estudado, calculado a partir do volume útil do RALF.

Tabela 4 – Valores do rendimento de hidrogênio, bem como a eficiência de conversão para cada pH efluente analisado

pH efluente	HY (mol H ₂ /mol glicose)	Eficiência de Conversão (%)
4,0	2,65	66
4,1	1,36	34
4,2	1,64	41
4,3	0,90	23
4,4	2,82	71
4,5	3,20	80
4,6	0,89	22
4,7	1,66	42
4,8	0,74	19
4,9	3,50	88
5,0	2,61	65
5,1	3,30	83
5,2	1,50	38
5,3	0,80	20

Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Verificou-se a melhor eficiência foi durante o pH 4,9 (88%) seguido dos pHs 5,1(83%) e 4,5 (80%). A menor eficiência observou-se nos pHs 4,8 (19%) e 5,3 (20%). Contudo, no geral, o desempenho do reator foi satisfatório na faixa de pH analisada (4,0 a 5,3), sendo alcançada uma média geral de conversão de 50%, ou seja, um rendimento de 2 mol H₂/mol glicose.

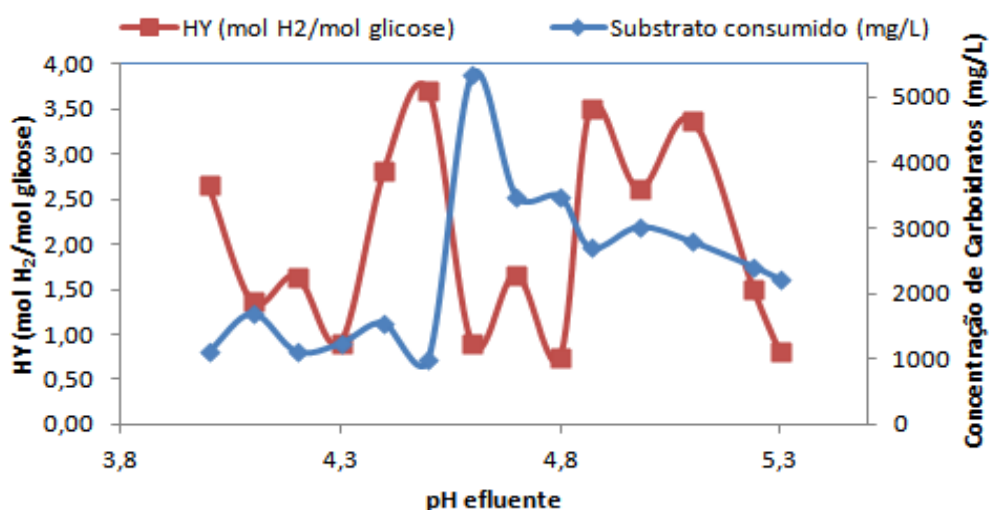
Amorim (2012) em experimento a partir da manipueira em RALF em condições operacionais semelhantes a este trabalho, obteve eficiência de conversão de 21%, contudo não

houve controle de pH, impossibilitando relacionar tais resultados, sabe-se que o pH predominante em seu estudo foi para o TDH de 2h foi o pH 5,5.

Neste contexto, pode-se relacionar tal eficiência ao valor verificado do pH 5,3, onde observou-se eficiência de conversão de hidrogênio de 20%, aproximando-se do valor obtido por Amorim (2012). Assim, pode-se dizer que, possivelmente há uma tendência de redução desta eficiência com a aumento do pH, de 5,3 a 5,5.

A Figura 18 mostra a relação do rendimento da produção de hidrogênio (HY) a partir do substrato consumido para cada pH efluente estudado.

Figura 18 - Relação do rendimento de hidrogênio a concentração do substrato consumido para cada pH efluente



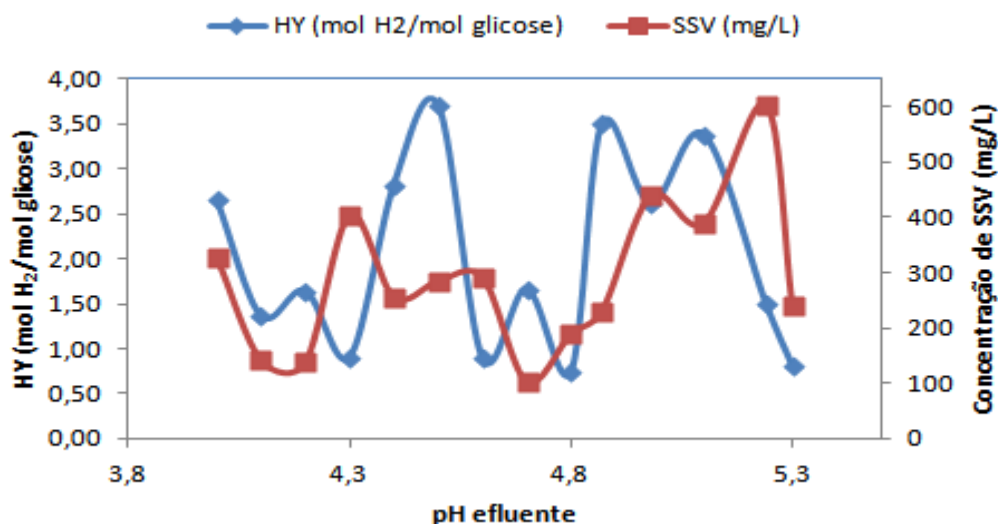
Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Pode-se verificar uma concordância entre os rendimentos verificados, precisamente nos valores de pH a seguir: 4,3 e 4,6; 4,5 e 5,1; 4,4 e 5,0 e 4,0; 5,2 e 4,1; 4,7 e 4,2. Observou-se um maior rendimento no pH 4,9 (3,5 mol H₂/mol glicose) e um menor rendimento nos pHs 4,8 (0,74 mol H₂/mol glicose) e 5,3 (0,80 mol H₂/mol glicose).

No que diz respeito à relação da quantidade de substrato consumido para obter um alto rendimento de hidrogênio, pode-se notar que tais quantidades são inversamente proporcionais, ou seja, para os pHs com maiores rendimentos (pH 4,5; 4,9 e 5,1) houve uma baixa ação microbiana (representado pela baixa quantidade de substrato consumido), em contra partida para um menor rendimento (pH 4,8 e 5,3) houve uma alta quantidade de ação microbiana (representado pela alta quantidade de substrato consumido).

A Figura 19 mostra a relação do rendimento da produção de hidrogênio (HY) a partir dos SSV para cada pH efluente estudado.

Figura 19 - Relação do rendimento de hidrogênio a concentração de SSV para cada pH efluente



Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Tais resultados confirmam a relação da quantidade de microrganismos necessários para o consumo do substrato objetivando um maior rendimento de hidrogênio a partir da manipueira.

5.4 Composição dos Metabólitos Solúveis Produzidos

Os metabólitos solúveis presentes verificados e quantificados durante a operação do RALF foram: ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, ácido crotônico e o etanol.

A Tabela 5 mostra os valores da quantificação dos metabólitos produzidos no RALF. Verifica-se que a rota fermentativa do ácido butírico predominou em todos os valores de pH analisados. Nota-se que nos pHs 4,1; 4,7 e 5,1 verificou-se o ácido butírico em maior quantidade 139mM, 137mM e 262mM, respectivamente. Já nos pHs 4,8 e 5,3 observou-se as menores quantidades de ácido butírico de 33mM e 24mM, respectivamente.

Tabela 5 – Valores verificados da quantificação dos metabólitos solúveis orgânicos produzidos do RALF

pH efluente	Ácido	Ácido	Ácido	Ácido	Etanol	Relação
	Acético	Butírico	Propiônico	Capróico		Ác. But/Ác. Acét
	mM	mM	mM	mM	mM	mM
4,0	11	72	28	18	48	7
4,1	11	139	40	21	42	13
4,2	9	89	16	27	49	10
4,3	6	51	8	14	28	9
4,4	7	117	22	28	40	17
4,6	16	90	25	16	69	6
4,7	10	137	10	25	104	14
4,8	7	33	4	19	9	5
4,9	4	54	4	22	16	14
5,0	5	52	4	14	64	10
5,1	13	262	14	40	94	20
5,2	2	157	8	123	43	79
5,3	7	24	5	14	85	4

Fonte: Autor desta dissertação (2013).

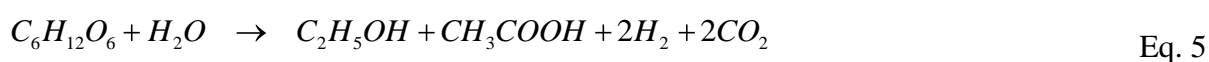
Observa-se que os valores obtidos, no que diz respeito à rota fermentativa do ácido acético e a do ácido propiônico apresentam-se de forma balanceada. Pode-se dizer que no intervalo de pH 4,7 a 5,1 provavelmente houve uma anulação dos ácidos produzidos e consumidos, tendo em vista que para cada 2 mols produzidos pela rota do ácido acético, 2 mols são consumidos pela rota do ácido propiônico.

Já nos valores de intervalo de pH 4,0 a 4,6 a rota do ácido propiônico prevaleceu a rota do ácido acético, indicando um consumo de hidrogênio, tendo em vista que a produção teórica máxima de hidrogênio da rota do ácido acético é de 4 mol H₂/mol glicose, e a rota do ácido propiônico é de -2 mol H₂/mol glicose.

Nota-se que nos valores de pH 4,7 e 4,9 a quantidade de hidrogênio produzida pela rota do ácido acético provavelmente foi consumido pela rota do ácido propiônico. Contabilizando apenas o hidrogênio produzido pela rota do ácido butírico e a do etanol.

A produção do metabólito etanol foi elevada, principalmente nos valores de pH 4,7 (104mM), 5,1 (94mM) e 5,3 (85mM). Esta produção indica a possibilidade da produção de

até 2 mol H₂/mol glicose. A formação do etanol, a partir da glicose não produz nem consome hidrogênio, porém consome o substrato que poderia ser utilizado na formação de hidrogênio. A rota fermentativa do etanol está descrita na Equação 4 (WAN & CHANG, 2008). Contudo, Zhu et al. (2009) observaram nos estudos deles sobre digestão acidogênica, que há uma possibilidade de produção simultânea de etanol e hidrogênio, de acordo com a equação 5.



No que diz respeito a relação ácido butírico/ácido acético pode-se dizer que nos pHs 4,9 e 4,7 verificou-se a mesma relação de 14mM, contudo pode-se diferenciar pelo valor de etanol que no pH 4,9 obteve a menor quantidade de 16mM, comparado com o valor observado ao valor de pH 4,7 que foi de 104mM. Sabe-se que a rota do etanol favorece o consumo do substrato que provavelmente seria consumido pelo processo da rota do ácido acético e/ou do ácido butírico. Então, conclui-se que embora o pH 4,9 tenha a mesma relação ácido butírico/ácido acético que a do pH 4,7, denominou-se o pH 4,7 melhor pois obteve baixo valor de etanol.

A Tabela 6 mostra as percentagens verificadas em relação a quantificação dos metabólitos solúveis orgânicos produzidos do RALF. Observa-se que embora o maior valor de rendimento de hidrogênio verificado tenha sido no pH 4,9; a maior produção volumétrica de hidrogênio foi verificada no pH 5,1.

Tabela 6 – Percentagens verificadas em relação a quantificação dos metabólitos solúveis orgânicos produzidos do RALF

pH efluente	Ácido Acético %	Ácido Butírico %	Ácido Propiônico %	Ácido Capróico %	Etanol %	HY mol H ₂ /mol glicose
4,0	6	41	16	10	27	2,65
4,1	4	55	16	8	17	1,36
4,2	5	47	8	14	26	1,64
4,3	6	48	7	13	26	0,90
4,4	3	55	10	13	19	2,82
4,6	7	42	12	7	32	0,89
4,7	2	26	2	5	65	1,66
4,8	10	46	6	26	12	0,74
4,9	4	54	4	22	16	3,50
5,0	4	37	3	10	46	2,61
5,1	3	62	3	10	22	3,30
5,2	1	47	2	37	13	1,50
5,3	5	18	4	10	63	0,80

Fonte: Autor desta dissertação (2013).

Relacionando estes resultados com os metabólitos predominantes em cada pH, nota-se que no pH 4,9 predominou a rota do ácido butírico com 54% de conversão de manipeira em hidrogênio, além de ter 16% de conversão em etanol, tendo em vista que as rotas dos ácidos acético e propiônico foram anuladas, ou seja, 4% de conversão em cada metabólito. Já no pH 5,1 que obteve maior valor de produção volumétrica de hidrogênio, a rota fermentativa que predominou foi também foi a do ácido butírico 62% de conversão, além de ter produzido 22% em etanol, as rotas dos ácidos acético e propiônico também foram anuladas, ou seja, 3% de conversão de cada metabólito. A produção teórica máxima de hidrogênio oferecida pela rota fermentativa do ácido butírico é de 2 mol H₂/mol glicose, indicando assim o rendimento real da produção de hidrogênio.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam a viabilidade da produção de hidrogênio por fermentação em reator anaeróbio de leito fluidificado a partir da água residuária do processamento da mandioca e macaxeira (manipueira). Este experimento apresentou:

- A produção volumétrica de hidrogênio máxima ocorreu durante o pH 5,1, qual atingiu o valor de 0,65 L/h/L. Seguido dos pHs 4,7 e 5,0, os quais atingiram os valores de 0,42 L/h/L e 0,46 L/h/L, respectivamente.
- O rendimento da produção de hidrogênio máximo foi de 3,5 mol H₂/mol glicose, a uma taxa de conversão de manipueira de 88% no pH 4,9. Seguido com os pHs 4,5 e 5,1, os quais atingiram os valores de 3,20 mol H₂/mol glicose e 3,30 mol H₂/mol glicose, respectivamente.
- No pH 4,9 predominou da rota fermentativa do ácido butírico com 54% de eficiência de conversão de manipueira (carboidrato) em hidrogênio.
- Os metabólitos solúveis presentes verificados e quantificados durante a operação do RALF foram: ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, ácido crotônico e etanol. Os metabólitos solúveis verificados no pH 4,9 foram: ác. acético 4%, ác. butírico 54%, ác. propiônico 4%, ác. capróico 22% e etanol 16%.

De acordo com os dados do experimento, tendo em vista as condições analisadas neste estudo, pode-se concluir que o melhor pH observado para a produção de biohidrogênio a partir da manipueira foi o pH 4,9 com um rendimento de 3,5 mol H₂/mol glicose. Neste pH predominou da rota fermentativa do ácido butírico com 54%.

Diante das análises e conclusões da presente pesquisa, sugere-se para estudos futuros:

- Realizar biologia molecular para verificar os microrganismos específicos em cada valor de pH estudado;
- Realizar experimentos testando outros valores de pH;
- Avaliar a influência da temperatura em função do pH;
- Verificar outros metabólitos solúveis produzidos no processo de produção de hidrogênio que não foram identificados neste estudo e suas respectivas rotas fermentativas, no que diz respeito a influencia desta na produção do referido biogás.

REFERÊNCIAS

ACEVES-LARA, C.A. et al. Experimental Determination by Principal Component Analysis of a Reaction Pathway of Biohydrogen Production by Anaerobic Fermentation. **Chemical Engineering and Processing**, v. 47, p. 1968–1975, 2008.

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

_____; SADER, L. T.; SILVA, E. L. Effect of Substrate Concentration on Dark Fermentation Hydrogen Production Using an Anaerobic Fluidized Bed Reactor. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 166, p.1248-1263 , 2012.

AMORIM, N.C.S. **Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado**. 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.

_____. et al. Produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leito fluidificado. In: CONGRESSO DE ENGENHARIA, CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 5., 2011. Maceió. **Anais...** Maceió, 2011.

BARANA, A. C. **Avaliação de tratamento de manipueira em Biodigestores fase acidogênica e metanogênica**. 2000. 105 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2000.

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

CAMPOS, J.R.; PEREIRA, J. A. R. Reator Anaeróbio de Leito Expandido/Fluidificado. In: CAMPOS, J. R. (Coord.) **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. PROSAB/ABES. 1999. p. 199-219.

CAPPELLETTI, B. M. et al. Fermentative production of hydrogen from cassava processing wastewater by *Clostridium acetobutylicum*. **Renewable Energy**. v. 36, p. 3367-3372, 2011.

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

CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 57, p. 56–64, 2001.

CHEN, W.M. et al. Fermentative Hydrogen Production with *Clostridium butyricum* CGS5 Isolated from Anaerobic Sewage Sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1063 – 1070, 2005.

CHENG, J. et al. Hydrogen production by mixed bacteria through dark and photo fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 450-457, 2011.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA/UFMG), v. 5. 1997. 245p.

CODEIRO, G. Q. **Tratamento de manupueira em reator anaeróbio compartimentado**. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas; Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto. 2006.

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

FANG, H.H.P.; LIU, H. Effect of pH on Hydrogen Production from Glucose by a Mixed Culture. **Bioresource Tecnology**, v. 82, p. 87-93, 2002.

FERNANDES, B. S. **Produção de Hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fixo**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

FERRAZ, F.M.; BRUNI, A.T.; BIANCHI, V.L.D. Performance of an anaerobic baffled reactor (ABR) in treatment of cassava wastewater. **Brazilian Journal of Microbiology**, v 40, p. 48-53, 2009.

HOBSON, P. N., WHEATLEY, A. D. Anaerobic digestion: Modern theory and practice. **Elsevier Applied Science**, 269p. 1993.

INFANTES, D. et al. Influence of pH, temperature and volatile fatty acids on hydrogen production by acidogenic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 36, p. 5595-5601, 2011.

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

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

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

LEITE, J.A.C. **Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação acidogênica em reator anaeróbico de leito fixo e extração em resina de troca iônica e como solvente orgânico**. 2005. 127 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

LEME, E. J de. A. **Manual Prático de Tratamento de Águas Residuárias**. São Carlos: EduFSCar, v. 1. 595p., 2010.

LI, Z. et al. Effects of pH Value and Substrate Concentration on Hydrogen Production from the Anaerobic Fermentation of Glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 7413 - 7418, 2008.

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

LUO, G. et al. Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: Effects of temperature and pH. **Applied Energy**, v. 87: 3710-3717, 2010b.

_____. et al. Exploring optimal conditions for thermophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage. **Int J Hydrogen Energy**., v. 35, p. 6161-6169, 2010a.

MAINTINGUER, S.I. et al. Fermentative Hydrogen Production by Microbial Consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4309 - 4317, 2008.

MANISH, S.; BANERJEE, R. Comparison of biohydrogen production processes. **International Journal of Hydrogen Energy**., v. 33, p. 279-286, 2008.

MENDONÇA, N.M. **Tratamento de esgoto sanitário empregando reator anaeróbio-aeróbio de leito expandido em escala plena com zonas anaeróbia e aeróbia sobrepostas: concepção, construção e operação**. 2004. 260 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

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, p. 947-953, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmedi editora. 5 ed. 1304p., 2011.

NOGUEIRA, L. A. H. **Biodigestão: a alternativa energética**. São Paulo: Nobel, 1986. 93p.

OH, S. E.; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environ Sci Technol.**, v. 37, n. 22, p. 5186–5190, 2003.

ORTEGA, F.S. et al. Aplicação de espumas cerâmicas produzidas via “gelcasting” em biorreator para tratamento anaeróbio de águas residuárias. **Cerâmica**, v. 47, n. 304, p. 199–203, 2001.

PACHECO, F. **Energias Renováveis: breves conceitos**. Conjuntura e Planejamento, Salvador: SEI, 149, p.4-11, 2006.

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

REGINATTO, V. et al. Long term effect of nutrient supplementation of cassava wastewater on biohydrogen production by mixed culture. **Industrial Biotechnology**, v. 7, p. 143-150, 2011.

REIS, C. M. **Efeito da Velocidade Ascensional na Produção de hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Departamento de Engenharia Química, 2010.

ROJAS, M. D. P. A. **Influência da Relação C/N na Produção de Hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fixo**. 2010. 89 f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

SHIDA, G.M. **Produção de Hidrogênio e Ácidos Orgânicos por Fermentação Acidogênica em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado**. 2008. 121f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

SILVA, J. de L. e. **Desempenho do Reator Anaeróbio Horizontal com Chicanas no tratamento da manieira em fases separadas e estabilização do pH com conchas de sururu**. 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em Recursos hídricos e Saneamento) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.

STRONACH, S. M., RUDD, T., LESTER, J. N. Start-up of anaerobic bioreactors on high strength industrial wastes. **Biomass**, v. 13, p.173-197, 1987.

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

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. **Int J Hydrogen Energy**, v. 34, p. 799-811, 2009.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Valorização de resíduos do processamento da mandioca. **Publicatio UEPG. Exact and Soil Sciences, Agrarian S. and Engineering**, Ponta Grossa, v. 8, p.27-43, 2002.

WU, S.Y; LIN, C.N.; CHANG, J.S. Hydrogen Production with Immobilized Sewage Sludge Inthree-Phase Fluidized-Bed Bioreactors. **Biotechnol. Prog.**, v. 19, p. 828-832, 2003.

WU, X; YAO, W; ZHU, J. Effect of pH on continuous biohydrogen production from liquid swine manure with glucose supplement using an anaerobic sequencing batch reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 35, p. 6592-6599, 2010.

YAMIN, J.A.A. et al. Effect of combustion duration on the performance and emission characteristics of a sparkignition engine using hydrogen as a fuel. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 25, p. 581–589, 2000.

ZHANG, Y.; SHEN, J. Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 441-446, 2005.

ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Inhibitory Effects of Butyrate of Biological Hydrogen Production with Mixed Anaerobic Cultures. **Journal of Environmental Management**, v. 74, p. 65-70, 2005.

ZHU, H. et al. Buffer Requeriments for Enhanced Hydrogen Production in Acidogenic Digestion of food wastes. **Bioreseach Technology**, v. 100, p. 5097-5102, 2009.

ZIEMBA, C. PECCIA, J. Net energy production associated with pathogen inactivation during mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge. **Water Research**. v. 45, p. 4758-4768, 2011.