

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

EFEITO DA VELOCIDADE ASCENSIONAL E DO TEMPO DE DETENÇÃO  
HIDRÁULICA NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO EM REATOR ANAERÓBIO DE  
LEITO FLUIDIZADO

Cristiane Marques dos Reis

São Carlos

2010

EFEITO DA VELOCIDADE ASCENSIONAL NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO EM  
REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIZADO

Cristiane Marques dos Reis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

São Carlos  
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

R375ev

Reis, Cristiane Marques dos.

Efeito da velocidade ascensional na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado / Cristiane Marques dos Reis. -- São Carlos : UFSCar, 2010.  
97 f.

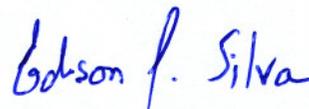
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Águas residuais - purificação - tratamento biológico. 2. Leito fluidizado. 3. Hidrogênio. I. Título.

CDD: 628.3 (20ª)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE **CRISTIANE MARQUES DOS REIS** APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 30 DE AGOSTO DE 2010.

BANCA EXAMINADORA:



Edson Luiz Silva  
**Orientador, UFSCar**



Marcelo Zaiat  
**USP**



Alberto Colli Badino Junior  
**UFSCar**

Aos que me ensinaram os principais valores: meus pais Edvaldo e Salustiana.

Aos meus irmãos Renato e Georgi e meu querido sobrinho Ronald.

*“A ciência é uma atividade humana, e a melhor maneira de compreendê-la é compreender os seres humanos individuais que a praticam.”*

Freeman Dyson

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e independente de qualquer credo religioso, gostaria de agradecer a Deus por todas as bênçãos diárias que Ele coloca em minha vida, seja através de fatos ou pessoas que me ajudam a crescer.

Às pessoas mais importantes da minha vida, meus amados pais Edvaldo e Salustiana sem os quais tal mestrado não teria sido possível. Não há palavras que possam externar a minha gratidão, espero poder retribuir um dia tamanha dedicação com os filhos.

Ao meu orientador, professor Edson Luiz Silva, por ter aceitado a orientação e a quem eu devo toda confiança e respeito; por toda compreensão, ajuda, tolerância e fonte de aprendizado durante esse período do mestrado; pelas palavras de apoio, amizade, conselhos e até mesmo repreensões nos momentos necessários. Professor, muito obrigada!

A Djolse, minha amiga desde os tempos de Aracaju, que me ajudou a me estabelecer em São Carlos, disponibilizando-se a mudar de casa e toda uma rotina para me ajudar.

À Aruana Barros pelos ensinamentos e auxílio durante o mestrado e que se tornou mais que uma colega de laboratório, mas uma amiga disposta a ouvir e dividir as minhas lamúrias e alegrias. Valeu Aru!

Ao pessoal do laboratório por toda a ajuda em diversas etapas do trabalho e descontração, sem os quais seria mais difícil: Gilberto Almeida e Lucas Ramos os quais me levavam e traziam no trajeto USP-UFSCar a fim de que fosse possível realizar importantes análises; Danilo Viotto; José Marcos; Gustavo Martins e Igor Faria. Muito obrigada, meninos!

Ao Eduardo Lucena por toda solicitude e ensinamentos no início do mestrado.

Aos técnicos da oficina mecânica Oscar e Adilson que sempre se mostravam solícitos durante o dia a dia do experimento.

À Andressa Guerra, amiga que conheci aqui em São Carlos e com a qual pude recorrer nos momentos de alegria, tristeza e até chatices minhas. .

Aos meus queridos amigos que mesmo de longe me apoiaram nessa nova etapa: Rodrigo Belfort, Gracielle Moura, Fernanda Moraes, Karla Licon, Eduardo Mariano e Paulo Anneys.

Ao pessoal da USP em especial à M.<sup>a</sup> Ângela Adorno (Janja) por toda a paciência em ensinar a técnica de cromatografia, à Pilar Rojas na ajuda da calibração dos medidores e ao Daniel Fontes pela ajuda nas dúvidas e durante o compartilhamento do medidor de hidrogênio.

Ao professor Marcelo Zaiat pelas contribuições durante o exame de qualificação e por permitir a utilização do medidor de hidrogênio durante o experimento.

Ao professor Alberto Colli pelas contribuições durante o exame de qualificação.

Ao senhor Nelson Gallo pela realização das microscopias eletrônicas de varredura.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química-PPGEQ-UFSCar pela realização e disponibilidade da estrutura para a realização do mestrado.

Às funcionárias da secretária da PPGEQ-UFSCar, Kátia e Luciana pela presteza em sempre ajudar.

Às funcionárias da limpeza do DEQ pela atenção em sempre nos ajudar quando fazemos alguma bagunça no laboratório.

A Capes pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPESP pelos recursos financeiros ao projeto de pesquisa no qual esse mestrado se insere.

A todos que direta ou indiretamente foram essenciais para a realização deste mestrado e não foram lembrados neste agradecimento meu sincero agradecimento.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Esquema simplificado das etapas durante a digestão anaeróbia adaptado de GRADY JR. <i>et al.</i> , 1999.....	7
Figura 4.1 Fluxograma do procedimento experimental.....	34
Figura 4.2. Esquema do reator anaeróbio de leito fluidizado, equipamentos e materiais auxiliares. BR: Bomba de recirculação. BD: Bomba de alimentação.....	37
Figura 5.1 Concentração e conversão médias de glicose em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	45
Figura 5.2 Produção volumétrica média em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	48
Figura 5.3 Rendimento da produção de hidrogênio em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	49
Figura 5.4 Conteúdo médio de H <sub>2</sub> no biogás em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	51
Figura 5.5 Variação do pH em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	53
Figura 5.6 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R030.....	54
Figura 5.7 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R060.....	55
Figura 5.8 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R124.....	57
Figura 5.9 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R188.....	58
Figura 5.10 Produção volumétrica média e rendimento em função da TCO aplicada no reator R030.....	62
Figura 5.11 Produção volumétrica média em função da TCO aplicada no reator R060	63
Figura 5.12 Produção volumétrica média de H <sub>2</sub> em função da TCO aplicada no reator R124.....	64
Figura 5.13 Produção volumétrica média de H <sub>2</sub> em função da TCO aplicada no reator R188.....	65
Figura 5.14 Rendimento médio em função da TCO aplicada para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	66

Figura 5.15 Produção volumétrica média de H <sub>2</sub> em função da TCO aplicada para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	66
Figura 5.16 DQO afluente e % de redução da DQO médias ao longo dos TDH aplicados para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	67
Figura 5.17 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula para os reatores R030, R060, R124 e R1188.....	69
Figura 5.18 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R030.....	70
Figura 5.19 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.....	70
Figura 5.20 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.....	71
Figura 5.21 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.....	71
Figura 5.22 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula nos reatores R030, R060, R124 e R188.....	73
Figura 5.23 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.....	74
Figura 5.24 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.....	74
Figura 5.25 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.....	75
Figura 5.26 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.....	75
Figura 5.27 Crescimento da biomassa aderida ao longo dos TDH aplicados para nos reatores R030, R060, R124 e R188.....	76
Figura 5.28 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e	77

produção volumétrica de hidrogênio no R030.....	
Figura 5.29 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060. ....	77
Figura 5.30 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.....	79
Figura 5.31 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.....	80
Figura 5.32 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R030 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e de b) TDH de 1h	81
Figura 5.33 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R060 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h.....	81
Figura 5.34 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R124 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h.....	82
Figura 5.35 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R188 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h.....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Características do suporte de imobilização da biomassa.....	35
Tabela 4.2 Composição de água residuária sintética segundo Del Nery (1987).....	36
Tabela 4.3 Dados hidrodinâmicos aplicados aos reatores.....	39
Tabela 4.4 Frequência de análises das amostras do afluente e efluente empregada durante a operação dos reatores.....	43
Tabela 5.1 Valores médios e seus respectivos desvios-padrão obtidos para cada TDH aplicado em cada reator: R030, R060, R124 e R188.....	46
Tabela 5.2 Desempenho da produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e conteúdo de biogás em RALF a partir da glicose.....	51
Tabela 5.3. Principais metabólitos produzidos em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.....	58
Tabela 5.4 Produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e distribuição dos metabólitos para trabalhos em RALF a partir da glicose. ....	60
Tabela 5.5 DQO teórica do afluente, DQO teórica dos metabólitos e DQO efluente medida nos reatores R030, R060, R124 e R188.....	68

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CARB	Carboidrato
DQO	Demanda Química de oxigênio
EGSB	Reator de leito granular expandido
EtOH	Etanol
HAc	Ácido Acético
HPr	Ácido Propiônico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
LCA	Laboratório de Controle Ambiental
LPB	Laboratório de Processos Biológicos
PROT	Proteína
RALF	Reator Anaeróbico de Leito Fluidizado
PVH	Produção volumétrica de Hidrogênio
SAB	Soro Albumina Bovina
SST	Sólidos Suspensos Totais
SST	Sólidos Suspensos Voláteis
SVT	Sólidos Voláteis Totais
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
TDH	Taxa de detenção hidráulica
UASB	Reator anaeróbico de manta de lodo
$D_s$	Diâmetro da partícula
$u_t$	Velocidade terminal da partícula
$n$	Índice de expansão
$V$	Velocidade superficial do fluido
$V_{mf}$	Velocidade mínima de fluidização
$\rho$	Densidade do fluido
$\varepsilon$	Porosidade
$C_d$	Coefficiente de arraste
$\rho_s$	Densidade da partícula

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	x
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....	xi
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
CAPÍTULO 1 .....	3
INTRODUÇÃO.....	3
CAPÍTULO 2 .....	5
OBJETIVOS .....	5
2.1 OBJETIVO GERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
CAPÍTULO 3 .....	6
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1 O desafio energético e o hidrogênio .....	6
3.2 Metabolismo da digestão anaeróbia.....	7
3.2.1 Rotas metabólicas para produção de hidrogênio .....	8
3.3 Biorreatores utilizados para a produção de hidrogênio .....	14
3.3.1 Reatores de crescimento suspenso.....	15
3.3.1.1 Reator de agitação contínua.....	15
3.3.1.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo.....	15
3.3.1.3 Reator granular de leito expandido.....	16
3.3.1.4 Produção de H <sub>2</sub> em reatores de crescimento suspenso .....	16
3.3.2 Reatores de crescimento aderido .....	18
3.3.2.1 Reator anaeróbio de leito fixo.....	19
3.3.2.1.1 Produção de H <sub>2</sub> em reator anaeróbio de leito fixo.....	19
3.3.2.2 Reator anaeróbio de leito fluidizado.....	21
3.3.2.2.1 Produção de H <sub>2</sub> em reator anaeróbio de leito fluidizado .....	23
3.3.3 Fatores fluidodinâmicos associados aos reatores anaeróbios .....	26
3.4 Parâmetros controladores da produção anaeróbia de hidrogênio .....	28
3.4.1 pH .....	29
3.4.2. Temperatura.....	31
3.4.3 Fonte de carbono.....	31
3.4.4 Inóculo .....	32

3.5 Considerações finais .....	33
CAPÍTULO 4 .....	34
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1 Reatores anaeróbios .....	35
4.2 Água Residuária Sintética.....	35
4.3 Inóculo .....	38
4.5 Procedimento de partida .....	38
4.6 Parâmetros analisados.....	39
4.6.1 Determinação de glicose.....	39
4.6.2 Análises físico-químicas .....	40
4.6.3 Determinação de ácidos voláteis e álcoois .....	40
4.6.4 Análise da composição dos gases .....	41
4.6.5 Quantificação da produção de hidrogênio .....	41
4.6.6 Determinação da biomassa aderida .....	42
4.6.7 Determinação de proteínas e carboidratos.....	42
4.6.8 Microscopia eletrônica de varredura .....	42
4.6 Frequência de análises .....	43
CAPÍTULO 5 .....	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
5.1 Conversão de glicose .....	44
5.2 Produção de hidrogênio .....	47
5.3 Variação do pH .....	54
5.4 Produção de ácidos orgânicos e álcoois.....	55
5.5 Influência da taxa de carregamento orgânico na produção de hidrogênio .....	64
5.6 Redução da DQO e balanço da produção de hidrogênio .....	70
5.7 Polímeros extracelulares .....	72
5.7.1 Proteínas .....	72
5.7.2 Carboidratos.....	75
5.8 Biomassa aderida .....	79
5.9 Microscopia eletrônica de varredura.....	84
CAPÍTULO 6 .....	87
CONCLUSÕES .....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	89

## RESUMO

Neste trabalho foi analisada a influência da velocidade ascensional em reator anaeróbio de leito fluidizado para a produção de hidrogênio. A fim de comparação foram empregados quatro reatores apresentando diferentes valores de velocidade de ascensão do fluido, a saber: 0,30 (R030); 0,60 (R060); 1,24 (R124) e 1,88  $\text{cm.s}^{-1}$  (R188). Como material suporte de imobilização foi utilizada a argila expandida. Uma água residuária sintética contendo glicose ( $5000 \text{ mg.L}^{-1}$ ) foi utilizada como substrato. O reator R124 trabalhando na velocidade de mínima fluidização foi o reator que apresentou as melhores condições para a produção de hidrogênio. O valor máximo de produção volumétrica de hidrogênio foi de  $1,22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ . O rendimento foi de  $2,55 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  glicose e o conteúdo no biogás entre 30,5 e 61,8 %. Não houve produção de metano em nenhum dos reatores empregados. O TDH ótimo observado para os reatores expandidos foi em 1h enquanto que nos reatores fluidizados o TDH ótimo foi de 2h. Etanol foi o principal metabólito produzido, sugerindo que a rota etanólica de produção foi predominante. Em relação à velocidade ascensional aplicada não foi observada relação com o rendimento nem com o conteúdo do biogás. Porém, quanto maior a velocidade ascensional aplicada, maior a produção volumétrica de  $\text{H}_2$ .

Palavras-chave: reator anaeróbio de leito fluidizado, velocidade ascensional, etanol, hidrogênio.

## ABSTRACT

This study evaluated the influence of the upflow velocity in anaerobic fluidized bed reactor to produce hydrogen. In order to compare that effect, four reactors were used under different upflow velocities each: 0.30; 0.60; 1.24 and 1.88  $\text{cm.s}^{-1}$ . Expanded clay was used as support material for immobilization. A synthetic wastewater containing glucose ( $5000 \text{ mg.L}^{-1}$ ) was used as substrate. Reactor R124 that was operated under minimum fluidization velocity ( $1.24 \text{ cm.s}^{-1}$ ) showed the best values for hydrogen production. The maximum hydrogen production rate was found to be  $1.22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ . The maximum hydrogen yield was  $2.55 \text{ mol H}_2 \text{ mol}^{-1}$  glucose and the biogas content ranged between 30,5 and 61,8 %. No methane was generated. The optimum TDH for expanded bed reactors was 1h while in fluidized bed reactors were 2h. Ethanol was the main metabolite produced, suggesting an ethanol-type fermentation. No trends were shown regardless of the upflow velocity imposed to the system. However, the higher the velocity applied, the higher the hydrogen production rate.

Keywords: fluidized bed reactor, upflow velocity, ethanol, hydrogen.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

Há cerca de meio século, os ambientalistas, países e sociedade em geral vem discutindo formas de como substituir o petróleo e os combustíveis fósseis em geral quando não houver mais reservas naturais disponíveis. Desde a primeira crise do petróleo na década de 70, os países passaram a buscar novas formas de obtenção de energia. Some-se a esse fato, a questão ambiental embutida, com o crescimento industrial advindo no século passado, o uso crescente do petróleo como combustível primário levou a uma grande emissão de gases poluentes na atmosfera devido à combustão.

Hoje, um dos maiores desafios energéticos é encontrar um combustível que atenda tanto às questões econômicas de produção e demanda como também aos fatores ambientais. O uso de combustíveis fósseis, que são a base energética atual, passa por dois grandes problemas: a diminuição das reservas de hidrocarbonetos, acelerada pela maior demanda de energia, e ainda o poder poluente desses combustíveis, resultado tanto do processamento dos hidrocarbonetos quanto de seu uso (KAPDAN e KARGI, 2006). Diante da crescente necessidade por energia é necessário buscar novas rotas de produção renováveis e economicamente viáveis. Esforços estão sendo direcionados nessa área a fim de contornar esses problemas no setor energético, tais como pesquisas na área de energia eólica, solar, hidráulica, geotérmica, entre outras.

O hidrogênio surge como uma alternativa para o futuro. Elemento mais abundante no planeta e presente em todas as matérias tem a vantagem de poder ser obtido de fontes renováveis e não emitir poluentes durante a combustão ou quando em uso nas células à combustível, porém enfrenta dificuldades por se tratar ainda de uma fonte de cara obtenção, já que não é encontrado livre na natureza. Grande parte da produção de hidrogênio em uso envolve grande dispêndio de energia ou o uso de combustíveis fósseis. A busca por novas rotas de produção mais econômicas e ambientalmente viáveis levou a pesquisas nas quais se obtém o gás hidrogênio a partir da fermentação de biomassa.

A fermentação da matéria orgânica surge como uma maneira adequada e sustentável para a produção de H<sub>2</sub>, pois além de utilizar material de fácil obtenção, atua minimizando os problemas relacionados ao descarte de rejeitos. Durante o processo de produção de hidrogênio podem ser utilizados como substrato diversos tipos de resíduos industriais e domésticos ricos em matéria carbonácea os quais são degradados e liberados numa forma menos poluente. A condução do processo sob pressão e temperatura ambiente é outro fator importante visto que se diminuem os gastos operacionais de produção do combustível.

A produção de hidrogênio via processo fermentativo vem sendo estudada através de diversos tipos de reatores, tais como: reator de leito fixo (CHANG *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003), reator de mistura (CHEN e LI, 2003; ZHANG *et al.*, 2006), reator de manta de lodo (UASB)(CHANG e LIN, 2004). Uma outra configuração de reator recentemente utilizada em processos de tratamento de água residuária é o reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF). (WU *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2007; SHIDA *et al.*, 2009, AMORIM *et al.*, 2009 e BARROS *et al.*, 2010).

O reator de leito fluidizado apresenta a vantagem de ser mais compacto que os outros reatores. As questões operacionais do reator fazem ainda com que ele possua determinadas características benéficas ao processo anaeróbio, tais como: o uso de partículas em estado fluidizado que aumenta a área efetiva para deposição dos microrganismos degradantes de matéria orgânica e o efluente a ser tratado; as condições de mistura do leito fluidizado relacionada à eficiência de transferência de massa; a fácil operação e controle. Ainda, em comparação com os outros reatores, em geral, os reatores de leito fluidizado apresentam maior adesão de biomassa, operação sob altas taxas orgânicas, baixos tempos de detenção hidráulica (TDH) e melhores condições de mistura (ZHANG *et al.*, 2007). Pesquisas realizadas em reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) têm demonstrado a eficiência do reator para a produção de hidrogênio (WU *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2007; SHIDA *et al.*, 2009, AMORIM *et al.*, 2009 e BARROS *et al.*, 2010).

Diversos parâmetros também são tomados como referência durante o estudo da produção de hidrogênio (pH, temperatura, tipo de reator, substrato, nutriente) e uma das linhas de pesquisa é a análise do comportamento fluidodinâmico do reator e sua influência no processo fermentativo. Estudos (LAMED, 1989; WU *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2007) relacionando parâmetros hidrodinâmicos como velocidade superficial, condições de mistura e porosidade tem demonstrado que pode haver uma ligação importante entre a produção de hidrogênio e a adequação das condições fluidodinâmicas aplicadas ao reator de trabalho. Porém, ainda é pouca a literatura a respeito desse assunto e se desconhece até que ponto a mudança das condições fluidodinâmicas do reator pode influenciar e de que modo na produção anaeróbia de hidrogênio.

Embora, a utilização do RALF para a produção de hidrogênio tenha se mostrado eficiente para a produção de hidrogênio, estudos sobre a melhor faixa de operação do reator são necessários antes da sua aplicação para a produção de hidrogênio em escala real. Sendo assim, a fim de contribuir com o melhor entendimento sobre o comportamento do RALF para a produção de hidrogênio, foi realizado um estudo a cerca da influência da velocidade ascensional aplicada ao reator para a produção de hidrogênio.

## **CAPÍTULO 2**

### **OBJETIVOS**

#### **2.1 OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho de mestrado pretendeu avaliar o comportamento da produção de hidrogênio a partir da glicose em reator anaeróbio de leito fluidizado quando submetido a diferentes valores de velocidade de ascensão do fluido através do leito de partículas.

#### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar as relações de produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e conteúdo do biogás formado envolvidas diante da variação da velocidade ascensional;
- Avaliar a produção de ácidos orgânicos voláteis e álcoois para cada reator em função da velocidade ascensional aplicada;
- Avaliar a retenção da biomassa nas partículas do reator sob diferentes condições de escoamento;
- Observar a influência da taxa de carregamento orgânica na produção de hidrogênio;
- Observar a produção de polímeros extracelulares na forma de proteína e carboidrato frente diferentes níveis de escoamento.

## CAPÍTULO 3

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O desafio energético e o hidrogênio

O hidrogênio é o elemento químico mais abundante na terra. Cerca de toda matéria possui o hidrogênio como constituinte, todavia não é obtido livremente na natureza. A principal rota de produção industrial de hidrogênio é através da reforma a vapor de hidrocarbonetos. Na reforma, o gás natural passa por leitos porosos sob altas temperaturas onde ocorre a reação de reforma. Neste processo, o metano presente no gás natural juntamente com vapor d'água sob altas temperaturas e na presença de catalisadores é convertido à  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ .

Apesar de já existir um método difundido para a sua produção, a utilização do hidrogênio como combustível, por se originar de um material fóssil, acarreta no mesmo problema enfrentado pelas atuais fontes energéticas. Devido à depuração das reservas de combustíveis fósseis, há um incessante movimento em busca de formas alternativas de energia. Existem outros processos de obtenção de hidrogênio como a produção por eletrólise da água na qual há a quebra das ligações da água devido à passagem de corrente elétrica, mas se trata ainda de um processo que exige grande gasto energético o que poderia inviabilizar sua produção em larga escala (DAS E VERIZOGLU, 2001). Uma opção é a produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia de águas residuárias. A grande quantidade de matéria orgânica despejada pelas indústrias pode ser adequadamente transformada em energia e minimizar os impactos negativos associados à industrialização (RAJESHWARI *et al.*, 2000).

Hoje em dia, diversas restrições estão sendo impostas pelas normas ambientais a fim de inibir o lançamento de resíduos sem tratamento nos corpos d'água e terrenos pela indústria. Essas imposições levaram a busca por novas tecnologias que visem a reduzir o impacto gerado pelos efluentes industriais. Diante disso, o reuso de efluentes industriais associado à geração de energia através da fermentação desse material para a produção de hidrogênio pode ser uma alternativa para um futuro próximo.

Do ponto de vista de produção, a produção biológica de hidrogênio necessita do ajuste adequado de algumas variáveis como pH e temperatura que são uma das opções para coibir a ação das arqueias metanogênicas, microrganismos consumidores de  $\text{H}_2$ . Além disso, o tempo de detenção hidráulica (TDH), tipo de inóculo, tipo de substrato e configuração de reator são alguns outros parâmetros importantes para a otimização da produção biológica de hidrogênio.

A produção biológica de hidrogênio se dá acompanhada da formação de outros compostos, tais como ácidos orgânicos e álcoois. Entretanto, alguns produtos ainda não

apresentam uma via de formação muito bem compreendida de modo que o comportamento metabólico envolvido também é um ponto chave. Alguns álcoois como etanol e metanol e ácidos não favoráveis como o ácido propiônico podem competir com a produção de hidrogênio.

### 3.2 Metabolismo da digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia já é bastante conhecido para o processo de tratamento de efluentes como na estabilização de lodos, no tratamento de resíduos industriais e domésticos. Ele apresenta diversas vantagens frente ao processo aeróbio, tais como: a não necessidade de oxigênio, o que poderia elevar os custos de aeração do sistema; os produtos do processo são compostos que podem ser utilizados posteriormente para geração de energia, como o metano e hidrogênio; baixo custo energético durante o processo, a exceção de quando se há necessidade de uso de bombas hidráulicas; possibilidade de tratar grandes volumes de efluente e sob altas taxas; preservação da atividade dos microrganismos anaeróbios mesmo em situações de manutenção do equipamento.

Apesar de ser algo complexo do ponto de vista bioquímico e microbiológico, o processo de digestão anaeróbia é composto por várias reações ocorrendo concomitantemente realizadas por uma fauna microbiana. Em linhas gerais, ele pode ser sintetizado nos seguintes passos: hidrólise, acidogênese e metanogênese.

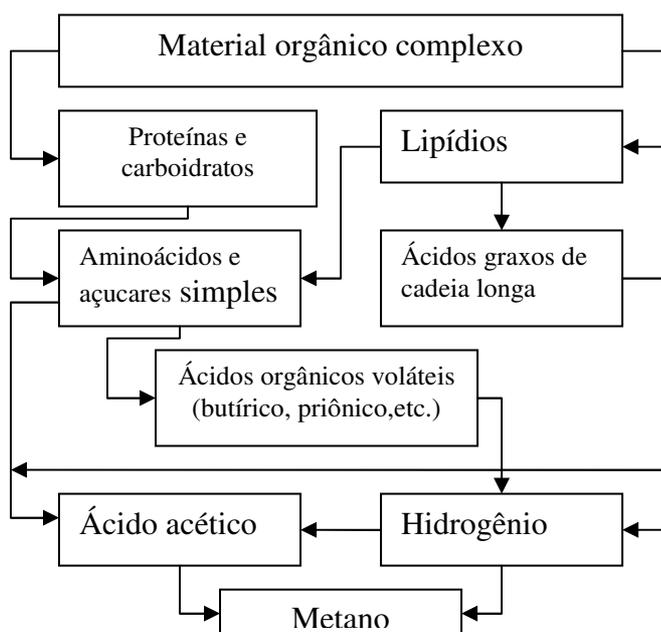
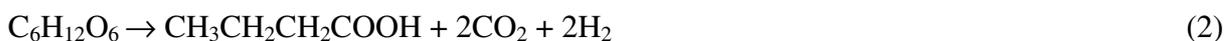


Figura 3.1 Esquema simplificado das etapas durante a digestão anaeróbia adaptado de GRADY JR. *et al.*, 1999.

Primeiramente, há a hidrólise do possível material orgânico particulado em substratos solúveis. Nesta etapa, o substrato é solubilizado a fim de que possa facilitar o transporte através da membrana celular dos microrganismos. Em seguida, dá-se início ao processo fermentativo de transformação desses substratos em ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio. Essa etapa é chamada de acidogênese. Esse processo de degradação é desempenhado pelas bactérias. Boa parte do H<sub>2</sub> formado é proveniente da oxidação dos ácidos graxos voláteis formados. Por fim, o ácido acético e o hidrogênio, juntamente com uma parte do dióxido de carbono formado são convertidos a metano, tal etapa é dita metanogênica (GRADY JR. *et al.*, 1999).

### 3.2.1 Rotas metabólicas para produção de hidrogênio

Diversos compostos contendo matéria orgânica podem servir como matéria-prima para a produção de hidrogênio. A partir do carboidrato mais simples - glicose - pode-se ter a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos de maneira sintética. Os principais metabólitos produzidos nos processos de tratamento de efluentes e na produção de hidrogênio são o ácido acético e o ácido butírico. A produção de ambos os ácidos leva a formação de hidrogênio. De acordo com as reações (1) e (2) para a produção de ácido acético (HAc) e ácido butírico (HBr), respectivamente, temos:



A razão entre a quantidade de ácido acético e ácido butírico produzidos é um dos parâmetros utilizados para demonstrar o favorecimento da produção de hidrogênio num determinado processo. Quanto maior essa relação, maior o rendimento da produção de hidrogênio, tendo em vista que a rota de produção via ácido acético rende quatro moles ao invés de dois moles gerados pela rota butírica. Entretanto, essa razão HAc/HBr não é o único parâmetro que deve ser tomado como referência para ilustrar a produção de hidrogênio. Pode-se haver dificuldade de entendimento do desempenho da produção de hidrogênio quando se há no estudo várias rotas de fermentação possíveis. Neste caso, a razão HAc/HBr pode não ilustrar adequadamente a relação com a produção de hidrogênio, pois outras relações podem

ser mais relevantes à produção de modo que se faz necessário adotar um novo modo de análise possível.

Um das diferentes rotas envolvidas na digestão anaeróbia pode levar a produção de alguns álcoois, porém, a fermentação alcoólica não é desejada do ponto de vista da geração de hidrogênio, mas pode ser algo interessante caso haja a possibilidade de haver co-geração durante o processo. Outros ácidos orgânicos tal como o ácido propiônico (HPr) e o ácido valérico (HVL), entre outros, também podem ser produzidos.

Apesar da produção de tais metabólitos de interesse, é necessário controlar o meio reacional a fim de que não haja inibição da produção de hidrogênio devido ao acúmulo de ácidos não-dissociados os quais podem penetrar a membrana celular levando a um desequilíbrio no balanço fisiológico da célula (GOURDOUN e VERMANDA, 1987; WANG *et al.*, 2005). Como consequência, pode haver uma mudança de metabolismo celular. Um exemplo de inibição ocasionada pelo acúmulo da produção de um metabólito seria a inibição pela produção elevada de ácido propiônico no sistema. Quando há grande produção de hidrogênio no sistema, pelo princípio de L<sup>e</sup> Châtelier, a reação de consumo de H<sub>2</sub> seria favorecida a fim de expurgar o hidrogênio do meio reacional e retornar a uma nova condição de equilíbrio. A partir da reação de formação de ácido propiônico a partir da glicose tem-se que:



O consumo de dois moles de hidrogênio durante a produção de ácido propiônico é razão pela qual tal metabólito é indesejada nos processos de produção de hidrogênio.

Alguns trabalhos sobre o efeito inibitório de outros metabólitos foram realizados por ZHENG *et al.* (2005) e WANG *et al.* (2008).

ZHENG *et al.* (2005) estudaram o efeito inibitório da presença de ácido butírico na produção anaeróbia de hidrogênio a partir da glicose. Os pesquisadores utilizaram um reator em batelada e uma cultura mista a fim de analisar esse comportamento.

Foi observado que adições sucessivas de butirato na concentração de 4,18 a 6,27 g.L<sup>-1</sup> tinha um leve efeito inibitório na produção. Concentrações na ordem de 8,36-12,54 g.L<sup>-1</sup> apresentaram um efeito moderado de inibição enquanto que sob concentrações de 25,08 g.L<sup>-1</sup> foi observado um efeito significativo tanto na degradação do substrato quanto na produção de hidrogênio. Sob concentrações de 25,08 g.L<sup>-1</sup> o butirato também teve influência na distribuição dos metabólitos produzidos.

WANG *et al.* (2008) estudaram o efeito da adição de etanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico na produção de hidrogênio por culturas mistas. Para o estudo foram realizados testes em batelada utilizando glicose como fonte de carbono. O pH inicial e a temperatura foram 7 e 35 °C, respectivamente.

Os resultados mostraram que a produção volumétrica de hidrogênio e o rendimento tendem a diminuir em função da adição dos metabólitos na concentração variando entre 0-300 mmol.L<sup>-1</sup>. Foi observado ainda que o efeito inibitório promovido pelo etanol foi menor que aquele apresentado pelos ácido acético, butírico e propiônico.

Como já foi citado anteriormente, um dos metabólitos que podem ser produzidos durante o processo fermentativo são os álcoois, em especial o etanol. De acordo com a reação de formação do etanol a partir da glicose, a sua produção não acarreta na geração nem no consumo de hidrogênio. Porém, o consumo do substrato para a formação de etanol, talvez interfira na possibilidade de obter maiores rendimentos de produção de hidrogênio, pois ele atua competindo pela disposição dos elétrons positivos presentes.



Alguns trabalhos recentes (REN *et al.* 2006; WU *et al.*, 2007 a,b; LIN *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2009; SKONIECZNY e YARGEAU, 2009) sobre produção biológica de hidrogênio tem relatado produções consideráveis de etanol. Apesar da competição e do efeito inibitório possivelmente causado pelo etanol, os estudos mostram que, além disso, diversos outros parâmetros podem estar envolvidos para a diversidade e diferente distribuição de metabólitos formados.

REN *et al.* (2006) utilizando um reator de mistura em escala piloto estudaram a produção de hidrogênio a partir do melão da cana. O experimento foi conduzido numa faixa de pH entre 5 e 6,5 sendo que o pH de entrada foi controlado através da adição de uma solução de CaCO<sub>3</sub> afim de prevenir a queda do pH a níveis menores que 4. Parte do líquido reacional foi recirculado. O melão de cana foi diluído de modo que a demanda química de oxigênio (DQO) estivesse em 3000 mg.L<sup>-1</sup> a fim de ser alimentada no reator. Como inóculo foi utilizado um lodo proveniente do tratamento de água residuária municipal.

O reator foi mantido durante 48 dias em estado de adaptação sob o TDH de 11,4h. Após esse período foi iniciado o monitoramento da produção de hidrogênio sob a variação do TDH de 10,57 a 3,9h. (6,32 a 85,6 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>). Segundo os autores, a produção de hidrogênio foi relacionada com a remoção de DQO do sistema e foi observado que a produção de hidrogênio aumentava a medida que a taxa de carregamento orgânico (TCO) aplicada ao

sistema variou de 6,32 a 68,21 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> . A partir desse ponto a produção de hidrogênio foi reduzida. Segundo os autores, o acúmulo dos produtos da fermentação sob altas taxas de carregamento orgânico inibiu a produção de H<sub>2</sub> pelo sistema. Quanto a produção de metabólitos, os principais formados foram o etanol e o ácido acético chegando a somar 80% dos metabólitos produzidos sob a TCO acima de 10 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>. De maneira geral, quanto maior a carga orgânica aplicada ao reator, maior a produção de metabólitos, principalmente etanol e ácido acético. Essa relação foi crescente até o ponto que houve uma queda na produção de ácidos e álcoois. Porém, esse aumento foi distribuído de modo diferente, ou seja, para alguns metabólitos os efeitos foram diferentes. Entre a TCO de 4-10 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> o etanol aumentou de 0% a 60% enquanto que o ácido acético diminuiu de 90% a 40%. Entre 10-35 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> de carga orgânica aplicada eles contavam 45% cada entre os metabólitos formados.

WU *et al.*(2007a), trabalhando em reatores de leito fixo e leito fluidizado, estudaram a produção simultânea de etanol e hidrogênio a partir da glicose, sacarose e frutose. Para todos os substratos empregados, quando maior o rendimento de H<sub>2</sub>, menor a produção de etanol. Segundo os autores, em trabalhos prévios realizados pelos próprios autores espécies de *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Clostridia* estavam presentes no inóculo similar ao utilizado no experimento. As duas primeiras espécies são conhecidas por serem efetivas para a produção de solventes enquanto que as espécies de *Clostridia* tendem a ter um efeito antagônico entre as produções de etanol e acetato de modo que quanto mais etanol é produzido, menos de acetato é gerado. Ainda, quanto maior essa relação etanol/ácido acético metabolizada por *Clostridia*, menor a razão NADH/NAD<sup>+</sup> dentro das células, levando a uma menor produção de H<sub>2</sub> devido à diminuição de elétrons livres.

WU *et al.*,(2007b) estudaram a influência do TDH e da cultura microbiana na produção de hidrogênio e etanol em DE MISTURA. Diante da possibilidade de geração de ambos os combustíveis pela fermentação, foram utilizadas estratégias a fim de maximizar a produção simultânea de ambos combustíveis. O reator foi operado de modo que o TDH fosse variado de 8 a 0,5h e depois elevado de 0,5 a 4h. O inóculo utilizado era originado de uma estação de tratamento de águas residuárias municipal e passou por um tratamento ácido antes de ser inoculado no reator. A fim de observar a melhor produção de etanol e H<sub>2</sub>, foram também empregadas duas fontes de carbono diferentes: glicose e sacarose.

Foi verificado que a sacarose era mais eficiente no que concerne tanto à produção de hidrogênio (37,4 mmol.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> e 1,18 mol H<sub>2</sub>/mol de sacarose) quanto à produção de etanol (84,1 mmol.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> e 0,9 etanol/mol sacarose) do que a glicose (H<sub>2</sub>: 7,14 mmol.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> e 0,13 mol H<sub>2</sub>/mol de glicose e EtOH: 14,6 mmol.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> e 0,2 mol etanol/mol de glicose).

Entretanto, foram verificadas variações no que concerne ao TDH ótimo para a obtenção de cada combustível.

Segundo os autores, quando foi utilizada a sacarose a população bacteriana era predominante de bactérias produtoras de H<sub>2</sub> entre o TDH de 8h até 2h. Diante da mudança para o TDH de 0,5h houve uma mudança para as bactérias produtoras de EtOH. Um aumento do TDH de 0,5h a 4h não propiciou aumento na produção de hidrogênio nem na produção de etanol. De fato, houve diminuição da produção de etanol em consequência do novo aumento de TDH. Quando trabalhando com glicose, a produção máxima de H<sub>2</sub> obtida se deu sob o TDH de 1h enquanto que o melhor rendimento ocorreu sob o TDH de 2h durante a fase de decréscimo de TDH de 8 a 0,5h. A melhor produção de etanol se deu sob o TDH de 0,5 h e rendimento sob o TDH de 4. Diante do aumento do TDH de 0,5 a 4h foi verificada um aumento da produção de H<sub>2</sub> enquanto que a produção de etanol teve um decréscimo. Ao contrário da sacarose, durante a fase de aumento de TDH, a produção de H<sub>2</sub> teve condições de se recuperar quando em face do aumento do TDH. Os autores sugeriram que essa diferença entre a sacarose e a glicose no que se refere às diferenças de produção de etanol e H<sub>2</sub> em função do TDH foi devido à capacidade que a glicose tem em promover uma maior taxa de crescimento das bactérias produtoras de H<sub>2</sub> ao invés da sacarose. E o decréscimo da produção de etanol quando do aumento deve ter sido ocasionada pela competição de elétrons livres levando-se em consideração que houve aumento da produção de H<sub>2</sub>.

LIN *et al.* (2008) avaliaram a produção de hidrogênio e etanol a partir da celulose e xilose através do pré-tratamento do inóculo e da variação do pH inicial. Os pesquisadores utilizaram reatores bateladas para a realização dos testes. Foi utilizado como inóculo estercó bovino reconhecidamente eficaz na degradação da celulose devido às bactérias presentes no intestino dos animais ruminantes. O procedimento experimental adotado consistiu em duas séries de experimentos nas quais primeiramente se realizou o tratamento do inóculo através de aquecimento, enriquecimento e outro sem pré-tratamento. Para a segunda etapa de experimentos foram utilizadas diferentes faixas de pH a fim de verificar qual o melhor intervalo de pH inicial que leva a melhores rendimentos de etanol e hidrogênio.

Os pesquisadores observaram que o tratamento térmico do inóculo não foi tão eficaz para a melhora da produção de etanol e hidrogênio a partir da xilose e celulose. Já a com a cultura enriquecida a produção de etanol teve um aumento de 4,8 vezes e 2,4 vezes para produção de hidrogênio a partir da celulose. Em relação a efeito do pH inicial sobre a produção de etanol foi observado que o intervalo entre 7,6-8 foi o mais favorável a produção etanol e hidrogênio, entretanto, segundo os autores uma variação de 0,5 do valor ótimo pode levar a um decréscimo de 20% dos rendimentos dos produtos.

SKONIECZNY e YARGEAU (2009) observaram também durante o experimento altas concentrações de etanol trabalhando em reator batelada a partir da glicose utilizando cultura pura de *Clostridium beijerinckii*. O trabalho foi conduzido através da aplicação de diferentes concentrações de substrato e variações do pH inicial.

Foi observado que quanto maior a concentração do substrato maior a produção específica de hidrogênio (específica em relação à DQO aplicada) e sob valores intermediários (pH=6) de pH. A diferença obtida entre a mais baixa concentração de substrato aplicada e a maior teve um efeito de quase dobrar a eficiência da produção de hidrogênio. Segundo os autores, quando se trabalha sob baixos valores de concentração de substrato, a fonte de carbono é utilizada basicamente para o crescimento da biomassa ao invés de ser direcionado para a produção de biogás.

Os principais metabólitos obtidos foram: HBr (14-63%); Ácido fórmico (10-45%) e EtOH (16-40%). Apesar de os metabólitos formados estarem de acordo com as pesquisas na área, as proporções de etanol e formato estão acima dos trabalhos prévios (FANG *et al.*, 2002; FANG *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2006) de produção de hidrogênio a partir da glicose. Entretanto, ainda segundo os próprios autores, não se pode afirmar se essa produção estava de fato ocorrendo de modo simultâneo ou se houve alguma mudança no metabolismo em algum ponto do experimento.

Outro trabalho onde a produção de metabólitos apresentou resultados distintos foi um estudo realizado por WU *et al.* (2009). Os autores trabalharam com produção contínua de hidrogênio em reator batelada sequencial a partir da glicose utilizando inóculo da suinocultura. Foi observada alta produção de ácidos orgânicos e constataram que a diminuição do TDH propiciava maior produção de ácido acético e menor produção de etanol; em consequência, houve alto rendimento da produção de hidrogênio. De fato, alta produção de ácido acético tende a ter efeito positivo na produção de hidrogênio como mostra a estequiometria da reação.

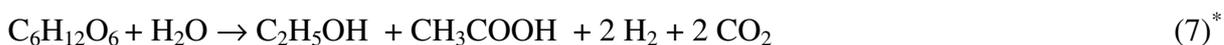
Esses trabalhos demonstram que pode haver novas rotas de produção de hidrogênio uma vez que há uma variedade de condições de produção de hidrogênio, ácidos orgânicos e álcoois entre os trabalhos. Questões como inoculação, cultura microbiana, substratos, tipo de reator, taxas de carregamento de substrato podem ser uma das razões para os diferentes direcionamentos de produção.

ZHU *et al.* (2009) também estudaram o impacto do controle de pH e do tamponamento do meio para a produção de hidrogênio a partir de efluente alimentício em digestor orgânico para a produção de hidrogênio. O trabalho foi conduzido em reatores batelada e sob o pH final do

efluente entre 4,0 e 7,0. Durante o experimento ele observou a variação da produção de ácidos orgânicos e etanol em determinados intervalos de pH.

Sob o pH abaixo a 4,5 os principais metabólitos formados foram o ácido acético, o ácido butírico e etanol com uma produção limitada de H<sub>2</sub>. Entre 4,5 e 6,5 houve uma produção maior dos ácidos e etanol bem como de hidrogênio. Acima de 6,5 houve diminuição da produção de ácido butírico, acético e hidrogênio e aumento da produção de etanol. Segundo os autores, para cada faixa de atuação aconteceu uma mudança na rota de produção em direção a um ou determinado composto. Sendo que sob o pH de 4,5 e 6,5 houve uma produção simultânea de etanol e hidrogênio. Segundo os autores, variações de rotas metabólicas podem ser resultados de variações na comunidade bacteriana ou mudança na expressão enzimática. Ainda segundo os pesquisadores, mais de uma rota metabólica foi ativa durante a execução do trabalho. Diferentemente dos trabalhos de WU *et al* (2007 a,b) quando houve uma produção concorrente. Assim, acredita-se que deve haver uma rota metabólica diferente a fim de manter uma produção simultânea de hidrogênio e etanol.

ZHU *et al.* (2009) apresentaram algumas possíveis rotas de produção de hidrogênio que poderiam ocorrer em diferentes etapas durante uma mesma produção. A equação (5) mostra uma rota de produção de hidrogênio na qual a principal via é a butírica e etanólica. A equação (6) apresenta uma via de produção de ácidos propiônico e acético, sem produção de hidrogênio. A equação (7) apresenta uma rota em que há a produção concomitante de etanol e hidrogênio sem comprometimento da produção de H<sub>2</sub>. É de se atentar para o fato que tais equações são apenas elucidativas sobre o que pode acontecer em situações em que altas produções de ácidos orgânicos são obtidas.



\* Wilkinson e Rose, 1963; Bastone *et al.*, 2002 e Hwang *et al.*, 2004 apud Zhu *et al.*, 2009.

### 3.3 Biorreatores utilizados para a produção de hidrogênio

O tipo de reator utilizado para processar as reações pode ter um caráter decisivo na formação dos produtos finais da fermentação. As condições fluidodinâmicas impostas pelo

equipamento podem influir em questões de transferência de massa e calor as quais podem ter conseqüências no crescimento dos microrganismos produtores de hidrogênio.

Para a fermentação, diversos reatores anaeróbios de alta taxa tem sido estudados para a produção de hidrogênio. Eles podem ser divididos basicamente em função do mecanismo de crescimento e sustentação da biomassa, assim, eles podem ser denominados como reatores de crescimento microbiano disperso ou suspenso nos quais se englobam os reatores de agitação contínua (CHEN e LI, 2003; ZHANG *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 2009), reator granular de leito expandido (GUO *et al.*, 2008) e o reator de manta de lodo (CHANG e LIN, 2004; ZHAO *et al.*, 2008; CASTELLÒ *et al.* 2009) ou ainda, podem ser de classificados como reatores de crescimento aderido tal como o reator de leito fixo (CHANG *et al.*, 2002, LEITE *et al.*, 2008) e o reator de leito fluidizado (WU *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2007; SHIDA *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2009; BARROS *et al.*, 2010).

### **3.3.1 Reatores de crescimento suspenso**

Os reatores de crescimento suspenso são aqueles cuja biomassa não necessita de meio suporte, em outras palavras, há o desenvolvimento microbiano disperso no meio líquido na forma de flocos ou grânulos.

#### **3.3.1.1 Reator de agitação contínua**

Os reatores contínuos de tanque agitado são amplamente empregados em situações em que se necessita de grande controle devido a sua fácil operação. No reator de mistura a biomassa encontra-se em mistura com o meio reacional, e, como nesses reatores o tempo de detenção hidráulica do meio é o mesmo da biomassa, a utilização de baixos tempos de TDH pode levar ao arraste da biomassa. A fim de evitar o arraste, é geralmente feito o uso de biomassa imobilizada através de flocos e grânulos permitindo assim a presença de biomassa dentro do reator.

#### **3.3.1.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo**

Os reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB – upflow anaerobic sludge blanket) são reatores anaeróbios com crescimento bacteriano disperso onde não há presença de suporte de imobilização. Nesta configuração de reator há a presença de duas fases: a zona de digestão e a zona de sedimentação. Em linhas gerais, na zona de

digestão acontece o encontro entre a água residuária e o lodo. Na parte superior da zona de digestão encontra-se a zona de sedimentação. Operacionalmente, o resíduo líquido entra pela parte inferior do leito através de distribuidores, atravessando o leito formado pelo lodo; há a formação de biogás devido à digestão e surge uma circulação interna gerada pelo biogás (NICOLLELA *et al.*, 2000). Os grânulos formados pelo crescimento microbiano dentro do reator se sedimentam acima da zona de digestão, retendo o lodo anaeróbio nesta região. Os flocos são mantidos dentro do reator devido ao estabelecimento de condições fluidodinâmicas pré-determinadas.

Entre as principais vantagens do reator UASB tem-se a alta eficiência, simplicidade de construção, flexibilidade para grandes ou baixas escalas de dimensionamento, necessidade de pequenos espaços, baixo consumo de energia, baixos requerimentos de nutrientes. Pode-se citar como desvantagens a baixa remoção de substâncias patogênicas, baixo tempo de partida e possíveis odores (SEGHEZZO *et al.*, 1998). Com o passar do tempo o reator UASB tende ainda a perder parte de sua eficiência devido a alta formação de grânulos e a falta de mistura o que leva ao surgimento de zonas mortas dentro do reator.

### **3.3.1.3 Reator granular de leito expandido**

No reator granular de leito expandido (EGSB – expanded granular sludge bed), tal como no reator com manta de lodo, a biomassa é cultivada dentro do reator na forma de grânulos. A necessidade de melhora do reator UASB no que diz respeito à presença de zonas mortas levou ao surgimento do reator EGSB. O uso de maiores velocidades ascensionais em reatores EGSB leva à expansão do leito granular, melhorando teoricamente as condições de mistura do meio reacional e melhorando o contato grânulo-água residuária. Ele ainda apresenta a vantagem frente ao reator UASB de eliminar possíveis flocos em excesso no reator (SEGHEZZO *et al.*, 1998). A imobilização inicial deste tipo de reator geralmente se dá através do uso de biomassa já cultivada e proveniente de reator UASB. Pode ser utilizado em águas residuárias com maiores cargas orgânicas.

### **3.3.1.4 Produção de H<sub>2</sub> em reatores de crescimento suspenso**

- Reator de mistura

O reator de mistura vem sendo bastante utilizado para a produção de hidrogênio especialmente em etapas iniciais quando se há necessidade de obter alguns parâmetros sobre a

aplicabilidade de determinados substratos ou culturas antes de serem implantadas em outros tipos de reatores com maior dimensão ou custo.

CHEN e LI (2003) utilizaram a sacarose para investigar a produção de hidrogênio reator de mistura. Foi utilizado inóculo proveniente de um tanque de aeração para tratamento de resíduos domésticos. A produção volumétrica de hidrogênio aumentou de 4,9 a 26,9 L.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> com a mudança de TDH de 13 para 3h, mas diminuiu com o decréscimo para 2h. O rendimento de hidrogênio variou entre 1,42 a 4,52 mol de H<sub>2</sub>/mol de sacarose (máximo teórico: 8)

LEE et al., (2009) estudaram a produção de hidrogênio a partir de cultura mista através em reator de membrana em comparação ao reator de mistura sob as mesmas condições. Foi obtido um conteúdo de 58% reator de mistura enquanto que o reator de membrana obteve 51%, entretanto, a produção volumétrica apresentada pelo reator de membrana (2,43-2,56 L.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>) foi 2,6 maior que a produção do reator de mistura (0,95-0,97 L.d<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>). A melhor eficiência apresentada pelo reator de membrana se deve a melhor retenção celular apresentada pelo reator.

- UASB

CHANG e LIN (2004) estudaram a produção anaeróbia de hidrogênio em reator UASB. O reator foi operado entre os TDH de 24 e 4h. A produção máxima de hidrogênio se deu no TDH de 8h e se manteve constante nos outros TDH aplicados. Segundo os autores, os maiores diâmetros dos grânulos presentes no reator foram obtidos no TDH de maior produção de hidrogênio, evidenciando que a presença de mais biomassa no reator favoreceu a produção de biogás. O ácido butírico e o ácido acético foram os principais metabólitos produzidos.

ZHAO *et al.* (2008) estudaram a produção de hidrogênio em reator UASB a partir da sacarose. Foi utilizado um método estatístico a fim de aperfeiçoar o entendimento sobre a produção de hidrogênio neste tipo de reator. Um primeiro teste foi realizado para a coleta de dados e mais dois outros para confirmar os dados estatísticos obtidos e observar o ajuste aos parâmetros estudados. Em termos produtivos houve produção máxima de hidrogênio de 1,62 mol de hidrogênio/mol de sacarose no TDH de 16,3 h. Os principais metabólitos produzidos foram o ácido butírico, ácido acético e etanol.

CASTELLÒ et al. (2009) estudaram o desempenho do reator UASB para a produção de hidrogênio a partir de soro de leite. Foi observada uma baixa produção de hidrogênio na ordem de 122 mL .L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Houve também a produção de metano apesar de ter sido adotado

um pH baixo em torno de 5. Os grânulos presentes no reator não atingiram grandes diâmetros o que, segundo os autores, pode ter influenciado na boa produção de hidrogênio.

- EGSB

Apesar de ser considerado um aperfeiçoamento do UASB no que diz respeito as condições de mistura, seu uso no processo de produção de hidrogênio ainda é pouco limitado sendo preterido pelo reator UASB devido à visibilidade deste último em tratamento de efluentes.

GUO *et al.* (2008) trabalharam com reator granuloso de leito expandido para a produção de hidrogênio a partir da fermentação alcoólica a partir do melaço da cana. Foi utilizado como inóculo do EGSB uma mistura 1:1 de um lodo de um reator acidogênico e a lama de um canal de descarga de esgoto doméstico. O procedimento de alimentação do reator foi executado de tal forma que houve um aumento contínuo da carga orgânica aplicada ao reator. Durante os primeiros dias de operação foi observada uma mistura de vias metabólicas com uma produção principal de acetato, propionato e butirato. Entre o 10º e 20º dia, a produção de ácido propiônico foi reduzida e a via butírica foi predominante. Após o 20º dia a produção de ácido butírico passou a diminuir enquanto que a produção de etanol era aumentada. A partir do 25º dia os principais metabólitos produzidos foram o etanol e o ácido acético. Até o 60º dia manteve-se a alta produção de etanol e hidrogênio. Em relação a produção de hidrogênio foi observado que a produção de etanol estava favoravelmente associada a produção de hidrogênio. O conteúdo de H<sub>2</sub> no biogás formado ficou entre 30 – 53%. Os principais metabólitos formados, em geral, foram o etanol e ácido acético somando 89,1 % dos metabólitos em determinada etapa. Outros metabólitos foram formados em menor quantidade. Os autores concluíram que o reator EGSB se aplica com sucesso para a produção de hidrogênio.

### **3.3.2 Reatores de crescimento aderido**

Um dos grandes problemas enfrentados pelos reatores anaeróbios de crescimento suspenso é a perda de biomassa sob baixos tempos de detenção hidráulica. A fim de superar esta condição foram desenvolvidos reatores preenchidos com partículas inertes que atuam como suporte de imobilização para os microrganismos. Nos reatores com crescimento aderido, a formação da biomassa pela comunidade microbiana se dá na superfície e poros de partículas que preenchem o reator. Uma camada de biofilme é formada ao redor das partículas composta de polímeros extracelulares e comunidade microbiana.

Nesses reatores as reações de consumo de substrato e formação de produtos ocorrem no interior do biofilme. Por essa razão, a transferência de massa entre essas duas fases biofilme/líquido é um importante fator no que diz respeito à eficácia desses sistemas para a produção de hidrogênio e no tratamento de efluentes em geral.

### **3.3.2.1 Reator anaeróbio de leito fixo**

Os reatores anaeróbios preenchidos com um leito de partículas inertes atuando como suporte de imobilização de biomassa são chamados de reatores anaeróbios de leito fixo. A água residuária atravessa o leito de partículas através dos espaços vazios entre as partículas e, então, a flora microbiana presente é aderida. Quando um novo afluente é injetado no leito de partículas as bactérias já se encontram aderidas uma vez que elas não são lavadas pelo fluxo que passa pelo reator, à exceção quando em condições de altas vazões superficiais. A boa escolha do material suporte de imobilização é essencial para a boa adesão do biofilme às partículas, sendo essa uma das principais variáveis para que se obtenha sucesso na formação do biofilme.

Devido a esse biofilme aderido, os reatores de leito fixo possuem grande capacidade de recuperação quando submetido a choques de concentração ou de outros nutrientes (SINGH *et al.*, 2009). Outra grande vantagem em comparação aos reatores utilizados para o tratamento de efluentes é a redução do tempo de detenção hidráulica o qual passou de dias a algumas horas, pois o aumento da área superficial devido ao leito de partículas leva ao aumento do contato entre a matriz microbiana e o afluente a ser tratado.

#### **3.3.2.1.1 Produção de H<sub>2</sub> em reator anaeróbio de leito fixo**

Diante das vantagens apresentadas pelo sistema de biomassa aderida pelo reator, diversos trabalhos (CHANG *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2006; LEITE *et al.*, 2008; FERNANDES, 2008) utilizando reatores anaeróbios de leito fixo estão sendo realizados para a produção de hidrogênio.

CHANG *et al.* (2002) analisaram a produção de hidrogênio em reator de leito fixo utilizando sacarose a 20 DQO.L<sup>-1</sup> como substrato e lodo doméstico como inóculo. Foram utilizados dois tipos de material suporte, a argila expandida e carvão ativado a fim de observar qual apresentava melhores condições para a produção de hidrogênio.

As melhores produções de H<sub>2</sub> para o reator contendo argila expandida se deu no TDH de 2h e a produção máxima foi de 0,415 L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>. Já para o reator contendo carvão ativado a

melhor produção de H<sub>2</sub> se deu no TDH de 1h e foi igual a 1,32 L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>. Os principais metabólitos produzidos foram o ácido butírico, o ácido propiônico, o ácido acético e o etanol. O conteúdo de H<sub>2</sub> no biogás ficou entre 25 e 35% em ambos reatores.

LEE *et.al* (2003) também trabalhou com reatores de leito fixo para avaliar a produção de hidrogênio a partir da sacarose. Foi empregada como condição de trabalho a variação da porosidade no leito sendo que os maiores valores de produção se deram no TDH de 0,5h com uma porosidade de 90% do leito de partículas. O conteúdo de hidrogênio no biogás variou entre 30 e 40%. Os principais metabólitos produzidos foram o ácido butírico, propiônico e valérico.

Outro trabalho em reator de leito fixo para a produção de hidrogênio a partir de uma cultura pura de *Clostridium acetobutylicum* foi desempenhado por Li *et al*, 2006. A fonte de carbono empregada foi a sacarose a 10 g.L<sup>-1</sup>. Duas condições de preenchimento foram usadas: em uma havia o uso de anéis de preenchimento e na outra condição o leito não era preenchido. Foi observado que o reator preenchido apresentou melhores resultados de produção de hidrogênio (6,17 L.d.<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup>) em comparação ao reator sem preenchimento (5,35 L.d.<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup>). Um fator importante foi que em ambos os reatores houve a formação de grânulos. Esse fato se torna mais relevante para o reator sem preenchimento, pois permitiu a produção de hidrogênio mesmo sem biomassa imobilizada, embora em menores valores.

ZHANG *et. al* (2006) utilizaram um reator “trickle-bed” o qual é uma variação do leito fixo. Nesta configuração, o fluxo afluyente entra pela parte superior do reator e o biogás sai contracorrente ao fluxo de entrada. Foram utilizadas pérolas de vidro como suporte de imobilização. O conteúdo do biogás ficou entre 74 e 3% e o rendimento de hidrogênio entre 15 e 27% do rendimento teórico máximo que era de 4. O reator rapidamente ficou empacotado devido ao alto crescimento de biomassa o que fez necessária uma retro-lavagem a fim de limpar o leito.

LEITE *et. al* (2008) estudaram a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em um reator anaeróbio horizontal de leito fixo a partir da glicose e com inoculação natural. Durante a fase inicial o reator foi operado num TDH de 2h e sem adição de agente alcalinizante para a adaptação da biomassa ao leito de partículas. Numa segunda etapa houve a variação do TDH de 2 a 0,5h também sem a adição de agente alcalinizante, o pH durante esta etapa foi mantido entre 3,5 – 3,8. Com o decréscimo do TDH foi verificada a diminuição da produção de butirato (605 a 367 mg.L<sup>-1</sup>) sem que houvesse impacto significativo sobre a produção de ácido acético e propiônico. Numa terceira etapa foi aumentada a concentração da glicose empregada (de 2000 mg.L<sup>-1</sup> para 4000 mg.L<sup>-1</sup>) sob o TDH de 0,5h. Foi verificado que nesta etapa houve uma estabilidade dos ácidos formados e um aumento na produção de ácido acético (de 481

para 906 mg.L<sup>-1</sup>) e ácido capróico ( de 0 a 156 mg.L<sup>-1</sup>). Numa terceira etapa houve a adição de agente alcalinizante (NaHCO<sub>3</sub>). As concentrações de bicarbonato foram variadas de modo que foram realizados testes com as concentrações de 0, 1000 e 2000 mg.L<sup>-1</sup> sob um TDH fixo de 0,5. Durante essa fase foi realizado o monitoramento da produção de hidrogênio. Os resultados mostraram que a melhor produtividade de hidrogênio em relação ao consumo de substrato foi obtida quando não houve adição de bicarbonato. Segundo os autores, a presença de CO<sub>2</sub> resultante da dissociação do íon bicarbonato pode ter limitado a produção de hidrogênio diante da adição de um agente alcalinizante.

FERNANDES (2008) estudou a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo a partir da sacarose. A fim de analisar a aplicabilidade do reator foram empregados diferentes materiais suportes (argila, carvão ativado e polietileno) sob diferentes níveis de porosidades (50, 75 e 91%). Numa primeira etapa de operação foi estudada a viabilidade de cada suporte de imobilização para a produção de hidrogênio e ácidos. Foi verificado que sob o polietileno foi o mais bem sucedido para a produção de H<sub>2</sub>. Foi observado que o polietileno apresentou os melhores resultados de rendimento de H<sub>2</sub> (6,99 mol de H<sub>2</sub>/ mol de sacarose) e de produção volumétrica de H<sub>2</sub> (770 ml H<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>) sob o TDH de 0,5h. Tal suporte foi então escolhido a fim de verificar a influência da porosidade do leito numa etapa seguinte. Sob a porosidade de 50% foram obtidos os melhores valores de rendimento de H<sub>2</sub> (4,38 mol de H<sub>2</sub>/ mol de sacarose) em relação as outras porosidades empregadas 75% (3,76 mol de H<sub>2</sub>/ mol de sacarose ) e 91 % (4,20 mol de H<sub>2</sub>/ mol de sacarose).

### **3.3.2.2 Reator anaeróbio de leito fluidizado**

O reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) é um dos reatores que tem sido utilizado no tratamento de efluentes. Nesses reatores, o líquido a ser tratado é injetado através de um leito de partículas (argila, areia, carvão ativado, etc.) numa velocidade suficiente para causar a fluidização (NICOLLELA *et al.*, 2000).

As partículas sob estado fluidizado atuam como suporte de imobilização, oferecendo a área superficial necessária para a adesão dos microrganismos responsáveis pela formação do biofilme. Esse biofilme é uma estrutura complexa de células e produtos celulares, tais como polímeros, que se formam espontaneamente como grânulos largos e grandes ou ainda crescem na superfície de um material suporte o qual é mantido em suspensão devido ao fluxo ascendente do fluido (NICOLLELA *et al.*, 2000). Ao aderir ao material suporte, os microrganismos modificam a densidade, o tamanho e a forma da partícula o que leva à mudança na altura do leito em relação à partícula sem biomassa. Tais modificações podem

influenciar na velocidade terminal da partícula, assim, à medida que há a formação do biofilme, muda-se a velocidade terminal da partícula ( $u_t$ ) (GRADY JR *et al.*, 1999).

Quando a queda de pressão no leito devida ao fluxo ascendente através do leito iguala ao peso do próprio leito acontece a expansão do leito. Ao se expandir, o leito mantém a integridade da sua superfície horizontal superior da mesma forma que estava antes de fluidizar, porém, a porosidade é maior neste caso (FOUST *et al.*, 1980). A expansão do leito pode ser mensurada através da equação que define o estado de fluidização. As relações entre a porosidade ( $\varepsilon$ ) do meio suporte, a densidade da partícula ( $\rho_s$ ), a densidade do fluido ( $\rho$ ), a perda de carga ( $\Delta P$ ) e a altura do meio ( $L$ ) são expressas a seguir:

$$\frac{\Delta P}{L} = (1 - \varepsilon)(\rho_s - \rho)g \quad (8)$$

A equação (9) proposta por Richardson-Zaki relacionando a porosidade, velocidade superficial do fluido ( $V$ ) e a velocidade terminal da partícula ( $u_t$ ) é geralmente utilizada para estimar a porosidade do meio (RABAH e DAHAB, 2004), sendo muito aplicada em estudos de biopartículas (KUNII e LEVENSPIEL, 1991).

$$\varepsilon = \left[ \frac{V}{u_t} \right]^{\frac{1}{n}} \quad (9)$$

sendo que:

$n$  é o índice de expansão que pode ser obtido através de correlações entre o número de Galileu e/ou número de Reynolds. Para Richardson e Zaki (1954) o  $n = 4,45 \text{ Re}^{-0,1}$ .

A velocidade terminal da partícula pode ser definida como:

$$u_t = \left[ \frac{4 \cdot g \cdot d_s (\rho_s - \rho)}{3 \cdot C_d \cdot \rho} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (10)$$

em que:

$g$  é a aceleração gravitacional,  $d_s$  é o diâmetro da partícula,  $\rho$  é a densidade do fluido,  $\rho_s$  é a densidade da partícula,  $C_d$  é o coeficiente de arraste obtidos por correlações.

Como já foi anteriormente comentado, pode acontecer a mudança da velocidade terminal da partícula em decorrência da formação da biomassa. Assim sendo, o aumento da velocidade terminal irá propiciar o aumento da porosidade do meio de acordo com a equação (9) de

Richardson-Zaki caso seja mantida constante a velocidade superficial do meio (V). Por outro lado, esse aumento de porosidade irá provocar um aumento da altura do leito.

Nos sistemas de leito fluidizado, 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, 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. Para leitos expandidos, essa área aumenta. De fato, uma área superficial mais elevada propicia um maior desenvolvimento de biomassa, levando a um menor valor de tempo de detenção hidráulica a depender da concentração do afluente e permite ainda que o reator de leito fluidizado seja mais compacto que os outros reatores para a mesma função (GRADY JR. *et al.*, 1999). Porém, à medida que se aumenta a velocidade ascendente do fluido, a turbulência gerada no escoamento pode levar ao carreamento do biofilme (RABAH E DAHAB, 2004). Segundo NICOLELLA *et al.* (2000), como não há controle sobre o crescimento da biomassa, pode ser que ocorra o desprendimento desse material em virtude do atrito entre as partículas que passa a aumentar.

Como já foi dito, a melhoria da transferência de massa entre o líquido e o biofilme é consequência direta do aumento da área para penetração dos substratos. Os substratos (fonte de carbono) a serem degradados têm que atravessar a interface da biomassa até atingir os microrganismos. Esse transporte é geralmente feito por difusão devido a um gradiente de concentração entre o líquido e o biofilme. A penetração de substratos vai depender ainda de outros fatores como porosidade do biofilme, concentração do substrato, taxa de reação no biofilme (NICOLELLA *et al.*, 2000).

Entre outras vantagens do sistema de leito fluidizado está no fato de o reator ser de fácil controle e automação e de melhor controle da temperatura tendo em vista que não há pontos de empacotamento do leito (GRADY JR. *et al.*, 1999). Entretanto, quando há grande formação de biomassa, pode haver o preenchimento dos espaços intersticiais das partículas provocando a colmatção do leito.

#### **3.3.2.2.1 Produção de H<sub>2</sub> em reator anaeróbio de leito fluidizado**

A taxa de produção de hidrogênio é considerada um importante meio de avaliar o desempenho de um processo de produção de hidrogênio. Os reatores de agitação contínua, exemplo típico de sistemas de crescimento suspenso, geralmente apresentam valores baixos de taxas de produção devido a pouca capacidade de manter altos níveis de biomassa presente sob baixos valores de TDH, por questões estruturais do reator. A fim de atingir maiores

valores para a taxa de produção, os sistemas de biomassa aderida foram se tornando populares, pois eles tem a capacidade de reter uma grande quantidade de biomassa até mesmo em baixos valores de TDH. Um dos representantes do sistema de crescimento aderido é o reator de leito fluidizado (ZHANG *et al.*, 2007).

Algumas pesquisas em produção de hidrogênio tem sido realizadas em reatores de leito fluidizado (WU *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2007; SHIDA *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*, 2009; BARROS *et al.*, 2010) devido às vantagens conferidas ao processo anaeróbio pela fluidização do meio.

ZHANG *et al.* (2007) estudaram a produção de hidrogênio em reator de leito fluidizado tendo carvão ativado granular como material suporte e glicose como substrato. Eles operaram o reator sob diferentes TDHs (4-0,5h) a uma concentração fixa ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ) de substrato e outra variando a concentração do substrato ( $10-30 \text{ g.L}^{-1}$ ) sob um TDH fixo de 1h. A temperatura de operação foi  $37^{\circ}\text{C}$  (mesofílica) e o pH foi mantido em 4.

A taxa de produção de hidrogênio e a composição no biogás obtidas durante o experimento apresentaram uma relação linear com a redução do TDH. A taxa de produção de  $\text{H}_2$  variou em torno de 2,4 e  $4 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$  com o aumento do TDH. A composição de hidrogênio no biogás variou (61% a 57%) com a diminuição do TDH e foi observada a estabilidade na composição a níveis de 59 % sob a variação da carga orgânica. Não houve produção de metano e foram formados acetato (43-46%), butirato (20-31%), etanol (14-21%) e hexanoato (7-10%) com poucos traços de propionato (0-3%). Os metabólitos encontrados diminuíam a sua parcela no biogás à medida que era diminuído o TDH. Foi observado que o reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) apresentou grande capacidade de operar sob altas taxas orgânicas, aumentando a produção de hidrogênio e que a ausência de ação metanogênica se deve à manutenção dos níveis de pH em condições baixas.

SHIDA *et al.* (2009) estudaram a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em reator de leito fluidizado, utilizando a glicose como fonte de carbono e argila expandida como suporte de imobilização do reator. O reator foi operado sob diferentes TDH entre 8 e 1h a um pH e temperatura em torno de 4 e  $30^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. A taxa de expansão do leito ficou em torno de 25 %.

Foi verificado um aumento da produção de hidrogênio ( $0,28-1,15 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) com a diminuição do TDH até 1h, a partir do qual houve um decaimento da produção. O rendimento máximo no experimento foi de  $2,29 \text{ mol H}_2/\text{mol}$  de glicose. Não houve produção de metano no biogás. Os principais metabólitos encontrados foram ácido butírico (44,64-52,52%) e ácido acético (41,17-47,48%) com pequenas quantidades de etanol (menor que 10%).

A variação nas condições do reator pode ter ainda efeito na comunidade microbiana do reator. Estudos feitos por KOSKINEN *et al.* (2007), em reator anaeróbio de leito fluidizado, utilizando glicose como substrato e com enriquecimento de cultura, mostraram que mudanças constantes, de processo contínuo à operação em batelada e no que diz respeito à variação de TDH, ocasionaram em variações nas rotas de produção de hidrogênio. Essa mudança foi devido às variações ocorridas nas comunidades microbianas do meio. Eles observaram que a diminuição da produção de hidrogênio (5,8-1,8 mmol h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup> sob um TDH de 5h; 1,8-1,0 mmol h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup> sob TDH de 4,8) associada com uma mudança na rota de hidrogênio, de acetato-butirato para acetato-propionato, foi devida à mudança da composição de microrganismos na fase suspensa (líquida) e aderida no reator.

AMORIM *et al.*,(2009) estudaram a eficácia de um reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com argila expandida para a produção de hidrogênio. Uma água residuária sintética contendo glicose como fonte principal de carbono a 2000 mg.L<sup>-1</sup> serviu como fonte de alimentação do reator. Durante a operação do reator foi obtido um rendimento máximo de hidrogênio de 2,49 mol H<sub>2</sub>.mol<sup>-1</sup>glicose quando o reator foi operado sob o TDH de 2h. O conteúdo de hidrogênio no biogás variou entre 8-35% à medida que se fazia a redução do TDH de operação o qual foi variado de 8 a 1h Foi observada a eficácia do sistema RALF para a produção de hidrogênio.

Em seqüência, AMORIM (2010) estudou também em RALF alguns parâmetros para a produção de hidrogênio: a influência da adição de agente alcalinizante, o efeito de diferentes concentrações do substrato e a influência da taxa de carregamento orgânico. Foram operados 8 reatores cada um sob diferente concentração de 2000, 4000, 10000 e 25000 mg.L<sup>-1</sup> com e sem a adição de agente alcalinizante. O efeito da taxa de carregamento orgânico foi avaliada em virtude da variação do TDH aplicado em cada reator o qual variou de 8 a 1h. Segundo o autor, foi verificado que a condição de 4000 mg.L<sup>-1</sup> com adição de agente alcalinizante foi a melhor configuração de operação levando-se em consideração que apresentou a melhor distribuição de metabólitos favoráveis à produção de hidrogênio (ácido acético e ácido butírico).

BARROS *et al.* (2010) estudou a influência de diferentes materiais suporte de imobilização para a produção de hidrogênio em RALF. Acredita-se que a boa escolha do material suporte empregado tenha grande influência na aplicabilidade dos sistemas de crescimento aderido para a produção de hidrogênio. Os autores estudaram a aplicabilidade de dois materiais suportes: poliestireno e argila expandida. Uma água residuária sintética na concentração de 4000 mg.L<sup>-1</sup> de glicose foi utilizada. Foi observado que as partículas de argila expandida foram mais eficazes para a produção de hidrogênio apresentando valores

máximos de  $1,21 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$  e  $2,59 \text{ mol H}_2.\text{mol}^{-1}\text{glicose}$ , para a produção volumétrica e rendimento, respectivamente. Segundo os autores, as características físicas da partícula de argila expandida tal como maior porosidade e superfície rugosa permitiram a boa adesão dos microrganismos produtores de hidrogênio.

### 3.3.3 Fatores fluidodinâmicos associados aos reatores anaeróbios

Os efeitos de limitação de transporte de massa podem ter efeito significativo sobre as rotas metabólica e cinética envolvidas nos processos de digestão anaeróbia. Alguns trabalhos buscaram analisar os aspectos fluidodinâmicos associados à digestão anaeróbia e à produção de hidrogênio (LAMED *et al.*, 1988; WU *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2007; LIN *et al.*, 2009). Efeitos relacionados à melhorias nas condições de transferência de massa são relatadas como sendo ponto importante nessas pesquisas.

Trabalhando com reator batelada LAMED *et al.* (1988) estudaram a influência do hidrogênio e das condições de mistura nos produtos da fermentação a partir de uma cultura pura de *Clostridium thermocellum* visando a produção de etanol a partir da celulose. Tal microrganismo produz etanol, acetato,  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$  como produtos na fermentação da celulose. Foi observado durante o experimento que a relação etanol/acetato foi de 1 a 3 vezes maior nos experimentos em que era realizada agitação vigorosa do meio. Em contrapartida, o conteúdo de  $\text{H}_2$  foi reduzido em 3 vezes nos experimentos com agitação. Ainda durante o experimento foi verificado que a contínua adição de  $\text{H}_2$  para a fase gasosa contribuiu para o aumento da relação etanol/acetato com mais influência nos reatores com agitação. Os autores sugeriram que a presença de hidrogênio saturado no meio atua de maneira importante no regulamento da produção de etanol. O aumento das condições de mistura do meio reacional facilita a transferência de  $\text{H}_2$  para a fase gasosa, diminuindo uma possível inibição causada pela alta concentração de  $\text{H}_2$  no meio.

Alguns estudos trabalharam em reator de crescimento aderido (WU *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2007a; LIN *et al.*, 2009) e tiveram como escopo a influência dessas condições fluidodinâmicas na produção de hidrogênio. Porém, ainda são poucos os trabalhos nessa direção, boa parte deles relaciona a velocidade de ascensão do fluido a qual pode ser correlacionada com a expansão do leito.

WU *et al.* (2003) estudaram a produção de hidrogênio tendo lodo doméstico municipal como inóculo em reator de leito fluidizado trifásico. Foi utilizada a sacarose como substrato. Não houve controle de pH, mas ele se manteve entre 5,8 e 6,8 durante a operação do reator. A temperatura foi controlada em  $35^\circ\text{C}$ . Durante o experimento foi realizada a variação da

velocidade do fluido ( $0,2-1,1 \text{ cm.s}^{-1}$ ) a fim de determinar as propriedades fluidodinâmicas do sistema diante do uso de partículas de látex-acrílico com silicone.

A um TDH fixo de 2h foi observada a presença de três regimes de fluidização antes de atingir a fluidização plena. Tal aumento de velocidade foi acompanhado pela expansão do leito entre 30 e 40%. As três fases no leito foram afetadas pela formação das bolhas de gás, combinada ainda com a coalescência das bolhas. Os autores concluíram que tais fatores determinam os regimes de fluidização do reator. Para o estudo da produção de hidrogênio o TDH foi variado entre 6 e 1h o que levou a produções máximas de  $0,93 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$  e rendimento de  $2,67 \text{ mol H}_2/\text{mol}$  de glicose.

LEE *et al.* (2003) fizeram o estudo em reatores de leito fixo utilizando carvão ativado como meio suporte e sacarose como substrato a fim de avaliar a influência da porosidade na produção de hidrogênio sob vários valores de TDH (4, 2, 1 e 0,5 h). O reator começou a ser operado sob um TDH de 4h e com porosidade de 90%.

À medida que o TDH era diminuído, havia o aumento da taxa de produção de hidrogênio, sendo máxima no TDH igual a 0,5h ( $7,41 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ). A composição de hidrogênio no gás ficou na faixa de 35-40% durante todos os TDH aplicados, sendo que não houve formação de metano. Os principais metabólitos foram ácido butírico, ácido propiônico e ainda, mas em pequena quantidade, ácido acético, ácido valérico e etanol. A presença de biomassa no efluente foi baixa, mostrando que houve boa retenção do biofilme nas partículas. Para as porosidades de 80% ocorreram as mesmas situações, com a diferença que ocorreu uma diminuição da taxa de produção de hidrogênio ( $4,1 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) comparada a de 90%. Na porosidade de 70 % houve novo decréscimo ( $3 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) e uma instabilidade na produção de hidrogênio que variou entre 25-40%.

Ainda segundo LEE *et al.* (2003) baixos valores de porosidade exigem mais suporte para a adesão dos microrganismos, entretanto, há diminuição dos espaços livres na fase líquida para o crescimento microbiano. Os resultados mostraram que a degradação da sacarose foi maior quanto maior havia justamente mais espaço vazio entre as partículas, ou seja, quanto maior a porosidade do meio ou quanto mais expandido.

Apesar da experiência de LEE *et al.* (2003) ter sido realizada em reator de leito fixo, espera-se que a influência do aumento da porosidade do leito em reatores de leito fluidizado seja mais destacada devido às características inerentes ao reator. Quanto maior a porosidade, maior a expansão do leito (GOMIDE, 1983), porém ainda não há uma certeza quanto à melhoria efetiva na produção de hidrogênio. Presumi-se que o aumento da porosidade do leito facilite o crescimento dos microrganismos na superfície da partícula, propiciando um contato

maior e mais prolongado entre o efluente a ser tratado e a biomassa formada, aumentando a taxa de transferência de massa, essencial para a melhora da produção de hidrogênio.

WU *et al.* (2007a) realizaram estudos em reator anaeróbio de leito fluidizado e em leito fixo a partir de três tipos de substratos: sacarose, glicose e frutose. Investigou-se a produção de hidrogênio através da aplicação de diferentes velocidades ao fluido ascendente (0,55-0,91 cm.s<sup>-1</sup>). A partir do momento que foi atingido o estado estacionário, o TDH foi ajustado através do controle da alimentação de reciclo. A temperatura foi controlada em 35°C e o pH mantido entre 5,8 e 6,8. A expansão do leito ficou entre 40-50%.

Os resultados mostraram que houve aumento da produção de hidrogênio independente do substrato quando se aumentava a velocidade de ascensão, sendo que as maiores taxas de produção de hidrogênio (59, 53 e 33 mmol.h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup>) foi obtida na maior velocidade testada para a sacarose, glicose e frutose, respectivamente. A produção de etanol também foi investigada e novamente houve aumento da taxa de produção com o aumento da velocidade. Segundo os autores, o efeito positivo da velocidade na produção de hidrogênio e etanol é provavelmente devido à melhor eficiência de transferência de massa com o aumento da velocidade. Não houve uma relação clara para o rendimento de hidrogênio (relação hidrogênio/substrato) com o aumento da velocidade.

LIN *et al.* (2009), estudando um reator anaeróbio de leito trifásico preenchido com acetato de vinil etileno (EVA), analisaram a produção de hidrogênio através da variação do grau de preenchimento do leito (5, 10 e 15 % v/v) em 3 faixas de TDH específicas: 6, 4 e 2. A vazão de recirculação foi mantida constante dentro do reator a 5 l.min<sup>-1</sup>.

Foi observado que o grau de preenchimento ótimo para a fermentação foi de 10% com 23% de expansão apresentada pelo leito de partículas. Quando houve o aumento do grau de preenchimento de 5 para 10% tanto o rendimento quanto a produção volumétrica aumentou, entretanto, quando foi feito o aumento para 15% esses parâmetros diminuíram em comparação ao que foi obtido nas razões de 5 e 10%. Segundo os autores, isso pode ter ocorrido devido à ineficiência da transferência de massa devido ao uso de uma razão de empacotamento imprópria em que especificamente sob o TDH de 2h ocorreu lavagem da biomassa.

### **3.4 Parâmetros controladores da produção anaeróbia de hidrogênio**

Durante a produção anaeróbia de hidrogênio, alguns fatores devem ser criteriosamente observados. Pesquisas anteriores mostram que a produção de determinados compostos não favoráveis à produção de hidrogênio pode ser direcionada para mais ou para menos a partir do

controle de certas condições físico-químicas e operacionais as quais se acredita estarem ligadas ao metabolismo celular dos microrganismos presentes. Além disso, a variação brusca de uma condição à outra durante um mesmo processo pode acarretar na mudança de rotas de produção da cultura microbiana presente (KOSKINEN *et al.* (2007)). O tipo de reator, o meio utilizado, o substrato principal, pH e temperatura parecem governar em conjunto a produção biológica de hidrogênio. A seguir, serão citados alguns desses parâmetros e resultados obtidos em trabalhos prévios sobre os respectivos efeitos na produção de hidrogênio.

### 3.4.1 pH

Como em todo processo biológico, é bastante significativa a ação do pH no meio, tendo em vista que algumas bactérias atuam apenas em determinados intervalos de pH. Uma leve mudança das condições pode levar a um desvio da rota de produção, seja ela direcionada para a produção de ácidos voláteis, álcoois, hidrogênio ou metano. Experimentos (FANG *et al.*, 2002; FAN *et al.* 2004; KIM *et al.* 2004, HWANG *et al.*, 2004; VALDEZ-VÁSQUEZ *et al.*, 2006; ZHUO *et al.*, 2007) estão sendo realizados a fim de se encontrar uma faixa ótima de pH de operação para a produção de H<sub>2</sub>. Entretanto, ainda há bastante divergência devido ao fato que o uso de diferentes fontes de carbono, diferentes culturas e diferentes configurações de reatores podem requerer um pH específico para a reação em questão.

FANG *et al.* (2002) estudando o efeito do pH na produção de hidrogênio a partir da glicose. Foi realizado um experimento em batelada a partir de uma cultura mista. O pH entre 4 e 9 foi analisado e observaram que havia produção máxima de hidrogênio sob pH de 5,5. O aumento do pH propiciou uma queda de rendimento na produção de H<sub>2</sub> por conta da ativação das metanogênicas hidrogenotróficas.

FAN *et al.* (2004), tal como no estudo anterior, observaram que sob pH de 5,5 havia a produção ótima de hidrogênio bem como a produção de ácido voláteis, em especial acetato e etanol como subprodutos.

Para indicar a inibição da atividade metanogênica sob baixos valores de pH, KIM *et al.* (2004) conduziram um estudo no qual se observou que sob valores abaixo de 5, não há a presença de atividade metanogênica. A um pH de 4,5 houve a produção de ácidos voláteis, abaixando ainda mais o pH houve a produção de butanol e a inibição da produção de hidrogênio.

Sabe-se que boa parte das arqueias metanogênicas atua no pH ótimo de 6 e 7, cuja atividade tende a cair sob pHs menores que 6, quando as bactérias acidogênicas atuam diminuindo o pH do meio (BITTON, 2005). Em vista disso, muitos estudos para a produção

de hidrogênio são conduzidos em faixas de pH entre 4 e 5,5. Entretanto, trabalhos tem verificado boas produções de hidrogênio em pH em torno de 6 o que sugere que outras questões possam trabalhar em conjunto com o pH a fim de evitar a produção de metano, tal como o tratamento do inóculo.

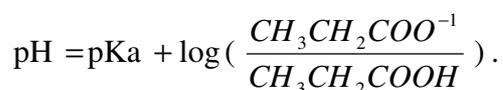
HWANG *et al.*, (2004) observaram o efeito do pH na produção de hidrogênio através da rota de produção de hidrogênio via etanol. Foi observado que na faixa de pH entre: 4,0-4,5; 4,5-5,0 e 5,0-6,0 os principais metabólitos foram ácido butírico, etanol e ácido propiônico, respectivamente.

VALDEZ-VÁSQUEZ *et al.*(2006) supuseram que o pH dentro do reator para a produção de hidrogênio deve permanecer acima dos pontos da constante de dissociação (pKa) dos ácidos orgânicos presentes. O pH está intimamente ligado à rota de produção de hidrogênio tendo em vista que baixos valores de pH levam a mudança da rota para a formação de solventes como álcoois. A queda do pH devido ao acúmulo de ácidos no meio pode causar a dissociação dos ácidos os quais são mais nocivos à célula microbiana do que ácidos não-dissociados. Para os principais ácidos formados durante a produção de hidrogênio tem-se ácido acético (pKa: 4,75); ácido butírico (pKa: 4,82) e ácido propiônico (pKa: 4,88).

ZHUO *et al.* (2007) estudaram o desempenho de um reator ascendente de manta de lodo para a produção de hidrogênio em vários valores de pH. Foi observado que a produção de hidrogênio estava relacionada com o pH de atuação. O pH ótimo para a produção de hidrogênio se encontrava entre 6,5 e 7,5.

Como já foi citado anteriormente em relação ao inóculo, algumas bactérias podem ser inibidas ou terem sua produção direcionada para outros metabólitos, seja pela inibição causada pelo acúmulo de ácidos no sistema, ou seja, pela presença de ácidos não-dissociados no meio que podem atravessar a célula, desregulando seu balanço iônico.

Segundo GOURDON e VERMANDA (1987), um dos principais requisitos para que haja a inibição de um processo metabólico é a passagem pela membrana citoplasmática. Essa membrana é responsável por prevenir a entrada de compostos ionizados pela célula visto que apenas a forma não-ionizada consegue atravessar a membrana celular. Assim, o pH atua através do balanço das formas atuantes no sistema: A exemplo, segue a dissociação do ácido propiônico:



Valores de pH que se encontrem nessa faixa, tende a contribuir para a dissociação do ácido e possível inibição do metabolismo bacteriano presente.

DABROCK *et al.*( 1992) relacionou o efeito do pH na produção de solventes a partir de *Clostridium pasteurianum*. Os autores afirmaram que sob baixos valores de pH, a produção era direcionada para a formação de solventes.

### **3.4.2. Temperatura**

A temperatura de operação também é outro fator de relevância no estudo da produção de hidrogênio. Como a temperatura é intimamente ligada com os parâmetros cinéticos de reação, é necessário verificar qual a melhor faixa de atuação. Alguns estudos estão dando ênfase à faixa mesofílica (30-40°C) como sendo o melhor intervalo.

Pesquisas conduzidas por LEE *et al.* (2006), a fim de analisar a influência da temperatura na produção de hidrogênio, observaram que a produção de hidrogênio foi ótima sob 40°C e que ela crescia à medida que se aumentava a temperatura, e decaía quando atingia 41°C. Em geral, os estudos estão sendo feitos nessa faixa mesofílica. O aumento da temperatura pode também facilitar a separação do biogás da fase líquida durante a operação do sistema (METCALF e EDDY, 1979). Sabe-se que altas concentrações de hidrogênio podem inibir a produção e modificar a rota metabólica dos microrganismos presentes. Além disso, o aumento da temperatura favorecer as reações químicas, porém, em altas temperaturas pode ocorrer o efeito de desnaturação das enzimas sob altas temperaturas, o que cessaria a produção de hidrogênio.

As bactérias anaeróbias possuem alta capacidade de suportar variações de temperatura até o ponto em que não exceda a temperatura limite a partir da qual há a taxa de decaimento supera a taxa de crescimento microbiano (RAJESHWARI *et al.*, 2000).

### **3.4.3 Fonte de carbono**

A depender da fonte de substrato, a fermentação pode ser direcionada para a maior produção de um determinado composto. Diversos tipos estão sendo utilizados: Águas residuárias de indústria de celulose (ISLAM *et al.*, 2006; LEVIN *et al.* 2006); resíduos de indústrias de alimento (VAN GINKEL *et al.*, 2005); águas residuárias sintéticas: xilose (LIN e CHENG, 2006), amido (WANG e CHANG, 2008), glicose (MOHAN *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2007) e sacarose (LEE *et al.*, 2003; CHANG e LIN, 2004); esgoto sanitário (MOHAN *et al.*, 2008).

### 3.4.4 Inóculo

A fim de que ocorra a digestão do material orgânico para a produção de hidrogênio e ácidos voláteis é necessária a presença de um meio biológico específico. Trata-se de um lodo rico em microrganismos proveniente de sistemas de tratamento ou da própria matéria excretada na forma de esterco animal, bastante rico em cultura microbiana ou ainda solo que seja capaz de digerir diversas substâncias. A fim de analisar o comportamento microbiano de determinada cultura de modo específico para a produção de hidrogênio, pode-se também fazer uso de uma cultura microbiana pura.

As principais bactérias para a produção de hidrogênio são *Clostridium*, *Escherichia coli* e *Enterobacter* (LEVIN *et al.*, 2003; ZHU *et al.*, 2006).

Diversos inóculos tem sido utilizados para a produção de hidrogênio, desde lodo ativado de processos de tratamento de efluente, resíduos de biogestores municipais, resíduos de manejo da pecuária e avicultura, resíduos alimentícios enriquecidos.

DABROCK *et al.* (1992) estudaram os possíveis parâmetros influenciadores na produção de solventes pela *Clostridium pasteurianum* verificaram algumas bactérias podem favorecer a produção de hidrogênio e outros metabólitos. Sob baixos pH, a *Clostridium pasteurianum* não é bem adaptada sob condições apesar de ser produtora clássica de ácidos orgânicos e hidrogênio. Sob condições limitantes de alguns parâmetros pode haver a mudança do metabolismo para a produção de diferentes compostos. Outra bactéria, a *Clostridium acetobutyricum* é umas das espécies conhecidas por favorecerem a solvatogênese, principalmente quando atuando em pH abaixo de 5.

A forma de tratamento do inóculo é também outro fator que pode ter influência na produção de hidrogênio além do tipo empregado. ZHU *et al.*, 2006 estudaram diferentes métodos de pré-tratamento do inóculo. Os autores utilizaram seis lodos os quais passaram por cinco métodos de tratamento antes de servirem para o cultivo com sacarose: tratamento térmico, tratamento ácido, aeração, inibição por ácido 2-bromoetanosulfônico (BESA) e inibição por iodopropano. Os métodos de tratamento ácido e tratamento térmico inibiram a atividade metanogênica bem como a produção de hidrogênio. O tratamento básico não conseguiu suprimir a atividade metanogênica e diminuíram a produção de hidrogênio, conseqüentemente. Não houve eficiência na aeração do lodo para diminuir a atividade metanogênica, entretanto, não foi observada influência na produção de hidrogênio. Os tratamentos com BESA e iodopropano foram eficazes na inibição da atividade metanogênica sem grandes impactos na produção de hidrogênio.

### 3.5 Considerações finais

A produção anaeróbia de hidrogênio tem ganhado destaque recentemente no que concerne a aplicabilidade de diferentes matérias-primas para a produção de energia e o tratamento de resíduos combinado. Como foi apresentada nessa revisão, a produção em biorreatores vem sendo analisada com variação de diversos parâmetros. Condições operacionais dos reatores utilizados, uso de diferentes culturas microbiana, diferentes substratos (glicose, sacarose, xilose, efluente doméstico, efluente de indústria alimentícia, etc), faixas de pH diversas, tempos de detenção hidráulica são algumas das propriedades que podem ser modificadas para aprimorar o conhecimento a cerca do metabolismo favorável envolvido na produção anaeróbia de hidrogênio.

Além disso, diversas configurações de reatores são objetos de estudo desde o uso reatores com crescimento suspenso até o uso de reatores com crescimento aderido tendo em vista o aprimoramento das propriedades que possam afetar o crescimento microbiano, os fatores de inibição e melhores condições de mistura. Verifica-se por meio de pesquisas recentes que a reatores com crescimento aderido são mais favoráveis a produção de hidrogênio.

Alguns outros parâmetros já se encontram também estabelecidos no que diz respeito a sua influência no processo de produção de hidrogênio. Sabe-se que valores de pH elevados podem levar a ativação das arqueias metanogênicas, pH baixos podem levar a produções altas de solventes. Porém, ainda são poucos os estudos focados nas propriedades fluidodinâmicas, em especial em reator anaeróbio de leito fluidizado. Pesquisas foram realizadas através da influência da porosidade, aplicações de diferentes condições de mistura, por exemplo. Entretanto, ainda não há consenso sobre o real impacto das condições fluidodinâmicas na produção de hidrogênio pela cultura microbiana presente.

Assim, o presente trabalho vem a somar conhecimentos a cerca da aplicabilidade do RALF para a produção de hidrogênio juntamente com pesquisas anteriores já desenvolvidas na área diante das lacunas que ainda são apresentadas no que concernem a esse tema. Visando apresentar as melhores faixas operacionais a fim de melhorar o desempenho do reator e proporcionando diminuição de gastos numa possível ampliação de escala do reator.

## CAPÍTULO 4

### MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritos os reatores e materiais utilizados bem como o procedimento experimental adotado para a aquisição dos dados durante a execução deste estudo. O esquema do sistema dos reatores e o procedimento de partida também foram abordados neste capítulo. A forma de análise dos dados consistiu na comparação direta entre os dados obtidos dos reatores empregados cada qual sob uma condição fluidodinâmica específica.

Os reatores anaeróbios localizavam-se no Laboratório de Controle Ambiental II (LCA-II) que se encontra das dependências do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (UFScar). As análises experimentais foram realizadas no LCA-II. Foram ainda feitas análises no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) e no Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da USP. A Figura 4.1 ilustra os passos seguidos.

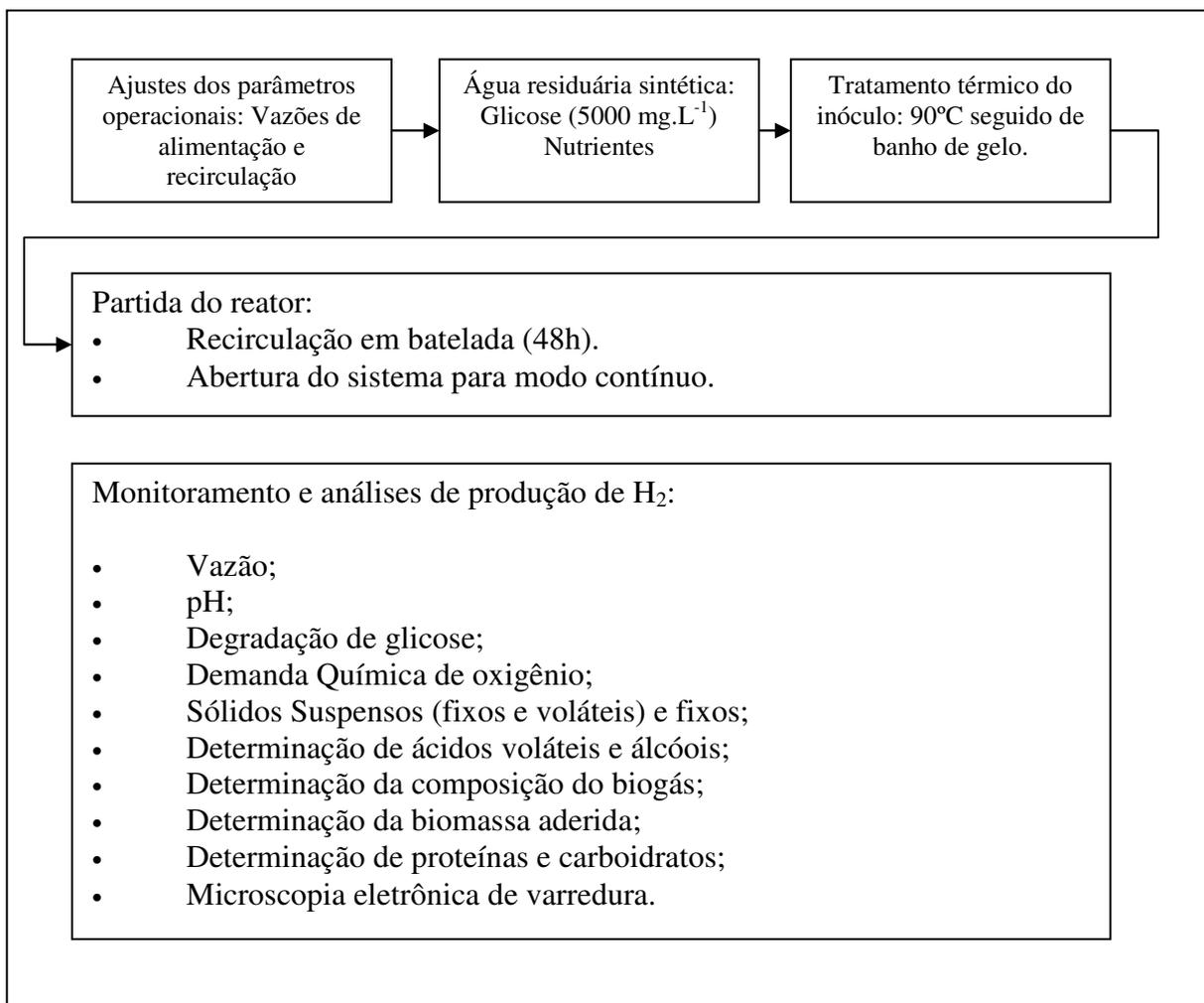


Figura 4.1 Fluxograma do procedimento experimental.

## 4.1 Reatores anaeróbios

Durante o experimento foram utilizados quatro reatores de diâmetros e alturas iguais. Os reatores foram construídos em acrílico e possuíam diâmetro interno de 5,3 cm e altura de 190 cm, sendo preenchido por partícula de argila expandida.

Cada reator possuía duas bombas: uma para alimentação e outra para a recirculação do efluente através da qual foi feito o ajuste a fim de manter a vazão de trabalho. A fluidização do leito era mantida através da bomba de recirculação. A Figura 4.2 ilustra o esquema básico dos reatores empregados.

A água residuária adentrava juntamente com a parcela de água de recirculação pela parte inferior do reator atravessando o distribuidor de líquidos localizado na entrada inferior do reator. O líquido ascendia pelo leito de partículas até a parte superior onde se localizava o separador de gases. Parte do efluente era descartada e outra parte seguia para bomba de recirculação. Ao longo do reator havia amostradores pelos quais era realizada a coleta das partículas utilizadas em algumas análises. O biogás produzido e que ascendia pelo reator até o separador de gases era então quantificado pelo medidor de hidrogênio.

Os reatores foram operados em modo contínuo, tendo a argila expandida como suporte de imobilização. A Tabela 4.1 ilustra as características físicas da partícula empregada. A argila expandida foi escolhida por se tratar de um material de fácil obtenção, ser inerte e apresentar características físicas adequadas a boa deposição dos microrganismos tal como rugosidade e porosidade (dados não disponíveis).

Tabela 4.1 Características do suporte de imobilização da biomassa

Material Suporte	Dimensão (mm)	Densidade ( $\text{g.cm}^{-3}$ )	$V_{mf}$ ( $\text{cm.s}^{-1}$ )
Argila expandida	2,8 – 3,35	1,50	1,24

## 4.2 Água Residuária Sintética

Os reatores foram alimentados com uma água residuária sintética na qual a glicose era a principal fonte de carbono na concentração de  $5000 \text{ mg.L}^{-1}$ . Havia a adição de nutrientes essenciais ao desenvolvimento microbiano de acordo com água residuária de DEL NERY (1987). Os nutrientes e as respectivas concentrações estão ilustrados na Tabela 4.2. Além da água residuária, houve a adição de ácido clorídrico (30%) e bicarbonato de sódio como solução tampão a fim de controlar o pH e evitar mudanças bruscas no pH do meio. O volume de HCl 30% utilizado correspondia a 1mL de solução ácida / L de água residuária. A

concentração de bicarbonato de sódio foi inicialmente testada nos primeiros dias do experimento a fim de encontrar uma quantidade ótima de modo que o pH de saída dos reatores ficasse ajustado entre 4 e 5. As concentrações estão na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Composição de água residuária sintética segundo Del Nery (1987)

Composto	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )
Glicose	5000,0
Uréia	125,0
Sulfato de Níquel	1,0
Sulfato ferroso	5,0
Cloreto férrico	0,5
Cloreto de cálcio	47,0
Cloreto de cobalto	0,08
Óxido de selênio	0,07
Fosfato de potássio monobásico	85,0
Fosfato de potássio dibásico	21,7
Fosfato de sódio dibásico	33,4
Bicarbonato de sódio	84,0

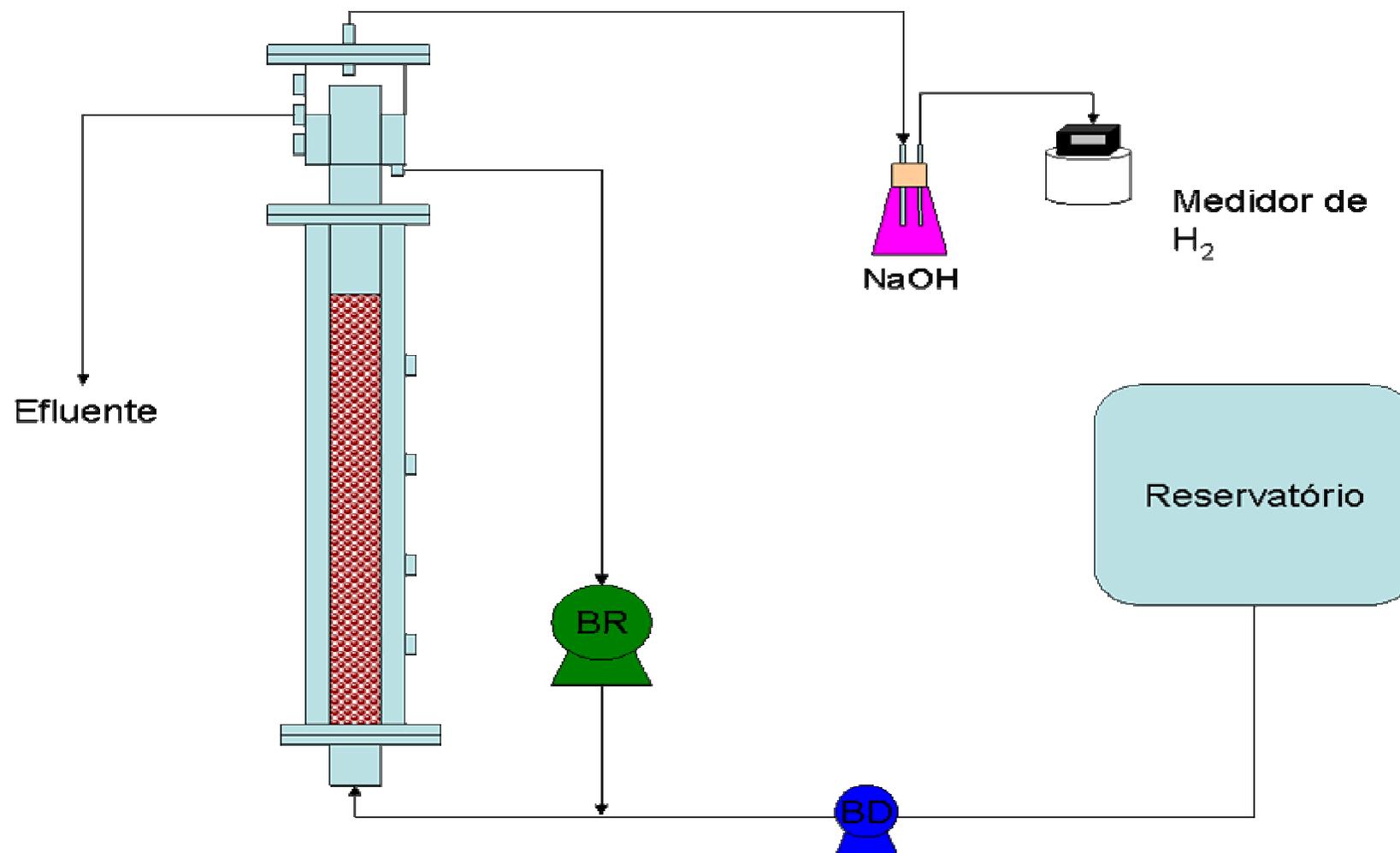


Figura 4.2. Esquema do reator anaeróbio de leito fluidizado, equipamentos e materiais auxiliares. BR: Bomba de recirculação. BD: Bomba de alimentação

### 4.3 Inóculo

O lodo resultado de um reator UASB operado para o tratamento de água residuária de suinocultura, fornecido pela UNESP-Campus Jaboticabal, serviu como inóculo dos reatores. Antes de ser utilizado, o lodo passou por um tratamento térmico prévio a fim de ativar as células acidogênicas. Esse tratamento consistiu no aquecimento do lodo por cerca de 10 minutos à 90°C seguido de um banho de gelo até a temperatura atingir 25°C segundo método proposto por MAITINGUER *et al.* (2008) adaptado de KIM *et al.* (2006). Como as arqueias metanogênicas são bastante sensíveis às altas temperaturas, esse prévio tratamento teve o objetivo de inibir a ação desses microrganismos.

Inicialmente a inoculação dos reatores seria realizada utilizando uma solução 7,5% de inóculo. O reator R124 foi inoculado com a solução de 7,5%. Após verificar dificuldades na inoculação do reator devido ao grande teor de sólidos presentes no inóculo, os outros reatores foram inoculados com uma solução 3,5% de inóculo. Assim, a inoculação dos reatores foi: R030: 3,5 %; R060: 3,5 %; R124: 7,5 % e R188: 7,5 % de inóculo.

### 4.5 Procedimento de partida

Primeiramente foram feitos os ajustes das vazões das bombas de alimentação e recirculação dos reatores empregados previamente calculados.

A fim de analisar a influência da velocidade ascensional foram aplicadas diferentes velocidades ascensionais para cada reator as quais foram de: 0,30, 0,60, 1,24 e 1,88  $\text{cm.s}^{-1}$ . A nomeação dos reatores foi de acordo com tais velocidades a fim de facilitar a identificação dos mesmos, assim: R030 corresponde ao reator cuja velocidade ascensional empregada foi 0,30  $\text{cm.s}^{-1}$  e assim sucessivamente para os demais reatores, R060, R124 e R188.

A escolha da velocidade se baseou no ponto de velocidade mínima de fluidização. Assim, os reatores R030 e R060 foram trabalhados num estágio abaixo da fluidização, levemente expandidos, na transição entre o leito fixo e o leito fluidizado, as velocidades superficiais aplicadas correspondiam a 0,24  $v_{mf}$  e 0,48  $v_{mf}$ , respectivamente. O reator R124 ( $v_{mf}$ ) atuou na velocidade mínima de fluidização e o R188 com um aumento em torno de 50% maior que a velocidade mínima de fluidização (1,5  $v_{mf}$ ). A Tabela 4.3 mostra as principais condições fluidodinâmicas aplicadas para cada reator.

Tabela 4.3 Dados hidrodinâmicos aplicados aos reatores

Reator	Vazão de recirculação ( $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ )	Velocidade Ascensional ( $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Proporção em relação à $v_{mf}$
R030	7	0,30	$0,24v_{mf}$
R060	13	0,60	$0,48v_{mf}$
R124	24	1,24	$v_{mf}$
R188	42	1,88	$1,5 v_{mf}$

O material suporte utilizado foi separado de acordo com a granulometria desejada através do peneiramento das partículas. Posteriormente foi feita uma lavagem com água corrente a fim de eliminar as partículas com diferentes densidades. Tais partículas sobrenadantes eliminadas durante a lavagem poderiam se desprender do leito e afetar o reator caso fossem utilizadas.

A partir de uma altura inicial fixa foi calculada a massa de partículas necessária e foi feito o recheio do leito. Após o preenchimento do reator com o leito de partículas foi dada a partida dos reatores expandidos e fluidizados.

De início, os reatores operaram em modo batelada durante 48h. Esse período teve o objetivo de imobilizar a biomassa às partículas, sendo utilizada uma única solução de alimentação e lodo nas concentrações citadas nos itens anteriores. Após 48h o sistema fechado foi aberto e colocado em modo contínuo.

#### 4.6 Parâmetros analisados

As análises empregadas neste estudo se basearam nos principais parâmetros comumente empregados para analisar processos de digestão anaeróbia e tratamento de efluentes.

##### 4.6.1 Determinação de glicose

As determinações da glicose afluente e efluente foram realizadas por um método de reação enzimática com glicose oxidase através de um kit fornecido pelo laboratório Laborlab (SHIDA et al., 2009; AMORIM et al., 2009; BARROS et al., 2009). Na presença de glicose, o reativo de trabalho indicava a presença de glicose por meio de uma coloração rosa, sendo então a amostra lida num espectrofotômetro a 505 nm.

Eram coletadas 50  $\mu\text{L}$  da amostra e injetadas num tubo de ensaio. Eram então adicionados ao tubo 5ml do reativo fornecido pelo laboratório. A amostra fica em banho-maria por 10 min sob a temperatura de 37 °C. Após esfriar, é feita a leitura em espectrofotômetro.

#### 4.6.2 Análises físico-químicas

O pH, a demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos suspensos totais fixos (SF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram analisados de acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998). As medidas de ácidos voláteis totais e alcalinidade total por bicarbonato foram de acordo com método de DILLALO e ALBERTSON (1961) modificado por RIPLEY *et al.* (2006).

#### 4.6.3 Determinação de ácidos voláteis e álcoois

As determinações dos ácidos orgânicos e alcoóis foram realizadas através de cromatografia gasosa. O método de determinação foi desenvolvido pelo Laboratório de Processos Biológicos – Setor Cromatografia do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (MAITINGUER *et al.*, 2008). Foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC-17<sup>a</sup> com detector de ionização de chama e coluna NUKOL (30m x 0,25mm x 0,25µm de espessura) localizado no Laboratório de Controle Ambiental no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (UFScar) .

As condições de medição empregadas no cromatógrafo de acordo com o método foram:

- Temperatura do injetor: 250°C
- Temperatura do forno: Rampa de aquecimento iniciando a 35°C a 2°C/min (0'); 38°C (0') a 10 °C/min; 75°C (0') a 35 °C/min; 120 °C (1') a 10 °C/min; 170 °C (2'). Os valores em parênteses são os minutos de espera antes de iniciar o aquecimento.
- Gás de arraste: Hidrogênio
- Temperatura do detector: 280°C
- Vazão do gás auxiliar (N<sub>2</sub>): 30 mL.min<sup>-1</sup>; ar sintético: 300 mL.min<sup>-1</sup> e hidrogênio: 30 mL.min<sup>-1</sup>.

A técnica utilizada para a medição dos ácidos e álcoois empregada foi a de “headspace” devido ao fato de quantificar simultaneamente os ácidos orgânicos e álcoois presentes na amostra.

As amostras eram preparadas em frasco de vidro de 10mL com tampa rosqueável e selada com septo de silicone, de acordo com o método, sendo:

- 1 g de NaCl;
- 2mL de amostra a ser quantificada;
- 70  $\mu\text{L}$  de solução de isobutanol 700  $\text{mg.L}^{-1}$ (padrão interno para álcoois);
- 100  $\mu\text{L}$  de solução de ácido crotônico 1g. $\text{L}^{-1}$  (padrão interno para ácidos);
- 200  $\mu\text{L}$  de solução de ácido sulfúrico 2M

A amostra preparada era então aquecida em banho-maria numa chapa aquecedora durante 15 min. Eram coletados 400  $\mu\text{L}$  de amostra do headspace do frasco através de uma seringa gás-tight com trava de 1mL previamente aquecida em estufa a fim de evitar a condensação da amostra dentro da seringa. A amostra era injetada no cromatógrafo e quantificada.

#### **4.6.4 Análise da composição dos gases**

A determinação do gás hidrogênio foi realizada através de cromatografia gasosa. O cromatógrafo utilizado foi um Shimadzu GC- 2110 localizado no Laboratório de Controle Ambiental 2 (UFScar). O cromatógrafo é equipado com detector de condutividade térmica apresentava as seguintes temperaturas: forno (30 °C); coluna (200 °C) e detector (230 °C). O gás de arraste utilizado foi o argônio a 21,9  $\text{cm.s}^{-1}$ .

A coleta da amostra era feita na saída superior dos reatores. Foram recolhidas 1ml de amostras do gás formado através de uma seringa “gas tight” com trava as quais eram condicionadas através da lavagem com o próprio biogás antes do recolhimento da amostra para análise. Essas amostras eram então injetadas no cromatógrafo para o mapeamento dos componentes presentes.

#### **4.6.5 Quantificação da produção de hidrogênio**

A produção volumétrica de hidrogênio foi medida por meio de um medidor MilliGas-counter da Ritter. A medição era realizada a partir da saída superior do reator. Era acoplado em série ao reator um recipiente contendo uma solução de hidróxido de sódio sob pH 12.e em seguida o medidor de hidrogênio conforme ilustrado no esquema do reator na Figura 4.1. Essa solução de NaOH tinha a função de capturar o dióxido de carbono presente no biogás,

assegurando que apenas o gás hidrogênio seria quantificado pelo medidor. A medição volumétrica era realizada através da coleta do gás pelo medidor durante 5 minutos em intervalos de um minuto cada. Eram então obtidos os dados de volume de biogás formado por minuto.

#### **4.6.6 Determinação da biomassa aderida**

A determinação da biomassa aderida foi feita de acordo com CHEN e CHEN (2000). As amostras de partículas foram colocadas numa cápsula e levadas a estufa por 24h sob 110 °C. Em seguida, esperou-se o resfriamento das cápsulas em dessecador para a primeira pesagem (P1).

A fim de desprender a biomassa das partículas, adicionou-se uma solução de NaOH 4N sob 110 °C por 2h. Após esse tempo as amostras foram agitadas em vórtex por 20 min. Lavou-se por 5 vezes com água destilada quente e as amostras foram retornadas à estufa por mais 24h. Após as amostras resfriarem uma nova pesagem foi realizada (P2). A diferença entre as duas massas (P1 e P2) corresponde a quantidade de biomassa aderida à partícula.

#### **4.6.7 Determinação de proteínas e carboidratos.**

Para a quantificação das proteínas foi utilizado o método de LOWRY *et al* (1951) utilizando a albumina bovina (SAB) como padrão. Para a quantificação de carboidratos foi utilizado o método enzimático de glicose da Laborlab.

#### **4.6.8 Microscopia eletrônica de varredura**

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas para cada reator a fim de analisar a presença e a morfologia da comunidade microbiana e aderida às partículas. As amostras de partículas após serem recolhidas dos reatores eram lavadas com solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 a fim de serem fixadas e deixadas por 12h no mínimo em geladeira. Foram lavadas então lavadas com solução tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 por três vezes durante 10 min. Seguiu-se da desidratação das amostras por etanol pelo uso de soluções: 50 %, 70%, 80%, 90%, 95% por 10 minutos em cada solução. Finaliza-se a desidratação lavando com solução de etanol 100% por três vezes por 10

minutos. As amostras são coladas nos suporte para MEV utilizando esmalte incolor. As amostras são levadas a estufa com temperatura inferior a 40 °C por 1 a 2 horas.

As amostras foram então recobertas com ouro e observados em microscópio eletrônico. Foi utilizado um microscópio ZEISS DSM 960 do Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da Universidade de São Paulo.

#### 4.6 Frequência de análises

As análises foram realizadas diariamente durante o período de execução deste trabalho. As amostras afluente e efluente dos reatores eram coletadas 3x na semana e congeladas em caso de posterior necessidade. As análises eram feitas diariamente ou em dias alternados conforme a análise apresentada na Tabela 4.4 .

Tabela 4.4 Frequência de análises das amostras do afluente e efluente empregada durante a operação dos reatores.

Análise	Frequência
Vazão	Diária
pH	Diária
Glicose	3 x semana
Demanda química de oxigênio (DQO)	3 x semana
Ácidos voláteis totais e alcalinidade	3 x semana
Ácidos orgânicos e álcoois	3 x semana
Produção volumétrica de H <sub>2</sub>	3 x semana
Conteúdo de biogás	3 x semana
ST, SST e SSV	3 x semana
Proteínas, biomassa e carboidratos	1x por fase
MEV	1x por fase

## CAPÍTULO 5

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos durante todo o período de operação dos reatores. O trabalho foi dividido em 5 etapas as quais foram determinadas de acordo com o tempo de detenção hidráulica (TDH) trabalhado. Sendo assim, etapa 1 (TDH= 8h), etapa 2 (TDH= 6h), etapa 3 (TDH= 4h), etapa 4 (TDH=2h) e etapa 5 (TDH= 1h). Para facilitar a compreensão, os reatores foram nomeados de acordo com a velocidade ascensional empregada em cada reator, logo: R030 ( $0,30 \text{ cm.s}^{-1}$ ), R060 ( $0,60 \text{ cm.s}^{-1}$ ), R124 ( $1,24 \text{ cm.s}^{-1}$ ) e R188 ( $1,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ).

Os reatores foram operados por 217 dias. A adaptação do inóculo aos reatores foi feita em modo batelada durante 48h. Após então foram colocados em modo contínuo. Todos os reatores iniciaram a operação sob o TDH de 8h o qual foi decrescido até o TDH de 1h. A mudança de uma etapa para outra era realizada assim que havia a estabilização dos dados de produção de hidrogênio e de conversão de glicose.

Os resultados a serem apresentados são os dados médios das análises realizadas em cada etapa para cada reator. A fim de ilustrar os resultados, eles foram representados, em geral, em função do tempo de detenção hidráulica aplicado durante a etapa empregada. Como cada reator trabalhou com uma velocidade ascensional estabelecida, a influência deste parâmetro operacional foi analisada através da comparação direta entre os reatores durante as etapas trabalhadas.

A partir da adoção de diferentes velocidades ascensionais nos quatro reatores, foram obtidos níveis de expansões diferentes. Para os reatores R030 e R060, que trabalharam uma velocidade ascensional abaixo da velocidade mínima de fluidização ( $v_{mf}$ ), estavam os menores níveis de expansão. Tendo como base o R030, o grau de expansão do leito médio foi de 4% para o R060; 15% para o R124 e 28% para o R188. Assim, quando forem denominados, reatores expandidos estará se referindo aos reatores R030 e R060; e reatores fluidizados aos reatores R124 e R188.

#### 5.1 Conversão de glicose

A Figura 5.1 ilustra a concentração média da glicose afluyente bem como a conversão de glicose obtida nos quatro reatores operados. Todos os reatores foram alimentados com a mesma água residuária a partir de um mesmo tanque de alimentação, sendo assim, a concentração média de glicose afluyente é a mesma para todos os reatores. A Tabela 5.1 apresenta os valores médios obtidos em cada etapa do trabalho para os reatores.

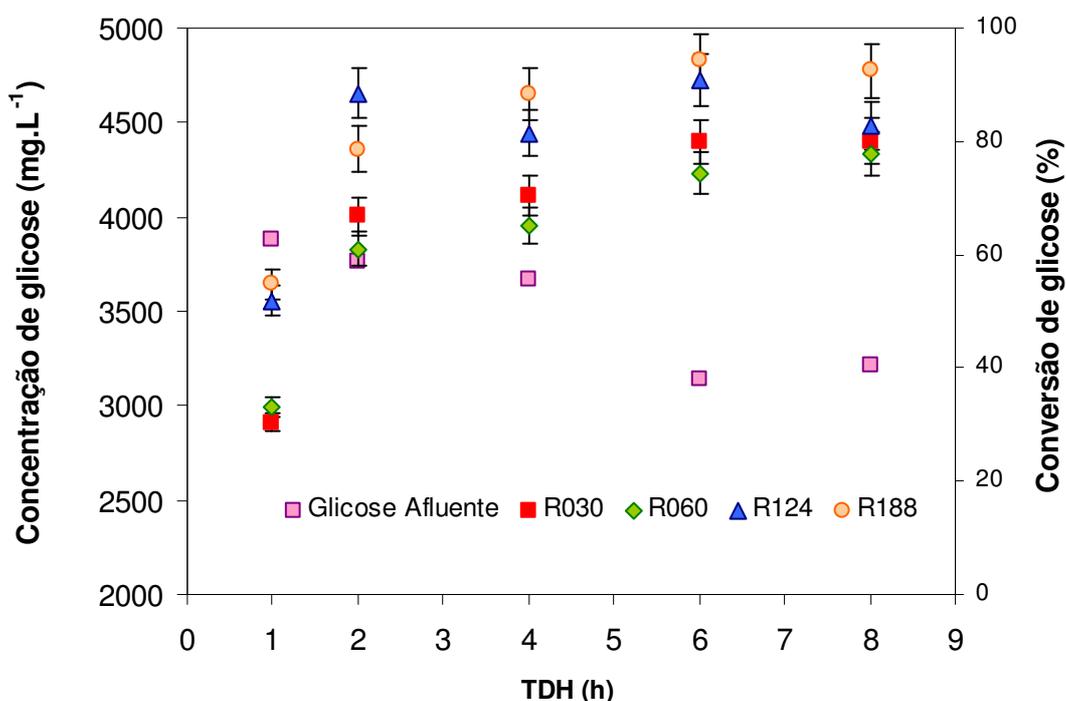


Figura 5.1 Concentração e conversão médias de glicose em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.

A concentração da glicose afluyente média ficou abaixo do esperado tendo em vista que a concentração de entrada empregada foi de 5000 mg.L<sup>-1</sup>. As análises eram realizadas antes da mudança da água residuária e possivelmente pode ter acontecido a degradação da glicose já no reservatório de água residuária. Até o TDH de 6h a mudança da água residuária no reservatório era feita a cada 48h, a partir do TDH de 4h a troca da água residuária passou a ser realizada diariamente, o que pode explicar o aumento da concentração média de glicose presente na amostra de alimentação dos reatores.

A conversão de glicose ficou acima de 80% nos reatores fluidizados (R124 e R188) e acima de 60% nos reatores expandidos (R030 e R060) que se encontravam com menores velocidades ascensionais. A conversão de glicose máxima foi de 94,2 % e aconteceu no TDH de 6h no R188, entretanto os resultados se mantiveram relativamente constantes ao longo da

mudança de etapas até o TDH de 2h. Diante da mudança do TDH para 1h houve uma diminuição da conversão média de glicose em todos os reatores.

A conversão média de glicose ficou estável entre os TDH de 8h e 2h. Até o TDH de 4h, o R188, com maior velocidade ascensional, apresentou os melhores resultados de conversão média seguido pelo reator R124, e dos reatores expandidos, o R030 e R060. No TDH de 2h o reator com maior grau de conversão passa a ser o reator R124. Sob o TDH de 1, diante da queda de conversão tanto para os reatores expandidos quanto fluidizados, os valores ficaram em média em 31,7% e 53,3%, respectivamente. A diminuição da conversão de glicose sob o TDH de 1h mostra que sob esse tempo de detenção hidráulica não houve condições para maiores valores de degradação.

Tabela 5.1 Valores médios e seus respectivos desvios-padrão obtidos para cada TDH aplicado em cada reator: R030, R060, R124 e R188.

	TDH (h)	Glicose Afluente (mg.L <sup>-1</sup> )	Glicose Efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	% Conversão	TDH Médio (h)
R030	8	3210 ± 471	749 ± 118	80,03 ± 13	8,33 ± 0,26
	6	3136 ± 790	754 ± 285	79,95 ± 13	6,41 ± 0,34
	4	3673 ± 542	1242 ± 222	70,40 ± 8	4,31 ± 0,23
	2	3762 ± 528	1556 ± 495	66,79 ± 11	2,08 ± 0,16
	1	3875 ± 291	2437 ± 427	30,39 ± 13	1,05 ± 0,19
R060	8	3210 ± 471	851 ± 239	77,94 ± 13	8,47 ± 0,32
	6	3136 ± 790	973 ± 202	74,42 ± 15	6,09 ± 0,13
	4	3673 ± 542	1459 ± 541	65,09 ± 13	4,17 ± 0,23
	2	3762 ± 528	1866 ± 633	61,07 ± 16	2,11 ± 0,21
	1	3875 ± 291	2436 ± 407	33,11 ± 13	1,12 ± 0,13
R124	8	3210 ± 471	501 ± 144	82,79 ± 13	8,72 ± 0,31
	6	3136 ± 790	298 ± 124	90,78 ± 8	6,49 ± 0,23
	4	3673 ± 542	647 ± 375	81,48 ± 12	4,31 ± 0,14
	2	3762 ± 528	1565 ± 665	88,48 ± 14	2,11 ± 0,18
	1	3875 ± 291	1865 ± 304	51,83 ± 7	1,06 ± 0,12
R188	8	3210 ± 471	608 ± 149	92,44 ± 4	8,31 ± 0,33
	6	3136 ± 790	296 ± 109	94,26 ± 2	6,03 ± 0,31
	4	3673 ± 542	545 ± 309	88,37 ± 6	4,04 ± 0,18
	2	3762 ± 528	1043 ± 540	78,69 ± 7	2,08 ± 0,31
	1	3875 ± 291	1751 ± 360	54,76 ± 9	1,09 ± 0,30

Como se observa, os reatores fluidizados apresentaram melhores resultados de conversão do que aqueles apresentados pelos reatores expandidos. A principal questão da influência da velocidade ascensional aplicada aos reatores se reflete devido à possível melhora das condições de transferência de massa entre o substrato e a biomassa. O aumento da velocidade ascensional implica no aumento da altura do leito em consequência de sua expansão. O

aumento do espaço intersticial entre as partículas do leito juntamente com as maiores condições de turbulência do leito podem melhorar os parâmetros de transferência de massa envolvidos na difusão do substrato para dentro do biofilme. Entretanto, para confirmação de tal hipótese, seriam necessários ensaios em transferência de massa a fim de avaliar a mudança dos parâmetros envolvidos diante dessas diferentes configurações empregadas.

Individualmente entre os reatores expandidos, o R030 apresentou maior conversão média ao longo das etapas em relação ao R060. Convém salientar, porém, que no TDH de melhor produção de hidrogênio que será apresentado em etapas seguintes o R060 apresentou iguais valores de conversão de glicose em relação ao R030. Entre os reatores fluidizados, o R124 apresentou maior conversão média. Os resultados antagônicos entre os reatores podem estar relacionados a outras questões como a presença de uma cultura microbiana predominante ou maior adaptação do inóculo.

De maneira geral, os resultados mostram que as maiores conversões foram obtidas nos R124 e R188 os quais apresentaram resultados acima de 80%. Tal averiguação confirma trabalhos anteriores em reator anaeróbico de leito fluidizado cujos valores de conversão se encontravam em média acima de 90%.

ZHANG *et al.* (2007) trabalhando com glicose e RALF conseguiram conversões de glicose entre 99,47% no TDH de 4h até 71,44% no TDH de 0,5h. LEITE *et al.*(2008) em reator anaeróbico de leito fixo horizontal obtiveram conversões entre 75 e 90% . SHIDA *et al.* (2009) obtiveram conversões entre 92,06 e 98,08%. AMORIM *et al.* (2009) também com RALF, obtiveram conversões acima de 90%. BARROS *et al.* (2010) obtiveram conversões entre 70,50 e 96,30%. Como visto, os resultados se mostram compatíveis com as pesquisas anteriores em reator anaeróbico de leito fluidizado.

## **5.2 Produção de hidrogênio**

Neste item serão apresentados os resultados referentes à produção de hidrogênio nos reatores de estudo. Serão mostrados os dados de produção volumétrica de hidrogênio, rendimento de hidrogênio em relação ao consumo de substrato e o conteúdo de hidrogênio presente no biogás formado.

A produção volumétrica média de hidrogênio em função dos TDH trabalhados está ilustrada na Figura 5.2. Como era esperada, a produção volumétrica de hidrogênio (PVH) aumentou à medida que se diminuía o TDH de operação para todos os reatores empregados.

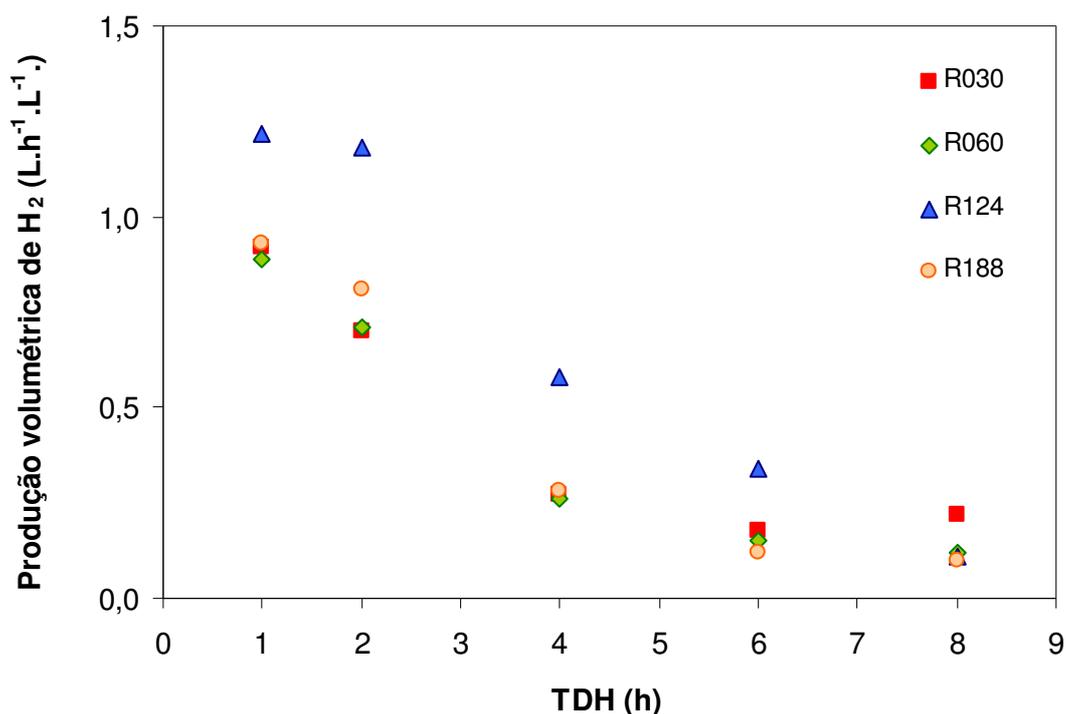


Figura 5.2 Produção volumétrica média em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188

No TDH de 8h, o R030 apresentou a maior produção. Os reatores R060, R124 e R188 apresentaram valores bastante próximos no início da operação dos reatores sob o TDH de 8h. Diante da redução para o TDH de 6h os reatores se mantiveram estabilizados, a exceção do R124 o qual apresentou um aumento da produção volumétrica de hidrogênio. Com a nova redução do TDH para 4, 2 e 1h os reatores apresentaram uma tendência de aumento sendo máxima no TDH de 1h. O reator que apresentou a maior produção volumétrica de hidrogênio, o R124 ( $1,22 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) encontrava-se na velocidade mínima de fluidização. O reator R188, com velocidade 1,5 vezes maior, apresentou o segundo melhor resultado para a produção de hidrogênio, muito embora fosse acompanhado logo em seguida pelos reatores R030 e R060 para os quais a diferença de velocidades ascensionais pouco influenciou na produção volumétrica.

ZHANG *et al.* (2007) trabalhando com RALF obtiveram valores crescentes com a diminuição do TDH de 4 a 0,5h, atingindo um máximo de  $2,36 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ . WU *et al.* (2007) estudando a produção simultânea de hidrogênio e etanol, trabalharam em reator de leito fluidizado sob diferentes velocidades ascensionais, as quais foram de:  $0,55$ ;  $0,73$ ;  $0,91 \text{ cm.s}^{-1}$  e utilizando glicose, sacarose e frutose como substrato. Para a glicose, os autores obtiveram as

respectivas produções volumétricas: 37, 20 e 53  $\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$  em relação as diferentes velocidades aplicadas. Segundo os pesquisadores, o efeito positivo da produção de hidrogênio das maiores velocidades ascensionais empregadas se deve às melhorias das condições de transferência de massa.

Tal como em WU *et al.* (2007), o aumento da velocidade ascensional levou a um aumento da produção volumétrica. Entretanto, até a um valor limite relacionado à velocidade de mínima fluidização. Durante o experimento de WU *et al.* (2007), observou-se que em relação à glicose, um aumento de 65% na velocidade ascensional mínima aplicada (0,55 a 0,91  $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) levou à um aumento na produção de hidrogênio na ordem de 43% (37 a 53  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Em contraposição ao presente experimento, um aumento de 50% na velocidade empregada levou a um aumento em torno de 37% na produção volumétrica de hidrogênio da mesma forma que o rendimento o qual teve uma melhora em torno de 6,7%. Maiores velocidades aplicadas não tiveram efeito positivo na produção nem no rendimento.

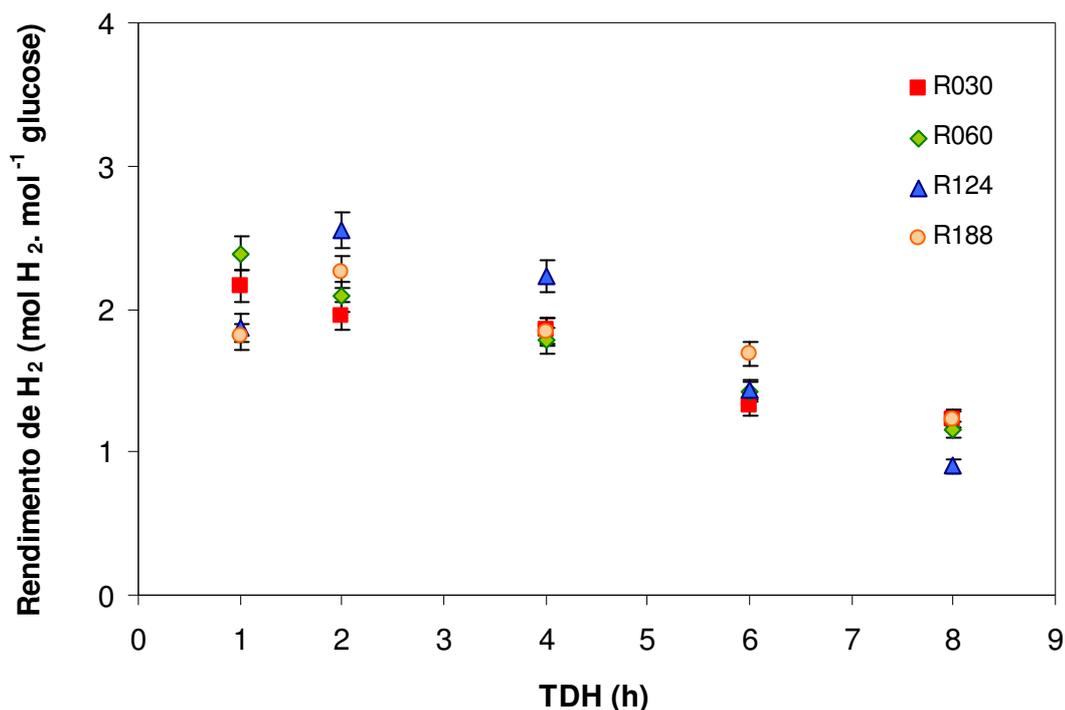


Figura 5.3 Rendimento da produção de hidrogênio em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188.

A Figura 5.3 ilustra o rendimento da produção volumétrica de hidrogênio em relação ao consumo de glicose para cada reator. De maneira geral, houve uma estabilidade no rendimento em todos os reatores variando entre 1,2 e 2,6 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose até o TDH

de 2h. A partir do qual houve uma queda de rendimento nos reatores R124 e R128. Da mesma forma que a produção volumétrica de hidrogênio, o rendimento aumentou com a diminuição do TDH até 2h, à exceção do R030 e R060 que apresentaram seus maiores rendimentos sob o TDH de 1h. Assim, no R030 o rendimento foi de 1,23 a 2,16 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose; no R060 o rendimento variou entre 1,16 e 2,39 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose; no R124 entre 1,53 e 2,55 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose seguindo de queda para 1,87 no TDH de 1h e no R188 variando entre 1,58 e 2,35 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose também seguido de queda para 1,81 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose no TDH de 1h. Tal como ocorreu para a produção volumétrica de H<sub>2</sub>, o reator com melhores valores foi o R124 sob o TDH de 2h.

Como se observa, os melhores resultados de rendimento para os reatores expandidos se deram no TDH de 1h. LEITE *et al.* (2008) trabalharam com reator anaeróbico horizontal de leito fixo a partir da glicose (2000 mg.L<sup>-1</sup>) a fim de produzir hidrogênio e ácidos orgânicos. Durante a operação do reator foi realizada uma inoculação natural e utilizou a argila expandida como suporte de imobilização. Os pesquisadores obtiveram os melhores resultados de rendimento de produção de hidrogênio (2,48; 2,15 e 1,81 mol H<sub>2</sub>/ mol glicose) trabalhando com adição de agente alcalinizante nas respectivas concentrações (0, 1000; 2000 mg.L<sup>-1</sup>) sob o TDH de 0,5. Ao contrário dos reatores expandidos (R030 e R060) empregados neste trabalho de mestrado nos quais o melhor resultado de rendimento ocorreu sob o TDH de 1h. Comparativamente, observa-se que os valores obtidos neste trabalho se aproximam dos resultados obtidos por LEITE *et al.* (2008) quando estes trabalharam com adição de alcalinizante de 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Em termos de velocidade superficial empregada, LEITE *et al.* (2008) aplicaram sob o TDH de 0,5h a velocidade de 0,02 cm.s<sup>-1</sup> (cálculo baseado no volume útil e no diâmetro interno do reator). Recordando, os reatores R030 e R060 trabalharam com uma velocidade superficial de 0,30 e 0,60 cm.s<sup>-1</sup>, respectivamente. Pelos dados obtidos, analogicamente, o aumento na velocidade ascensional não levou a um aumento significativo nos valores de rendimento para os reatores expandidos quando se faz essa comparação com trabalhos anteriores em reator de leito fixo.

FERNANDES (2008) estudou a aplicabilidade do reator de leito fixo para a produção de hidrogênio a partir da sacarose. Foram empregados três materiais como suportes de imobilização: argila expandida, carvão vegetal e polietileno. Dentre os três, o polietileno foi o que apresentou os melhores valores de rendimento (6,99 mol de H<sub>2</sub>/ mol de sacarose) e produção volumétrica de H<sub>2</sub> (770 ml H<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>) sob o TDH de 0,5 h tal como apresentado por LEITE *et al.* (2008). Os valores obtidos por FERNANDES (2008) de rendimento se encontram como 87% do máximo possível para a sacarose (8 moles) para o polietileno. Em

relação ao presente trabalho de mestrado, valores de 54 e 60% do máximo possível para a glicose foram obtidos pelos reatores expandidos (R030 e R060). Durante o trabalho FERNANDES (2008) operou com uma faixa de velocidade de 0,005 até 0,02  $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$  (calculadas a partir dos dados disponíveis de volume útil, diâmetro interno e vazão aplicada) respectivamente para os TDH de 2 e 0,5 h. Apesar de não ser possível afirmar, esse aumento da velocidade da ordem de 3 vezes provocou uma melhora nos valores de produtividade para todas as partículas utilizadas por FERNANDES (2008). Por outro lado, o aumento dessa velocidade empregada no presente trabalho de mestrado quando em estado expandido (R030 e R060), não levou a mudanças significativas dos resultados de produtividade. Deve-se salientar que existem diferenças de substrato ou de configuração para os trabalhos citados de LEITE *et al.* (2008) e de FERNANDES (2008).

O efeito sobre o rendimento não foi tão pronunciado tal como apresentado pela produção volumétrica. WU *et al.* (2007) também não observaram um efeito claro da velocidade superficial sobre o rendimento de hidrogênio. Em relação à glicose, o aumento da velocidade em 33% (0,55 a 0,73 mol de  $\text{H}_2$ /mol de glicose) levou a uma queda de rendimento de 58% (1,04 a 0,44 mol de  $\text{H}_2$ /mol de glicose) aproximadamente. Diante do aumento da velocidade em 25% (0,73 a 0,91 mol de  $\text{H}_2$ /mol de glicose) o rendimento, ao contrário do resultado anterior, sofreu uma elevação maior que 100%.

O conteúdo médio de  $\text{H}_2$  no biogás formado ao longo das etapas de trabalho está representado através da Figura 5.4. Diferentemente da tendência apresentada pela produção volumétrica e pelo rendimento de hidrogênio, a porcentagem de  $\text{H}_2$  formado foi máxima no TDH de 8h, apresentando queda diante da mudança para o TDH de 6h a partir do qual se manteve relativamente estável. Não houve produção de metano em todas as etapas executadas. O R030 e R060 iniciaram com porcentagem de  $\text{H}_2$  de 57,71 e 58,30 respectivamente sob o TDH de 8h. Já os reatores R124 e R188 iniciaram com percentuais de 67,57 e 61,82. Sob o TDH de 6h o R030 e R060 diminuíram para 45,65 e 30,49, respectivamente. Os outros dois reatores, R124 e R188 caíram para valores de 43,03 e 40,60%. Quando da mudança para 4h e 2h houve pequena variação com mínima de 36,04% para o R124 sob o TDH de 2h. Sob o TDH de 1h houve leve aumento nos reatores 124 e 188 com 40,53 e 41,54 % cada reator, enquanto que os R030 e R060 apresentaram diminuições sutis para 37,4 e 38,54%, respectivamente.

Tal como os resultados apresentados pelo rendimento, não houve destaque de algum reator para o conteúdo de  $\text{H}_2$  no biogás, apresentando estabilização após o TDH de 6 para

todos os reatores empregados. Assim, observa-se que a velocidade ascensional não teve uma contribuição relevante no conteúdo do biogás formado.

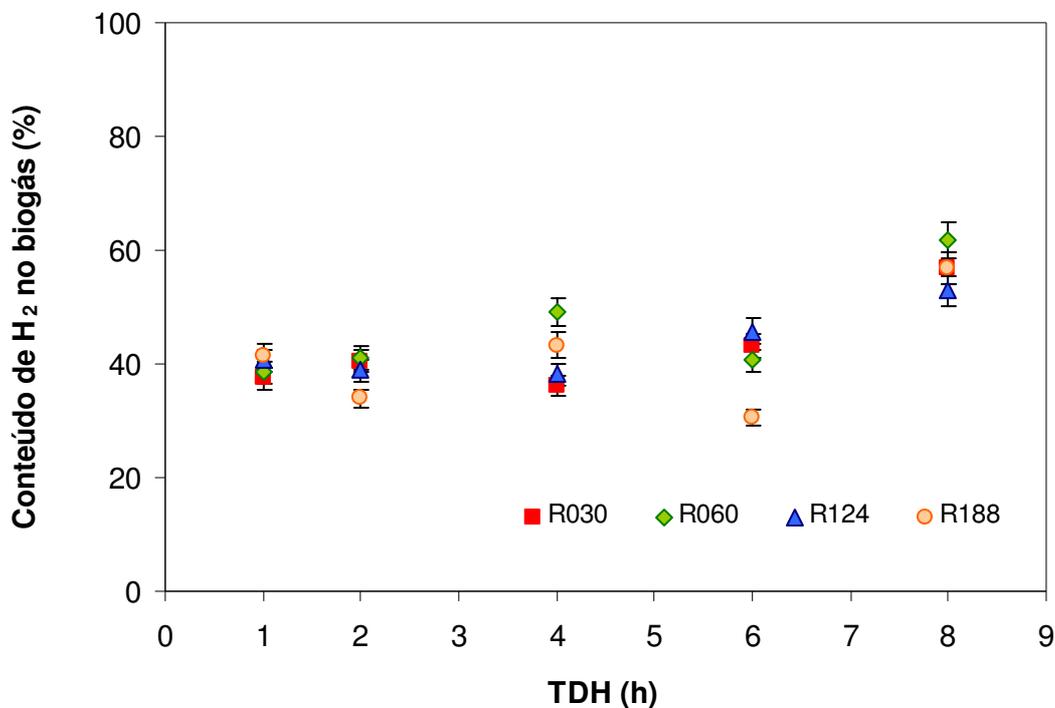


Figura 5.4 Conteúdo médio de H<sub>2</sub> no biogás em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188

A Tabela 5.2 traz uma análise comparativa entre produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e conteúdo no biogás trabalhos prévios realizados no LCA-II e mesmo substrato como fonte de carbono. Os resultados apresentam os resultados máximos obtidos em cada estudo. Pode-se observar que a velocidade ascensional aplicada aos reatores no presente estudo teve um efeito positivo sobre a produção de hidrogênio até a velocidade de 1,24 cm.s<sup>-1</sup>. Na velocidade de 1,88 cm.s<sup>-1</sup> foi verificada uma queda dessa produção. Em relação aos resultados de rendimento e o conteúdo do biogás, não foi possível verificar uma influência característica da velocidade.

A análise desses dados com os trabalhos anteriores, observa-se que pode existir uma velocidade ascensional limite para a boa produção de hidrogênio pelos microrganismos presentes no reator. Na velocidade de 1,61 cm.s<sup>-1</sup>, velocidade de operação em outros trabalhos e que corresponde a 1,3 vezes da velocidade mínima de fluidização, os reatores tiveram uma produção similar a obtida nesse estudo pelo reator R124 que foi operada sob a velocidade

mínima de fluidização. Talvez, esse intervalo entre a  $v_{mf}$  e 1,5x seu valor seja o de melhor operação em RALF a fim de que haja uma controlada produção de hidrogênio sem que ocorra a inibição da produção.

Tabela 5.2 Desempenho da produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e conteúdo de biogás em RALF a partir da glicose.

Referência	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	$V_{mf}$ (cm.s <sup>-1</sup> )	V (cm.s <sup>-1</sup> )	PVH (L.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )	RPH	% H <sub>2</sub> Biogás
SHIDA <i>et al.</i> (2009)	2000	1,24	1,61	1,28	2,29	37
AMORIM <i>et al.</i> (2009)	4000	1,24	1,61	0,97	2,49	35
BARROS <i>et al.</i> (2010)	4000	1,24	1,61	1,21	2,49	51
R030	5000	1,24	0,30	0,92	2,16	57
R060	5000	1,24	0,60	0,89	2,39	62
R124	5000	1,24	1,24	1,22	2,55	53
R188	5000	1,24	1,88	0,93	2,26	57

A princípio, maiores velocidades de ascensão do fluido atuam mantendo boas condições de mistura dentro do reator (WU *et al.*, 2007). Além disso, permite que o biogás produzido seja facilmente removido do reator. Acredita - se que uma alta concentração de hidrogênio no meio reacional possa inibir nova produção do biogás. Em contrapartida, quando o reator é operado sob alta velocidade ascensional pode ocorrer o desprendimento da biomassa aderida o que pode acarretar na diminuição da comunidade microbiana presente no reator. Conseqüentemente, a produção de hidrogênio tende a diminuir. Entretanto, no que diz respeito à saturação do meio pelo H<sub>2</sub>, a fim de confirmar tal hipótese seria necessária a

realização de novos ensaios experimentais com o intuito de avaliar os coeficientes envolvidos na transferência de massa e a influência do biogás dissolvido nesses parâmetros.

Alguns trabalhos da literatura já observaram esse o efeito da saturação do meio devido à presença de H<sub>2</sub> e ou CO<sub>2</sub> na digestão anaeróbia e produção de hidrogênio (LAMED *et al.*, 1988; KRAEMER e BAGLEY, 2006 e 2008).

LAMED *et al.* (1988) fizeram um estudo no qual foi observado o efeito do hidrogênio e das condições de mistura nos produtos da fermentação a partir de uma cultura pura de *Clostridium thermocellum* visando a produção de etanol a partir da celulose. Foi verificado durante o experimento que a contínua adição de H<sub>2</sub> para a fase gasosa contribuiu para o aumento da relação etanol/acetato, principalmente nos reatores com agitação vigorosa em que tal relação foi 3 vezes maior que quando não houve agitação. Ainda, os autores sugeriram que a presença de hidrogênio saturado no meio atua de maneira importante no regulamento da produção de etanol que sob condições de mistura do meio reacional há facilidade de transferência de H<sub>2</sub> para a fase gasosa, diminuindo uma possível inibição causada pela alta concentração de H<sub>2</sub> no meio.

KRAEMER e BAGLEY (2006) observaram o efeito da saturação do meio por H<sub>2</sub> quando trabalhando com reatores batelada com aspensão de nitrogênio a fim de diluir a concentração de H<sub>2</sub> no meio. Foi verificado que o rendimento da produção de hidrogênio subiu de 1,3 a 1,8 mol de H<sub>2</sub> por mol de glicose degradada. Entretanto, os autores afirmaram que o rendimento foi melhorado em consequência da diluição das concentrações do substrato tendo em vista que a aspensão não tinha condições de afetar os índices de H<sub>2</sub> presentes dissolvidos no meio reacional.

Diante da verificação por trabalhos anteriores, KRAEMER e BAGLEY (2006;2008) fizeram uma experiência a fim de analisar a experiência da aspensão de nitrogênio sobre os parâmetros de transferência de massa. Os autores estudaram qual seria faixa ótima da taxa de aspensão de modo que houvesse um aumento do rendimento da produção de hidrogênio. Entretanto, os autores afirmam que a aplicação da aspensão de nitrogênio em escala real de produção de hidrogênio pode ser um fator de custo importante visto que requer uma disposição de energia maior a fim de realizar a aspensão.

### **5.3 Variação do pH**

O pH, que vem a ser um dos elementos cruciais na produção de hidrogênio manteve-se entre 4-5 no efluente e entre 5-6 no afluente. A Figura 5.5 ilustra a variação do pH ao longo

das etapas. O pH apresentou-se dentro do intervalo estabelecido devido ao controle através da adição de bicarbonato de sódio e ácido clorídrico a fim de tamponar o meio, mostrando a eficiência do tamponamento adotado.

O uso da solução tampão se mostrou eficiente a fim de manter os reatores livres de possíveis mudanças bruscas nas condições alcalinas do meio. Todo o cuidado com o pH é necessário, pois ele aparenta exercer grande papel no metabolismo celular que venha a ser desenvolvido. Como todos os reatores eram alimentados a partir de um mesmo reservatório de água residuária o pH do afluente é igual para ambos os reatores. Como foi comentado durante a revisão, valores de pH abaixo dos pontos de dissociação dos ácidos presentes podem levar à mudança de rota para a solvatogênese ou ainda podem desviar a rota para outro tipo de metabolismo.

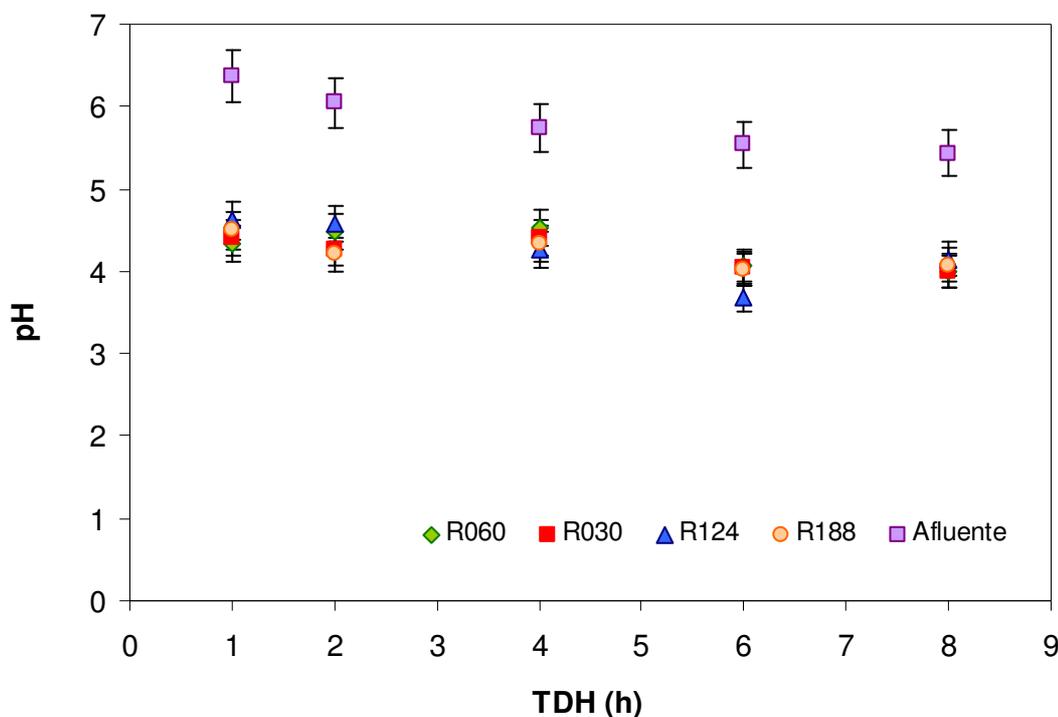


Figura 5.5 Variação do pH em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188

#### 5.4 Produção de ácidos orgânicos e álcoois

A fim de avaliar o efeito do TDH na produção dos metabólitos para cada reator utilizado foi feita a relação de cada metabólito pela soma de todos os metabólitos formados (SMP). As Figuras 5.6, 5.7, 5.8 e 5.9 ilustram essa distribuição molar dos principais metabólitos produzidos para os quatro reatores ao longo dos TDH estudados.

A Figura 5.6 ilustra a porcentagem molar dos metabólitos formados para o R030. Pode-se observar que sob o TDH de 8h os principais metabólitos formados foram o etanol (32,73%), o ácido acético (31,75%) e o ácido butírico (28,76%) seguidos de uma pequena quantidade de metanol (6,47%) e ácido propiônico (0,30%). Quando se fez a mudança para o TDH de 6h a quantidade de etanol permaneceu relativamente constante (31,55%), entretanto, as variações sofridas pelos outros metabólitos sugerem que houve uma mudança de rota metabólica para a produção de ácido propiônico (15,03%) em detrimento da produção de butírico (15,75%). A produção de ácido acético (29,09%) e metanol (8,58%) se mantiveram relativamente constantes. Sob o TDH de 4h uma possível nova mudança de rota metabólica aumentou quase que o dobro a produção de etanol (57,49%). Todos os outros metabólitos tiveram suas produções reduzidas, sendo que o ácido acético mantinha-se como segundo metabólito (21,37%). O mesmo comportamento se deu sob o TDH de 2h quando as proporções pouco se alteraram. No TDH de 1h houve redução da produção de etanol, seguido do aumento de ácido acético. Os outros metabólitos permaneceram constantes. Esse resultado colabora com o aumento de rendimento de produção de hidrogênio obtido por esse reator durante o TDH de 1h. O maior rendimento de hidrogênio se deu na etapa onde mais ácido acético foi gerado. Alerta-se então novamente para a possibilidade de nova mudança de rota metabólica sob o TDH de 1h. As variações dessas rotas podem estar relacionadas ao arraste de algumas substâncias que possam inibir as bactérias produtoras de hidrogênio.

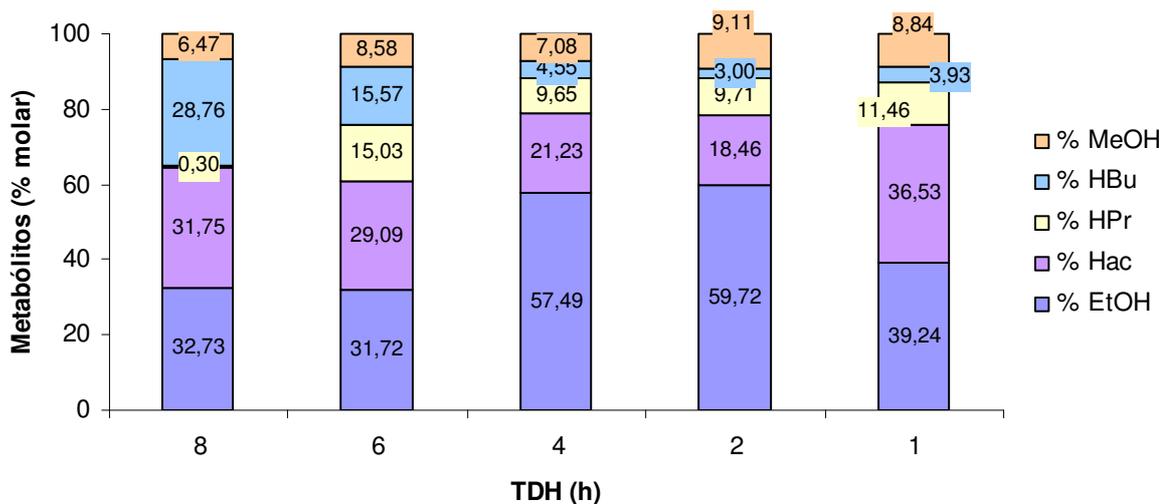


Figura 5.6 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R030

Na Figura 5.7 está representada a porcentagem molar dos principais metabólitos produzidos para o R060. Da mesma forma que no R030 houve predominância do etanol em todas as etapas de operação. Sob o TDH de 8h a produção de etanol foi contrabalanceada pela produção de ácido butírico, estando entre 31,55 e 31,25 respectivamente. Seguido do ácido acético de 28,24 % que se manteve nessa média até o TDH de 1h quando houve um aumento a 39,43%. A produção de ácido butírico apresentou um perfil de queda nos TDH seguintes. A produção de ácido propiônico se manteve constante a apresentou um perfil de crescimento tal como no R030 diante da diminuição do TDH. A produção de hidrogênio associada a produção dos principais metabólitos, tal como no R030 mostra que sob o TDH de 1h a rota acética é favorecida e leva a uma maior produção de hidrogênio para esses reatores expandidos.

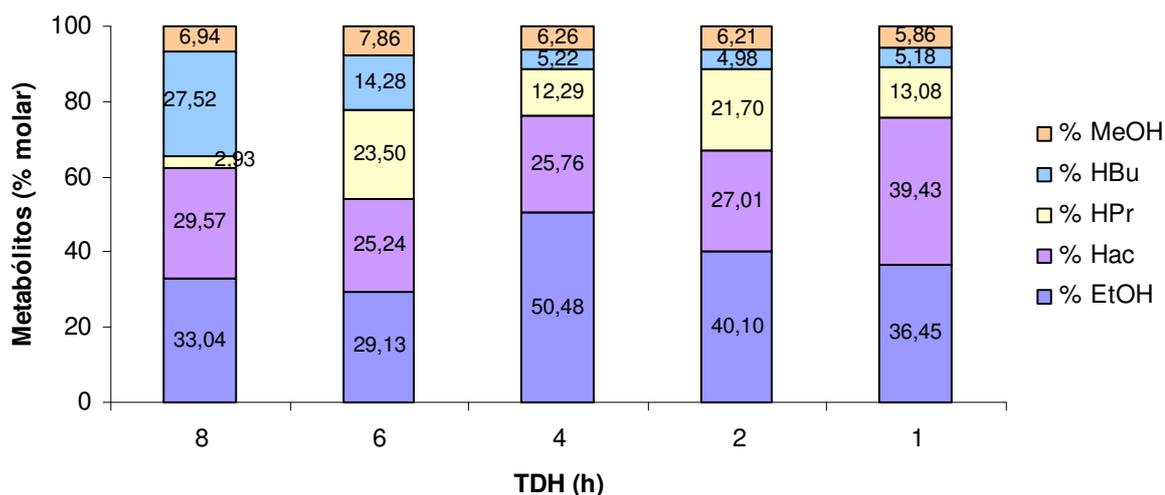


Figura 5.7 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R060

A relativa presença de ácido propiônico nos R030 e R060 deve ser evitada tendo em vista que há consumo de  $H_2$  durante a produção do ácido propiônico. Tal fato pode ter contribuído para a menor produção de hidrogênio pelo R060, no qual quantidades consideráveis de ácido propiônico foi encontrada. A razão pela qual o metabolismo celular é desviado para a produção de ácido propiônico ainda não é conclusiva, mas importantes questões já foram levantadas a cerca do assunto. Acreditava-se que o acúmulo de ácido propiônico no sistema pode estar relacionado a pressão parcial do hidrogênio ou à grandes produções de biohidrogênio durante o processo anaeróbico. Assim, grandes produções de hidrogênio podem levar ao acúmulo de hidrogênio a partir de um tempo e por conseqüência,

levar a formação de um substrato pouco eficiente para a fase metanogênica de tratamento de efluentes (GOURDOUN e VERMANDA, 1987)

WANG *et al.* (2005) sugeriram que o acúmulo de ácido propiônico pode não estar relacionado à saturação do meio por hidrogênio e sim devido ao acúmulo de NADH, logo, o NADH seria a principal razão para o acúmulo de ácido propiônico nos reatores de digestão anaeróbia. Essa razão é explicada, pois durante a fermentação contínua uma taxa de NADH/NAD<sup>+</sup> deve ser mantida nas células.

Na rota propiônica há grande produção de NAD<sup>+</sup> do que durante a rota butírica de modo que em condições de altos NADH, a fermentação propiônica irá se sobrepôr à fermentação butírica espontaneamente a fim de manter a razão de NADH/NAD<sup>+</sup> dentro das células. Como mostram os resultados do R030 e R060, sob o TDH havia grande produção relativa de ácido butírico, diante da mudança do TDH para 6h, houve diminuição da produção de HBr enquanto que a produção de ácido propiônio foi elevada.

Para os reatores de leito expandido, a rota de formação pelo etanol prevaleceu sob a rota acética até o TDH de 4 e diante da mudança do TDH para 1h houve possivelmente essa mudança de metabolismo. Observa-se também que a produção de etanol é favorecida sob os TDH de 4 e 2h.

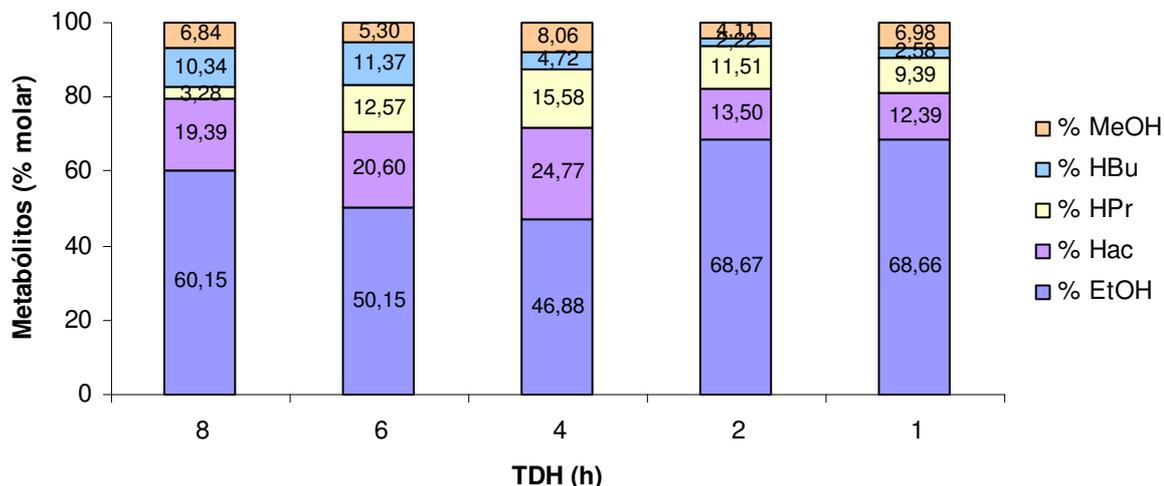


Figura 5.8 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R124

A Figura 5.8 apresenta os dados do reator R124. Percebe-se tal como nos outros reatores que houve predominância de etanol dentre os metabólitos produzidos. Porém, essa porcentagem foi muito maior do que a apresentada pelos reatores expandidos. Durante todos

os TDH aplicados a porcentagem molar de etanol produzido ficou acima de 50%. A porcentagem máxima de etanol se deu no TDH de 2 e 1h quando atingiu 75,80% e mínima de 50,15 no TDH de 6h. A produção de ácido acético manteve-se relativamente constante nos TDH de 8, 6, 4 (19,39; 20,60 e 20,62 %) e decaiu para níveis de 10% no TDH de 2 e 1h. O ácido butírico tal como nos outros reatores decaiu com a diminuição do TDH, possivelmente foi lavado pelo reator. O metanol manteve-se entre 3,48 e 6,89% enquanto que o ácido propiônico ficou entre 3,28 e 12,97%.

No R188, ilustrado pela Figura 5.9, também foi grande a presença de etanol, variando entre 50,92 e 61,85 % ao longo dos TDH de operação. Não houve grande variação entre um TDH e outro. A produção de ácido acético também se manteve relativamente constante variando entre 11,81 e 24,11% o qual foi atingido no TDH de 2h. Diferentemente dos outros reatores, a presença de metanol se mostrou relevante. No TDH de 8h a produção de metanol contabilizou 22,61%, decaindo para 19,28; 9,98, e 9 9,96 e 17,72 nos TDH seguintes. A produção de ácido butírico e ácido propiônico não ultrapassou 7,52%.

A alta produção de etanol nos TDH de 2 e 1h para os reatores fluidizados, em especial no TDH de 2h que foi quando se obteve a maior produção de hidrogênio nesses reatores, elucidada sobre a possibilidade de haver uma outra rota de produção onde não haja competição entre a produção de etanol e hidrogênio. Como já foi apresentado, no TDH de 2h os reatores R124 e R188 tiveram a melhor produtividade de hidrogênio.

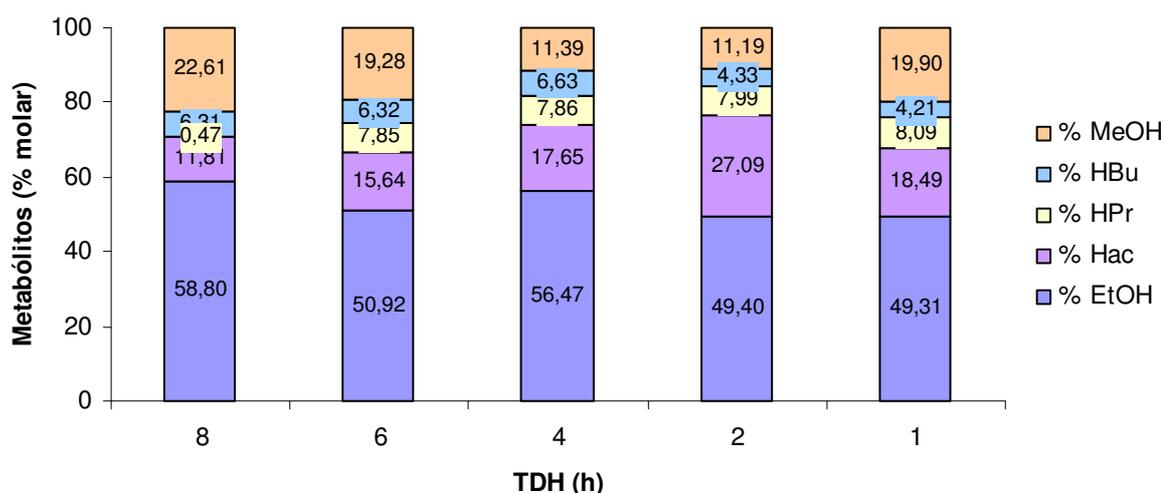


Figura 5.9 Porcentagem molar dos metabólitos produzidos em função do TDH no reator R188

Tabela 5.3. Principais metabólitos produzidos em função do TDH para os reatores R030, R060, R124 e R188

	TDH(h)	EtOH (mg.L <sup>-1</sup> )	HAc (mg.L <sup>-1</sup> )	HPr (mg.L <sup>-1</sup> )	HBr (mg.L <sup>-1</sup> )	MeOH (mg.L <sup>-1</sup> )	HAc/HBu*
R030	8	464,99	588,31	6,77	781,58	63,98	1,10
	6	472,18	564,89	359,91	443,47	88,86	1,87
	4	1287,58	620,08	347,70	194,72	110,32	4,67
	2	1287,58	519,29	336,73	123,76	136,65	6,15
	1	687,58	835,04	323,08	131,68	107,79	9,30
R060	8	378,94	442,40	54,04	603,94	55,34	1,07
	6	401,24	453,40	520,66	376,23	75,27	1,77
	4	1093,03	727,41	428,16	216,06	94,27	4,94
	2	378,75	332,75	329,64	90,03	40,79	5,42
	1	588,24	830,07	339,46	159,98	65,80	7,61
R124	8	937,56	394,17	82,12	308,44	74,14	1,87
	6	918,78	492,16	370,54	398,55	67,57	1,81
	4	1125,74	775,77	601,75	216,64	134,67	5,25
	2	1376,31	352,82	370,94	84,94	57,31	6,09
	1	1173,27	276,1	258,22	84,26	82,98	4,81
R188	8	864,69	226,48	11,23	177,38	231,35	1,87
	6	908,67	363,96	225,29	215,74	239,36	2,47
	4	1235,43	503,71	276,7	277,43	173,42	2,66
	2	1091,98	780,99	284,09	183,28	172,06	6,25
	1	1046,04	511,67	275,99	170,98	293,7	4,39

\* Relação Molar

A Tabela 5.3 ilustra os valores das concentrações dos principais ácidos e álcoois formados na execução do trabalho. A relação HAc/HBr para todos os reatores foi crescente quando da mudança do TDH de 8 a 1h como apresentado na Tabela 5.2. Apesar da relação HAc/HBr mostrar que de acordo com a estequiometria de formação dos produtos que a produção de hidrogênio é favorecida quanto maior for essa relação, outros fatores podem estar envolvidos tendo em vista a elevada produção de etanol no presente trabalho. De fato, as maiores relações HAc/HBr foram obtidas justamente sob os TDH onde foram obtidas as maiores produções volumétricas e rendimento de hidrogênio. Entretanto, nos reatores fluidizados a produção de ácido acético e ácido butírico foi porcentualmente menor que aquelas apresentadas pelos reatores expandidos.

WU *et al.* (2009) alertou para a questão da relação HAc/HBr não ser o único parâmetro indicativo da eficiência da produção de hidrogênio. Segundo os autores, em trabalhos prévios realizados, verificou-se que quanto maior essa razão HAc/HBr, menor a produção de hidrogênio. De fato, no presente trabalho de mestrado, foi verificada que quanto maior a relação, maior a produção de H<sub>2</sub>, porém, verificou-se também que a alta produção de etanol não influenciou na produção de hidrogênio pelos reatores fluidizados. Quando se faz a análise de trabalhos prévios em mesmo reator apresentados na Tabela 5.3 percebe-se que a produção de hidrogênio e rendimentos obtidos foram similares aos obtidos por outros autores em

mesmo reator e mesmo substrato. WU *et al.* (2009) sugeriram em seu trabalho que tais comportamentos se deve principalmente as diferentes rotas fermentativas utilizadas pelos microrganismos. Acredita-se que tal fenômeno de diferentes rotas pode ter ocorrido nos reatores R030 e R060.

Outros trabalhos também apresentaram produções similares de etanol (WU *et al.*, 2007; SKONIECZNY e YARGEAU, 2009).

WU *et al.* (2007) comparando o uso de reator anaeróbio de leito fluidizado e o reator de leito fixo para a produção simultânea de hidrogênio e etanol, utilizaram três substratos diferentes: sacarose, frutose e glicose. O RALF foi operado sob três condições diferentes de acordo com a velocidade ascensional: 0,55; 0,73 e 0,91  $\text{cm.s}^{-1}$ . Em ambos os reatores, RALF e PBR os principais metabólitos produzidos foram ácido acético (12-35%), ácido butírico (11-28%) e etanol (43-65%). Esses resultados mostraram que a cultura microbiana presente era desfavorável a produção de hidrogênio devido ao conflito encontrado entre a produção de etanol e hidrogênio combinada. De fato, a formação de álcool atua concorrentemente à produção de hidrogênio e encontrar um equilíbrio entre a produção de ambos os combustíveis era a principal questão. Em relação ao substrato, a sacarose foi melhor para a produção volumétrica de  $\text{H}_2$  enquanto que a frutose levou à melhores índices de produção de etanol. Em relação ao PBR, a glicose foi mais eficiente para a produção de  $\text{H}_2$  e etanol. Para os reatores de leito fixo foi verificado que tal como para os reatores de leito fluidizado, quanto maior a produção de etanol, menor a produção de hidrogênio. Nesse sistema, a glicose foi mais favorável para a produção de etanol.

SKONIECZNY e YARGEAU (2009) também observaram grandes concentrações de etanol. Durante o estudo foi empregado um reator batelada e uma cultura pura de *Clostridium beijerinckii*. Houve grandes produções de ácido butírico (14-63%), ácido fórmico (10-45 %) ou etanol (16-40%) com ácido propiônico, ácido acético e propanol em baixas quantidades. Segundo os autores, apesar desses metabólitos obtidos estarem de acordo com os experimentos em fermentação anaeróbia, as concentrações obtidas mostra uma nova direção na produção biológica de hidrogênio. Diante dos resultados obtidos, não se concluiu se houve uma produção simultânea de etanol ou se de fato houve uma mudança da rota metabólica durante o experimento. Como já foi noticiado por experimentos anteriores, altas concentrações de álcoois tendem a inibir a produção de hidrogênio.

Apesar da concorrência que a produção de etanol pode causar no sistema, não se pode descartar a possibilidade de estarem acontecendo rotas metabólicas diferentes onde não há comprometimento da produção de hidrogênio.

ZHU *et al.* (2009) a fim de justificar o trabalho no qual houve produção de etanol juntamente com a de H<sub>2</sub>, sugeriu uma rota na qual a produção de hidrogênio possa ser beneficiada juntamente com a produção de etanol, assim, uma das sugestões foi:



Na equação anterior, a produção de etanol ocorre concomitantemente a produção de ácido acético e etanol. Para cada mol de glicose degradada, são formados 1 mol de EtOH, 1 mol de HAc e 2 moles de H<sub>2</sub>. Contrapondo ao presente experimento, como foi apresentado, os principais metabólitos obtidos foram HAc e EtOH. Assim, a equação sugerida por ZHU *et al* (2009) pode ser uma das rotas envolvidas neste presente trabalho.

Outro estudo executado por FANG e LIU (2002) em trabalho sobre o efeito do pH na produção de H<sub>2</sub> supuseram que pode haver uma mudança da rota metabólica devido à influência do pH na comunidade microbiana. Da mesma forma, ZHU *et al* (2009) mostram que sob pH abaixo de 5,5 a rota de produção de ácido acético é favorecida juntamente com a rota etanólica. Acima desses valores, todas essas rotas em conjunto com a propiônica parecem atuar concomitantemente segundo os autores. Tal como a literatura apresentada, durante a operação dos reatores R030, R060, R124 e R188, o pH escolhido situou-se numa faixa em que a rota etanólica e acética sugerida por FANG e LIU (2002) e ZHU *et al.* 2009 atua.

Outro trabalho cuja fermentação etanólica foi predominante foi realizado por REN *et al.* (2006). Os pesquisadores utilizando um reator DE MISTURA estudaram a produção de hidrogênio a partir do melão da cana. Eles trabalharam numa faixa de pH entre 5 e 6,5. Foi observada durante a operação do reator que a proporção etanol e ácido acético produzida somava 80% dos metabólitos produzidos. Os autores observaram ainda que houve uma grande produção de metabólitos formados de acordo com a carga orgânica aplicada. Assim, quanto maior a carga orgânica aplicada ao reator, maior a produção de metabólitos, principalmente etanol e ácido acético. Essa relação foi crescente até o ponto que houve uma queda na produção de ácidos e álcoois. Porém, segundo a literatura disponível, grandes quantidades de metabólitos podem inibir as atividades metabólicas desempenhadas pela célula. Assim, quando submetido a altas cargas orgânicas ocorreu a saturação de ácidos e CO<sub>2</sub> dissolvidos no meio reacional levando à uma possível inibição da produção.

Esses trabalhos ilustram a possibilidade de existência de novas rotas de produção de hidrogênio a qual parece ter atuado neste experimento. De maneira geral, os reatores com maiores velocidades ascensionais, ou seja, mais expandidos (R124 e R188), tiveram uma

predominância da rota de produção via etanol para a produção de hidrogênio a qual deve ser obtida por uma das rotas alternativas tendo em vista que na rota tradicional não há produção de hidrogênio. Além disso, foi verificado que é possível a produção concomitante de etanol e hidrogênio quando em condições específicas de baixo pH.

A Tabela 5.4 ilustra a distribuição dos metabólitos formados em trabalhos realizados em RALF a partir da glicose. Todos os estudos apresentados trabalharam com a mesma fonte de inóculo e sob o mesmo tratamento térmico.

Tabela 5.4 Produção volumétrica de hidrogênio, rendimento e distribuição dos metabólitos para trabalhos em RALF a partir da glicose.

Referência	$V_{mf}$ ( $\text{cm.s}^{-1}$ )	V ( $\text{cm.s}^{-1}$ )	PVH ( $\text{L.h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ )	RPH	EtOH/SMP (%)	HAc/SMP (%)	HBr/SMP (%)	HPr/SMP (%)	MetOH/SMP (%)
SHIDA et al. (2009)	1,24	1,61	1,28	2,29	7,54	52,32	40,14	-	-
AMORIM et al (2009)	1,24	1,61	0,97	2,49	7,0	53,3	39,7	-	-
BARROS et al (2010)	1,24	1,61	1,21	2,49	15,27	45,06	37,30	2,37	-
R030	1,24	0,30	0,92	2,16	59,79	36,53	28,76	15,03	9,11
R060	1,24	0,60	0,89	2,39	50,48	39,43	27,52	23,50	7,86
R124	1,24	1,24	1,22	2,55	68,67	24,77	11,37	15,58	8,06
R188	1,24	1,88	0,93	2,26	58,80	27,09	6,63	8,09	22,61

Como se pode observar, não houve uma influência clara da velocidade superficial aplicada na distribuição dos metabólitos formados bem como não apresenta relação com os trabalhos da literatura em termos das proporções de metabólitos gerados. De fato, no presente trabalho, observa-se que houve um aumento da produção de EtOH (39,24 a 75,80 % SMP) a medida que a velocidade superficial aplicada era aumentada de  $0,30 \text{ cm.s}^{-1}$  ( $0,24v_{mf}$ ) até a velocidade de  $1,24 \text{ cm.s}^{-1}$  ( $v_{mf}$ ) a partir da qual há um decréscimo da produção de etanol (54,96% SMP). Esse mesmo efeito foi verificado pela produção de hidrogênio. Tais resultados sugerem que a produção de etanol se deu por um mecanismo diferente do

preconizado tendo em vista as produções de hidrogênio e rendimentos obtidos os quais se mostram condizentes com os trabalhos anteriores em RALF. Entretanto, quando se faz a análise dos trabalhos de SHIDA *et al.*, 2009 cuja concentração de glicose empregada foi de 2000 mg.L<sup>-1</sup> sem controle alcalino; AMORIM *et al.*, 2009 que trabalharam numa concentração de glicose de 4000 mg.L<sup>-1</sup> com adição de agente alcalinizante e BARROS *et al.*, 2010 os quais também trabalharam numa concentração de 4000 mg.L<sup>-1</sup> de glicose, observa-se uma grande proporção de ácido acético e ácido butírico nestes trabalhos, com baixas quantidades relativas de etanol.

### 5.5 Influência da taxa de carregamento orgânico na produção de hidrogênio

As Figuras 5.10, 5.11, 5.12 e 5.13 ilustram a relação entre a taxa de carregamento orgânico aplicada e a correspondente produção volumétrica de H<sub>2</sub> para os reatores R030, R060, R124 e R188. Quanto maior a carga orgânica aplicada ao reator, espera-se que mais hidrogênio seja produzido. A variação da carga orgânica no reator está relacionada com a diminuição do TDH no reator. Com uma concentração fixa de entrada do substrato, a redução do TDH propiciou um aumento da carga orgânica aplicada.

‘ Todos os reatores apresentaram essa tendência à medida que se aumentava a TCO aplicada ao reator, com exceção do R030 que apresentou uma instabilidade quando da variação da TCO para 61 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>, porém, houve um aumento da produção volumétrica em consequência do aumento da TCO em seguida. Em relação ao rendimento de hidrogênio, os reatores aumentam o rendimento com o aumento da TCO, entretanto, a partir da TCO de 61 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> esse aumento não se configura de forma tão acentuada, mantendo-se relativamente constante ao aumento da TCO.

SHIDA (2008) apresentaram um comportamento similar de aumento de rendimento (1,84 a 2,29 mol de H<sub>2</sub> por mol de glicose) com o aumento da TCO diante da variação de 13,57 a 59,43 kg.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>. Porém, houve uma diminuição do rendimento da produção de hidrogênio quando do aumento da TCO de 59,43 para 104,2 kg.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>.

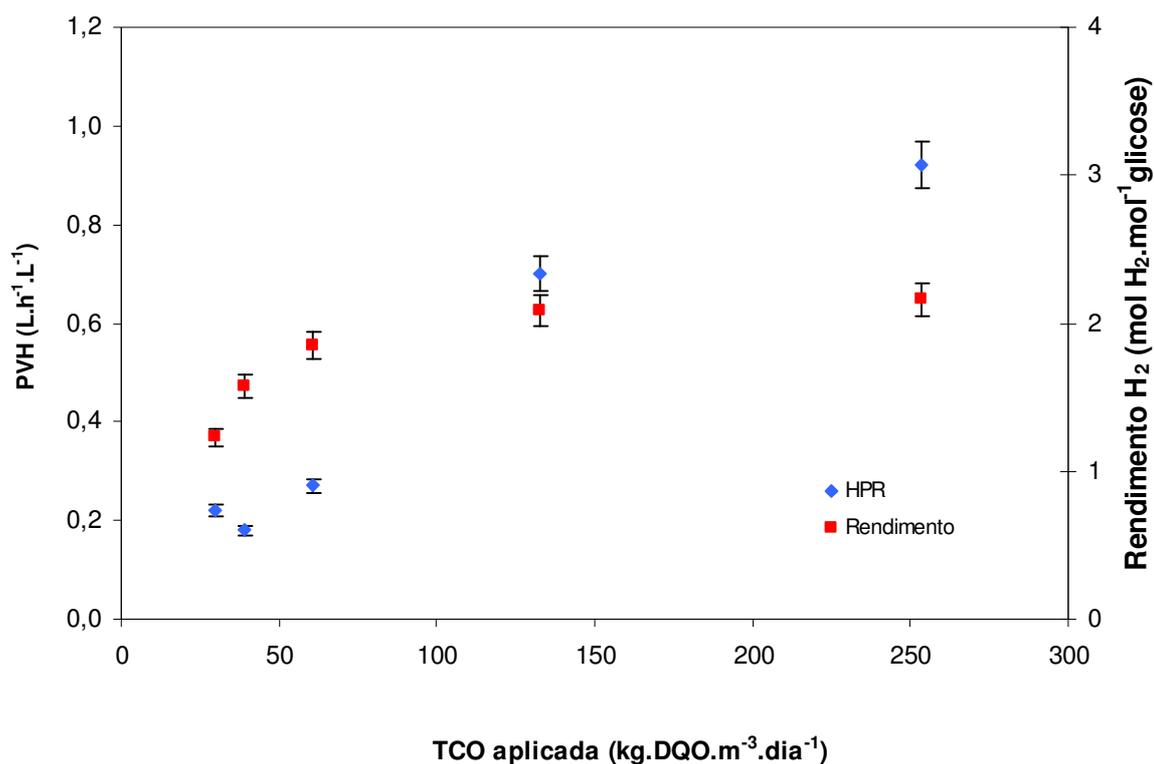


Figura 5.10 Produção volumétrica média e rendimento em função da TCO aplicada no reator R030

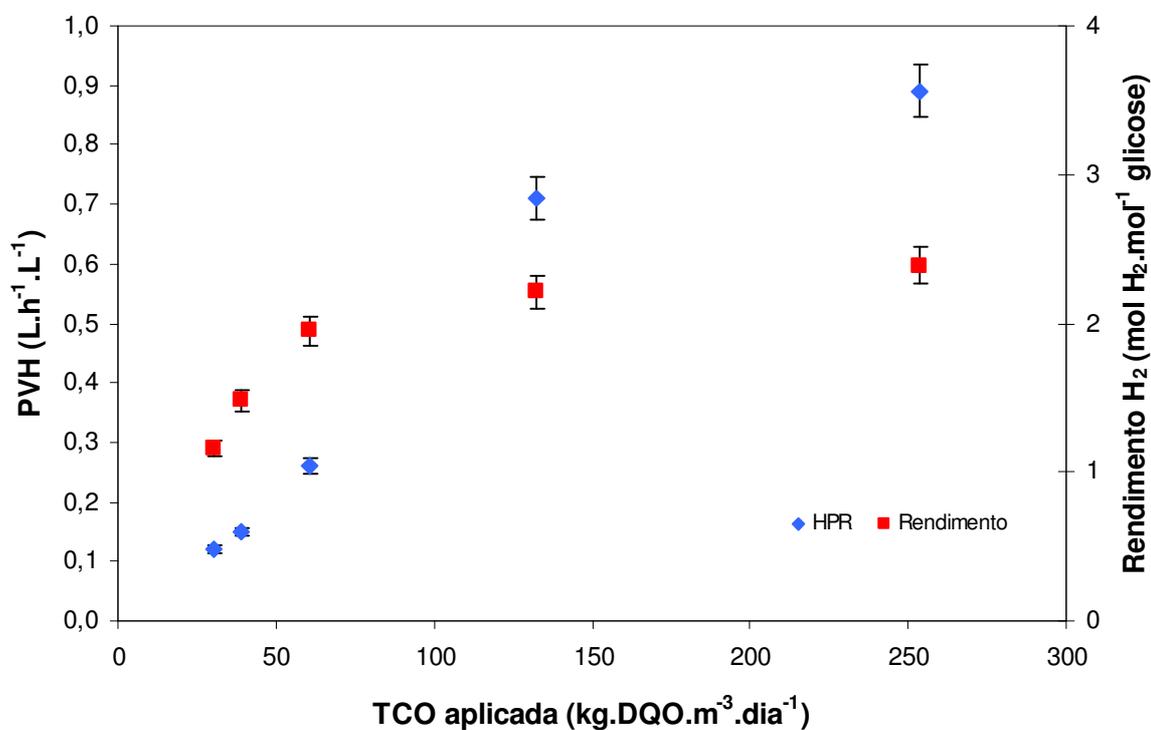


Figura 5.11 Produção volumétrica média em função da TCO aplicada no reator R060

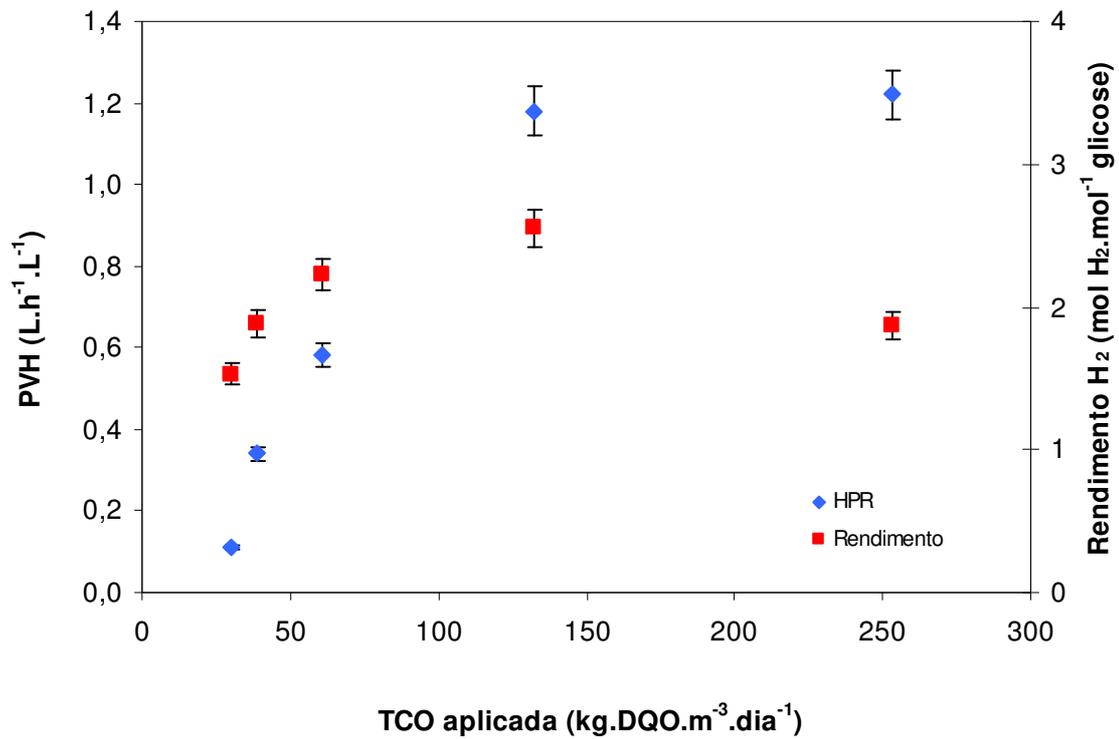


Figura 5.12 Produção volumétrica média de H<sub>2</sub> em função da TCO aplicada no reator R124

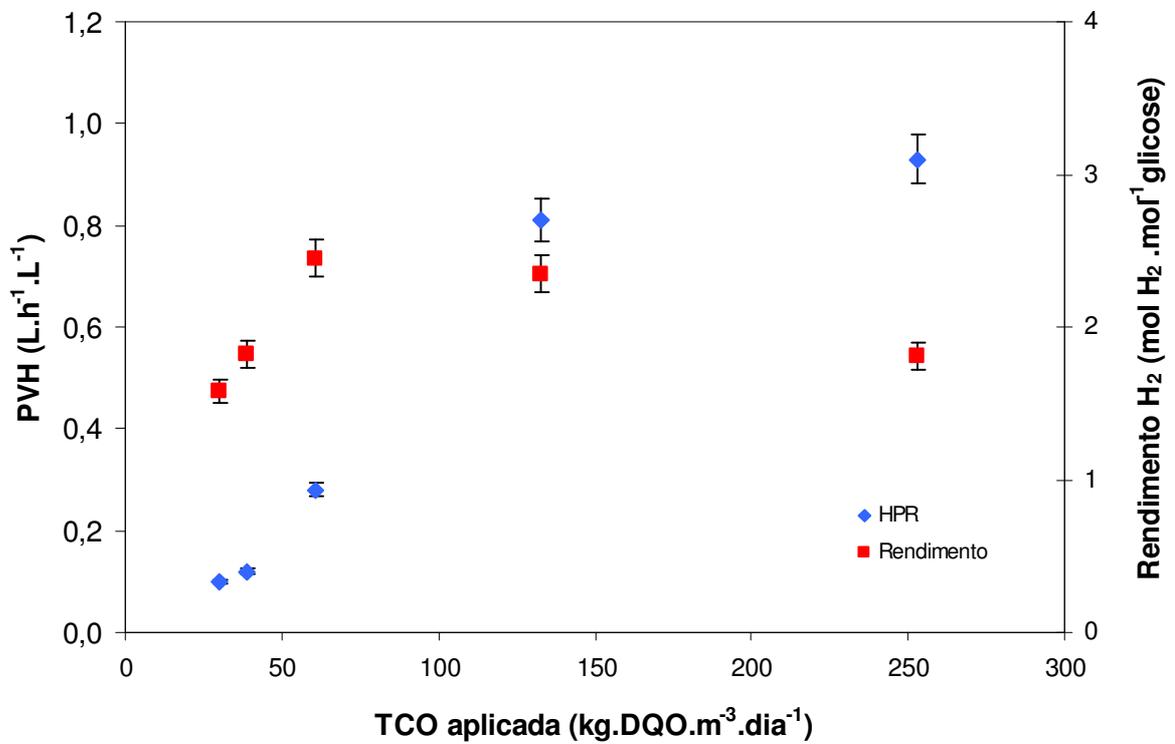


Figura 5.13 Produção volumétrica média de H<sub>2</sub> em função da TCO aplicada no reator R188

AMORIM *et al.*(2009) também apresentaram esse perfil linear em relação taxa de carregamento orgânico e a produção volumétrica de hidrogênio. Durante o estudo foi observado que havia uma aumento da produção volumétrica da 0,08 a 0,97 L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>diante do aumento taxa de carregamento orgânico de 15,7 a 116,6 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>. O mesmo efeito foi obtido pelo rendimento de hidrogênio que apresentou um crescimento até 33,6 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> atingindo valores de 2,23 mol de H<sub>2</sub> / mol de glicose. A partir de 66,5 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> houve uma estabilização dos valores de rendimentos obtidos.

REN *et al.* (2006) verificaram um aumento da produção específica de hidrogênio e de rendimento quando a taxa de carregamento orgânica foi variada de 6,32 a 68,21 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> . A partir de 68,21 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> a produção de hidrogênio decaiu devido ao acúmulo de ácidos orgânicos voláteis no sistema.

Como se observa, os dados obtidos estão em concordância com os trabalhos prévios obtidos pela literatura. Apesar ainda não haver concordância sobre quais as reais razões da redução do rendimento da produção de hidrogênio sobre altas taxas de carregamento orgânico, sabe-se que se pode haver uma inibição do rendimento obtido sobre altas cargas orgânicas. Diversos trabalhos já observaram esses efeitos (VAN GINKEL e LOGAN, 2005; WU *et al.*, 2006), entretanto, outros trabalhos tem mostrado que o aumento da TCO pode levar a maiores valores de rendimentos de produção de hidrogênio (KIM *et al.*, 2006b e LIN *et al.*, 2006b).

O comportamento apresentado pelos reatores de apresentarem um ponto limite a partir do qual o rendimento permanece constante em função do aumento contínuo da taxa de carregamento orgânico aplicada foi comentada por VAN GINKEL e LOGAN (2005) e KRAMER *et al.* (2007).

VAN GINKEL e LOGAN (2005) atribuem a esse comportamento a uma inibição provocada pelos ácidos orgânicos não dissociados no meio. Eles atuariam inibindo a hidrogenase, enzima responsável pela conversão do hidrogênio. Entretanto, KRAMER *et al.* (2007) sobrepõem essa questão afirmando que somente os ácidos não devem estar relacionados a queda. Eles sustentam a questão afirmando que diante da diminuição do rendimento também houve queda dos ácidos gerados. Outra questão levantada por VAN GINKEL e LOGAN (2005) se refere à baixa concentração de hidrogênio sobre baixas taxas de carregamento orgânico. Essa hipótese sugere que neste caso não haveria limitação da produção de hidrogênio devido a não inibição da hidrogenase, o que segundo os autores aconteceria sobre altas taxas. Porém, seriam necessárias concentrações muito baixas a fim de

haver mudanças significativas sobre a termodinâmica envolvida sobre a hidrogenase (KRAMER *et al.*, 2007).

As Figuras 5.14 e 5.15 apresentam o comportamento da produção volumétrica do rendimento da produção de H<sub>2</sub> em relação à TCO para os quatro reatores em conjunto. O rendimento aumentou em todos os reatores em consequência do aumento da taxa de carregamento orgânico.

O rendimento da produção de hidrogênio em relação à glicose consumida mostra que até a TCO de aproximadamente 61 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>, o rendimento apresentava um perfil linear sendo que os reatores R124 e R188 apresentavam melhores resultados em relação aos reatores R030 e R060. Esse resultado pode ser explicado pela melhor condição de transferência de massa apresentada por esses reatores. Como houve aumento da carga orgânica, as condições de transferência de massa efluente-microrganismo podem ter sido favorecidas.

A produção volumétrica de hidrogênio, porém apresentou um resultado inusitado. Quando a menor carga orgânica foi aplicada, o reator com menor velocidade ascensional, R030, apresentou melhores produções de hidrogênio. Os outros reatores, R060, R124 e R188 apresentavam neste ponto produções volumétricas bastante próximas, só que abaixo a produção do R030. Ao passo que a carga orgânica foi aumentada através da modificação do TDH, o R124 apresentou um salto na produção seguido de aumento nos outros reatores. A produção do R124 se sobrepôs às produções dos outros reatores. O fato de a produção volumétrica ter sido mais relevante neste reator e não no R188 que apresentava maior velocidade ascensional pode estar relacionado a alguma mudança na comunidade microbiana que se sobrepôs aos efeitos hidrodinâmicos do reator.

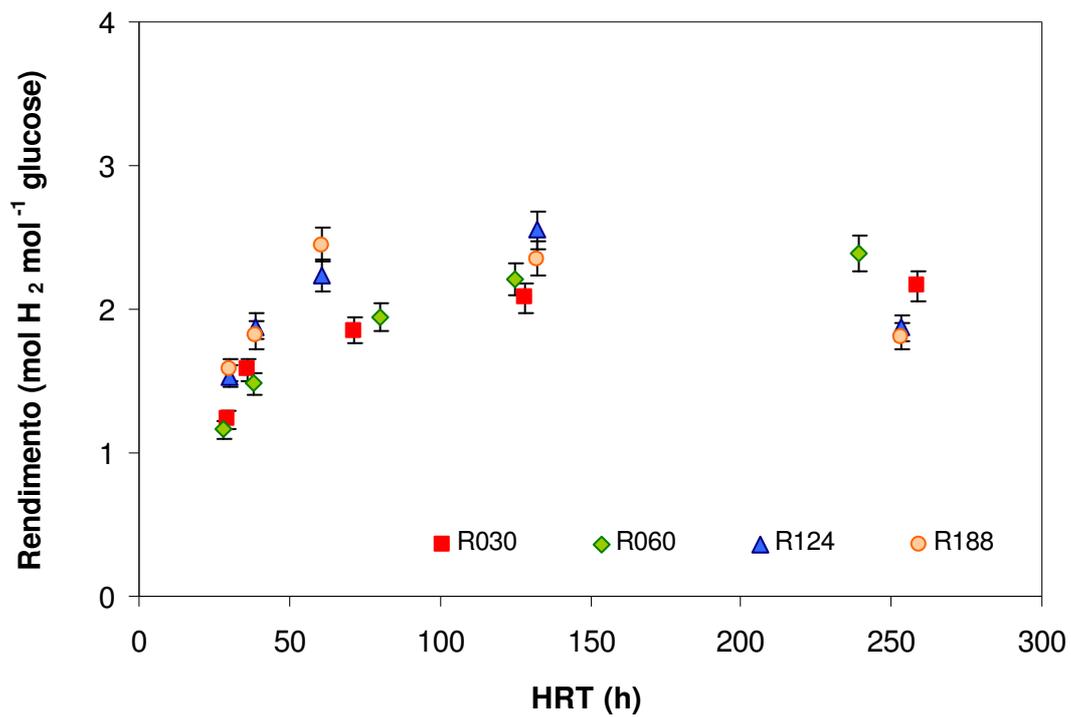


Figura 5.14 Rendimento médio em função da TCO aplicada para os reatores R030, R060, R124 e R188

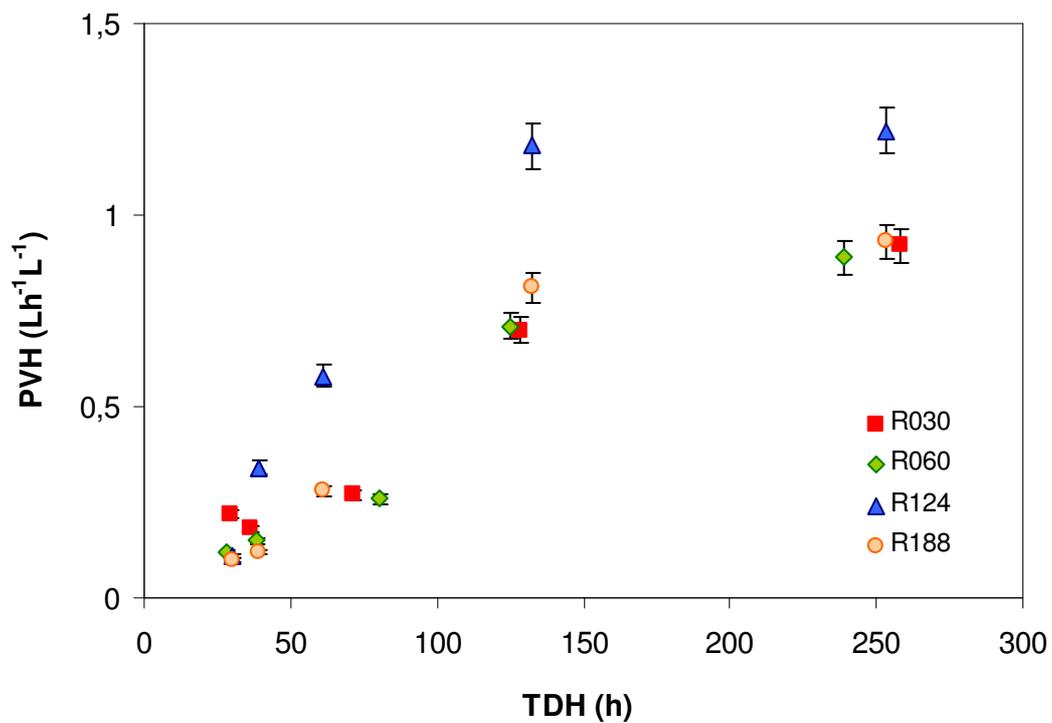


Figura 5.15 Produção volumétrica média de H<sub>2</sub> em função da TCO aplicada para os reatores R030, R060, R124 e R188.

## 5.6 Redução da DQO e balanço da produção de hidrogênio

A taxa de remoção de matéria orgânica em função da demanda química de oxigênio em todos os reatores empregados ficou em torno de 20%. Tal resultado é esperado visto que a redução da DQO em reatores anaeróbios que visam à produção de hidrogênio não atinge valores tão altos, pois a DQO presente nas amostras de efluentes contabiliza tanto o substrato não consumido como os metabólitos produzidos.

A remoção de DQO é um importante parâmetro no tratamento de efluentes líquidos, pois regula a quantidade de matéria orgânica despejada em corpos d'água para a qual existe legislação específicas de despejo. Apesar da técnica de produção biológica de hidrogênio ter surgido durante o processo de tratamento de efluentes, durante a produção de hidrogênio apenas uma parte do processo é realizada, necessitando adiante um outro tratamento, desenvolvido na etapa metanogênica caso se deseje uma maior redução dos índices de DQO da água residuária tratada.

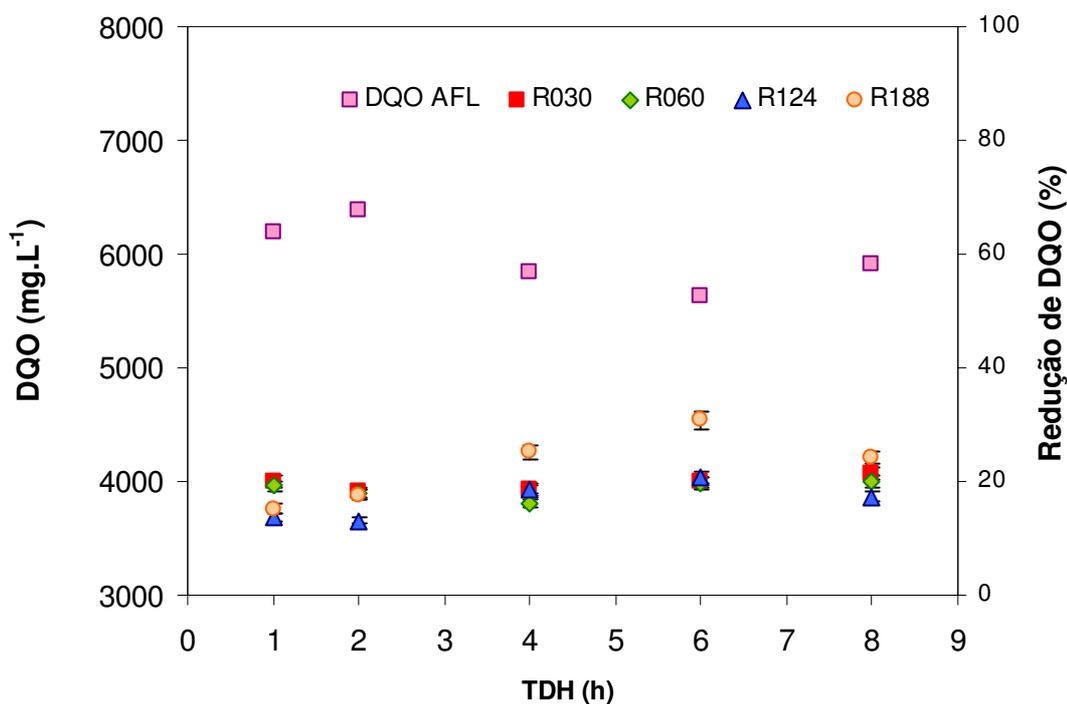


Figura 5.16 DQO afluyente e % de redução da DQO médias ao longo dos TDH aplicados para os reatores R030, R060, R124 e R188

A Figura 5.16 ilustra a redução de DQO. Pode se observar que o R188 apresentou os maiores valores de redução de DQO em todos os TDH aplicados. No TDH de 8h a redução

média foi de 24,23%. Subiu até 30,81 sob o TDH de 6 h e decaiu para 25,20 no TDH de 4h. Sofreu nova queda até 17,55 no TDH de 2h. O R030 manteve-se com redução de DQO variando entre 18,14% no TDH de 2 h e máxima de 21,38 % sob o TDH de 8h. O R060 apresentou mínima de 16,21% no TDH de 4h e máxima de 20,06 % no TDH de 8h. Já o reator R124 apresentou uma redução de DQO mínima de 13,14 no TDH de 2h e máxima de 20,57 no TDH de 6h. Os valores permaneceram constantes diante da mudança de TDH para 1h..

A Tabela 5.5 ilustra o balanço de DQO realizado através dos dados da DQO teórica do afluente, DQO teórica dos metabólitos e DQO efluente medida nos reatores R030, R060, R124 e R188. Pode se observar que os valores entre a  $DQO_{teórica}$  e a  $DQO_{medida}$  diferem entre -380 e 1602. Possivelmente, ainda existem metabólitos não detectados os quais podem ser levados em consideração.

Tabela 5.5 DQO teórica do afluente, DQO teórica dos metabólitos e DQO efluente medida nos reatores R030, R060, R124 e R188

TDH (h)	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO <sub>t</sub>	DQO	DIF
	Glicose efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	HAc (mg.L <sup>-1</sup> )	HBu (mg.L <sup>-1</sup> )	HPr (mg.L <sup>-1</sup> )	EtOH (mg.L <sup>-1</sup> )	MetOH (mg.L <sup>-1</sup> )	SSV (mg.L <sup>-1</sup> )	TOT (mg.L <sup>-1</sup> )	MED efluente (mg.L <sup>-1</sup> )		
R030	8	799	627	1421	10	647	133	121	3758	4624,80	866
	6	804	602	806	545	657	165	171	3751	4497,23	747
	4	1324	661	354	526	1791	205	205	5067	4769,86	-297
	2	1659	554	225	509	1791	162	147	5047	5216,93	170
	1	2598	890	239	489	956	162	122	5456	5076,02	-380
R060	8	908	472	1098	82	527	83	166	3335	4708,99	1374
	6	1038	483	684	788	558	113	230	3894	4529,12	635
	4	1556	775	393	648	1520	141	131	5165	4901,07	-264
	2	1989	355	164	499	527	61	147	3741	5229,57	1489
	1	2597	885	291	514	818	99	92	5296	5121,94	-174
R124	8	535	420	561	124	1304	111	204	3260	4862,07	1602
	6	318	525	725	561	1278	101	207	3714	4462,79	749
	4	691	827	394	910	1566	202	170	4760	4760,02	0
	2	1668	376	154	561	1914	86	206	4967	5533,07	567
	1	1989	294	153	391	1632	124	72	4655	5325,32	670
R188	8	649	241	322	17	1203	347	186	2965	4448,76	1483
	6	316	388	392	341	1264	359	180	3240	3949,97	710
	4	582	537	504	419	1718	260	208	4229	4366,38	138
	2	1112	833	333	430	1519	258	215	4700	5254,87	555
	1	1867	545	311	418	1455	441	86	4682	5222,54	540

## 5.7 Polímeros extracelulares

Os polímeros extracelulares produzidos pelas células foram quantificados em termos de proteínas e carboidratos. Os polímeros produzidos pelas células são polissacarídeos excretados da célula constituindo boa parte da biomassa visível em bioreatores. Em condições de limitação de nutrientes ou alteração de outra ordem na comunidade microbiana pode motivar a produção de exopolissacarídeos (SUTHERLAND, 1979).

### 5.7.1 Proteínas

A Figura 5.17 mostra a produção de polímeros na forma de proteínas para os reatores operados. O controle da produção de proteínas é importante, pois o acúmulo de exopolissacarídeos na estrutura do biofilme pode limitar os efeitos de transferência de massa do meio líquido para as partículas. Os reatores de leito fluidizado apresentaram maior produção de proteínas em relação aos reatores expandidos. Tal resultado ilustra a maior capacidade de formação de biofilme nos reatores mais expandidos.

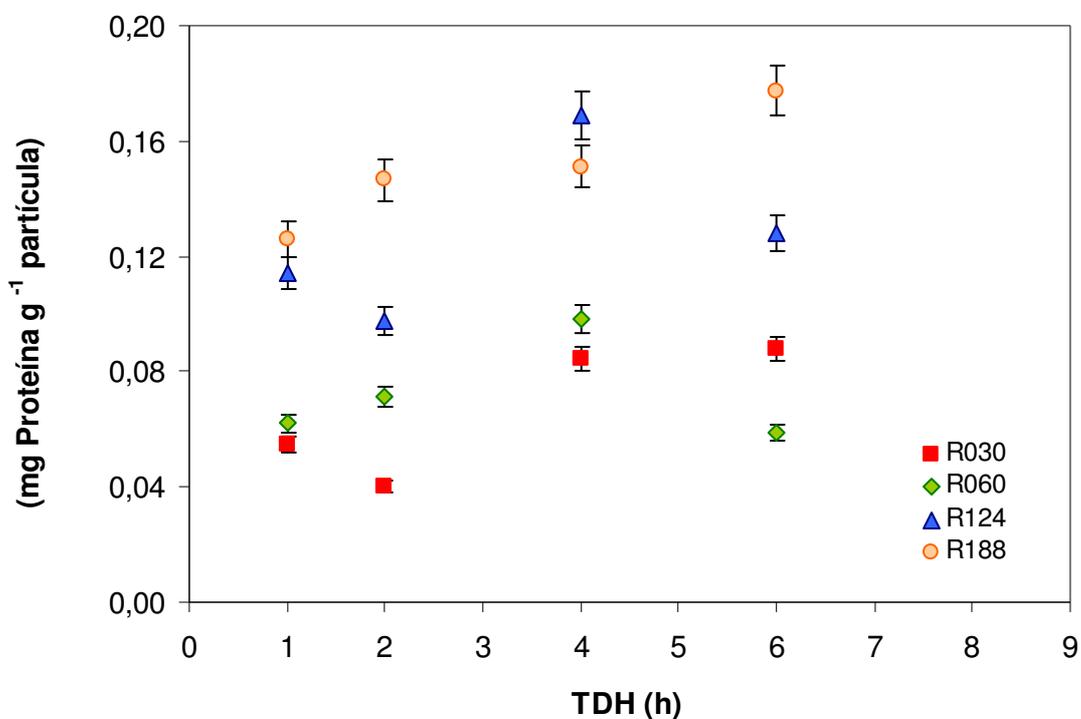


Figura 5.17 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula para os reatores R030, R060, R124 e R188.

As Figuras 5.18, 5.19, 5.20 e 5.21 ilustram o comportamento de cada reator em relação à produção volumétrica de hidrogênio e rendimento. Nos quatro reatores não houve uma tendência clara da produção de hidrogênio e a formação de proteína. A produção de proteínas máxima se deu no TDH de 4h.

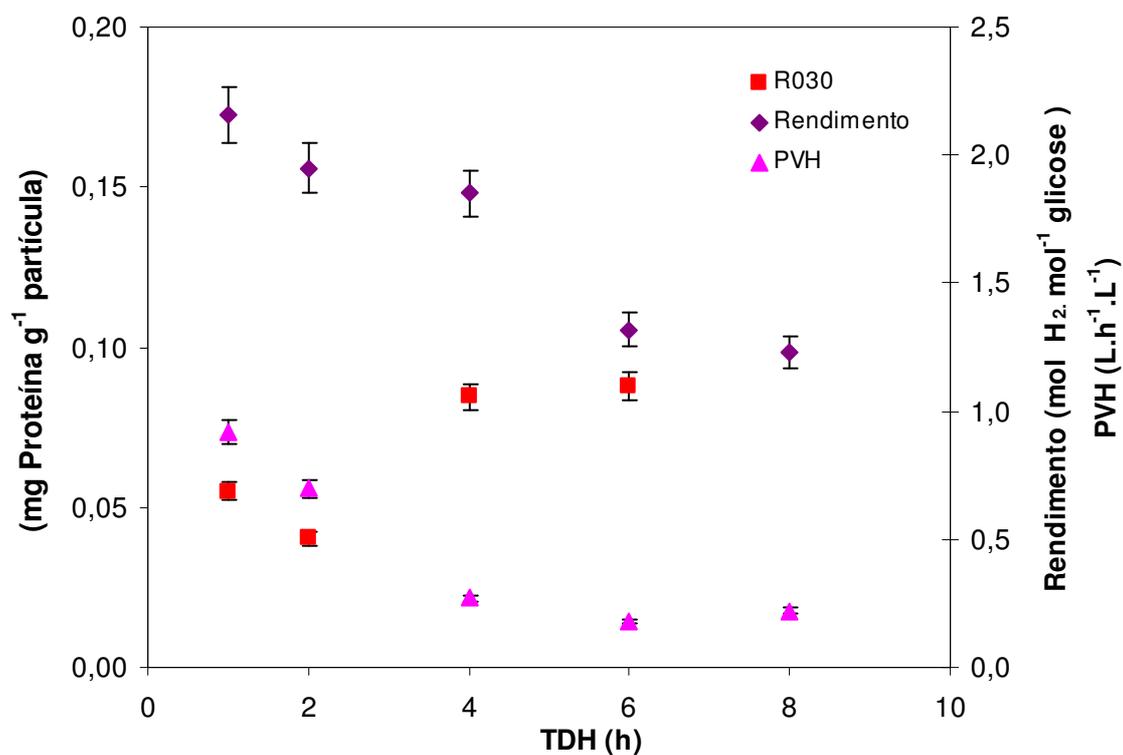


Figura 5.18 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R030.

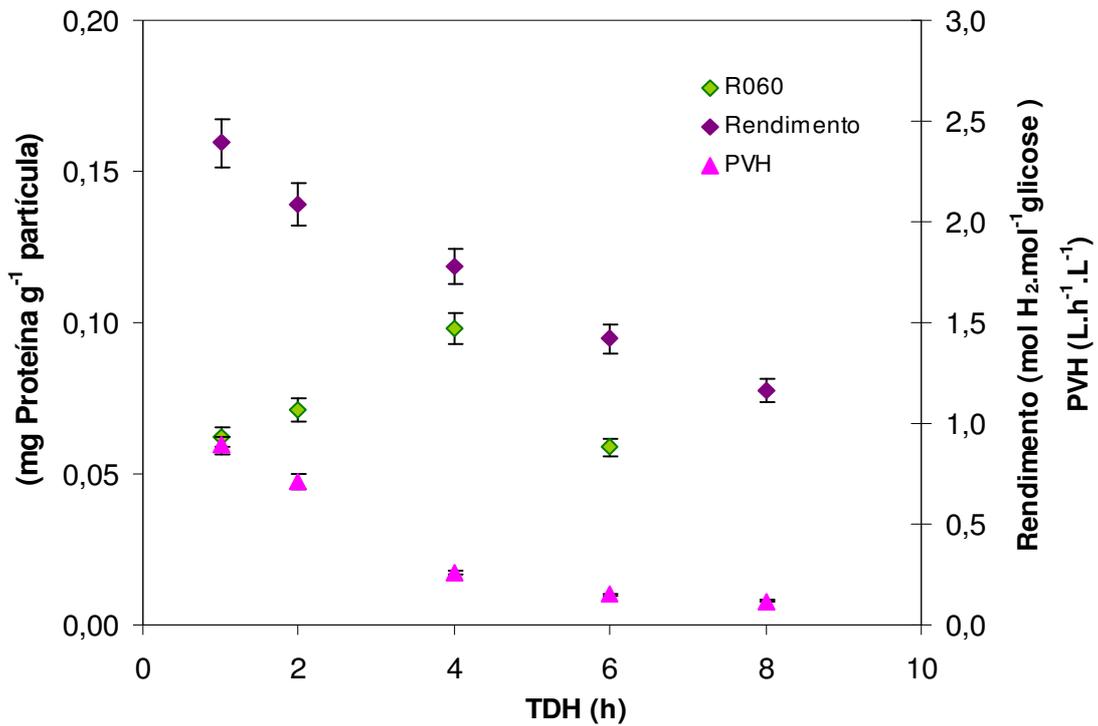


Figura 5.19 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.

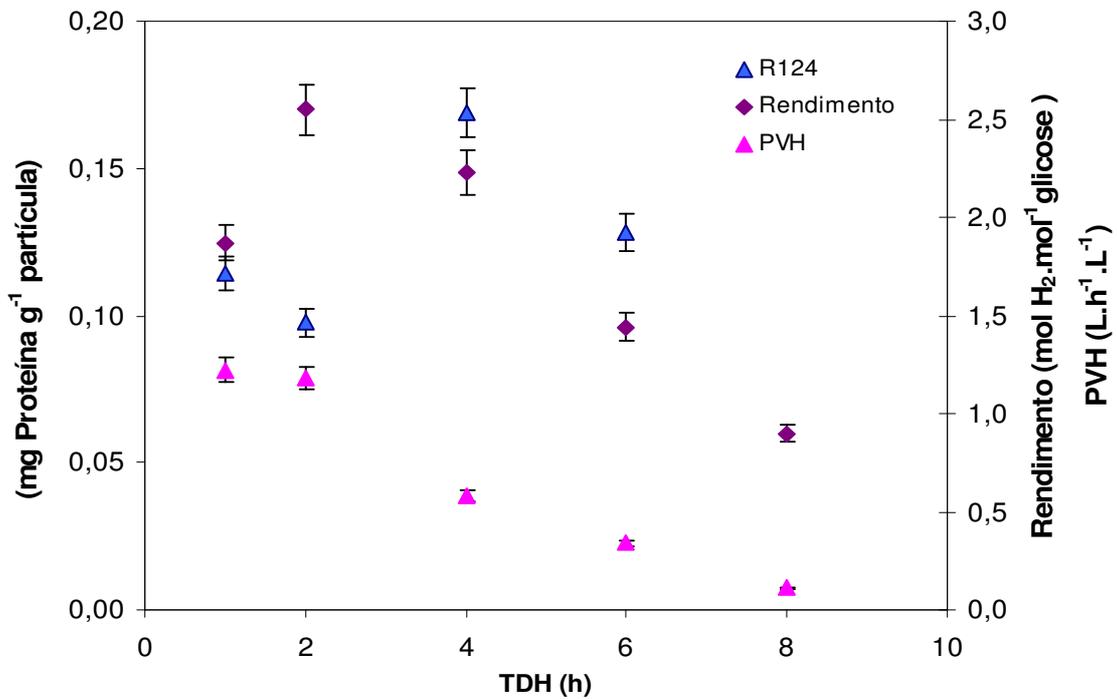


Figura 5.20 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.

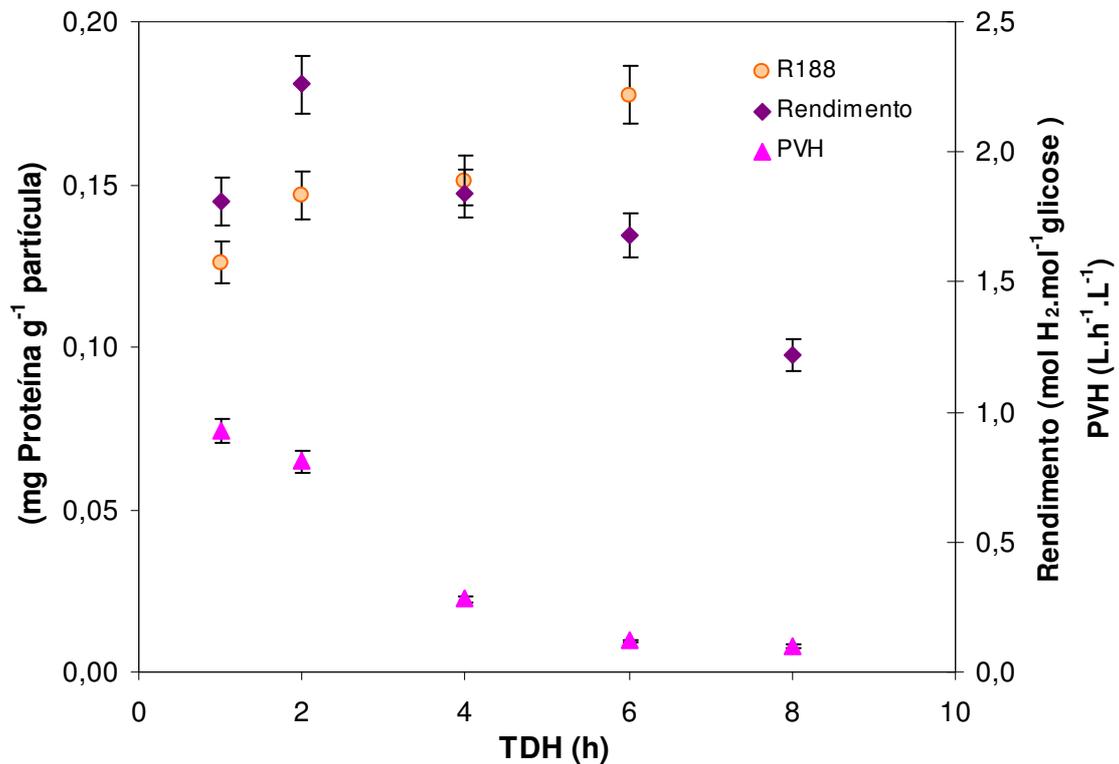


Figura 5.21 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de proteínas por grama de partícula, rendimento de produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.

### 5.7.2 Carboidratos

As figuras 5.22, 5.23, 5.24 e 5.25 apresentam a quantidade de exopolímeros extracelulares (EPS) na forma de carboidratos aderidos ao suporte de imobilização. A presença de polímeros na forma de carboidratos apresentou uma relação direta com o TDH aplicado ao reator, entretanto, não foi possível verificar uma relação direta entre as condições operacionais aplicadas a cada reator. Houve tendência de aumento do rendimento de hidrogênio com o aumento da massa de carboidratos excretada da célula para os quatro reatores empregados.

Durante o experimento, quanto maior a quantidade de EPS liberada na forma de carboidrato, menor o desempenho do reator para a produção de hidrogênio.

Como ilustra a Figura 5.22, o reator que apresentou maior excreção de carboidrato foi em ordem decrescente R060>R030>R188>R124. Recordando os valores de produção de hidrogênio, é esse mesmo perfil apresentado para a produção só que em ordem inversa com o R124 apresentando os melhores resultados de produção volumétrica de hidrogênio e

rendimento. Supõe-se que além de carboidratos resultantes da formação de EPS, essa quantidade de carboidratos aderidos ao suporte seja resultado da própria água residuária empregada.

Quando se analisa esses resultados à luz dos conceitos a cerca da transferência de massa envolvida, é sugerido que essa alta concentração de carboidratos na superfície do biofilme possa ter dificultado a penetração de substrato para dentro do biofilme. Levando-se em consideração que nessas condições o gradiente de concentração era menor, quanto maior a quantidade de carboidratos presente na rede reticular do biofilme, menor a entrada de substrato para o biofilme e, conseqüentemente, menor a quantidade de substrato necessária para a produção de hidrogênio.

Porém, a grande questão é entender o porquê de o reator com menor velocidade superficial apresentou maior formação de carboidratos. Sabe-se que em situações em que há limitação de um nutriente necessário a manter a atividade celular, que não seja carbono ou outra fonte de energia, os microrganismos passam a sintetizar os exopolissacarídeos. Condição de altas concentrações de substrato também pode contribuir para a formação de polímeros extracelulares (SOUZA *et al.*, 2004). Essa produção tem como intenção manter ativo o funcionamento celular. Assim, quantidades de exopolissacarídeos são formadas a fim de manter essa atividade. Logo, supõe-se que nos reatores em que a velocidade de ascensão era menor, as condições de mistura não eram favoráveis à penetração dos nutrientes pela camada de biofilme. Com o aumento do grau de turbulência resultado do aumento da velocidade ascensional aplicada ao reator, pode ter ocorrido uma melhora dos parâmetros de transferência de massa e posterior melhor trânsito entre biofilme/substrato. Assim, os microrganismos puderam direcionar seu metabolismo para a produção de hidrogênio ao invés de direcionar para a manutenção celular. Entretanto, não se pode afirmar de maneira concreta tal hipótese tendo em vista que não foram realizados ensaios de transferência de massa a fim de avaliar os parâmetros envolvidos.

As Figuras 5.23, 5.24, 5.25 e 5.25 apresentam o comportamento individual da produção de exopolissacarídeos na forma de carboidratos para cada reator em função do rendimento e produção volumétrica de hidrogênio. Observa-se que para o R030, houve um aumento da quantidade de carboidratos formados com o aumento do TDH. Esse resultado de certa forma se mostra antagônico à hipótese levantada anteriormente, porém, sugere que as condições de transferência de massa podem se sobrepor sobre os fatores metabólicos. Assim, a taxa de produção de hidrogênio foi maior que a taxa de geração de EPS pelos microrganismos presentes.

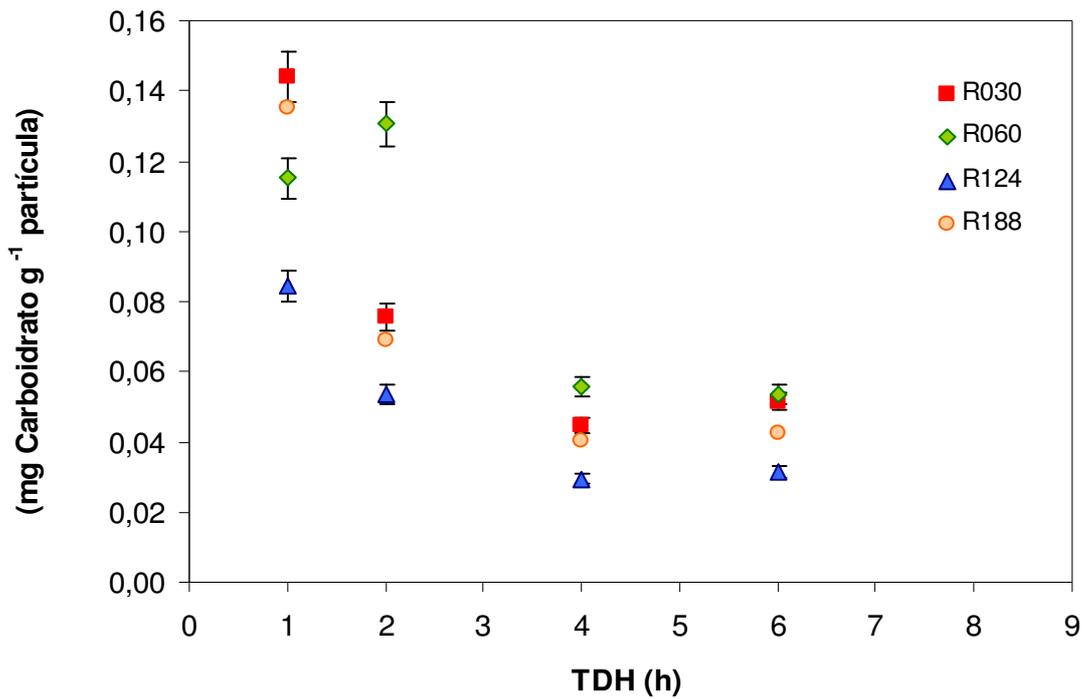


Figura 5.22 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula nos reatores R030, R060, R124 e R188.

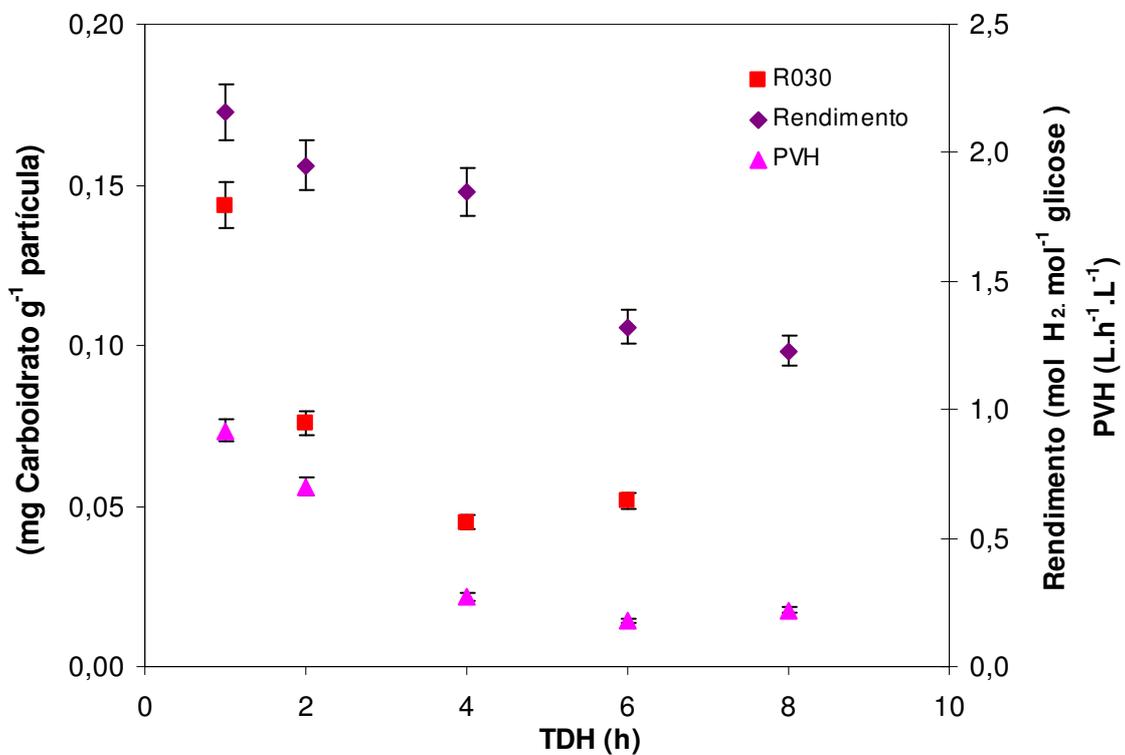


Figura 5.23 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.

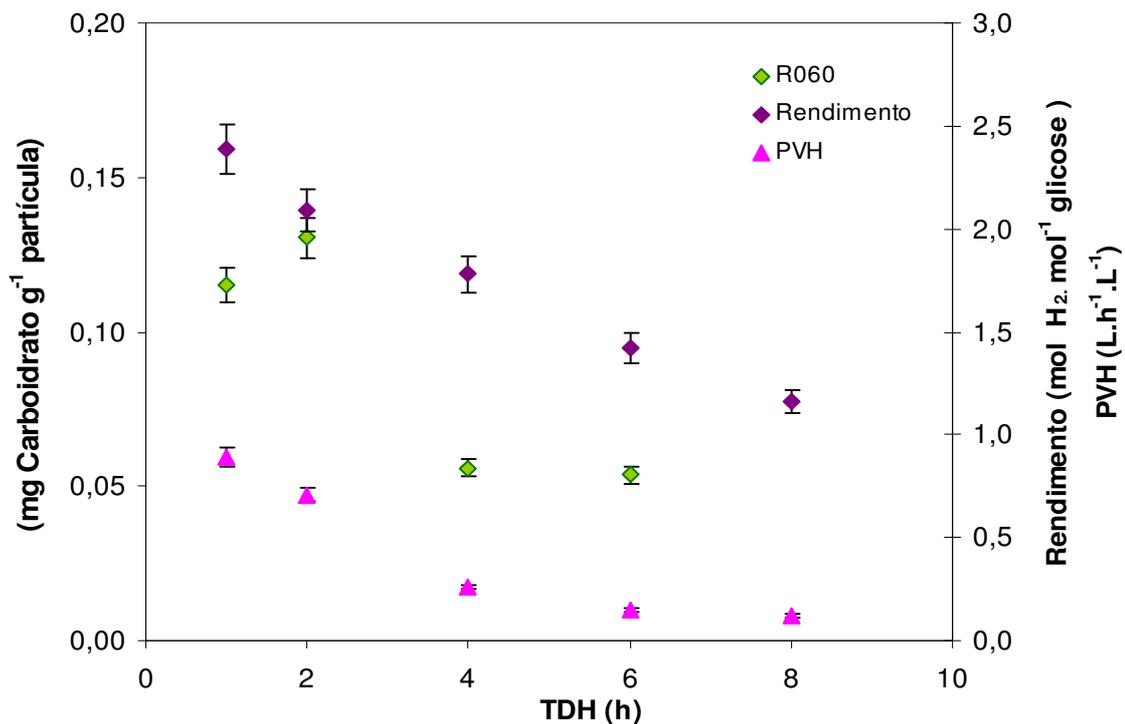


Figura 5.24 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.

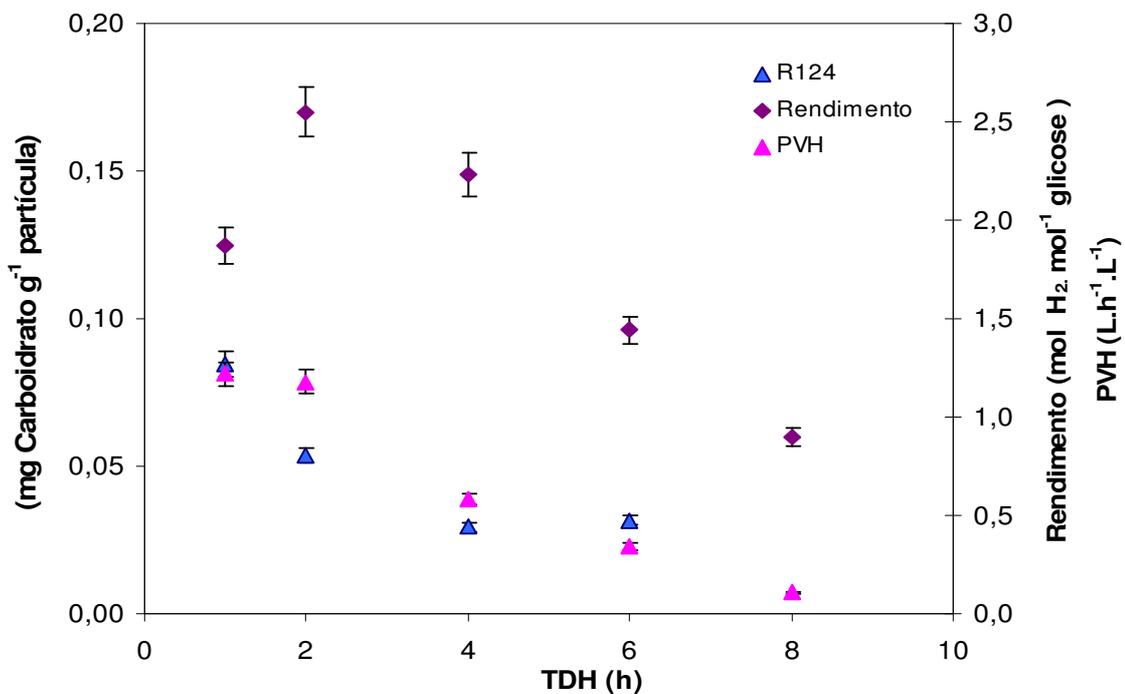


Figura 5.25 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.

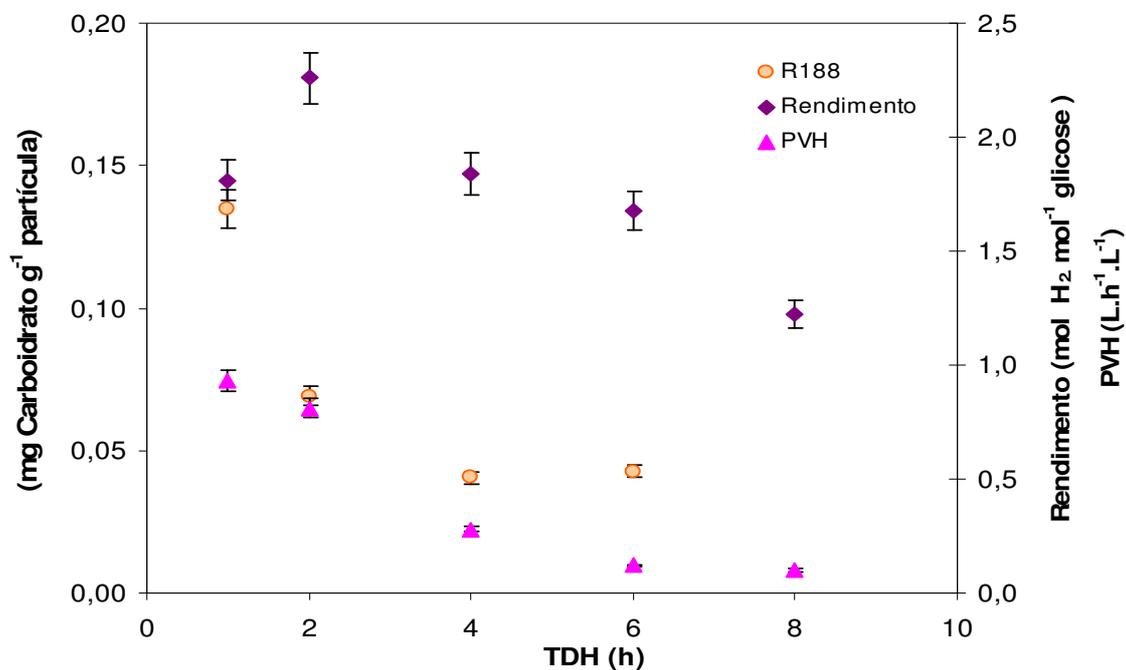


Figura 5.26 Massa de polímeros extracelulares excretados na forma de carboidratos por grama de partícula, rendimento de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.

### 5.8 Biomassa aderida

Durante todas as fases operadas, os reatores produziram grande quantidade de biomassa de modo que em algumas etapas foi necessário fazer a lavagem do reator a fim de arrastar do leito a biomassa suspensa na forma de grânulos e flocos como também na biomassa aderida em excesso às partículas. Tal procedimento foi necessário a fim de evitar o empacotamento do leito, entretanto, durante o TDH de 2h, o R124 e R188 passaram por situações de empacotamento sendo necessária a lavagem. Os reatores R030 e R060 também passaram por empacotamento no TDH de 6h.

A Figura 5.27 compara o crescimento da biomassa nas partículas para os quatro reatores utilizados em função da etapa operada. Os reatores com maiores velocidades ascensionais apresentaram os maiores valores de biomassa aderida. De maneira geral, houve o crescimento da biomassa com o aumento do TDH. Entre os reatores fluidizados esse aumento foi até o TDH de 2h, a partir do qual houve um decréscimo da biomassa aderida às partículas. Possivelmente, devido as maiores condições de turbulência do meio que vieram a provocar o despreendimento de biomassa. Os reatores de leito expandido apresentaram sempre uma

tendência de crescimento com a diminuição do TDH. Acredita-se que num TDH mais baixo haja um decaimento da biomassa aderida nos reatores de leito expandido em função das maiores condições de turbulência. RABAH *et al.*(2004) já alertaram para essa condição quando realizaram um experimento também em reator de leito fluidizado para a desnitrificação de efluente rico em nitrato. Os autores observaram que diante do aumento da velocidade superficial aplicada, a tensão de cisalhamento exercida nas partículas aumentava. Esse aumento da tensão de cisalhamento provocou uma alta taxa de desprendimento do biofilme.

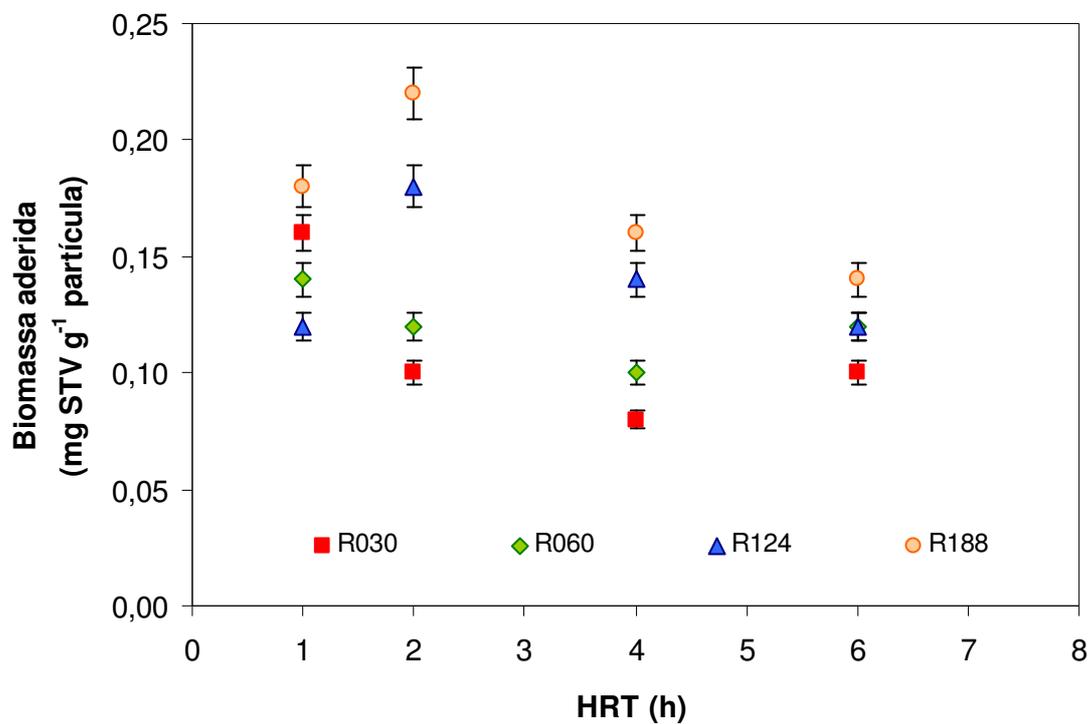


Figura 5.27 Crescimento da biomassa aderida ao longo dos TDH aplicados para nos reatores R030, R060, R124 e R188.

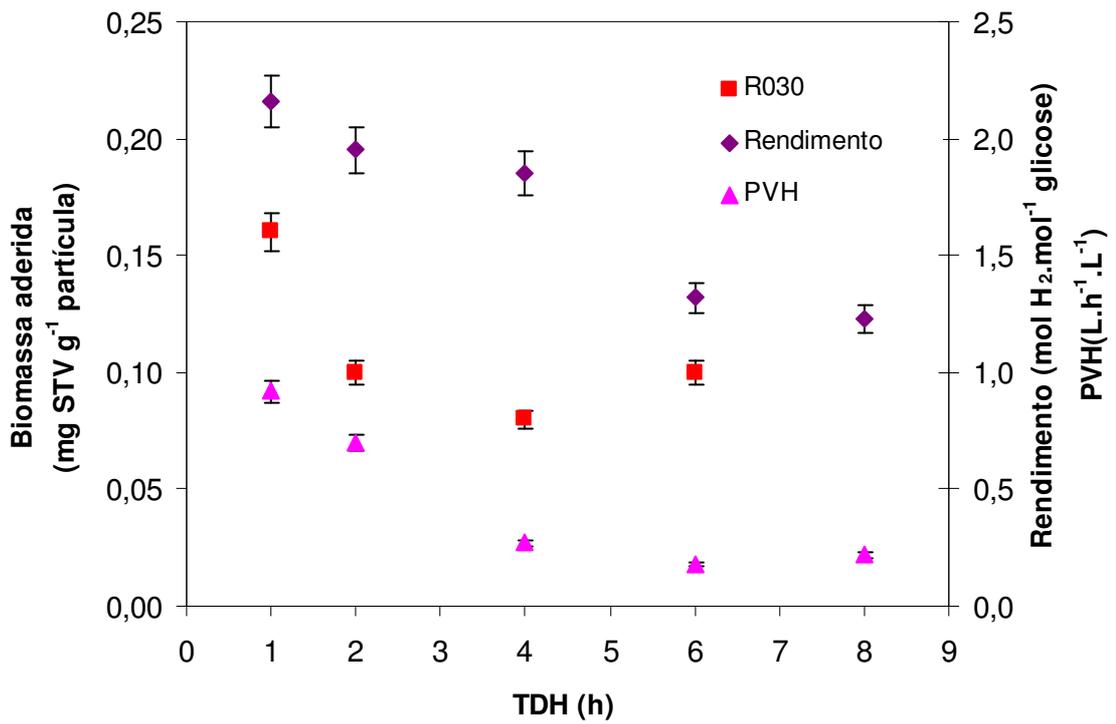


Figura 5.28 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R030.

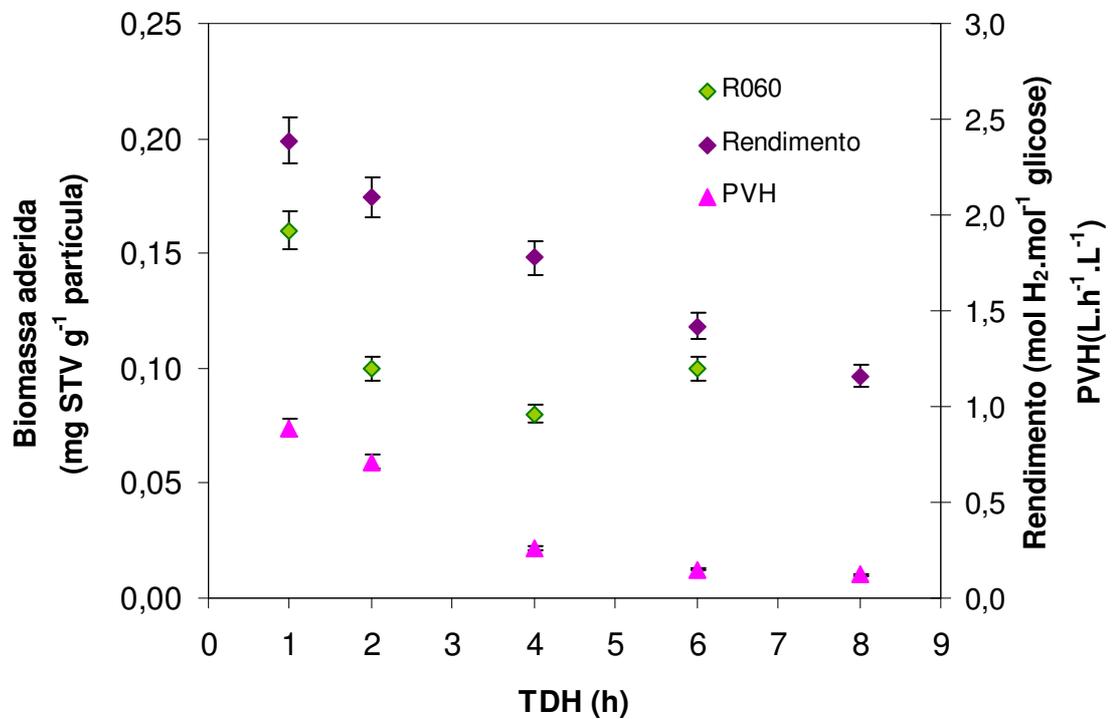


Figura 5.29 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R060.

As figuras 5.28, 5.29, 5.30 e 5.31 apresentam os resultados obtidos da biomassa aderida em relação ao rendimento e a produção volumétrica de hidrogênio para cada reator operado. A Figura 5.28 apresenta este comportamento para o reator R030. Como se observa, a biomassa aderida aumentou a medida que se diminuía o TDH aplicado. À exceção entre a transição do TDH de 6 e 4h. Durante o TDH de 6h, houve grande acúmulo de biomassa nas partículas fazendo-se necessária a lavagem do leito a fim de evitar o empacotamento do sistema o que poderia levar a um aumento excessivo da perda de carga e a necessidade de aplicação de maior potência por parte da bomba a fim de manter os níveis iniciais de operação. O processo de lavagem do reator consistiu no aumento da vazão ascensional aplicada através do aumento da vazão aplicada pelas bombas de recirculação. Tanto o R030 quanto o R060 (Figura 5.29) precisaram desprender o excesso da biomassa através do aumento da vazão de recirculação. Esse fato explica o comportamento da queda da biomassa aderida sob o TDH de 4h. A partir desse TDH de 4h até 1h a biomassa aderida apresentou uma linha crescente. A produção de hidrogênio e o rendimento se mostraram ligados à quantidade de biomassa aderida de modo que: quanto maior a biomassa aderida, maior a produção de hidrogênio no reator. Já para o R060 a biomassa estava intimamente ligada ao rendimento de hidrogênio. Quanto maior a biomassa, maior o rendimento apresentado. De fato, o desenvolvimento da biomassa propicia a retenção da cultura microbiana dentro do reator, evitando que ela seja arrastada. Logo, é de se esperar que os reatores que conseguirem manter uma quantidade de biomassa aderida, apresentem melhores condições para a produção de hidrogênio.

As Figuras 5.30 e 5.31 ilustram a adesão da biomassa às partículas nos reatores R124 e 188 que operavam sob condições de mínima fluidização e 1,5 vmf, respectivamente. Observa-se o crescimento da biomassa aderida à medida que se faz a diminuição do TDH aplicado aos reatores. Sob o TDH de 1h houve um decaimento da biomassa aderida. Provavelmente esse despreendimento de biomassa se deu por conta das maiores condições de escoamento sob o TDH de 1h. O rendimento de hidrogênio bem como a produção volumétrica de hidrogênio também apresentou um comportamento de crescimento até o TDH de 1h seguido de queda. Esse fato colabora com a influência exercida pelo crescimento ótimo da biomassa em reatores de crescimento aderido para a produção de hidrogênio.

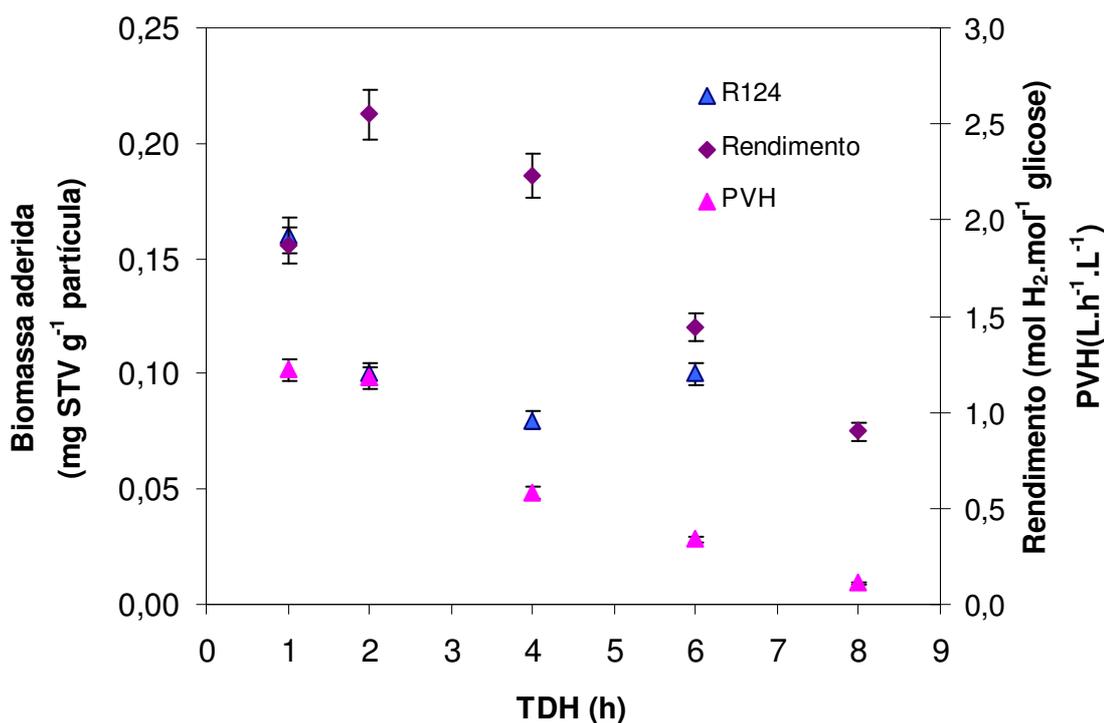


Figura 5.30 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R124.

Uma das questões que merece ser citada em relação a biomassa é que inicialmente pretendia-se analisar o efeito da expansão do leito de partículas na produção de hidrogênio. Essa expansão seria realizada pela aplicação de diferentes velocidades ascensionais tal como foi realizado e seriam depois controladas devido à formação da biomassa aderida as partículas. Essa biomassa aderida tem a propriedade de alterar as características físicas da partícula como densidade, espessura e formato (NICOLELLA *et al*, 2000). Segundo DIEZ-BLACO *et al*. (1995), a velocidade ascensional necessária para manter uma determinada expansão decresce devido a diminuição da densidade da partícula e por fim da velocidade terminal da partícula. Assim, mantendo as mesmas condições de velocidade aplicadas ao leito, haveria uma expansão do leito em decorrência do crescimento da biomassa. Entretanto, durante o presente experimento, não foi possível verificar tal comportamento. Possivelmente, devido a algumas condições de empacotamento relatadas no experimento que impossibilitaram durante algumas etapas a expansão desejada.

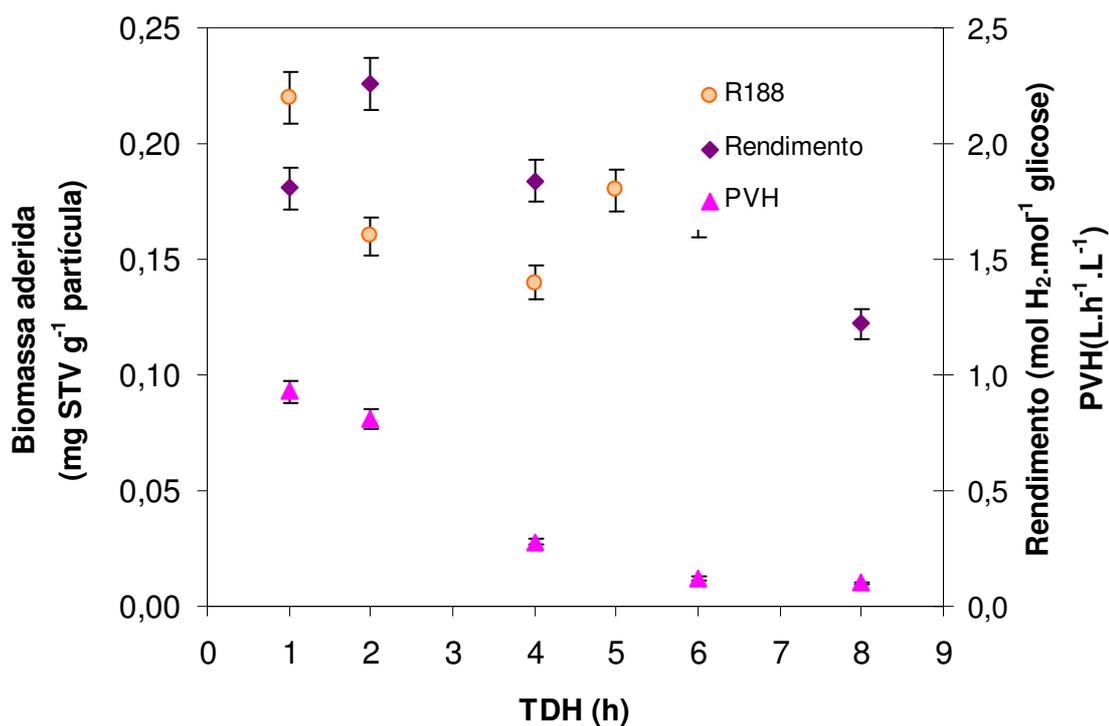


Figura 5.31 Crescimento da biomassa aderida, rendimento da produção de hidrogênio e produção volumétrica de hidrogênio no R188.

### 5.9 Microscopia eletrônica de varredura

As microscopias apresentadas mostram a morfologia da comunidade microbiana aderidas às partículas de cada reator. Foi escolhido o TDH que tenha apresentado os melhores resultados de rendimento de produção de hidrogênio para cada reator, sendo assim, as fotografias são referentes ao TDH de 1h para os reatores R030 e R060 e o TDH de 2h para os reatores R124 e R188.

Como se observa nas amostras, houve boa adesão de microrganismo com estruturas em formas de bacilos semelhantes a Clostridium. O lodo suíno que foi utilizado neste trabalho é característico por possuir grande presença de Clostridium. Esse gênero é considerado como grande produtor de hidrogênio.

Comparativamente houve presença de microrganismos em todos os reatores analisados de modo que a análise de MEV estão apenas confirmando a adequação do inóculo utilizado como produtor de hidrogênio. Além disso, foi observada a boa adesão dos microrganismos as partículas de argila expandida.

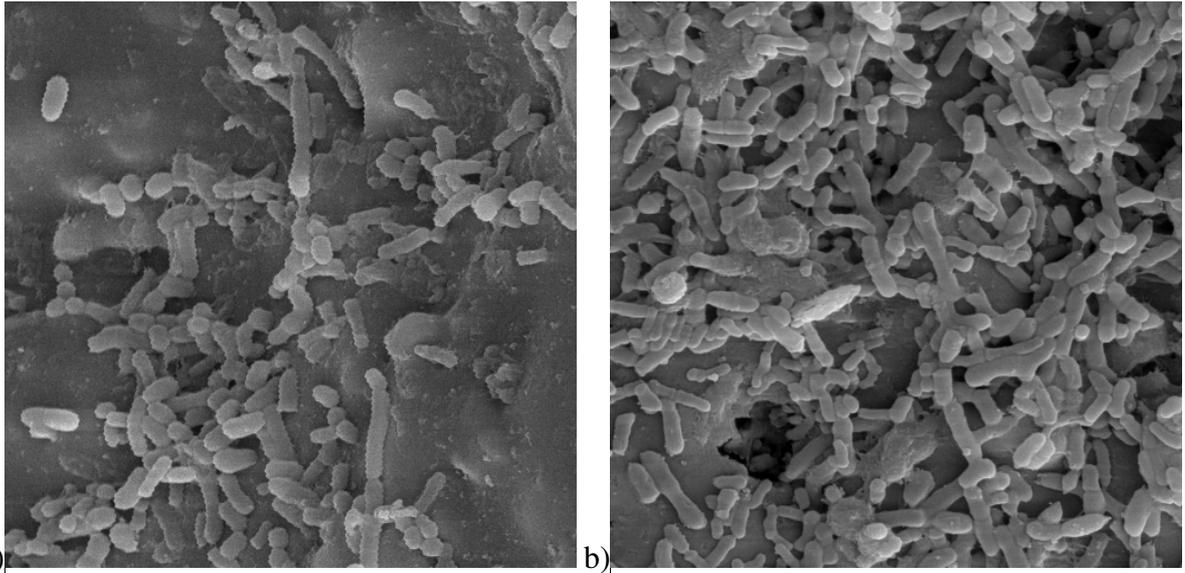


Figura 5.32 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R030 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e de b) TDH de 1h

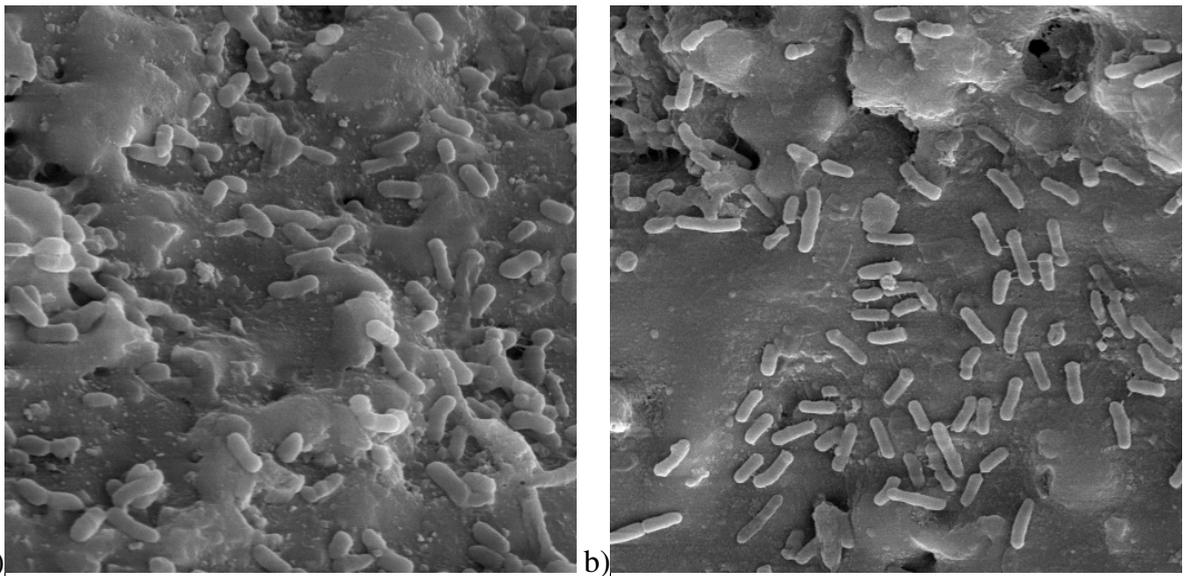


Figura 5.33 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R060 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h

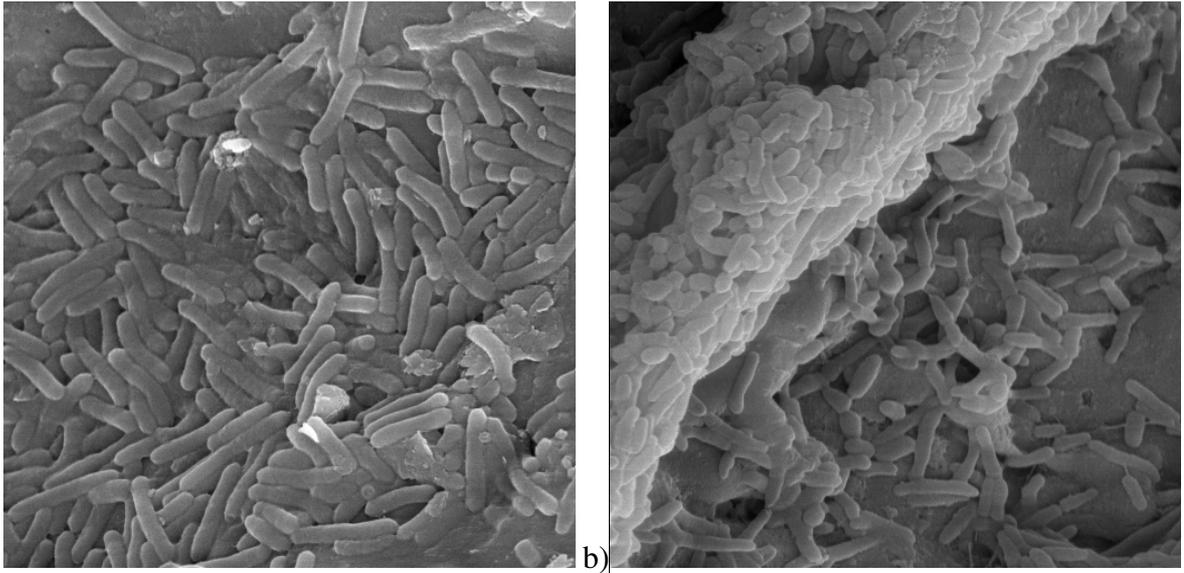


Figura 5.34 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R124 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h

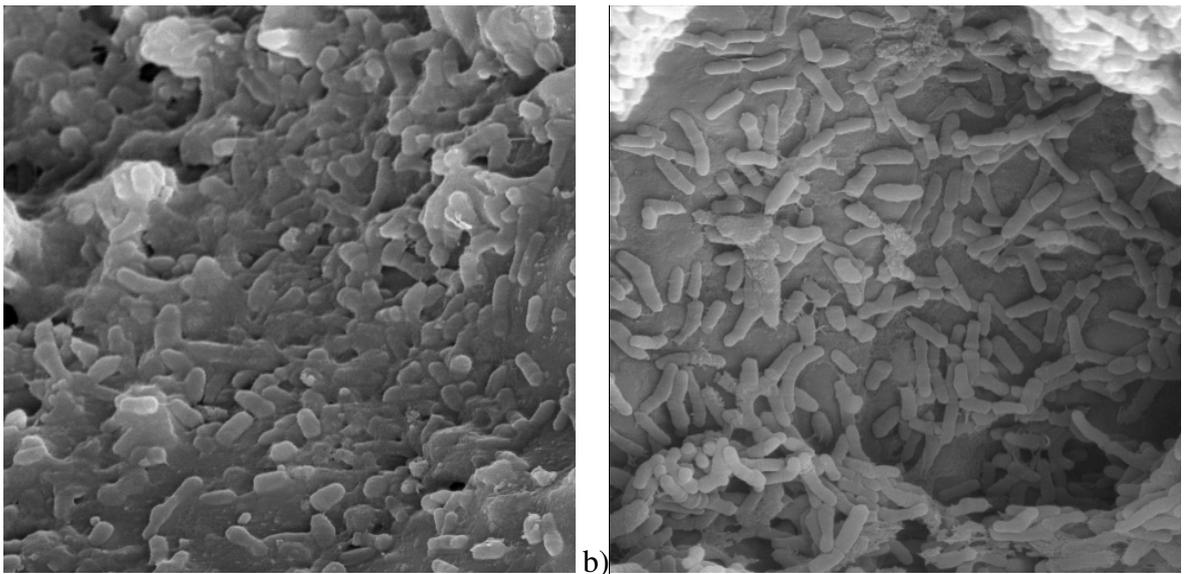


Figura 5.35 Microscopia eletrônica de varredura dos microrganismos aderidos às partículas no reator R188 sob o aumento de 5000x no a) TDH de 8h e sob o b) TDH de 1h

## CAPÍTULO 6 CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou a aplicabilidade dos reatores anaeróbios de leito expandido e fluidizado para a produção de hidrogênio diante dos dados obtidos na execução do experimento.

Foi verificada que o aumento da velocidade ascensional aplicada em cada reator propiciou um aumento na produção volumétrica de hidrogênio, porém não houve influencia clara sobre o rendimento de hidrogênio e conteúdo de hidrogênio. A produção de H<sub>2</sub> foi crescente até que houve uma condição de escoamento limite a partir da qual os níveis de rendimento de produção de hidrogênio decaíram.

O reator R124 que trabalhou numa condição de mínima fluidização foi o reator que apresentou as melhores condições para a produção de hidrogênio, apresentando valores máximos de produção de 1,22 L.h<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup>. O rendimento foi de 2,55 mol H<sub>2</sub>/ mol de glicose e o conteúdo do biogás ficou entre 40,53 e 67,57 %.

O TDH ótimo observado para os reatores expandidos foi em 1h enquanto que nos reatores fluidizados o TDH ótimo foi de 2h.

Houve grande produção de etanol em todos os reatores empregados e durante todas as fases de operação, evidenciando a presença de uma rota alternativa de produção de hidrogênio onde há a produção concomitante de hidrogênio e etanol. Os principais metabólitos formados nos reatores de leito expandido (R030 e R060) foram o ácido acético e etanol. A rota etanólica foi a rota preferida sendo mais evidente nos reatores de leito fluidizado cuja proporção de etanol formado chegou a 80% dos metabólitos formados.

O tratamento térmico empregado se mostrou eficiente tendo em vista que não foi detectada a presença de metano em nenhuma das etapas executadas em todos os reatores.

A taxa de carregamento orgânico afetou positivamente a produção de hidrogênio até a TCO de 61 kg.DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> a partir da qual não houve melhora da produção em consequência da provável sobrecarga do meio reacional.

A produção de polímeros extracelulares mostrou relação com a velocidade ascensional aplicada de modo que quanto maior a velocidade, menor a quantidade de exopolissacarídeos. Além das maiores condições de turbulência devido as maiores velocidades aplicadas, fatores sobre manutenção celular foram possíveis causas para essa relação.

O aumento da velocidade ascensional levou ao aumento da biomassa, entretanto não provocou a expansão do leito devido às mudanças físicas da biopartícula.

A cultura microbiana presente nos reatores consistiu de microrganismo com formatos de bacilos semelhante a Clostridium.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, E.L.C.; BARROS, A.R.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SILVA, E.L. Anaerobic Fluidized Bed Reactor with Expanded Clay as Support for Hydrogen Production thorough Dark Fermentation of Glucose. *International Journal of Hydrogen Energy* 34:783-790, 2009.
- BARROS, A.R.; AMORIM, E.L.C.; REIS, C.M.; SHIDA, G.M.; SILVA, E.L. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydraulic retention time. *International Journal of Hydrogen Energy* 35: p. 3379-3388, 2010.
- BITTON, G. Waterwaste Microbiology. Terceira Edição. Wiley – Liss. New York , 2005.
- CASTELLÓ, E.; SANTOS, C.G.; IGLESIAS, T., PAOLINO, G.; WENZEL, L.; BORZACONNI, L.; ETCHEBEHERE, C. Feasibility of Biohydrogen Production from Cheese Whey Using UASB Reactor : Links Between Microbial Community and Reactor Performance. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34: p.5674-5682, 2009.
- CHANG, J.S.; LEE, K.S.; LIN, P.J. Biohydrogen Production with Fixed-Bed Bioreactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27: p. 1167 – 1174, 2002.
- CHANG, F.Y.; LIN, C.Y. Biohydrogen Production Using an Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29: 33 – 39, 2004
- CHEN, C.C.; LIN, C.Y. Using Sucrose as a Substrate in an Anaerobic Hydrogen-Producing Reactor. *Advances in Environmental Research*, 7: 695–699, 2003
- DABROCK, B.; BAHL, H.; GOTTSCHALK, G. Parameters affecting Solvent Production by *Clostridium pasteurianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58:p.1233-1239, 1992.
- DAS, D.; VEZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26, 13-28, 2001

- DEL NERY, V. Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo de partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo. Dissertação (Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1987.
- DIEZ-BLANCO, V.; ENCINA, P.A.G.; FDZ-POLANCO, F. Effects of biofilm growth, gas and liquid velocities on the expansion of an anaerobic fluidized bed reactor (afbr). *Water Research*, 29:p.1649-1655, 1995.
- DILLALO, R; ALBERTSON,O.E. Volatile acids by direct titration. *Jornal Water Pollution Control Federeation*, 33:356-365, 1961
- FAN, Y.; LI, C.; LAY, J.J.; HOU, H.; ZHANG, G. Optimization of Initial Substrate and pH Levels for Germination of Sporing Hydrogen-Producing Anaerobes in Cow Dung Compost. *Bioresource Technology*, 91: 189–193, 2004.
- FANG, H.H.P.; LIU, H. Effect of pH on Hydrogen Production from Glucose by a Mixed Culture. *Bioresource Tecnology*, 82: 87-93, 2002.
- FANG, H.H.P.; ZHU, H; ZHANG, T. Phototrophic hydrogen production from glucose by pure and co-cultures of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter sphaeroides*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31: p. 2223–2230, 2006.
- FERNANDES, B.S. Produção de Hidrogênio em Reator Anaeróbio de Leito Fixo. 100f. Tese (Doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- FOUST, A.S.; WENZEL, L.A.; CLUMP C.W.;MAUS, L.; ANDERSEN, L.B. (1982) *Princípios das Operações Unitárias*. Volume único. Segunda Edição. São Paulo.
- GOMIDE, R. Operações Unitárias. Operações com Sistemas Sólidos Granulares. Vol. 1 São Paulo, Edição do Autor, 1983.

- GORDOUN, R.; VERMANDE, P. Effects of propionic acid concentration on anaerobic digestion of pig manure. *Biomass*, 13:p1-12., 1987.
- GRADY JR.,C.L.P; DAIGGER, G.T.; LIM, H.C. Biological Wastewater Treatment. Segunda edição. New York- Basel. Marcel Dekker, Inc., 1999.
- GUO, W.Q.; REN, N.Q.; WANG, X.J.; XIANG, W.S.; MENG, Z.H.; DING, J. QU, Y.Y.; ZHANG, L.S. Biohydrogen Production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*,33:p.4981-4988, 2008.
- HWANG, M.H.; JANG, N.J.; HYUN, S.H.; KIM, S.A. Anaerobic bio-hydrogen production from Ethanol fermentation: the role of pH. *Journal of Biotechnology*, 111, p.297-309.,2004..
- ISLAM, R.; CICEK, N.; SPARLING, R.; LEVIN, D. Effect of Substrate Loading on Hydrogen Production during Anaerobic Fermentation by *Clostridium thermocellum* 27405. *Appl Microbiol Biotechnol*, 72: p. 576–583, 2006.
- KAPDAN, I.K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 569–582, 2006.
- KIM, I.S.; HWANG, M.H.; JANG, N.J.; HYUN, S.H.; LEE, S.T. Effect of Low pH on the Activity of Hydrogen Utilizing Methanogen in Bio-Hydrogen Process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29: p. 1133 – 1140, 2004.
- KIM, M.S.; BAEK, J.S.; YUN, Y.S.; SIM, S.J.; PARK, S. Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: anaerobic conversion and photosynthetic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31: p. 812-816, 2006.
- KIM, S; HAN, S; SHIN, H. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16 S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. *Process Biochemistry* , 41: 199-207, 2006b.

- KOSKINEN, P.E.P.; KAKSONEN, A.H.; PUHAKKA, J.A. The Relationship Between Instability of H<sub>2</sub> Production and Compositions of Bacterial Communities Within a Dark Fermentation Fluidized-Bed Bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 97:742-758, 2006.
- KRAEMER, J.T.; BAGLEY, D.M. Supersaturation of dissolved H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> during fermentative hydrogen production with N<sub>2</sub> sparging. *Biotechnology letters*, 28:p.1485-1491, 2006.
- KRAEMER, J.T.; BAGLEY, D.M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. *Biotechnology letters*, 29: p.685-695, 2007.
- KUNII, D; LEVENSPIEL, O. Fluidization Engineering. New York. John Wiley & Sons Inc, 1969.
- LAMED, R.J.; LOBOS, J.H.; SU, T.M. Effects of Stirring and Hydrogen on Fermentation Products of *Clostridium thermocellum*. *Applied and Environmental Microbiology* 54:p.1216-1221, 1988.
- LEE K.S.; LO, Y.S.; LO,Y.C; LIN, P.J.; CHANG, J.S., H<sub>2</sub> production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed-bed bioreactors. *Biotechnology Letters*, 25: 133–138, 2003.
- LEE, D.Y.; LI, Y.Y.; NOIKE, T. Continuous H<sub>2</sub> Production by Anaerobic mixed microflora in membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 100:p: 690 695, 2009.
- LEITE, J.A.C.; FERNANDES, B.S.; POZZI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Application of an Anaerobic Packed-bed bioreactor for the production of Hydrogen and Organic Acids. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33:p.579-586.
- LOWRY, O.; ROSEBROUGH, N.J., FARR, L.; RANDALL, R. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193:p.265-275. 1951.

- LEVIN, D.B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy*,29:p.173-185, 2003.
- LEVIN, D. B.; ISLAM, R.; CICEK, N.; SPARLING, R. Hydrogen Production by *Clostridium thermocellum* 27405 from Cellulosic Biomass Substrates. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31: p. 1496 – 1503, 2006.
- LIN, C.Y.; CHENG, C.H. Fermentative Hydrogen Production from Xylose Using Anaerobic Mixed Microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31: p.832- 840, 2006.
- LIN, C. WU, S. CHANG, J. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicone gel immobilized anaerobic sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31:p.2200-2210, 2006b.
- LIN, C.Y.; HUNG, W.C. Enhancement of fermentative hydrogen/ethanol production from cellulose using mixed anaerobic cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*,33:p.3660-3667, 2008.
- MAINTINGUER, S.I.; FERNANDES, B.S.; DUARTE, I.C.S.; SAAVEDRA, N.C.; ADORNO, M.A.T.; VARESCHE, M.B. Fermentative Hydrogen Production by Microbial Consortium. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, p.4309-4317, 2008.
- MANISH,S.; BANEERJE, R. Comparison of biohydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33: 279 – 286, 2008.
- METCALF e EDDY, 1979. Metcalf and Eddy, Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse. , McGraw-Hill, Inc., New York, 1979.
- MOHAN, S.V.; BHASKAR, Y.V.; KRISHNA, P.M.; RAO, N.C.; BABU, V.L.; SARMA, P.N. Biohydrogen production from chemical wastewater as substrate by selectively enriched anaerobic mixed consortia: Influence of fermentation pH and substrate composition. *International Journal of Hydrogen Energy*.32: p.2286- 2295, 2007.

- NICOLLELA, C; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology* , 80, 1–33, 2000.
- RABAH, F.K. J.; DAHAB, M.F. Biofilm and biomass characteristics in high-performance fluidized-bed biofilm reactors. *Water Research*, 38, 4262–4270, 2004.
- RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A; LATA, K.; KISHORE, V.V.N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ,4, 135±156, 2000.
- REN, N.; LI, J.; Li, B.; WANG, Y.; LIU, S. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31:p.2147-2157, 2006.
- RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved alkalimetric monitoring anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 58:406-411, 1986.
- SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J.B.; HAMELERS, H.V.M.; LETTINGA, G. A review: The Anaerobic Treatment of Sewage in UASB and EGSB reactors.
- SHIDA, G.M. Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbico de leito fluidificado. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos , Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- SHIDA, G.M.; BARROS, A.R.; REIS, C.M.; AMORIM, E.L. C.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SILVA, E.S. Long-term Stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat treated anaerobic sludge inoculum. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34: p. 3679-3688, 2009.
- SHOW, K.Y.; ZHANG, Z.P.; TAY, J.H.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIANG, W.J. Production of hydrogen in a granular sludge-based anaerobic continuous stirred tank reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 4744 – 4753, 2007.

- SUTHERLAND, I. W. Bacterial exopolysaccharides. *Advances in Microbial Physiology*, 8: p.142-213, 1979.
- SKONIECZNY, M.T.; YARGEAU, V. Biohydrogen production from wastewater by *Clostridium beijerinckii*: Effect of pH and substrate concentration. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 3288-3294, 2009.
- SOUZA, D.M.; GARCIZ-CRUZ, C.H. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. *Ciências Agrárias*, 25:p.331-340, 2004.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20<sup>th</sup> ed. American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation, Washington, DC, USA, 1998.
- VALDEZ-VAZQUEZ, I.; RIOS-LEAL, E.; CARMONA-MARTINEZ, A.; MUÑOZ-PAZ, K.M.; POGGI-VARALDO, H.M. Improvement of Biohydrogen Production from Solid Wastes by Intermittent Venting and Gas Flushing of Batch Reactors Headspace. *Environmental Science and Technology*, 40: p. 3409–3415, 2006.
- VAN GINKEL, S.; LOGAN, B.E. Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. *Environmental Science and Technology*, 39: 9351-9356, 2005.
- WANG, L.; ZHOU, Q.; LI, F.T. Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production. *Biomass and Bioenergy*, 30:p.177-182, 2005.
- WANG, C.H.; CHANG, J.S. Continuous Biohydrogen Production from Starch with Granulated Mixed Bacterial Microflora. *Energy & Fuel*, 22: 93–97, 2008.
- WU, S. Y.; LIN, C.N.; CHANG, J.S. Hydrogen Production with Immobilized Sewage Sludge in Three-Phase Fluidized-Bed Bioreactors. *Biotechnology. Prog.*, 19: 828–832, 2003.

- WU, K.J.; CHANG, C.F.; CHANG, J.S. Simultaneous Production of Biohydrogen and Bioethanol with Fluidized-Bed and Packed-Bed Bioreactors Containing Immobilized Anaerobic Sludge. *Process Biochemistry*, 42: 1165–1171, 2007a.
- WU, K.J.; LO, Y.C.; CHEN, S.D.; CHANG, J.S. Fermentative production of biofuels with entrapped anaerobic sludge using sequential HRT shifting operation in continuous cultures. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 38:p.205-213, 2007b.
- WU, X; ZHU, J.; DONG, C.; MILLER, C.; Li, Y.; WANG, L.; YAO, W. Continuous Biohydrogen Production from Liquid Swine Manure Supplemented with Glucose using an Anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Hydrogen*, 34: p. 6636 – 6645, 2009.
- ZHANG, H.; BRUNS, M.A. LOGAN, B.E. Biological Hydrogen by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor. *Water Research*, 40. p.728-734, 2006
- ZHANG, Z.P.; SHOW, K.Y.; TAY, J.H.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIANG, W.J. Effect of Hydraulic Retention Time on Biohydrogen Production and Anaerobic Microbial Community. *Process Biochemistry*, 41: p. 2118–2123, 2006.
- ZHANG, Z.P.; TAY, J.H.; SHOW, K.Y.; YAN, R.; LIANG, D.T.; LEE, D.J.; JIANG, W.J. Biohydrogen Production in a Granular Activated Carbon Anaerobic Fluidized Bed Reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32: 185 – 191, 2007.
- ZHAO, B.H.; YUE, Z.B.; ZHAO, Q.B.; MU, Y.; YU, H.Q.; HARADA, H.; LI, Y.Y. Optimization of Hydrogen Production in a Granule-based UASB reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33:p. 2454-2461, 2008.
- ZHENG, X.J.; YU, H.Q. Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. *Journal of Environmental Management*, 74:p. 65-70, 2005.
- ZHU, H.; BELAND, M. Evaluation of Alternative methods of Preparing Hydrogen Producing Seeds from digested wastewater Sludge. *Wastewater Technology*, 31:p.1980-1988, 2006.

ZHU, H.; PARKER, W.; BASNAR, R.; PRORACKI, P.; FALLETA, P.; BÉLAND, M;  
SETO, P. Buffer Requirements for Enhanced Hydrogen Production in Acidogenic  
digestion of food wastes. *Bioresearch Technology*, 100: p.5097 – 5102, 2009.