

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

GUILHERME PEIXOTO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO  
FIXO E FLUXO ASCENDENTE A PARTIR DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE  
INDÚSTRIA DE REFRIGERANTES**

São Carlos - SP  
2008

GUILHERME PEIXOTO

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO  
FIXO E FLUXO ASCENDENTE A PARTIR DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE  
INDÚSTRIA DE REFRIGERANTES**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia  
de São Carlos, da Universidade de São Paulo,  
como parte dos requisitos necessários à  
obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Área de Concentração: Engenharia Hidráulica e  
Saneamento


Orientador: Prof. Associado Marcelo Zaiat

São Carlos - SP  
2008

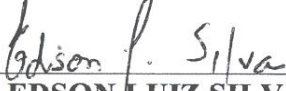
**FOLHA DE JULGAMENTO**

Candidato: Engenheiro **GUILHERME PEIXOTO**

Dissertação defendida e julgada em 28/04/2008 perante a Comissão Julgadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Associado **MARCELO ZAIAT (Orientador)**  
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)


Aprovado

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. **EDSON LUIZ SILVA**  
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **MAGALI CHRISTE CAMMAROTA**  
(Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ)

Aprovado

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia (Hidráulica e Saneamento)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Associado **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**  
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

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

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento  
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

GP379p Peixoto, Guilherme  
Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito  
fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária de  
indústria de refrigerantes / Guilherme Peixoto ;  
orientador Marcelo Zaiat. -- São Carlos, 2008.

Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área  
de Concentração em Hidráulica e Saneamento) -- Escola de  
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,  
2008.

1. Tratamento de águas residuárias. 2. Produção de  
hidrogênio. 3. Reator anaeróbio de leito fixo e fluxo  
ascendente. 4. Efluente de indústria de refrigerantes.  
I. Título.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, grandes mestres da vida.

Obrigado pelo amor, incentivo e dedicação.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família: meus pais, Luiz e Lourdes, e meu irmão Henrique, pelo carinho, suporte e confiança desde o início de minha caminhada.

Ao professor, orientador e companheiro, Marcelo Zaiat, pelos ensinamentos constantes, pela dedicação, confiança e por ter me oferecido a preciosa oportunidade de trabalhar numa pesquisa de caráter relevante.

Aos professores do Departamento de Hidráulica e Saneamento, em particular aos professores Marcelo Zaiat, Eugênio Foresti, Marcius Giorgetti, Marco Reali e Jurandyr Povinelli.

Ao Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo e demais professores da USP pela preocupação constante com o avanço tecnológico brasileiro e o ensino de qualidade.

À Janja, pelo auxílio freqüente nas análises cromatográficas.

À Kátia e Eloísa pelas análises microbiológicas.

À Pavi, Sá e Rose, pelos serviços prestados durante o curso de mestrado.

À todos do Laboratório de Processos Biológicos, que conviveram e compartilharam comigo uma etapa da vida tão importante:

- À Bruna, pela indispensável orientação no início do meu trabalho.

- À Renata, pela participação, incentivo e afeto.

- À Ana Flávia pelas ajudas prestadas na fase final de realização deste trabalho.

À todos os amigos que fiz no mestrado, em especial aos Engenheiros Gustavo Mockaitis, Jorge Pantoja e Ricardo Polisaitis. “Força e Honra !”.

À todos os professores que contribuíram para minha formação, desde a mais tenra infância.

À CAPES, pela bolsa de mestrado concedida e à FAPESP, por financiar o projeto temático.

Aos meus grandes companheiros e camaradas Mauro e William, amigos de toda uma vida.

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

## RESUMO

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

Este trabalho teve como objetivo a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo com fluxo ascendente utilizando-se efluente de indústria de refrigerantes. Os resultados obtidos demonstraram que a água residuária semi-sintética simulando efluente de indústria de refrigerantes tem um bom potencial de geração de hidrogênio. Dados da operação dos dois reatores utilizados mostraram que o maior rendimento foi alcançado pelo reator operado sem a adição de meio contendo nutrientes (R2), pois este foi capaz de atingir  $4,2 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  de substrato em contraste com  $2,5 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  de substrato, obtida pelo reator (R1), cujo afluente continha suplementação nutricional. Constatou-se que o reator operado sem adição de nutrientes (R2) apresentou continuidade na produção de hidrogênio, fato que não ocorreu com o reator R1, que exibiu uma produção efêmera e significativamente inferior. O melhor desempenho na velocidade de produção de hidrogênio e porcentagem do mesmo na composição do biogás também foi observado para o reator R2, que atingiu  $0,52 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  e 18,9% de  $\text{H}_2$  contra  $0,28 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  e 2,1% de  $\text{H}_2$  obtidos pelo reator com suplementação nutricional (R1). Após esta primeira etapa comparativa em que os reatores foram operados simultaneamente com TDH teórico de 0,5 h, prosseguiu-se apenas com a operação do reator R2, porém com tempo de detenção hidráulica teórico de 1 h, o que induziu uma maior conversão do substrato a ácidos e álcoois, mudou as características hidrodinâmicas do leito e afetou negativamente a produção de hidrogênio.

**Palavras chave:** Produção de hidrogênio, reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente, efluente de indústria de refrigerantes.



## ABSTRACT

PEIXOTO, G. **Hydrogen production by an upflow anaerobic packed-bed reactor using soft-drink wastewater**. Dissertation (Master of Engineering) – São Carlos School of Engineering, Department of Hydraulics and Sanitation, University of São Paulo, São Carlos, 2008.

This work was aimed on hydrogen production in an upflow anaerobic packed-bed reactor fed with soft-drink wastewater. The results obtained show that the semi-synthetic soft-drink wastewater has a good hydrogen generation potential. Data obtained from the operation of both reactors indicated that the reactor operated without the addition of medium containing macro and micronutrients (R2) provided higher hydrogen yield ( $4,2 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  of substrate) as compared to the reactor (R1) operated with the addition of nutrient medium, which achieved lower hydrogen production yield ( $2,5 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  of substrate). It was observed that the reactor operated without the addition of nutrients (R2) showed continuous hydrogen production, while the reactor R1 exhibited a short period of production and lower amounts of hydrogen. Better hydrogen production rate and percentage in the biogas were also observed for the reactor R2, which achieved  $0,52 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  and 18,9% of  $\text{H}_2$  against  $0,28 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  e 2,1% of  $\text{H}_2$  obtained by the reactor with nutrient addition (R1). After operation with HDT of 0,5 h, the reactor R2 was operated with theoretical HDT of 1 h. Under this condition, the substrate was mainly converted to acids and solvents, negatively affecting the hydrogen production and the hydrodynamic pattern of the reactor.

**Key words:** Hydrogen production, upflow anaerobic packed-bed reactor, soft-drink wastewater.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Processo fotossintético mostrando os dois fotosistemas (PS I e PS II) envolvidos na quebra da molécula de água e a produção de ATP e NADPH.	6
Figura 3.2	Pontos de geração e consumo de hidrogênio.	11
Figura 4.1	Fluxograma básico da fabricação de refrigerantes.	22
Figura 4.2	Fluxograma da fabricação de refrigerantes da Indústria e Comércio de Bebidas TICARE Ltda.	24
Figura 4.3	Dimensões do reator e aspecto construtivo final (medidas em mm).	29
Figura 4.4	Diagrama do sistema que foi utilizado no desenvolvimento do estudo.	29
Figura 4.5	Detalhe do material suporte empregado na confecção dos leitos fixos.	31
Figura 5.1	Variação do pH afluente (●) e do pH efluente (▲) do reator R1 (a) e do reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.	44
Figura 5.2	Degradação dos carboidratos em pelo Reator R1 (a) e R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.	45
Figura 5.3	Redução da DQO no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.	47
Figura 5.4	Produção de hidrogênio no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.	48
Figura 5.5	Distribuição dos ácidos orgânicos no efluente do reator R1 operado com TDH de 0,5 h.	50
Figura 5.6	Distribuição dos ácidos orgânicos no efluente do reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	52
Figura 5.7	Metabolismo do substrato na fermentação para produção de hidrogênio.	54
Figura 5.8	Distribuição dos álcoois e acetona no efluente do reator R1 operado com TDH de 0,5 h.	55

Figura 5.9	Distribuição dos álcoois e acetona no efluente do reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	56
Figura 5.10	Composição de H <sub>2</sub> (■) e CO <sub>2</sub> (■) no biogás gerado no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.	58
Figura 5.11	Análise microscópica da biomassa presente no reator R1 e no reator R2 operados com TDH de 0,5 h: (a) e (b) Amostras do reator R1; (c) e (d) Amostras do reator R2.	59
Figura 5.12	Análise microscópica de GRAM da biomassa presente no reator R1 e no reator R2 operados com TDH de 0,5 h: (a) e (b) Amostras do reator R1; (c) e (d) Amostras do reator R2.	61
Figura 5.13	Gel de DGGE (gradiente 30%-70%) com <i>primers</i> para o Domínio <i>Bacteria</i> proveniente de amostras dos reatores R1 e R2 operados com TDH de 0,5 h.	62
Figura 5.14	Árvore filogenética de consenso baseado nas seqüências das bandas recortadas do DGGE com <i>primers</i> para o Domínio <i>Bacteria</i> , das amostras provenientes do biofilme dos reatores operados com TDH de 0,5 h.	64
Figura 5.15	Variação do pH afluente (●) e do pH efluente (▲) do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	65
Figura 5.16	Degradação dos carboidratos pelo reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	66
Figura 5.17	Redução da DQO em % pelo reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	67
Figura 5.18	Vazão volumétrica do hidrogênio produzido no reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	68
Figura 5.19	Distribuição dos ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capróico ao longo da operação do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	69
Figura 5.20	Distribuição dos álcoois acetona, metano, etanol e n-butanol ao longo da operação do reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	70
Figura 5.21	Composição do biogás do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.	71

Figura 5.22	Curva F obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 30 minutos.	72
Figura 5.23	Curva E obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 30 minutos.	73
Figura 5.24.	Curva F obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 1 hora.	74
Figura 5.25.	Curva E obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 1 hora.	74
Figura 5.26	Curvas DTR para escoamento em tanques fechados.	76
Figura 5.26	Curvas de escoamento para modelo de N-reactores de mistura em série.	77

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Caracterização do despejo de uma indústria de refrigerantes.	19
Tabela 4.1	Produtos que compõem a água residuária industrial.	25
Tabela 4.2	Composição da água residuária semi-sintética.	26
Tabela 4.3	Resultados da caracterização da água residuária semi-sintética e comparação com o levantamento realizado pela CETESB.	26
Tabela 4.4	Composição da solução de nutrientes utilizada.	27
Tabela 4.5	Primers filogenéticos utilizados para o Domínio <i>Bactéria</i>	38
Tabela 4.6	Condições utilizadas na programação do aparelho para amplificação por PCR.	38
Tabela 4.7	Determinações analíticas e frequência de análises para monitoramento do reator.	42
Tabela 5.1	Concentração dos ácidos acético, butírico, cítrico e fórmico efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.	51
Tabela 5.2	Concentração dos ácidos isobutírico, isovalérico, láctico e propiônico efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.	51
Tabela 5.3	Concentração dos ácidos acético, butírico, cítrico e fórmico efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	53
Tabela 5.4	Concentração dos ácidos isobutírico, isovalérico, láctico e propiônico efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	53
Tabela 5.5	Concentração dos álcoois acetona, metanol, etanol e n-butanol efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.	55
Tabela 5.6	Concentração dos álcoois acetona, metanol, etanol e n-butanol efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.	57
Tabela 5.7	Informação das seqüências obtidas das bandas recortadas no DGGE com <i>primers</i> para o Domínio <i>Bacteria</i> de amostras provenientes dos reatores operados com TDH de 0,5 h (400 pb sequenciados).	63
Tabela 5.8	Ajuste dos modelos de N reatores em série e de dispersão longitudinal.	75

## NOMENCLATURA

A	área seccional do reator, (cm <sup>2</sup> )
D	diâmetro do reator, (cm)
L	comprimento do reator, (cm)
Q	vazão de bombeamento de líquido (L.min <sup>-1</sup> )
$\varepsilon$	porosidade do leito, (%)

## ABREVIATURA

CO	carga orgânica
CO aplic.	carga orgânica aplicada
DQO	demanda química de oxigênio
pH	potencial hidrogeniônico
RAHLF	reator anaeróbio horizontal de leito fixo
ST	sólidos totais
SF	sólidos fixos
SV	sólidos voláteis
SST	sólidos em suspensão totais
SSV	sólidos em suspensão voláteis
TDH	tempo de detenção hidráulica

## SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE NOMENCLATURAS E ABREVIATURAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Produção Biológica de Hidrogênio	5
3.1.1. Produção biológica via fotossíntese	5
3.1.1.1. Bactérias fotossintéticas	7
3.1.1.2. Algas fotossintéticas	8
3.1.2. Produção biológica via fermentação	9
3.1.2.1. Bactérias fermentativas	10
3.2. Produção de Hidrogênio em Reatores Anaeróbios	10
3.2.1. Influência do tempo de detenção hidráulica	12
3.2.2. Importância do pH	13
3.2.3. Efeito da temperatura	13
3.2.4. Efeito do inóculo	14
3.2.5. Características do substrato	15
3.2.6. Reatores de leito fixo	16
3.3. Água Residuária da Indústria de Refrigerantes	18
3.4. Considerações Finais	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Águas Residuárias de Indústrias de Refrigerantes	21
4.2. Água Residuária	24
4.3. Reatores Anaeróbios de Leito Fixo e Fluxo Ascendente	27
4.4. Material Suporte	30

4.5.	Inóculo	31
4.6.	Métodos Analíticos	32
4.7.	Medição da Vazão Volumétrica do Biogás	36
4.8.	Exames Microbiológicos	36
4.8.1.	Análise microscópica	36
4.8.2.	Análise microbiana por técnicas de biologia molecular	37
4.9.	Estudos Hidrodinâmicos	39
4.10.	Operação dos Reatores	40
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1.	Primeira Etapa do Experimento – Avaliação do Desempenho dos Reatores R1 e R2	43
5.1.1.	Variação do pH	44
5.1.2.	Utilização de carboidratos	45
5.1.3.	Redução da DQO	46
5.1.4.	Produção de hidrogênio	47
5.1.5.	Geração de ácidos	49
5.1.6.	Geração de solventes	53
5.1.7.	Composição do biogás	57
5.1.8.	Exame de microscopia ótica	58
5.1.9.	Análises de biologia molecular	61
5.2.	Segunda Etapa do Experimento – Avaliação do Desempenho do Reator R2 submetido ao TDH Teórico de 1 h	65
5.2.8.	Determinação do padrão de escoamento do reator R2	71
6.	CONCLUSÕES	78
7.	SUGESTÕES	80
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
9.	APÊNDICE A	91
10.	APÊNDICE B	98



# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

---

Atualmente, grande parte da comunidade científica tem estabelecido diversas relações entre o aquecimento global e o aumento da emissão de gases produzidos pela queima de combustíveis. Goldemberg (1992), aponta que a principal parcela destes gases, cerca de 57%, deriva da produção e uso de energia, sendo esta originada principalmente de combustíveis fósseis, responsáveis por cerca de 80% do suprimento da demanda energética mundial (DAS *et al.*, 2001).

Ao se tomar por base as projeções realizadas pela Agência Internacional de Energia (IEA) sobre o aumento da demanda energética até 2030, que conferem um acréscimo no consumo de energia da ordem de 60%, pode se inferir que, em futuro próximo, o aquecimento global e a escassez de recursos energéticos fósseis se agravarão se outras fontes e formas de produção de energia não forem aplicadas. Essas duas questões interligadas encontram solução na utilização de fontes renováveis de energia.

De acordo com Lay *et al.* (1999), o hidrogênio como fonte renovável de energia é uma alternativa bastante promissora, pois apresenta potencial de  $122 \text{ kJ.g}^{-1}$ , 2,75 vezes maior que a energia obtida a partir de hidrocarbonetos, além da sua utilização não gerar gases potencializadores do efeito estufa.

O dióxido de carbono gerado na produção do hidrogênio por meio do processo fermentativo integra o ciclo natural do carbono, não contribuindo com nenhum aumento na concentração dos gases do efeito estufa.

Geralmente, são quatro os processos básicos para a produção do gás hidrogênio a partir de fontes primárias de energia não-fósseis: (i) eletrólise da água; (ii) processos termoquímicos; (iii) processos radiolíticos e (iv) processos biológicos (LAY *et al.*, 1999).

As formas convencionais de produção de hidrogênio apresentam balanço energético desfavorável, uma vez que para a geração de hidrogênio via eletrólise consome-se de 4,5 a 5 kWh.m<sup>-3</sup> H<sub>2</sub> em eletrolizadores industriais de alta eficiência (STOJIC' *et al.*, 2003) e na reforma de vapor de metano é necessária a utilização de alta quantidade de energia para propiciar temperaturas de 970 a 1100 K e pressões superiores a 3,5 MPa (KOTHARI *et al.*, 2006).

A obtenção de hidrogênio por via biológica pode ocorrer por meio de dois processos: fotossintético e processo fermentativo, sendo que a fermentação é tecnicamente mais simples e também apresenta como vantagens altas velocidades de produção de hidrogênio, um catalisador (hidrogenase) que não requer suprimento direto de ATP, a possibilidade de integração com os sistemas de disposição de resíduos orgânicos e os baixos custos da tecnologia fermentativa (HAWKES *et al.*, 2002).

No aspecto econômico, as águas residuárias constituem matérias-primas que não envolvem custos na sua produção e a sustentabilidade do processo biológico aplicado a geração de hidrogênio a partir de águas residuárias pode ainda ser otimizado por meio da combinação da fermentação com a produção de subprodutos de alto valor agregado, como ácidos orgânicos e biopolímeros (HAWKES *et al.*, 2002).

As indústrias de refrigerantes de pequeno porte ocupam uma parcela bem

significativa do mercado, cerca de 30%, segundo o jornal “O Estado de São Paulo” de 14/08/2000 (MORAES, 2002). Dessa forma, a elevada disponibilidade do efluente deste processo industrial justifica o estudo de seu potencial de geração de hidrogênio via processo biológico de fermentação. A priori, sabe-se que esta água residuária apresenta possibilidade de produção de hidrogênio, pois contém frações significativas de sacarose e demais carboidratos, que são as fontes preferenciais para a geração de hidrogênio, segundo Hawkes *et al.* (2002).

Várias configurações de reatores são propostas para a geração de hidrogênio, entretanto, os biorreatores com biomassa imobilizada se destacam por permitir aplicação de elevado tempo de retenção celular em relação a pequenos tempos de retenção hidráulica (ZAIAT *et al.*, 1997).

Este trabalho se insere no contexto do início de um processo de viabilização de aumento de escala de um reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente destinado à produção de hidrogênio a partir de água residuária industrial, o que denota a busca por um processo de recuperação de energia, sustentável do ponto de vista ambiental e econômico, uma vez que a tecnologia anaeróbia, em geral, apresenta simplicidade técnica e baixos custos.

## **CAPÍTULO 2**

### **OBJETIVOS**

---

#### **2.1. Objetivo geral**

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de geração de hidrogênio a partir de água residuária de indústria de refrigerantes em reatores anaeróbios de leito fixo e fluxo ascendente.

#### **2.2. Objetivos específicos**

Os objetivos específicos desse projeto foram:

- Avaliar a necessidade de suplementação nutricional da água residuária para produção de hidrogênio;
- Avaliar o efeito do aumento do tempo de detenção hidráulica (TDH) sobre os parâmetros de desempenho da produção de hidrogênio.

## **CAPÍTULO 3**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

#### **3.1. Produção Biológica de Hidrogênio**

A produção biológica de hidrogênio tem se destacado por constituir uma alternativa menos agressiva ao ambiente, pois utiliza matérias-primas renováveis no seu processo, o que lhe confere a vantagem de se realizar independentemente da disponibilidade de combustíveis fósseis que, via de regra, quando empregados contribuem para o aumento da concentração de gases do efeito-estufa decorrentes da sua combustão.

Atualmente mais de 96% do hidrogênio produzido no mundo é derivado de combustíveis fósseis (Vijayaraghavan e Soom, 2004), por isso pesquisas em âmbito mundial estão sendo desenvolvidas explorando a produção biológica de hidrogênio via fotossíntese e fermentação.

##### **3.1.1. Produção biológica via fotossíntese**

De acordo com Hahn (2006), a fotossíntese ocorre nos cloroplastos das células vegetais. Em essência, esses cloroplastos contêm centros de reação chamados

de fotosistemas, que usam fótons de luz para criar um potencial de redução de elétrons. Um esquema simples do processo fotossintético é mostrado na Figura 3.1.

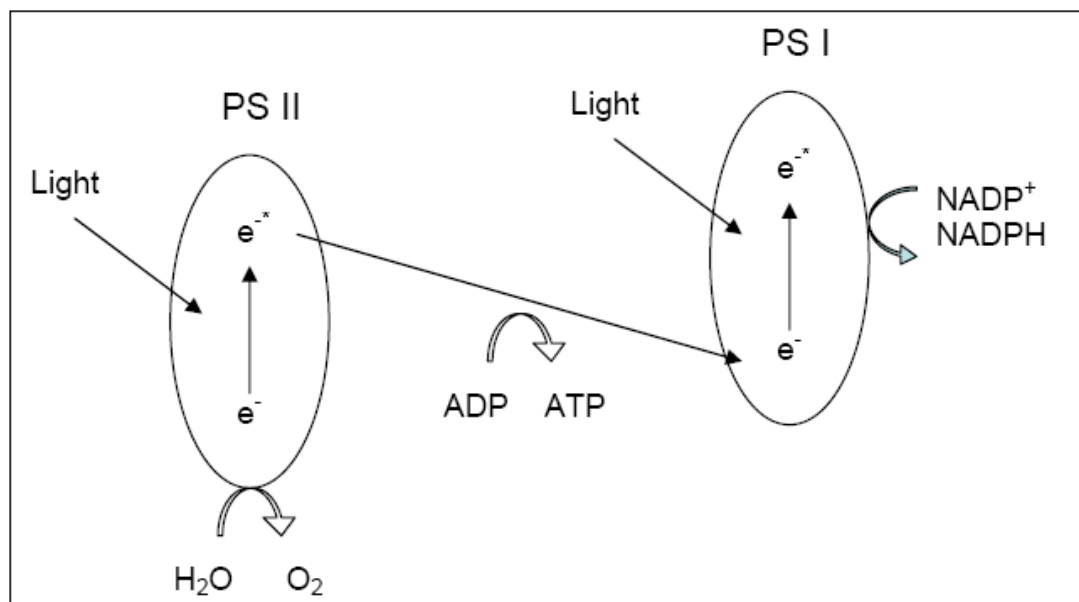


Figura 3.1. Processo fotossintético mostrando os dois fotosistemas (PS I e PS II) envolvidos na quebra da molécula de água e a produção de ATP e NADPH.

O fotosistema II (PS II) excita os elétrons transferidos de uma molécula de água, essencialmente dividindo-a para formar o gás oxigênio ( $O_2$ ) que então entra numa cadeia de uma série de reações. A cadeia de reações cria um gradiente de prótons ao longo da membrana tilacóide que abriga esses centros de reação. O gradiente de prótons leva a proteína ATP sintase a gerar trifosfato de adenosina (ATP), que é um carreador energético usado na maioria dos organismos. Os fótons excitam os elétrons no fotosistema I (PS I) que então trabalha em paralelo com a ferredoxina (Fd), uma proteína solúvel em água contendo um grupamento Fe-S. A ferredoxina é usada para reduzir  $NADP^+$  para  $NADPH$ , que constitui outra forma de circulação energética usada nos sistemas biológicos. O resultado é uma conversão de:



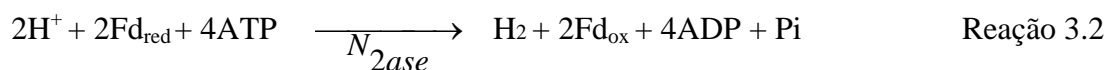
Nos vegetais fotossintéticos superiores, NADPH e ATP são usadas para reduzir  $\text{CO}_2$  e direcionar o processo de reação para sintetizar hexoses e outras matérias orgânicas.

Os vegetais carecem da enzima hidrogenase, presente nas algas verdes e cianobactérias, que são capazes de catalisar a redução de prótons a  $\text{H}_2$  em determinadas condições (HAHN, 2006).

#### **3.1.1.1.. Bactérias fotossintéticas**

As cianobactérias ou algas azuis são classificadas como bactérias fixadoras de nitrogênio, que são bactérias fotossintéticas que empregam o mesmo tipo de fotossíntese visto nos vegetais superiores. Sob circunstâncias normais, a enzima nitrogenase cataliza a redução do gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) a amônia ( $\text{NH}_3$ ). Na ausência de  $\text{N}_2$ , a nitrogenase também pode facilitar a produção de  $\text{H}_2$ . Muitos pesquisadores têm estudado o sistema da nitrogenase para produção de  $\text{H}_2$  e têm desenvolvido diversos mecanismos (HAHN, 2006).

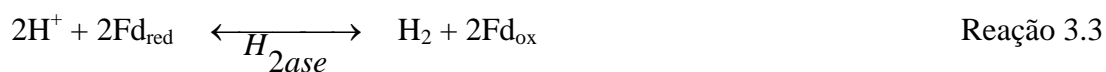
Há algumas discordâncias sobre quais centros metálicos da nitrogenase são ativos e se a hidrogenase facilita parte da reação. A maioria dos pesquisadores acredita que a reação facilitada da nitrogenase requer uma entrada de ATP, conforme mostrado na Reação 3.2.



Por essa razão conclui-se que as algas verdes seriam mais bem aparelhadas para a produção de  $\text{H}_2$ , pois não precisam da elevada entrada de energia da enzima nitrogenase (HAHN, 2006).

### 3.1.1.2. Algas fotossintéticas

A produção fotossintética de  $\text{H}_2$  por algas verdes foi observada pela primeira vez por Gaffron e Rubin (1942). Depois de um período de incubação anaeróbia no escuro, as células das algas foram capazes de produzir  $\text{H}_2$ . A produção reversível de  $\text{H}_2$  é catalizada pela enzima hidrogenase acoplada com a ferredoxina (Fd) conforme mostra a Reação 3.3.



Diferentemente das células bacterianas que usam nitrogenase, a hidrogenase não requer ATP para catalisar a redução de prótons na síntese de  $\text{H}_2$ . Contudo, a presença de  $\text{O}_2$  pode desativar a enzima hidrogenase numa questão de minutos. Como resultado, a produção sustentável de  $\text{H}_2$  é difícil sem medidas adicionais tanto para desativar a atividade do fotosistema PS II quanto para separar e/ou expulsar o  $\text{O}_2$  (HAHN, 2006).



### 3.1.2. Produção biológica via fermentação

A fermentação apresenta algumas vantagens em relação a fotossíntese:

- Bactérias fermentativas têm maior velocidade de produção de H<sub>2</sub>;
- A produção de H<sub>2</sub> não requer luz;
- Bactérias fermentativas já se encontram condicionadas para produzir H<sub>2</sub>.

Em condições anaeróbias, a matéria-orgânica é oxidada e o excesso de elétrons é usado para produzir H<sub>2</sub>, facilitado pela enzima hidrogenase. Um segundo mecanismo para a produção de hidrogênio ocorre quando NADH é formado através da glicólise (conversão da glicose a piruvato). O NADH é então oxidado:



As principais desvantagens do processo fermentativo são os rendimentos menores obtidos em relação ao processo fotossintético e o gás produzido que se encontra misturado com CO<sub>2</sub>, necessitando assim de posterior separação para ser utilizado.

### 3.1.2.1. Bactérias fermentativas

Vijayaraghavan e Soom (2004) apontam como as principais bactérias produtoras de hidrogênio: *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Magashaera elsdenii*, *Citrobacter intermedius* e *Escherichia coli*.

Segundo Hawkes *et al.* (2002), o rendimento de hidrogênio a partir de espécies de *Clostridium* é geralmente maior que aquele obtido por bactérias aeróbias facultativas como *Enterobacter sp.*

## 3.2. Produção de Hidrogênio em Reatores Anaeróbios

Considerando-se que o processo de digestão anaeróbia possa ser dividido somente em duas grandes etapas, ou seja, em acidogênese e metanogênese, a obtenção de hidrogênio só é possível se o processo for interrompido na primeira etapa, pois o hidrogênio caracteriza-se como um intermediário do processo, sendo produzido na primeira etapa e consumido na segunda.

A etapa fermentativa da digestão anaeróbia de resíduos orgânicos é o processo que possibilita a produção de hidrogênio. Através dessa etapa, os microrganismos acidogênicos decompõem a matéria orgânica em H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e ácidos graxos voláteis de cadeia curta.

A Figura 3.2 ilustra o processo de digestão anaeróbia e os pontos de geração e consumo de hidrogênio.

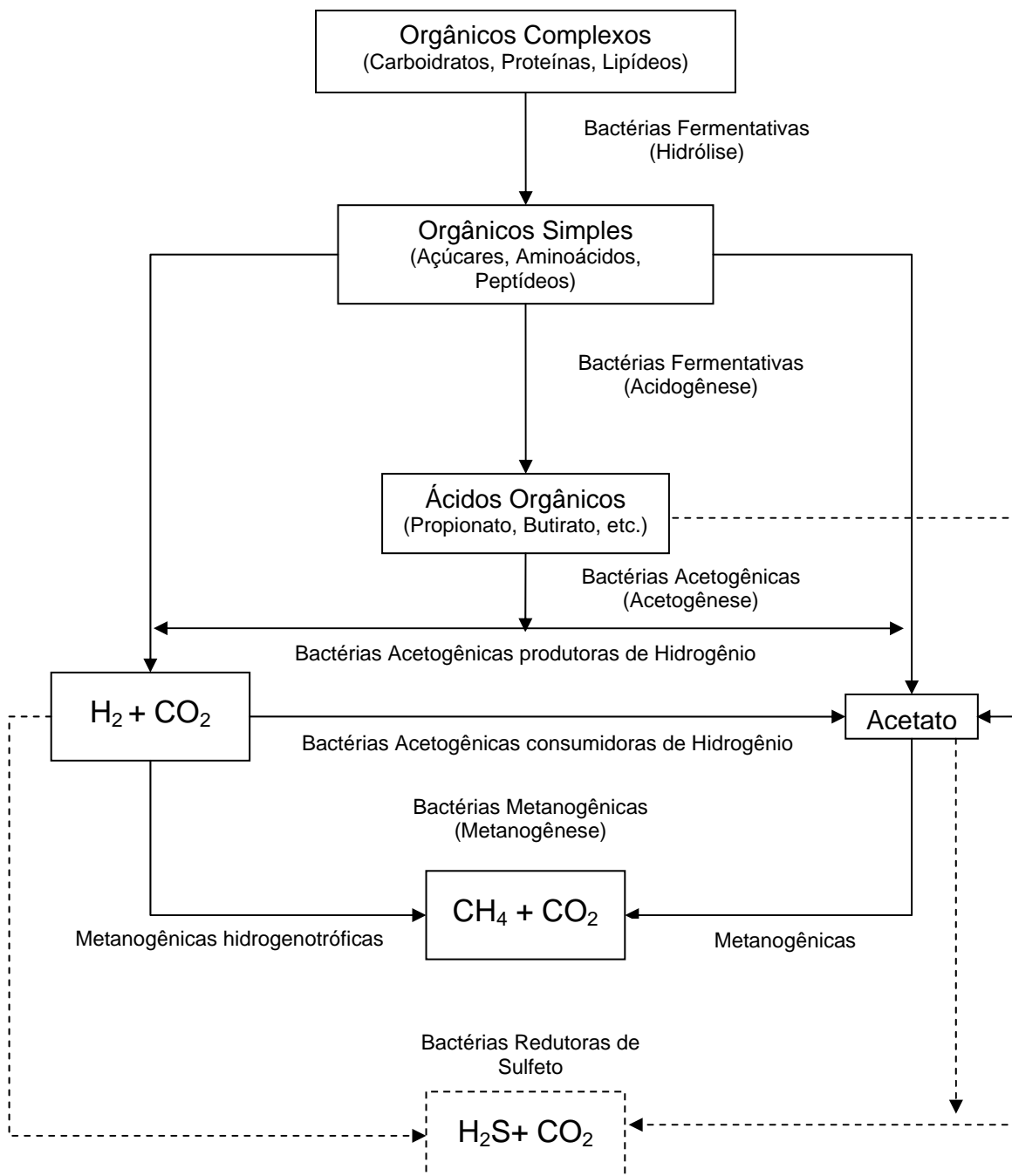


Figura 3.2. Pontos de geração e consumo de hidrogênio. (Fonte: Adaptada de CHERNICHARO, 1997)

Com a finalidade de viabilizar a produção de hidrogênio são aplicadas estratégias de controle operacional nos reatores, como as apresentadas a seguir.

### 3.2.1. Influência do tempo de detenção hidráulica

Muitos trabalhos (Chang *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004) apresentam como método de inibição da metanogênese a operação em baixos tempos de detenção hidráulica (TDH), que contribui no sentido de carrear as arqueias metanogênicas dos reatores. O arraste dessas bactérias para fora dos sistemas se dá pelo fato de que a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) das bactérias metanogênicas, da ordem de  $0,0167 \text{ h}^{-1}$ , é bem menor que das bactérias acidogênicas que é cerca de  $0,083 \text{ h}^{-1}$ . Dessa forma, os microrganismos metanogênicos são incapazes de manter uma população estável e acabam sendo eliminados do sistema (CHEN *et al.*, 2001).

Chen e Lin (2004) operaram um reator processando sacarose, voltado para a produção de hidrogênio, sem adaptação do inóculo e, portanto, com a presença provável de bactérias consumidoras de hidrogênio. No entanto, com a diminuição gradual do TDH de 20 para 2,5 dias, chegando posteriormente a 6 h, os autores conseguiram selecionar uma cultura dominada por *C. pasteurianum*, notadamente uma espécie produtora de hidrogênio.

### **3.2.2. Importância do pH**

O pH também é um parâmetro operacional de grande importância para a produção de hidrogênio, pois conforme constataram Fang e Liu (2002), a velocidade de produção de hidrogênio e a ação dos microrganismos hidrogenotróficos (consumidores de hidrogênio) são diretamente afetadas pelo pH. No trabalho desenvolvido pelos autores supracitados, que consistiu na operação de um reator em batelada degradando glicose anaerobiamente, não houve consumo de hidrogênio por arqueias metanogênicas para pH menores que 5,5. Foi observado que a manutenção em 5,5 não permitiu a produção de metano no sistema.

É importante destacar que o pH abaixo de 4,7 é altamente desfavorável para a produção de hidrogênio, visto que inibe a atividade da hidrogenase e outras enzimas envolvidas no processo (LAY, 1999).

### **3.2.3. Efeito da temperatura**

Zhang e Shen (2005) observaram que a temperatura influencia na produção de hidrogênio. Na faixa de 25 a 40°C ocorrem as melhores eficiências do processo, principalmente devido a condição próxima da ideal (35°C) para o funcionamento dos catalisadores bioquímicos. Nesse trabalho, a máxima porcentagem obtida de

hidrogênio no biogás foi de 42,9%, obtida a 40° C em um reator em batelada de 120 mL de volume útil.

#### **3.2.4. Efeito do inóculo**

O efeito do inóculo é considerável, especialmente em trabalhos em escala de bancada.

Kawagoshi *et al.* (2005) constataram que o inóculo é um dos fatores determinantes na produção de hidrogênio, pois no estudo realizado pelos referidos autores demonstrou-se que em um mesmo meio, de igual condição nutricional e concentração de substrato, houve variação na produção de hidrogênio de 0,15 mol H<sub>2</sub>.mol<sup>-1</sup> de glicose (inóculo oriundo de lodos ativados) a 1,35 mol H<sub>2</sub>.mol<sup>-1</sup> de glicose (inóculo proveniente de lodo anaeróbio digerido).

Diversos autores trabalharam com inóculos obtidos a partir de lodo de esgoto (Lee *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2003; Lin e Lay 2004; Chang *et al.*, 2002), o que constitui uma técnica mais plausível para ser utilizada em sistemas em escala piloto.

### 3.2.5. Características do substrato

A maior parte dos trabalhos na literatura usa como afluente aos reatores fermentativos substratos sintéticos que contêm sacarose como fonte de carbono orgânico e uma suplementação inorgânica balanceada que tem como referência as formulações usadas no trabalho de Bahl *et al.* (1982) ou no estudo desenvolvido por Endo *et al.* (1982).

Van Ginkel *et al.* (2005), ao estudar a produção de hidrogênio a partir de águas residuárias domésticas e de processamento de alimentos, realizaram análises preliminares sobre as concentrações de nitrogênio ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) e fósforo ( $\text{PO}_4$ )<sup>3</sup>. Os resultados obtidos sugeriram que esses dois nutrientes seriam limitantes na maior parte das águas residuárias para a atividade dos microrganismos em sistemas de tratamento. Os autores avaliaram o potencial para a produção de hidrogênio de cada água residuária com e sem a adição de nutrientes (N, P e metais traço) para se determinar a necessidade de suplementação. Os resultados apresentados demonstraram que a água residuária proveniente da indústria de balas, cuja DQO era de  $20 \text{ g.L}^{-1}$ , apresentou uma evolução de 0,02 para  $0,10 \text{ L-H}_2\text{.g}^{-1}$  de DQO com a adição de nutrientes. No entanto, essa mesma água residuária com DQO de  $0,6 \text{ g.L}^{-1}$ , não apresentou diferença na produção de hidrogênio mesmo com a adição de nutrientes.

Deve se observar, também, que não é só importante a presença ou ausência de nutrientes, mas a proporção na qual estão disponíveis. De acordo com Lin e Lay (2004), a razão entre carbono e nitrogênio pode influir significativamente no

conteúdo de hidrogênio no biogás e na velocidade de formação do gás hidrogênio. No trabalho desenvolvido pelos referidos autores, no qual a fonte de carbono era sacarose, foi encontrada a razão C/N igual a 47 como sendo ótima para a máxima produção de hidrogênio. Quando se comparou a condição em que a relação C/N do meio não foi controlada (branco) com a condição na qual a relação C/N do meio foi manipulada, percebeu-se que houve um aumento de 5 vezes e 80%, respectivamente na produção de hidrogênio e na velocidade com que ele foi produzido em relação ao controle (branco). A produção de hidrogênio para a razão C/N igual a 47 atingiu um pico de  $4,8 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}\text{-sacarose}$ , cuja velocidade de produção foi de  $270 \text{ mmol-H}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

Na revisão de literatura de Hawkes *et al.* (2002), é citada a relação entre carbono e fósforo tida como favorável à produção de hidrogênio, e a recomendação dada é para uma relação C:P de 130:1, que em termos de DQO resultaria numa relação DQO:fósforo de 350:1, no caso da utilização de carboidratos como fonte de carbono. Outro fator importante citado quanto à influência sobre a produção de hidrogênio é a presença de ferro, cuja concentração passa a ser fator limitante para o crescimento do *Clostridium pasteurianum* quando menor que  $0,56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### **3.2.6. Reatores de leito fixo**

Wu *et al.* (2002) compararam o desempenho de reatores com células suspensas e com células imobilizadas em diferentes suportes: gel de alginato e gel de



alginato combinado com carvão ativado. Os autores observaram que a produção de hidrogênio foi maior para as células aderidas ao suporte de gel de alginato com carvão ativado. O reator de células suspensas apresentou os piores resultados. De acordo com os autores a produção biológica de hidrogênio em sistemas com células suspensas é normalmente ineficiente para reatores contínuos, já que resulta em problemas com o reciclo da biomassa, dificultando a obtenção de concentração celular suficiente para que se consiga alta produção de hidrogênio. Devido a esse fato, o reator de leito fixo, por apresentar suporte para aderência dos microrganismos, apresenta os melhores resultados em operações contínuas com baixos tempos de detenção hidráulica (TDH).

Lee *et al.* (2003), utilizando reatores de leito empacotado compostos por material suporte de carvão ativado destinados à produção anaeróbia de  $H_2$  a partir de sacarose e usando lodo de esgoto como inóculo, avaliaram a produção de hidrogênio mediante o efeito da porosidade e do tempo de detenção hidráulica (TDH) em 3 colunas preenchidas com carvão ativado. Os 3 reatores tiveram seus respectivos leitos constituídos de carvão ativado de forma a proporcionar porosidades de 70, 80 e 90%. Os melhores resultados obtidos quanto à fração de hidrogênio no biogás, velocidade de produção de hidrogênio, eficiência de utilização de substrato e rendimento, foram respectivamente: 34% , 2,6  $L.h^{-1}.L^{-1}$ , 91%, 2  $mol H_2.mol^{-1}$  sacarose para a porosidade de 70% com TDH de 1 h, 31%, 4,1  $L.h^{-1}.L^{-1}$ , 83%, 1,6  $mol H_2.mol^{-1}$  sacarose para a porosidade de 80% com TDH de 0,5 h e 37%, 7,4  $L.h^{-1}.L^{-1}$ , 92% e 2,9 1,6  $mol H_2.mol^{-1}$  sacarose para a porosidade de 90% com TDH de 0,5 h.

Desta maneira, nota-se que a produção de hidrogênio é favorecida tanto pela eficiência de imobilização da biomassa em leitos fixos quanto pela manutenção de uma elevada porosidade nos mesmos.

Chang *et al.* (2002) estudaram reatores de leito fixo aplicados à produção biológica de hidrogênio via fermentação de sacarose usando como inóculo lodo de esgoto doméstico. O estudo consistiu em analisar o efeito da utilização de espuma, argila expandida e carvão ativado como material suporte. A espuma foi excluída logo no início do estudo, pois foi o material suporte que apresentou menor capacidade de adesão para microrganismos ( $0,94 \text{ g SSV.L}^{-1}$ ). O reator de 300 mL com argila expandida obteve seu melhor resultado com TDH de 2 h, pois atingiu velocidade de produção de  $0,415 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$  e 34,9% de hidrogênio no biogás. Já no reator de 3 L, cujo leito foi constituído de carvão ativado, atingiu-se velocidade de produção máxima de  $1,32 \text{ L.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$  e 30% de hidrogênio no biogás, resultados estes que ressaltam a importância na escolha do material suporte.

### **3.3. Água Residuária de Indústria de Refrigerantes**

A indústria de refrigerantes no Brasil é representada por algumas grandes companhias fabricantes, mas há um grande número de empresas pequenas. O processo de fabricação é relativamente simples e barato, sendo que o tratamento dos efluentes gerados representa boa parte dos custos finais. Por este motivo, muitos

fabricantes pequenos acabam por não adotar qualquer sistema de tratamento, lançando seus efluentes diretamente a um corpo receptor ou à rede de esgotos.

Segundo Moraes (2002), as águas residuárias de indústrias de refrigerantes são compostas pelos efluentes das máquinas lavadoras de garrafas, pelos efluentes da xaroparia, da lavagem de pisos e máquinas e algumas vezes pelo esgoto sanitário. Na Tabela 3.1 é apresentada uma caracterização de efluente de indústria de refrigerantes realizada pela CETESB (1985).

Tabela 3.1, Caracterização do despejo de uma indústria de refrigerantes

Parâmetros	Média	Variação
DBO (mg.l <sup>-1</sup> )	1188	940 – 1335
DQO (mg.l <sup>-1</sup> )	2149	1616 – 3434
Resíduo Total (mg.l <sup>-1</sup> )	2003	1704 – 2210
Resíduo Volátil (mg.l <sup>-1</sup> )	1532	1292 – 1724
Resíduo Não Filtrável (mg.l <sup>-1</sup> )	602	351 – 759
Resíduo Não Filtrável Vol. (mg.l <sup>-1</sup> )	495	236 – 655
Nitrogênio Kjeldahl Total (mg.l <sup>-1</sup> )	34,6	22 – 49
Nitrogênio Nitrato (mg.l <sup>-1</sup> )	< 2,0	< 2,0
Nitrogênio Nitrito (mg.l <sup>-1</sup> )	0,16	0,05 – 0,40
Fosfato Total (mg.l <sup>-1</sup> )	6,68	4,0 – 13
Surfactantes (mg.l <sup>-1</sup> )	0,45	0,22 – 0,80
Óleos e Graxas (mg.l <sup>-1</sup> )	87	69 – 115
pH	10,2	8,0 – 12,3
Temperatura (°C)	32,0	28 – 35

Fonte: Extraída de Moraes (2002).

### 3.4. Considerações Finais

A razão para se avaliar o desempenho dos reatores aplicados à produção de hidrogênio a partir de água residuária de indústria de refrigerantes foi buscar

produções significativas de hidrogênio, determinar se haveria necessidade de adição de macro e micronutrientes e, inicialmente, aplicar estratégias voltadas para a estabilização da produção, uma vez que tal estabilidade não havia sido alcançada no LPB (Laboratório de Processos Biológicos) e era pouco reportada na literatura especializada.

Pretende-se, com o presente estudo, o desenvolvimento e a consolidação do reator produtor de hidrogênio e que o efluente das indústrias de refrigerantes se torne alvo de maior atenção, pois a recuperação de energia sob a forma de hidrogênio a partir de água residuária pode se tornar economicamente interessante e contribuir para a amortização dos gastos gerados com sistemas de tratamento.

## CAPÍTULO 4

### MATERIAL E MÉTODOS

---

Os experimentos foram esquematizados para comparação do desempenho de dois reatores anaeróbios de leito fixo e fluxo ascendente aplicados à produção de hidrogênio, submetidos às mesmas condições operacionais, diferindo apenas pela adição de meio contendo macro e micronutrientes ao substrato afluente a um dos reatores. O reator que foi operado com adição de solução de macro e micronutrientes foi denominado R1 e o reator que operou apenas com a água residuária, sem suplementação, foi denominado R2.

#### 4.1. Águas Residuárias de Indústrias de Refrigerantes

De acordo com Pivelli (1999)<sup>1</sup> apud Moraes (2002), a fabricação de refrigerantes, em geral, inicia-se com o preparo do xarope ou calda base, que consiste numa solução de água em ebulição com açúcar, enriquecida com ácidos orgânicos. “Em seguida, à calda base adiciona-se carvão ativo em pó. Usando-se terra diatomácea como auxiliar filtrante, promove-se a clarificação da calda base e a remoção do carvão ativado. A calda base filtrada é resfriada até a temperatura de

PIVELI, R.P. (1999) Curso de Especialização: Engenharia de Controle da Poluição Ambiental (CEECPA – Bauru), Disciplina: Tratamento de Efluentes Industriais. São Paulo. USP. Faculdade de Saúde pública, Departamento de Saúde Ambiental – Núcleo de Informações em Saúde ambiental.

28°C em trocador de calor e segue para tanques, onde recebe aditivos, passando a chamar-se xarope composto”. Antes do xarope composto ser enviado para acondicionamento em garrafas ou latas, um sistema combinado promove a diluição, carbonatação e refrigeração do líquido resultante.

É importante esclarecer que a Indústria e Comércio de Bebidas TICARE Ltda. (São Carlos, SP), geradora da água residuária estudada neste trabalho de pesquisa, utilizava como matéria-prima o xarope composto, conforme é mostrado no fluxograma da Figura 4.1. Portanto, as etapas de cozimento, filtração e resfriamento, nesse caso, não faziam parte do processo e não produziam resíduos.

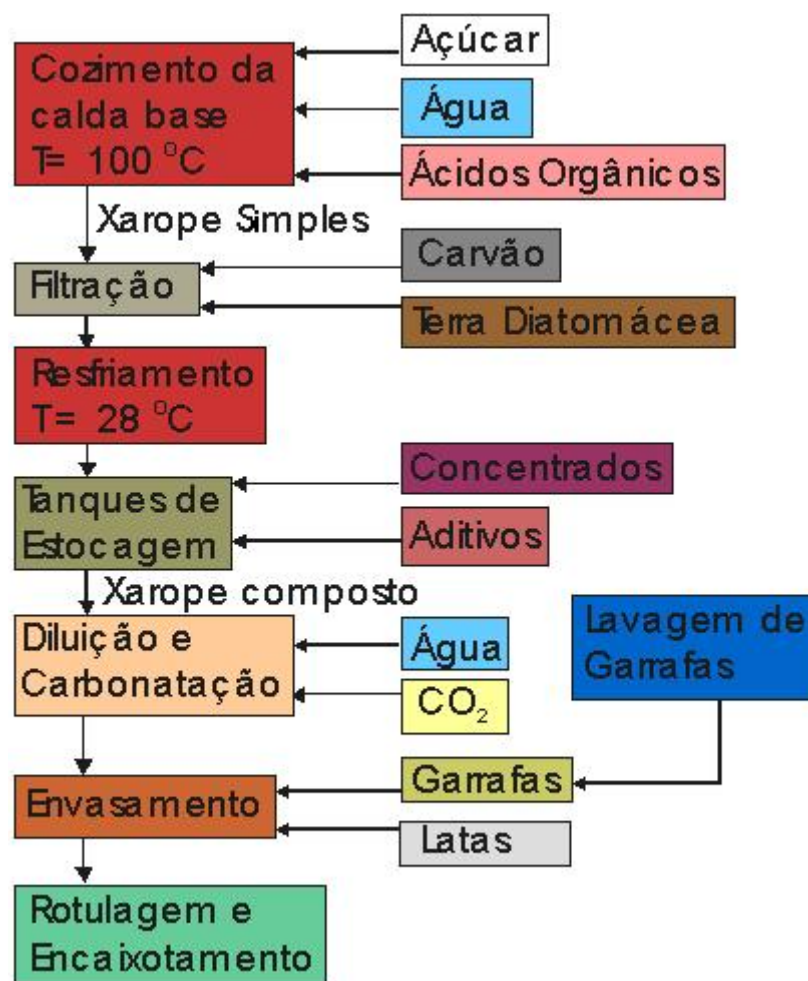


Figura 4.1. Fluxograma básico da fabricação de refrigerantes. Fonte: Piveli (1999).

Dessa forma, a geração de águas residuárias nessa indústria concentrava-se basicamente nos pontos listados a seguir:

- a) Lavagem de:
  - pisos da área de estocagem de matérias-primas
  - pisos do setor de diluição do xarope composto;
  - tanques de estocagem do xarope composto;
  - filtros e tubulações;
  - garrafas e piso do setor de envasamento;
  - equipamentos e tubulações do setor de envasamento;
  - caixas de refrigerantes.
- b) Extravasamento e quebras no envasamento.

A água residuária era composta pelos resíduos do processo industrial, nos pontos de geração listados acima. É importante ressaltar que essa água residuária não possuía a contribuição do esgoto sanitário, gerado pelos funcionários, o qual era encaminhado para a rede de coleta municipal.

A Figura 4.2 apresenta o fluxograma simplificado do processo de fabricação empregado pela Indústria e Comércio de Bebidas TICARE Ltda., sediada na cidade de São Carlos – SP, produtora de refrigerantes armazenados em vasilhames do tipo PET, e ilustra os pontos de origem dos constituintes da água residuária, bem como o ponto onde foi realizada a coleta para a caracterização do efluente.

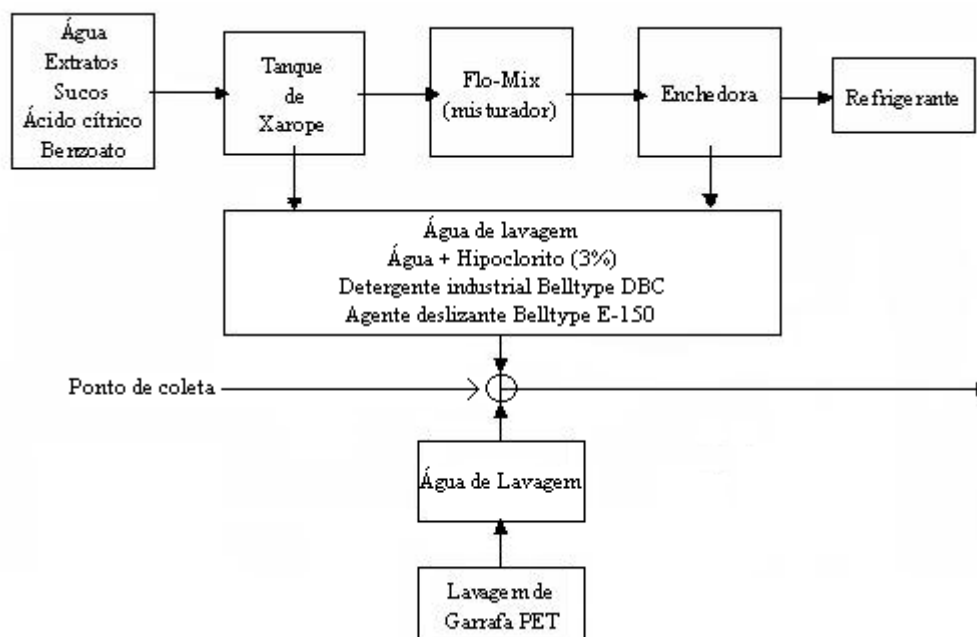


Figura 4.2. Fluxograma da fabricação de refrigerantes da Indústria e Comércio de Bebidas TICARE Ltda.

## 4.2. Água Residuária

A água residuária consistiu de uma composição semi-sintética que simulou o efluente de uma indústria de refrigerantes (Indústria e Comércio de Bebidas TICARE Ltda.).

A princípio, pretendia-se coletar o efluente da indústria de refrigerantes e usá-lo na alimentação dos reatores anaeróbios de leito fixo e fluxo ascendente. No entanto, constatou-se que para o funcionamento de dois reatores a um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 0,5 h seria necessário um volume diário de aproximadamente 200 L, o que tornaria muito onerosas as coletas diárias de tal volume e representaria um grande problema caso fosse proposto armazenamento no



Laboratório de Processos Biológicos, tendo em vista que seria muito grande o volume de água residuária a ser mantida resfriada.

Para a elaboração da composição da água residuária semi-sintética foram realizadas caracterizações de amostras coletadas na indústria, no local indicado na Figura 4.2, juntamente com levantamentos sobre o consumo de água e de produtos usados no processo de fabricação de refrigerantes, com a finalidade de identificar as proporções de cada componente e simular a água residuária real.

A Tabela 4.1 mostra os principais produtos que compunham a água residuária real.

Tabela 4.1. Produtos que compõem a água residuária industrial.

Composto	% em volume
Água de abastecimento (água de poço artesiano na empresa)	97,8
Refrigerante	2,04
Detergente industrial Belltype DBC	0,07
Hipoclorito de Sódio	0,08
Agente lubrificante Belltype E-150	0,01

Com as proporções devidamente estabelecidas por meio de cálculos do consumo mensal de água, de perdas de xarope de refrigerante por extravasamento, perdas de refrigerante por lavagem dos tanques de preparo, volume utilizado de detergente industrial para lavagem do piso, agente deslizador de esteira e hipoclorito de sódio para desinfecção quinzenal dos tanques de preparo de refrigerante, foi possível definir uma composição para a água residuária semi-sintética, conforme mostra a Tabela 4.2.

A fração de cada tipo de refrigerante apresentado na Tabela 4.2 foi calculada com base no volume de produção da indústria de refrigerantes.

Tabela 4.2. Composição da água residuária semi-sintética.

Componentes	Volume	Unidade
Água de abastecimento	100	L
Guaraná São Carlos	1	L
Cola São Carlos	460	mL
Laranja São Carlos	250	mL
Limão São Carlos	125	mL
Guaraná Kiss (bebida sem adição de açúcar)	83,5	mL
Laranja Kiss (bebida sem adição de açúcar)	62,5	mL
Uva Kiss (bebida sem adição de açúcar)	62,5	mL
Limão Kiss (bebida sem adição de açúcar)	42	mL
Hipoclorito de Sódio (20%)	89	mL
Detergente Belltype DBC	75	mL
Agente lubrificante Belltype E-150	14,5	mL

Após a realização da caracterização da água residuária sintética chegou-se a uma composição que se enquadrava de maneira bastante significativa na caracterização dos despejos brutos de indústrias de refrigerantes realizada pela CETESB e demonstrada na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Resultados da caracterização da água residuária semi-sintética e comparação com o levantamento realizado pela CETESB.

Parâmetros	Água residuária usada nesse trabalho	Levantamento*
DBO (mg.L <sup>-1</sup> )	1395	940 – 1335
DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	1992	1616 – 3434
Nitrogênio Total (mg.L <sup>-1</sup> )	Não detectado	22 – 49
Fosfato Total (mg.L <sup>-1</sup> )	6,68	4,0 – 13
Alcalinidade Total (mg.L <sup>-1</sup> )	300	-
pH	11,08	8,0 – 12,3

\*CETESB “Levantamento dos Despejos de uma Indústria de Refrigerantes no Estado de São Paulo – 1985”.

No conteúdo do afluente foram incluídos outros produtos químicos para satisfazer as necessidades do processo fermentativo de geração de hidrogênio, a saber:

- Ácido Clorídrico ( $10 \text{ mol.L}^{-1}$ ) para ajuste do pH inicial a aproximadamente 6,5 ( $1 \text{ mL.L}^{-1}$  no afluente);
- Bicarbonato de Sódio para manutenção do pH, dentro do reator, acima de 5,0 ( $1 \text{ g.L}^{-1}$  no afluente).

Para o reator operado com adição de nutrientes (R1), além das necessidades do processo e dos compostos citados na Tabela 4.2, foi adicionado o meio apresentado na Tabela 4.4 na relação DQO:N:P de 1000:10:2 . Nesta Tabela encontram-se calculadas as concentrações utilizadas para atender esta relação.

Tabela 4.4. Composição da solução de nutrientes utilizada.

Composto	Concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ )
Uréia	20
Sulfato de níquel	0,5
Sulfato ferroso	2,5
Cloreto férrico	0,25
Cloreto de cálcio	2,06
Cloreto de cobalto	0,04
Óxido de selênio	0,036
Fosfato de potássio monobásico	5,36
Fosfato de potássio dibásico	1,30
Fosfato de sódio dibásico	2,76

Fonte : Adaptada de Del Nery (1987).

### 4.3. Reatores Anaeróbios de Leito Fixo e Fluxo Ascendente

Dois reatores foram construídos utilizando tubos de acrílico com diâmetro interno de 80 mm, diâmetro externo de 88 mm e 750 mm de comprimento. Cada reator foi dividido em três compartimentos: entrada do afluente (área de mistura),

leito (contendo material suporte para aderência microbiana) e saída de efluente (zona de separação das fases líquidas e gasosas). Os compartimentos dos reatores foram separados por telas de aço inoxidável (5 mm de abertura), fixadas por uma haste de 5 mm de espessura, confeccionada com o mesmo material.

O leito apresentou comprimento de 500 mm, e cinco pontos de amostragem igualmente espaçados para obtenção de dados de concentração em função do comprimento.

Para promover a separação gás-líquido, foi mantido um headspace de aproximadamente 50 mm acima da saída do efluente líquido. Além disso, nesta saída foi instalado um dispositivo em forma de “L” com o bocal posicionado no sentido inverso do fluxo dos gases, com a finalidade de minimizar o volume de gás perdido com o líquido efluente ao sistema.

Cada reator totalizou um volume total de aproximadamente 3,77 L, e as dimensões adotadas foram semelhantes às utilizadas por Lee *et al.* (2003), que também utilizou reatores tubulares de leito fixo com fluxo ascendente para a produção de hidrogênio.

As dimensões dos reatores empregados no experimento estão representadas na Figura 4.3, bem como seu aspecto construtivo final.

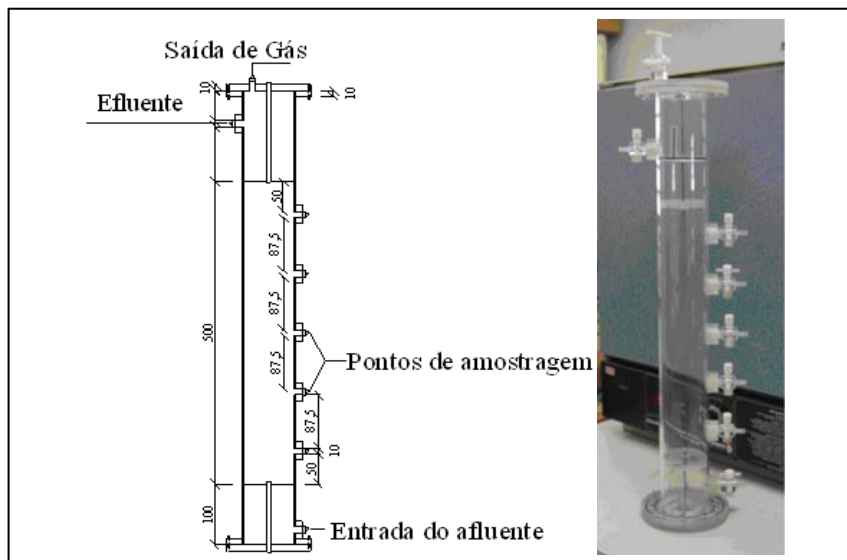


Figura 4.3. Dimensões do reator e aspecto construtivo final (medidas em mm).

A operação dos sistemas se deu em modo contínuo à temperatura média de 25°C (controlada por câmara climatizada), com a alimentação sendo aduzida de reservatórios individuais e recalcada para os reatores, cujos leitos fixos ficaram submetidos ao fluxo ascendente do substrato. O sistema experimental pode ser visualizado na Figura 4.4.

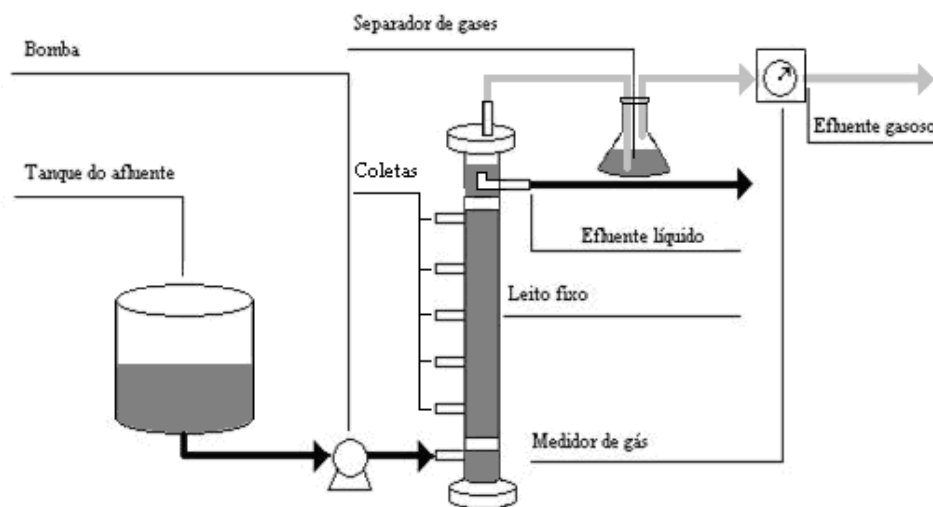


Figura 4.4. Diagrama do sistema que foi utilizado no desenvolvimento do estudo.

#### 4.4. Material Suporte

O suporte utilizado para imobilização dos microrganismos anaeróbios foi polietileno de baixa densidade, conforme mostrado na Figura 4.5, que já foi reportado na literatura por promover baixa adesão de microrganismos redutores de sulfato e metanogênicos (Silva *et al.*, 2002), que são indesejáveis ao processo. Além disso, este material pode ser obtido facilmente como aparas de sistemas extrusores de plástico reciclável, o que lhe confere baixo custo e boa disponibilidade.

Para este material, cortado de forma a manter as dimensões aproximadas de 10:10:20 mm, foi determinado o índice de uniformidade por meio da análise de peneiramento em agitador (Solotest, nº7 de série 0805 nº de Referência 1202230). Esta análise foi realizada no laboratório de ensino do Departamento de Geotecnia da Escola de Engenharia de São Carlos-USP. Segundo o método utilizado, proposto por Caputo (1988), o índice  $C$ , calculado com base nas curvas de distribuição granulométrica, indica que os grãos são considerados muito uniformes se  $C < 5$ , de uniformidade média se  $5 < C < 15$ , e de granulometria desuniforme se  $C > 15$ .

O índice de uniformidade obtido para o material suporte utilizado foi de 1,26, o que conferiu a característica de muito uniforme aos pedaços de polietileno que constituíram os leitos fixos dos dois reatores.

Os leitos dos reatores, após serem preenchidos com aproximadamente 740 g de material suporte cada um, apresentaram porosidade inicial ( $\epsilon$ ) de 55% e 56% para o reator R1 e o reator R2, respectivamente.

A porosidade foi calculada a partir da razão entre o volume de líquido drenado da zona do leito preenchida com material suporte e o volume de líquido drenado da zona do leito sem preenchimento. Procedimento similar foi realizado para cálculo do volume líquido do reator e conseqüentemente do tempo de detenção hidráulica (TDH) teórico. A determinação do volume líquido se deu por meio de três drenagens consecutivas do volume útil do reator, ou seja, da soma dos volumes da zona de entrada do afluente, da zona do leito, já preenchida com material suporte, e da zona de saída do efluente. A partir da somatória desses volumes drenados obteve-se o volume útil dos reatores, que foi de 2,374 L para o reator R1 e 2,377 L para o reator R2.



Figura 4.5. Detalhe do material suporte empregado na confecção dos leitos fixos.

#### **4.5. Inóculo**

O procedimento de inoculação dos reatores se deu por fermentação natural do meio, e consistiu em manter a água residuária à temperatura ambiente em contato com o ar por três dias. Após esse período, os meios foram bombeados para os seus respectivos reatores e submetidos a recirculação por mais 3 dias.

A imobilização da biomassa ocorreu por contato do afluente com o meio suporte conforme proposto por Leite *et al.* (2003).

#### 4.6. Métodos Analíticos

Os métodos empregados para determinações de demanda química de oxigênio (DQO) e de pH foram os descritos no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998). O equipamento usado para medição do pH pertence à marca Denver Instruments, modelo UB-10, com precisão de uma casa decimal.

A determinação de carboidratos foi realizada pelo método de Dubois *et al.* (1956), que mede a concentração de carboidratos em termos de  $\text{mg.L}^{-1}$  de glicose.

O equipamento utilizado para a medição da absorbância das amostras de DQO a 620 nm e das amostras de carboidratos a 480 nm, foi o espectrofotômetro HACH modelo DR-2500.

Análises para detecção de  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$  no biogás foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu GC 2010, a partir de metodologia proposta e desenvolvida no Laboratório de Processos Biológicos. As condições para as análises cromatográficas foram as seguintes:

- Coluna capilar: Carboxen 1010 – (comprimento de 30m, diâmetro interno 0,53 mm e espessura da coluna 0,30 $\mu\text{m}$ );
- Gás de arraste: Argônio;



- Temperatura inicial do injetor: 200°C;
- Temperatura inicial do detector: 230°C;
- Vazão do gás de make up (Ar): 12 mL.min<sup>-1</sup>;
- Detector: condutividade térmica;
- Volume de amostra: 100µL

O programa de temperatura do forno foi o seguinte:

- Temperatura inicial: 40°C (2 min);
- 1ª Taxa de aquecimento: 5°C.min<sup>-1</sup> até 60°C;
- 2ª Taxa de aquecimento: 25°C.min<sup>-1</sup> até 95°C;
- Temperatura final: 95°C (5 min).

As análises para detecção dos ácidos acético, butírico, cítrico, fórmico, isobutírico, isovalérico, láctico e propiônico foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no sistema Shimadzu, constituído dos seguintes equipamentos: bomba LC-10ADvp, válvula solenóide FCV-10ALvp, forno CTO-10Avp, controlador SCL-10Avp e detector UV com arranjo de diodos SPD-M10Avp, seguindo metodologia desenvolvida no Laboratório de Processos Biológicos. As condições para as análises cromatográficas foram as seguintes:

- Coluna de troca iônica: Aminex HPX-87H (comprimento de 0,3m, diâmetro interno de 7,8 mm);
- Fase móvel: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 M;

- Fluxo: 0,6 mL.min<sup>-1</sup>;
- Detector de UV: Arranjo de diodos 205 nm;
- Volume de amostra: 100µL

O programa de temperatura do forno foi o seguinte:

- Temperatura de trabalho: 45°C;
- Temperatura máxima de trabalho: 50°C.

Para a determinação dos álcoois (acetona, metanol, etanol e n-butanol), foi empregado o cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010 com módulo AOC-5000 (análise de headspace), seguindo metodologia desenvolvida no Laboratório de Processos Biológicos. As condições para as análises cromatográficas foram as seguintes:

- Coluna capilar: Innowax (comprimento de 30m, diâmetro interno 0,25 mm e espessura da coluna 0,25µm);
- Temperatura da coluna: 35°C;
- Temperatura máxima da coluna: 250°C;
- Temperatura do injetor: 250°C;
- Controle de fluxo: velocidade linear;
- Pressão: 59,3 kPa;
- Fluxo total: 6,1 mL.min<sup>-1</sup>;
- Fluxo na coluna: 1,56 mL.min<sup>-1</sup>;

- Velocidade linear:  $41,8 \text{ cm.s}^{-1}$ ;
- Fluxo de purge:  $3,0 \text{ mL.min}^{-1}$ ;
- Detector: FID;
- Fluxo de ar:  $300 \text{ mL.min}^{-1}$ ;
- Temperatura:  $280^{\circ}\text{C}$ ;
- Fluxo de  $\text{H}_2$ :  $30,0 \text{ mL.min}^{-1}$ ;
- Gás de makeup: Nitrogênio/Ar sintético;
- Fluxo do gás de makeup:  $30,0 \text{ mL.min}^{-1}$ ;
- Volume de amostra injetada:  $400\mu\text{L}$ ;
- Tempo de análise: 14,49 minutos;
- Temperatura de incubação:  $100^{\circ}\text{C}$ ;
- Tempo de incubação: 13 minutos;
- Temperatura da seringa:  $90^{\circ}\text{C}$ ;
- Tempo de corrida: 24 minutos.

O programa de temperatura do forno foi o seguinte:

- Temperatura inicial:  $35^{\circ}\text{C}$  (2 min);
- 1ª Taxa de aquecimento:  $2^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $38^{\circ}\text{C}$ ;
- 2ª Taxa de aquecimento:  $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $75^{\circ}\text{C}$ ;
- 3ª Taxa de aquecimento:  $40^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $170^{\circ}\text{C}$ ;
- Temperatura final:  $170^{\circ}\text{C}$  (5 min).

#### **4.7. Medição da Vazão Volumétrica do Biogás**

A quantificação do volume de biogás produzido foi realizada por meio de medidor on-line de gás (milligasCounter, Ritter). A alocação do aparelho está exemplificada na Figura 4.4. Já a medição do volume de hidrogênio produzido foi feita pelo mesmo medidor, porém com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de  $5 \text{ mol.L}^{-1}$  precedendo o aparelho, para que o  $\text{CO}_2$  do biogás ficasse retido na solução, possibilitando, dessa forma, que apenas o gás hidrogênio fosse medido. Cada procedimento de medição da vazão volumétrica de hidrogênio consistiu em anotar o volume do gás quantificado pelo medidor milligasCounter durante 1 minuto por 10 vezes consecutivas, e posteriormente efetuou-se a média aritmética dos valores obtidos.

#### **4.8. Exames Microbiológicos**

Os exames microbiológicos da biomassa anaeróbia dos reatores foram divididos em duas partes, sendo a primeira realizada por microscopia ótica e a segunda com técnicas de biologia molecular como PCR e DGGE.

##### **4.8.1. Análise microscópica**

A análise microbiológica do lodo anaeróbio foi realizada por microscopia ótica (microscópio Olympus modelo BX60-FLA).

#### **4.8.2. Análise microbiana por técnicas de biologia molecular**

Foram realizadas as extrações de DNA das amostras provenientes dos reatores R1 (suplementado com solução de nutrientes) e R2 (sem suplementação nutricional). A coleta de amostras dos microrganismos do reator R1 foi feita com o sistema sendo operado por 70 dias, enquanto que o mesmo procedimento foi realizado para o reator R2 com 100 dias de operação. As amostras foram retiradas de todos os pontos de coleta dos reatores e homogeneizadas.

As amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm, a 4°C por 10 minutos. O pellet obtido foi lavado com 5,0 mL de tampão PBS (137,0 mM de NaCl; 2,6 mM de KCl; 1,7 mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; pH 7,4). Posteriormente, foi realizada a extração do ácido nucléico de acordo com o protocolo de Griffiths *et al.* (2000), utilizando pérolas de vidro, fenol e clorofórmio.

A partir do DNA extraído das amostras, foram obtidos fragmentos do gene do RNAr 16S utilizando-se primers para o Domínio Bacteria, e condições de amplificação descritas por Nielsen *et al.* (1999) (Tabela 4.5). Foi utilizado termociclador “Gene Amp. PCR System 2400” (Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, Conn.). Os primers foram sintetizados pela Invitrogen<sup>®</sup>.

Tabela 4.5. Primers filogenéticos utilizados para o Domínio *Bacteria*

<i>Primers</i>	<i>Grupo</i>	<b>Seqüência (5' → 3')</b>	<b>Fonte</b>
968FGC	Domínio <i>Bacteria</i>	AACGCGAAGAACCTTAC	Nielsen <i>et al.</i> (1999).
GC clamp		CGCCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGG GGCGGGGGCACGGGGGG	
1392R		ACGGGCGGTGTGTAC	

As condições de amplificação por PCR estão apresentadas na Tabela 4.6.

Tabela 4.6: Condições utilizadas na programação do aparelho para amplificação por PCR.

	<b>Nº de ciclos</b>	<b>Desnat. Inic.</b>	<b>Desnat.</b>	<b>Anelamento</b>	<b>Extensão</b>	<b>Final da extensão</b>	<b>Resfr.</b>
Domínio	35	94°C	94°C	38°C	72°C	72°C	4°C
<i>Bactéria</i>		5 min	45 s	1 minuto	2 minutos	10 minutos	

A eletroforese em gel de agarose foi aplicada para avaliar o produto resultante da extração do ácido nucléico e da amplificação por PCR. O procedimento experimental foi o mesmo, diferindo apenas no marcador molecular. Assim, para verificar o produto da extração do ácido nucléico foram usados agarose 1% e High como marcador de elevada massa molecular. Para avaliar o produto da amplificação por PCR foram usados agarose 1% e Low como marcador de baixa massa molecular.

A eletroforese em gel de gradiente desnaturante foi realizada segundo o protocolo de Muyzer *et al.* (1993), que tem por objetivo a separação dos fragmentos dos genes amplificados por PCR. A separação desses fragmentos ocorre de acordo com o grau de desnaturação da dupla hélice de DNA, sob a ação de agentes desnaturantes como a uréia e a formamida. Com intuito de facilitar a explicação dos

DGGE realizados, considerou-se que uma banda particular observada no gel constitui, teoricamente, uma população de microrganismos.

Conforme exposto na metodologia de DGGE acima descrita, considera-se que cada uma das bandas constitui teoricamente uma população diferente de microrganismos. No intuito de comparar os consórcios microbianos desenvolvidos em cada reator, foi realizado o seqüenciamento genético de cada banda recortada da análise de DGGE do reator R1 e do reator R2, a fim de revelar os microrganismos presentes em cada sistema por meio da identificação do material genético seqüenciado com um banco de dados de seqüências conhecidas de diversos microrganismos.

#### **4.9. Estudos Hidrodinâmicos**

Foram realizados dois ensaios hidrodinâmicos no reator R2 com a finalidade de avaliar algumas características associadas ao padrão de escoamento, tais como caminhos preferenciais, regiões de estagnação e o tempo de detenção hidráulica real aplicado ao sistema. Os tempos de detenção hidráulica teóricos empregados foram de 30 e 60 minutos.

O traçador utilizado foi o cloreto de sódio (NaCl) e aplicado ao reator na forma de estímulo degrau (Levenspiel, 2000), pois esta metodologia pareceu mais adequada à condição do leito já completamente repleto de biomassa. A injeção na forma de pulso não foi utilizada, pois presumiu-se que a elevada concentração de

biomassa poderia aumentar a adsorção do traçador e gerar interferências no resultado.

A metodologia aplicada consistiu em instalar, na saída do efluente líquido do reator, um vertedor com uma sonda para detecção de condutividade, acoplada a um transdutor CBL da Texas Instruments, que por sua vez foi acoplado a uma calculadora Texas TI-89. Os sinais foram interpretados pela calculadora por aproximadamente 1,5 h após a perturbação no ensaio com TDH teórico de 30 minutos e por 3 horas no ensaio com TDH teórico de 1 hora.

Os dados obtidos com a calculadora foram ajustados com o auxílio do software Microcal Origin 6.0<sup>®</sup> para determinação das curvas de distribuição do tempo de detenção hidráulica, cálculo do tempo de detenção hidráulica real e ajuste dos modelos de escoamento.

#### **4.10. Operação dos Reatores**

Os reatores foram alimentados a partir de reservatórios com capacidade de 300 L cada. Dentro dos reservatórios era preparada a água residuária sintética nas proporções mostradas na Tabela 4.2. A única diferença no preparo do afluente se referia à adição de meio contendo macro e micronutrientes ao reator R1 descrito na Tabela 4.4.

A operação dos sistemas se deu em modo contínuo à temperatura controlada de 25°C, com a alimentação sendo aduzida de um reservatório e recalçada para o



reator, cujo leito fixo ficou submetido ao fluxo ascendente do substrato.

O programa de experimentos adotado foi executado em duas etapas. Na primeira, foi realizada a operação simultânea dos dois reatores com tempo de detenção hidráulica de 0,5 h (com base no volume útil), sendo que o reator R1 foi alimentado com a água residuária suplementada e o reator R2 foi operado sem qualquer adição de meio nutriente, utilizando apenas a água residuária semi-sintética que simulava efluente de indústria de refrigerantes. Esta etapa teve como objetivo a avaliação da produção de hidrogênio sob as condições de operação relativas a adição e não-adição de nutrientes buscando, por meio dos resultados obtidos, verificar a necessidade de suplementação nutricional da água residuária semi-sintética simulando efluente de indústria de refrigerantes.

Ainda na primeira etapa, que durou 62 dias com os reatores funcionando simultaneamente, foi possível realizar análises comparativas entre os resultados dos parâmetros de monitoramento de ambos. Esta etapa culminou com a desativação do reator R1 devido ao mau desempenho na estabilidade de produção de hidrogênio, conforme poderá ser visto na seção de Resultados e Discussão.

A segunda etapa iniciou-se com 129 dias de operação do reator R2 e teve como objetivo a avaliação do efeito do aumento do tempo de detenção hidráulica teórico sobre a produção de hidrogênio no reator R2.

O desempenho dos reatores foi avaliado por meio do monitoramento das seguintes variáveis: vazão volumétrica de hidrogênio, composição do biogás, degradação de carboidratos, produção de ácidos, produção de álcoois, DQO e pH. A Tabela 4.7 traz uma breve descrição dos parâmetros e as respectivas frequências com que foram monitorados.

Tabela 4.7. Determinações analíticas e frequência de análises para monitoramento do reator.

Parâmetros	Local de coleta	Frequência
Vazão	Saída do reator	Diariamente
Temperatura	Termostato da câmara	Diariamente
DQO	Afluente e Efluente	1 vez por semana
Sólidos suspensos	Afluente e Efluente	1 vez por semana
pH	Afluente e Efluente	3 vezes por semana
Carboidratos	Afluente e Efluente	3 vezes por semana
Ácidos voláteis	Afluente e Efluente	3 vezes por semana
Álcoois	Afluente e Efluente	3 vezes por semana
Produção do biogás	Saída de gás	3 vezes por semana
Composição do biogás	Saída de gás	3 vezes por semana

## **CAPÍTULO 5**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados referentes às duas etapas deste trabalho. Na primeira etapa são analisados os dados obtidos com os reatores R1 e R2 operados simultaneamente a um TDH teórico de 0,5 h, e na segunda etapa são discutidos os dados da operação do reator R2 com TDH teórico de 1 h.

Conforme descrito na metodologia, realizou-se o experimento nos reatores fazendo-se acompanhamento dos parâmetros de monitoramento ao longo do período de operação. Tais experimentos visaram monitorar o reator observando, principalmente, a geração de hidrogênio, a sua evolução de produção ao longo do tempo e a estabilidade dessa produção.

#### **5.1. Primeira Etapa do Experimento - Avaliação do Desempenho dos Reatores R1 e R2**

Conforme apresentado em Material e Métodos, a primeira etapa consistiu na operação de dois reatores sob TDH teórico de 0,5 h, sendo um dos reatores alimentado com a água residuária semi-sintética com adição de solução de macro e micronutrientes (R1) e o outro, alimentado somente com a água residuária, sem qualquer nutriente adicional (R2).

### 5.1.1. Variação do pH

Conforme pode-se notar na Figura 5.1, o perfil do pH efluente acompanhou de maneira significativa as oscilações do pH afluente, tanto no reator R1 quanto no reator R2.

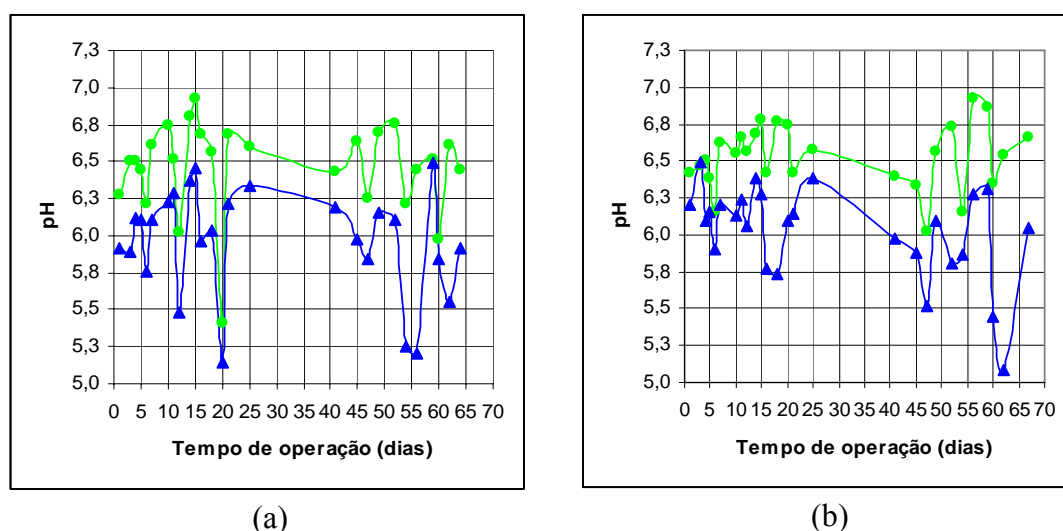


Figura 5.1. Variação do pH afluente (●) e do pH efluente (▲) do reator R1 (a) e do reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.

Para o reator R1, o pH afluente médio foi 6,5 e o efluente médio foi 6,0. Já no reator R2, o pH afluente médio foi 6,4 e o efluente médio foi 6,0. É importante esclarecer que o valor de pH relativamente alto no afluente de ambos os reatores foi mantido para evitar que ao longo do processo de acidogênese, o valor de pH não atingisse um valor crítico e se tornasse um fator negativo para a produção de hidrogênio. Sabe-se que o pH abaixo de 4,7 é altamente desfavorável para a produção de hidrogênio, pois pode ocorrer inibição da atividade da hidrogenase e de outras enzimas envolvidas no processo (LAY, 1999).

### 5.1.2. Utilização de carboidratos

Os resultados apresentados na Figura 5.2. mostram que em ambos os reatores houve degradação dos carboidratos (Figura 5.2.a e 5.2.b). Segundo Hawkes *et al.* (2002), estes compostos constituem a fonte preferencial de carbono orgânico para a produção de hidrogênio via fermentação.

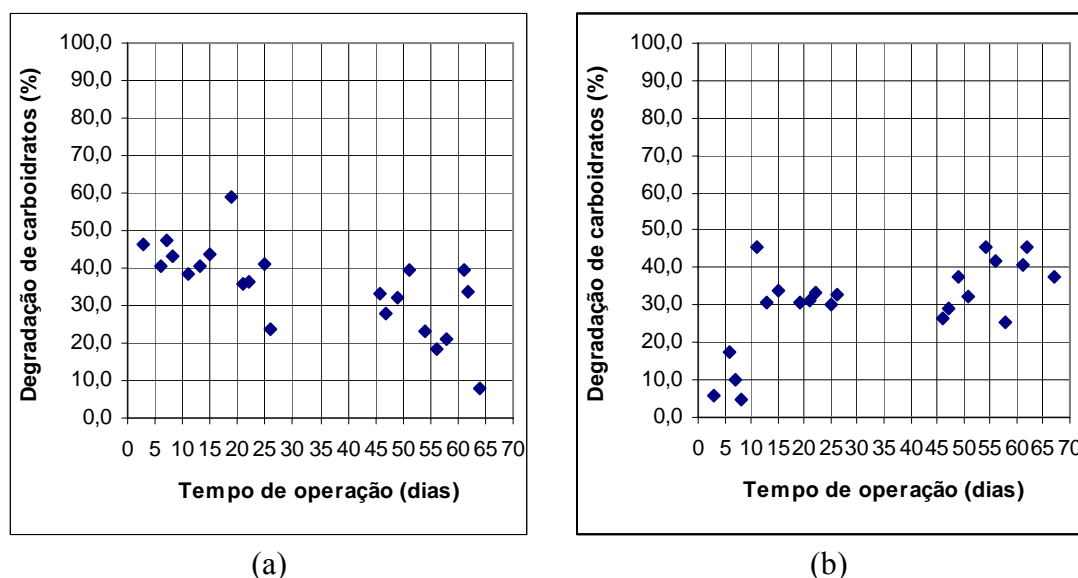


Figura 5.2. Degradação dos carboidratos no Reator R1 (a) e R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.

No reator R1 (Figura 5.2.a) foi observada eficiência média de degradação de carboidratos de  $35,0 \pm 9,8\%$ , enquanto no reator R2 (Figura 5.2.b) a eficiência média alcançada foi de  $32,8 \pm 11,6\%$ . A baixa conversão é resultado do baixo TDH teórico aplicado (30 minutos), com a finalidade de evitar equilíbrio entre organismos produtores e consumidores de ácidos, o que conseqüentemente resultaria em consumo do hidrogênio.

A medida de carboidratos foi implementada porque o substrato utilizado é bastante heterogêneo em termos de fontes de carbono. Sabe-se, a partir da composição dos refrigerantes, que a sacarose participa como a maior fonte de carboidratos, porém não como a única.

As concentrações médias de carboidratos, medidas em termos de glicose, no afluente e efluente foram  $1464,9 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $946,4 \text{ mg.L}^{-1}$  para o reator R1, respectivamente, e para o reator R2, na média, obteve-se no afluente  $1578,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $1034,5 \text{ mg.L}^{-1}$  no efluente. Apesar das médias terem alcançado valores muito próximos, nota-se na Figura 5.2.b que a degradação de carboidratos no reator R2 manteve um certo patamar após o 53º dia de operação, com tendência de alta. Já no reator R1, percebe-se que a degradação exibiu uma tendência de queda.

### **5.1.3. Redução da DQO**

A remoção dos compostos que causam Demanda Química de Oxigênio (DQO) foi notadamente maior no reator R2, como pode ser observado na Figura 5.3.b, pois o sistema alcançou 23,1% de remoção média, ao passo que no reator R1 essa remoção média ficou em torno de 15,6%. Essa menor conversão em R1 pode indicar que a rota metabólica dos microrganismos deste sistema levou a maior produção de ácidos de cadeia longa e compostos mais reduzidos, justificando, desta forma, a baixa produção de hidrogênio observada nesse reator (item 5.1.4). Assim, o hidrogênio produzido foi, provavelmente, utilizado na síntese destes compostos ao

invés de ter sido liberado como gás, conforme afirmam Levin *et al.* (2004).

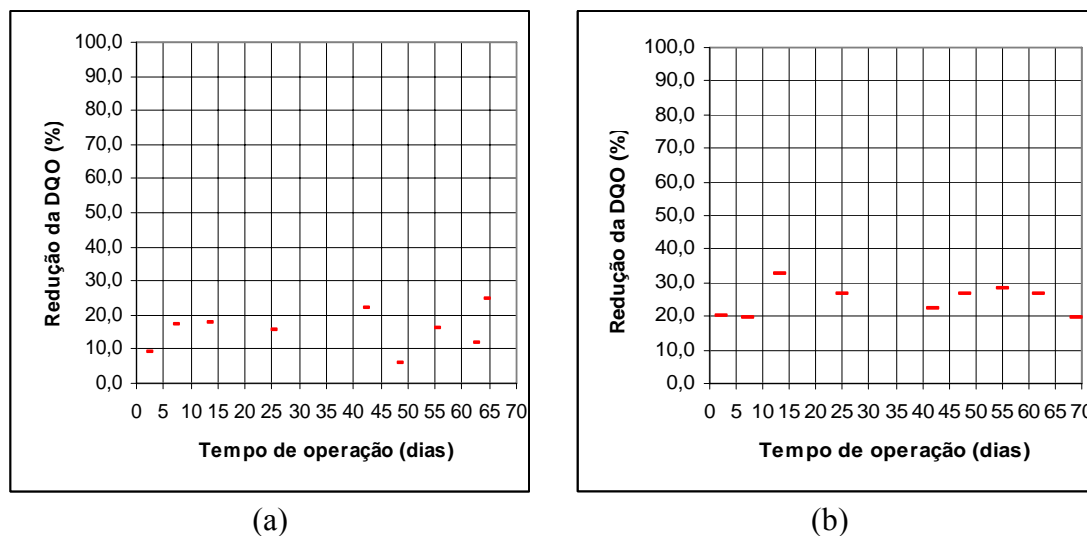


Figura 5.3. Redução da DQO no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.

#### 5.1.4. Produção de hidrogênio

Pode-se notar, na Figura 5.4.a, que a produção máxima de hidrogênio pelo reator R1 ( $11,41 \text{ mL min}^{-1}$ ) foi bastante inferior a alcançada pelo reator R2 ( $29,4 \text{ mL min}^{-1}$ ). Além disso, a produção no reator R1 ocorreu em curto período de tempo, chegando a valores praticamente nulos após 10 dias de operação. Resultados semelhantes aos observados para o reator R1 foram obtidos por Fernandes (2008), em operação de leito fixo alimentado com água residuária sintética a base de sacarose, contendo as mesmas soluções de macro e micronutrientes empregadas na alimentação do reator R1. Três reatores foram operados com diferentes materiais para adesão microbiana (argila expandida, carvão vegetal e polietileno de baixa

densidade) e, nos três sistemas, a produção de hidrogênio aumentou progressivamente até atingir um valor máximo, com queda até valores nulos após aproximadamente 40 dias de operação.

Estes resultados demonstram que a condição operacional imposta ao reator R1, ou seja, a adição de meio contendo macro e micronutrientes, foi prejudicial à manutenção da geração de hidrogênio, ao passo que os dados da operação do reator sem suplementação (R2) apontam que a condição nutricional “pobre” é que propiciou tanto a produção mais elevada de hidrogênio quanto a continuidade desta produção no respectivo reator.

Supõe-se que a maior produção de hidrogênio no reator R2 e a constância dessa produção tenham ocorrido devido à seleção de microrganismos imposta pela condição restritiva do substrato usado no respectivo reator.

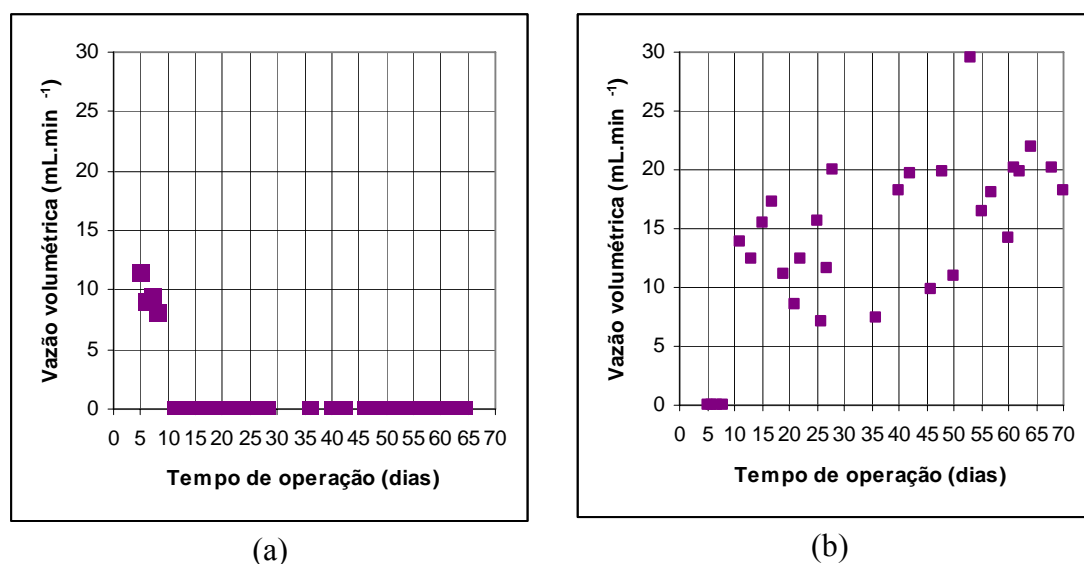


Figura 5.4. Produção de hidrogênio no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.

De posse dos resultados de produção de hidrogênio e utilização do substrato, foi possível calcular o rendimento máximo alcançado pelos dois reatores seguindo a



estequiometria proposta por Schröder e Scholz (2003) apresentada na Reação 5.1.



Considerando que a maior fonte de carboidratos tenha sido a sacarose, com potencial de gerar 8 mol  $\text{H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  de substrato quando o intermediário formado é somente ácido acético (Reação 5.1), pode se aferir que o reator R2 obteve um bom rendimento, visto que atingiu o máximo de 4,2 mol  $\text{H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  de carboidratos, em contraste com o reator R1, que chegou no máximo a 2,5 mol  $\text{H}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$  de substrato.

A vazão volumétrica média de hidrogênio observada no reator R2 foi de 17,5  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . A partir deste dado foi possível calcular o valor médio da velocidade volumétrica de produção de hidrogênio no reator R2 como 0,52  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ . Esse valor é muito próximo ao encontrado por Chang *et al.* (2002), que obteve 0,42  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  na operação de um reator de leito empacotado, com TDH de 1 h, tendo sacarose como substrato. A velocidade volumétrica média de produção não foi calculada para o reator R1 pela inconstância da produção observada.

### 5.1.5. Geração de ácidos

De acordo com a estequiometria proposta por Schröder e Scholz (2003), no item anterior (Reação 5.1), nota-se que a máxima produção teórica de hidrogênio a partir de sacarose só é possível quando os outros produtos formados são o gás

carbônico e o ácido acético. Entretanto, outros ácidos foram produzidos, o que comprometeu a capacidade máxima teórica de produção de hidrogênio. Este fato está provavelmente ligado às populações heterogêneas de microrganismos que se desenvolveram tanto no reator R1 quanto no reator R2.

Na Figura 5.5 é apresentada a distribuição de ácidos presentes no efluente do reator R1 e suas respectivas concentrações são apresentadas nas Tabelas 5.1 e 5.2.

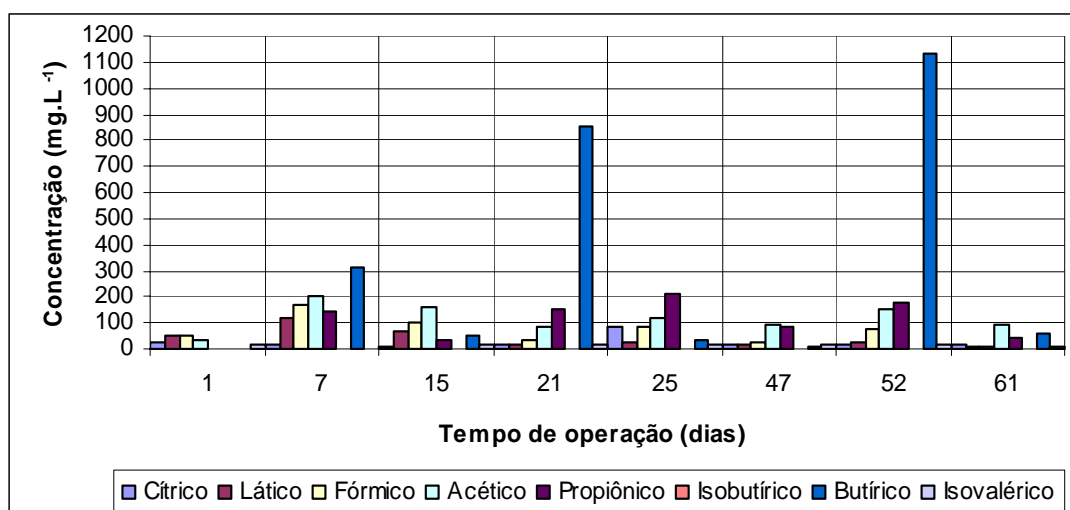


Figura 5.5. Distribuição dos ácidos orgânicos no efluente do reator R1 operado com TDH de 0,5 h.

Nota-se, na Figura 5.5, que houve picos de produção de ácido butírico, o que confirma uma das causas para o mau desempenho deste reator na produção de hidrogênio.

Khanal *et al.* (2004) apresentam a seguinte equação referente à rota de formação de ácido butírico:



Reação 5.2

Assim, quando o ácido butírico é o produto da fermentação, o rendimento máximo teórico de produção de hidrogênio será metade do observado na produção do ácido acético.

Tabela 5.1. Concentração dos ácidos acético, butírico, cítrico e fórmico efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Ácidos			
	Acético	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )		
		Butírico	Cítrico	Fórmico
1	30,63	não detectado	22,02	52,75
7	199,51	312,78	13,66	167,35
15	158,12	52,18	7,87	97,58
21	88,44	851,24	14,39	37,06
25	114,58	37,75	86,66	85,51
47	96,62	11,83	21,01	24,99
52	154,09	1132,49	13,69	71,89
61	90,70	55,82	16,53	6,03

Tabela 5.2. Concentração dos ácidos isobutírico, isovalérico, láctico e propiônico efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Ácidos			
	Isobutírico	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )		
		Isovalérico	Láctico	Propiônico
1	3,52	16,66	47,76	não detectado
7	2,64	3,29	116,58	146,82
15	1,85	13,45	66,23	35,05
21	não detectado	13,27	15,92	148,35
25	2,35	15,75	26,16	211,19
47	1,41	17,97	19,83	82,14
52	0,54	13,21	24,03	175,56
61	3,35	5,51	9,92	41,59

Deve-se observar que a distribuição dos ácidos apresentou grande heterogeneidade e variou bastante em termos de volume produzido no decorrer do tempo de operação do reator R1. É provável que nos períodos de menor produção de ácidos, o metabolismo dos microrganismos estivesse direcionado para a geração de álcoois. Este fato poderá ser analisado no item 5.1.6, no qual são mostrados os dados

de produção de álcoois.

Para a análise comparativa e investigação dos fatores que conduziram os reatores a resultados bastante diversos de produção de hidrogênio, é mostrada na Figura 5.6 a distribuição dos ácidos efluentes ao reator R2, com concentrações apresentadas nas Tabelas 5.3 e 5.4.

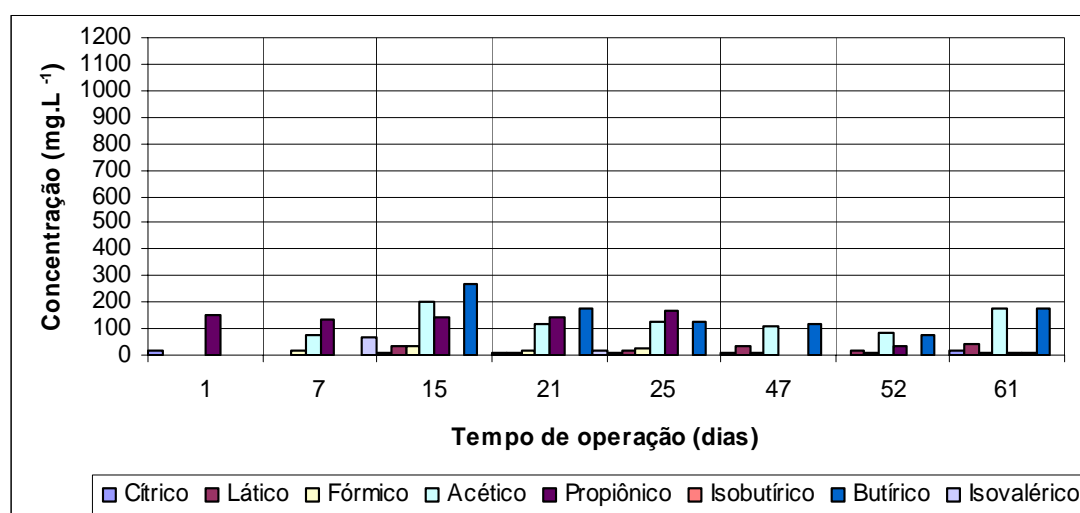


Figura 5.6: Distribuição dos ácidos orgânicos no efluente do reator R2 operado com TDH de 0,5 h.

A diferença entre a concentração e a distribuição dos ácidos revela-se muito significativa quando se confrontam as Figuras 5.5 e 5.6, juntamente com os resultados apresentados nas Tabelas 5.1 a 5.4.

Percebe-se, na Figura 5.6, que a composição dos ácidos no efluente começa a se tornar mais homogênea a partir do 47º dia de operação. Essa estabilidade aparente e a geração quase exclusiva de ácido acético e ácido butírico em relação aos outros ácidos, apresenta concordância com os melhores resultados obtidos com o reator R2.

Tabela 5.3. Concentração dos ácidos acético, butírico, cítrico e fórmico efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Ácidos			
	Acético	Butírico	Cítrico	Fórmico
1	não detectado	não detectado	19,03	não detectado
7	72,85	1,33	1,92	18,00
15	198,13	266,12	4,86	32,05
21	114,03	176,73	11,90	17,35
25	129,65	128,59	10,39	22,86
47	110,11	114,18	11,06	9,08
52	86,67	75,41	não detectado	7,68
61	172,28	176,89	20,68	11,87

Tabela 5.4. Concentração dos ácidos isobutírico, isovalérico, láctico e propiônico efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Ácidos			
	Isobutírico	Isovalérico	Láctico	Propiônico
1	1,08	0,07	3,66	152,22
7	2,33	65,08	3,07	137,80
15	não detectado	0,72	36,74	139,49
21	2,55	13,53	10	144,92
25	não detectado	não detectado	19,35	166,64
47	0,88	não detectado	32,41	não detectado
52	0,40	não detectado	18,54	36,16
61	4,61	não detectado	37,98	5,40

### 5.1.6. Geração de solventes

Segundo Lay *et al.* (1999), a formação de solventes como produtos faz parte do metabolismo fermentativo da produtora de hidrogênio *Clostridium* sp., que é o microrganismo mais comumente encontrado e identificado como produtor de hidrogênio nos reatores biológicos. Os mesmos autores afirmam que esta espécie produz ácidos de cadeia longa durante a fase de crescimento exponencial e somente

na última fase do crescimento o metabolismo do microrganismo muda para a produção de solventes.

Esse mecanismo, bem como as mudanças enzimáticas que ocorrem no mesmo, estão sintetizados na Figura 5.7.

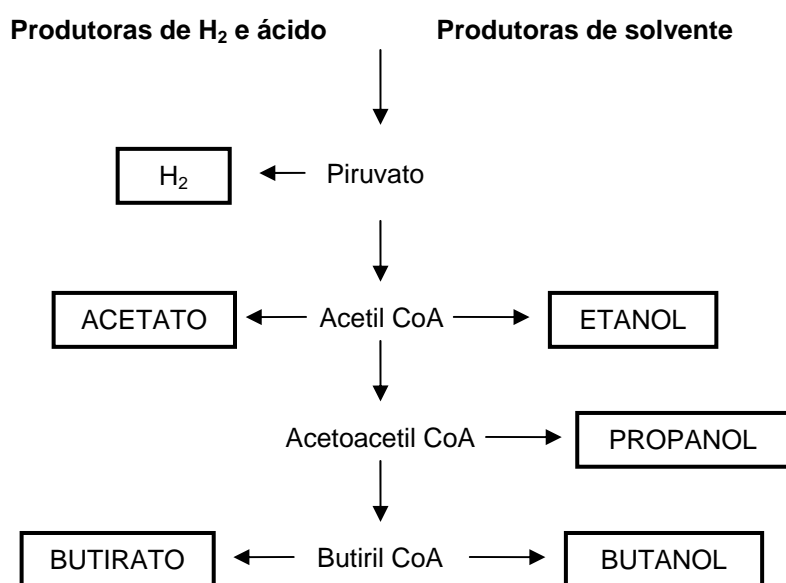


Figura 5.7. Metabolismo do substrato na fermentação para produção de hidrogênio.

Na Figura 5.8, que representa a distribuição dos álcoois e acetona efluentes ao reator R1, nota-se que o etanol foi o solvente produzido em maior concentração. O mesmo ocorreu no reator R2 (Figura 5.9), embora em menores concentrações de etanol, muitas vezes similares à de metanol.

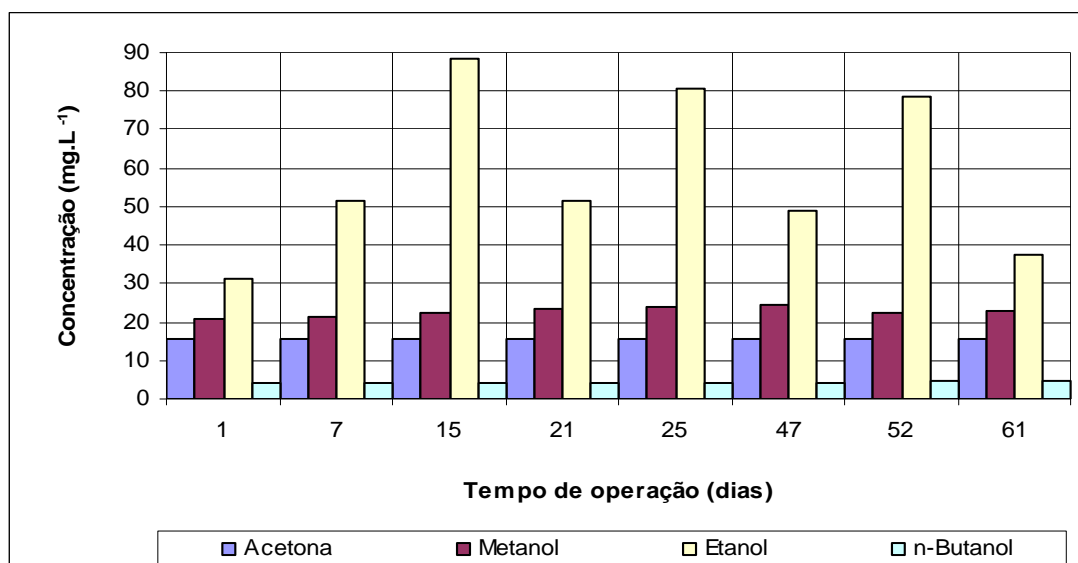


Figura 5.8. Distribuição dos álcoois e acetona no efluente do reator R1 operado com TDH de 0,5 h.

A Tabela 5.5 apresenta os resultados obtidos com as análises de álcoois no efluente do reator R1.

Tabela 5.5. Concentração de acetona, metanol, etanol e n-butanol efluentes ao reator R1 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Álcoois			
	Acetona	Metanol	Etanol	n-Butanol
1	15,50	20,89	31,28	4,04
7	15,44	21,39	51,30	4,03
15	15,45	22,54	88,31	4,20
21	15,56	23,43	51,37	4,12
25	15,45	23,80	80,44	4,12
47	15,52	24,36	48,97	4,12
52	15,46	22,24	78,37	4,58
61	15,59	22,97	37,41	4,53

É possível constatar por meio de comparação entre as Figuras 5.8 e 5.9, que a produção de solventes foi maior no reator R1.

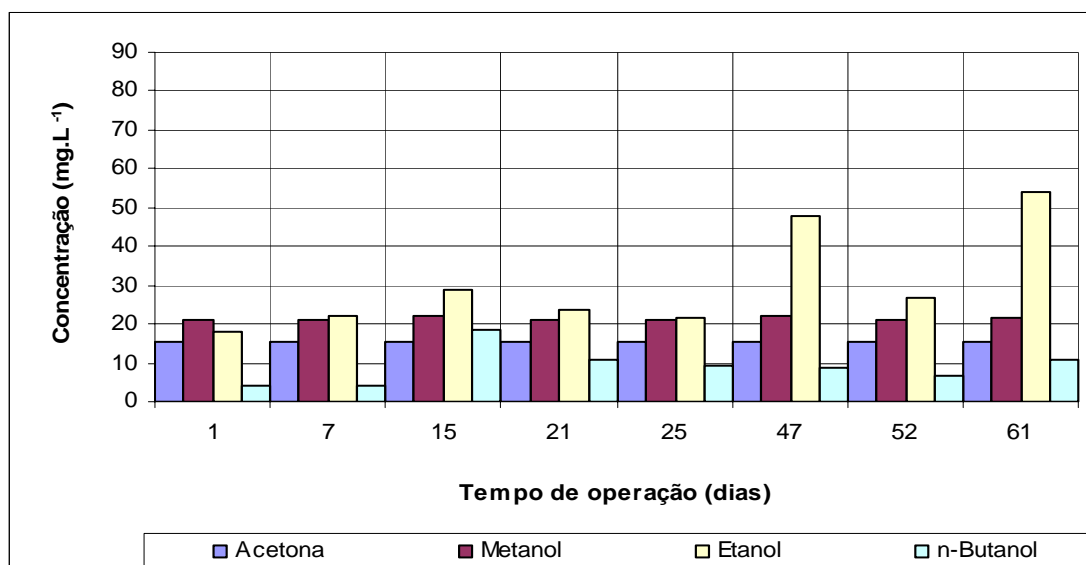


Figura 5.9. Distribuição dos álcoois e acetona no efluente do reator R2 operado com TDH de 0,5 h.

Conforme afirmado anteriormente, a produção de álcoois ocorre somente na última fase de crescimento da produtora de hidrogênio *Clostridium* sp., quando ocorre a mudança de metabolismo em virtude de fatores ainda não conhecidos totalmente. Os resultados obtidos com a operação do reator R1 alimentam a hipótese de que a adição de nutrientes não apenas proporciona o desenvolvimento de uma quantidade maior de microrganismos, mas acelera o desenvolvimento dos mesmos fazendo com que atinjam mais rapidamente esta última fase de crescimento e, conseqüentemente, mudem com maior velocidade para o metabolismo do substrato direcionado para a formação de solventes.

Os resultados obtidos com as análises das amostras retiradas do reator R2 demonstram que neste sistema houve menor produção de álcoois em relação ao reator R1. Também se nota que a concentração de etanol não foi predominante todo o tempo, como ocorreu no reator R1. A Tabela 5.6 apresenta os resultados de produção de álcoois obtidos na operação do reator R2.



Tabela 5.6. Concentração de acetona, metanol, etanol e n-butanol efluentes ao reator R2 operado com TDH de 0,5 h.

Dias de operação	Alcoois			
	Acetona	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )		
		Metanol	Etanol	n-Butanol
1	15,44	20,89	18,21	4,05
7	15,44	20,89	21,97	4,05
15	15,50	22,25	28,57	18,63
21	15,45	21,07	23,49	10,89
25	15,45	21,12	21,67	9,06
47	15,46	21,91	47,87	8,87
52	15,42	20,89	26,88	6,50
61	15,43	21,52	54,17	10,65

### 5.1.7. Composição do biogás

A composição do biogás (Figura 5.10) também revela que o desempenho do reator R2 foi superior ao do reator R1, e reforça a teoria de que houve rotas metabólicas diferentes nos dois sistemas. No biogás, ao se realizar a análise de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> que correspondem a praticamente a totalidade do mesmo, verifica-se que o reator R1 apresentou pouco hidrogênio em sua composição, conforme mostra a Figura 5.10.a.

É importante ressaltar que não foi detectado metano em nenhuma das análises de composição do biogás, tanto para o reator R1 quanto para o reator R2.

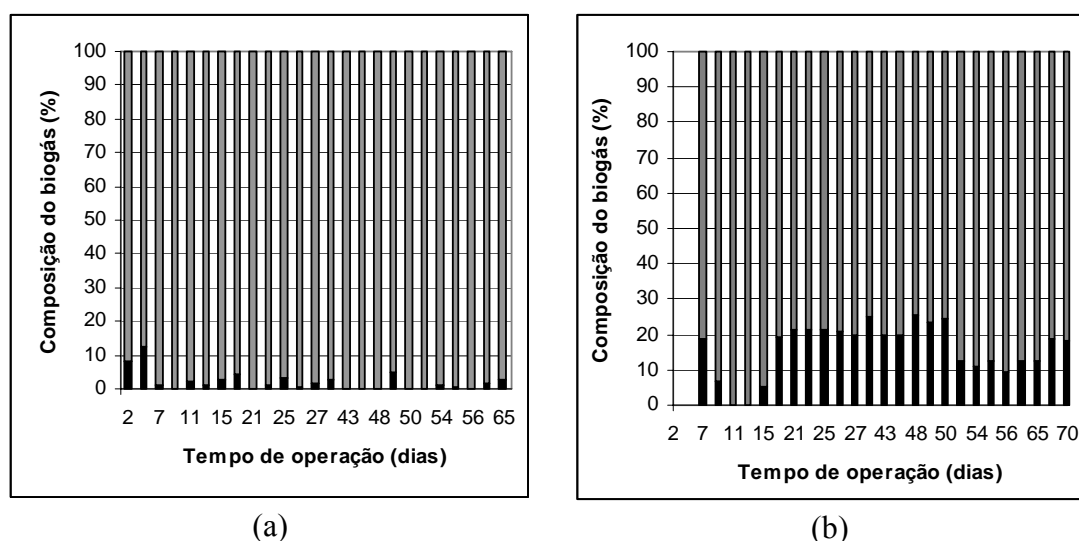


Figura 5.10. Composição de  $H_2$  (■) e  $CO_2$  (■) no biogás gerado no reator R1 (a) e no reator R2 (b) operados com TDH de 0,5 h.

No reator R1, o conteúdo médio de hidrogênio correspondeu a 2,1%, com máximo de 12,5% no 6º dia de operação. Proporção substancialmente maior foi quantificada no reator R2, que apresentou a média de 19,2% de hidrogênio no biogás.

#### 5.1.8. Exame de microscopia ótica

No 42º dia de operação foram retiradas amostras dos reatores R1 e R2 para a realização de análise de microscopia ótica.

A razão para as diferenças de comportamento entre os reatores pode ser melhor elucidada pelo exame de microscopia, que indicou uma possível seleção de microrganismos no reator R2, enquanto maior diversidade foi observada no reator R1, conforme apresentado na Figura 5.11.

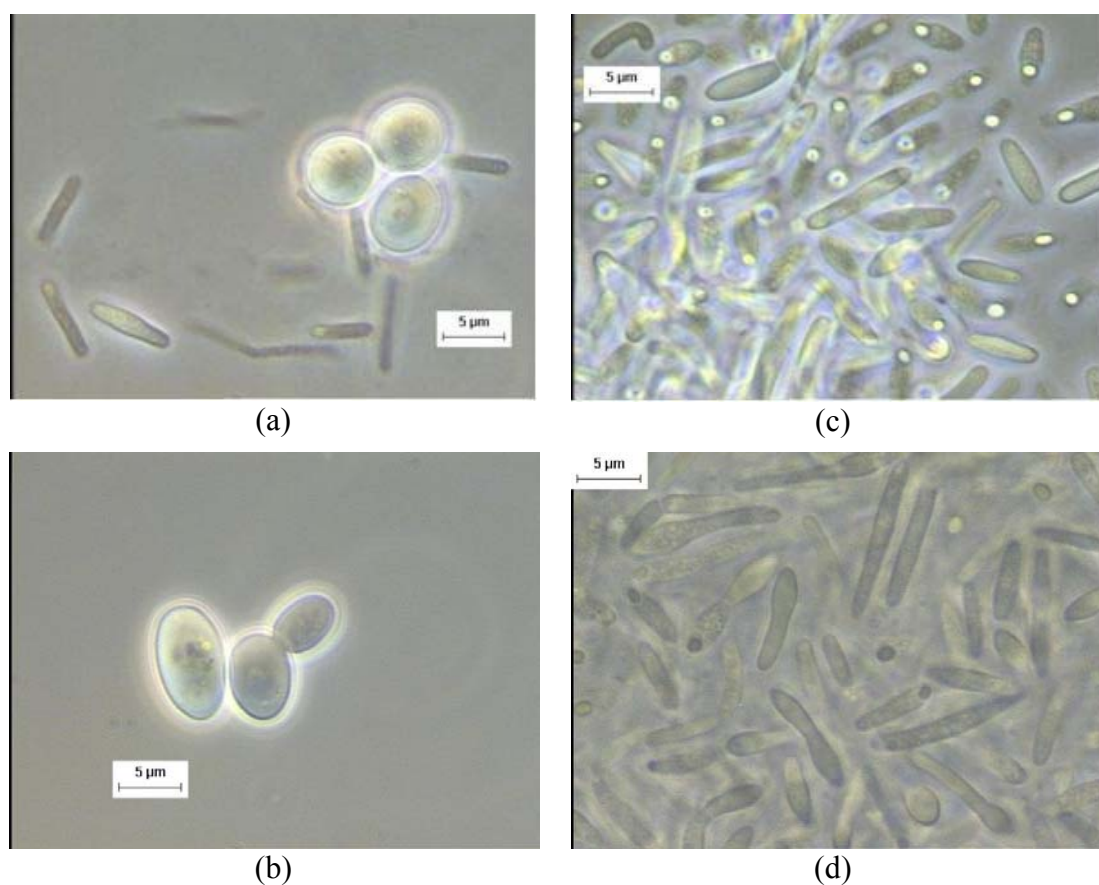


Figura 5.11. Análise microscópica da biomassa presente no reator R1 e no reator R2 operados com TDH de 0,5 h: (a) e (b) Amostras do reator R1; (c) e (d) Amostras do reator R2.

Na Figuras 5.11.a e 5.11.b (referentes ao reator R1), notam-se leveduras e bacilos de diferentes morfologias. Já na Figuras 5.11.c e 5.11.d (referentes ao reator R2) visualizam-se somente bacilos com morfologias semelhantes e presença de endosporos na maioria dos microrganismos. Essa primeira comparação é útil no sentido de diferenciar as morfologias dos microrganismos presentes nos reatores. A presença de leveduras no reator R1 (Figura 5.11.a e 5.11.b) aponta para a heterogeneidade da biomassa deste sistema, ao passo que a análise do reator R2 (Figuras 5.11.c e 5.11.d) indica a presença de microrganismos mais homogêneos em termos de morfologia. O mesmo pode ser concluído a partir das análises das

amostras submetidas à coloração de Gram.

As análises de Gram foram realizadas com a intenção de detectar a presença de bactérias pertencentes ao gênero *Clostridium*, na sua maioria Gram positivas, que se colorem de azul violeta. Essas bactérias têm formato de bacilos, são estritamente anaeróbias, formadoras de endósporos e reconhecidas como as principais produtoras de hidrogênio.

A Figura 5.12.b, que corresponde a amostra retirada do reator R1, revela muitos organismos que não se tingiram de azul violeta, além de serem notadas células com morfologias diferentes. Já na Figura 5.12.d, referente ao reator R2, observa-se que a maioria dos microrganismos coloriu-se de azul violeta indicando a presença de parede celular Gram positiva e as morfologias visualizadas apresentaram grande semelhança, indicando dessa forma que a população microbiana do reator R2 encontrava-se mais homogênea.

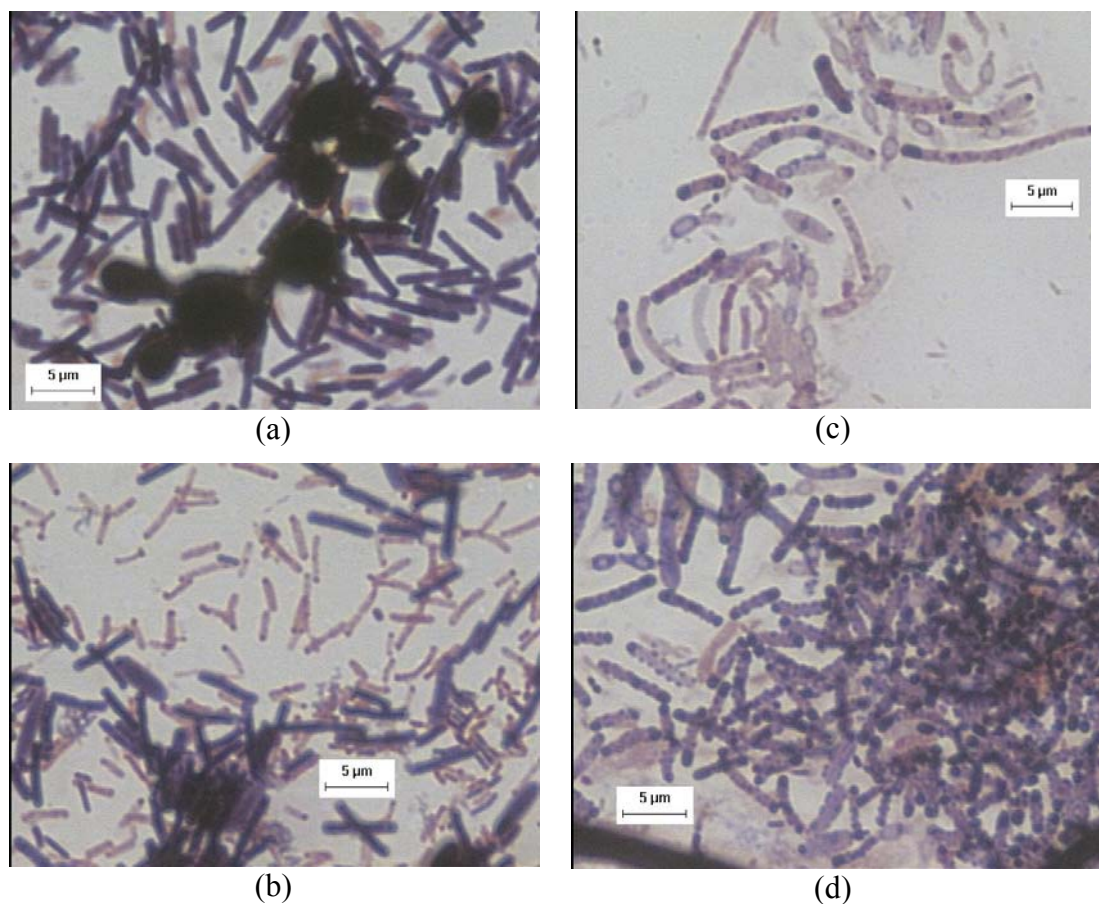


Figura 5.12. Análise microscópica de GRAM da biomassa presente no reator R1 e no reator R2 operados com TDH de 0,5 h: (a) e (b) Amostras do reator R1; (c) e (d) Amostras do reator R2.

### 5.1.9. Análises de biologia molecular

As técnicas de biologia molecular como DGGE e seqüenciamento do DNA foram empregadas com a finalidade de investigar os microrganismos envolvidos na produção de hidrogênio nos dois reatores estudados.

Houve grande dificuldade para a realização desta análise, pois a extração de DNA para posterior aplicação no DGGE era constantemente prejudicada pela presença de interferentes na amostra, provavelmente oriundos do sabão industrial e

do óleo lubrificante que faziam parte da composição da água residuária semi-sintética.

A Figura 5.13 mostra o perfil de DGGE obtido com a utilização de *primers* para o Domínio *Bacteria*.

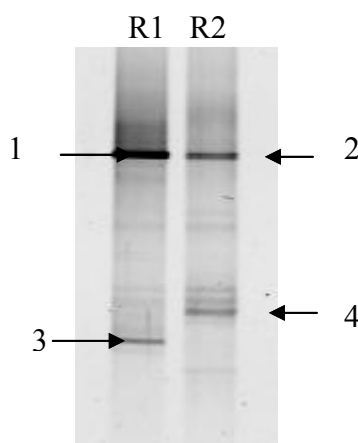


Figura 5.13. Gel de DGGE (gradiente 30%-70%) com *primers* para o Domínio *Bacteria* proveniente de amostras dos reatores R1 e R2 operados com TDH de 0,5 h. As indicações numeradas (1,2,3 e 4) correspondem aos diferentes gêneros bacterianos encontrados.

As bandas (1, 2, 3 e 4) indicadas na Figura 5.13. foram recortadas e seus conteúdos foram submetidos ao seqüenciamento genético. As bandas 1 e 2 foram escolhidas por apresentar marcação mais intensa, o que dá a indicação da população dominante. As bandas 3 e 4 são as sucessoras em termos de intensidade de marcação e estão posicionadas em regiões diferentes do gel, o que justifica a escolha de ambas.

Por meio do seqüenciamento das bandas obteve-se os resultados apresentados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Informação das seqüências obtidas das bandas recortadas no DGGE com *primers* para o Domínio *Bacteria* de amostras provenientes dos reatores operados com TDH de 0,5 h (400 pares de bases sequenciados).

<b>Banda no<sup>1</sup></b>	<b>Microrganismo</b>	<b>Acesso no.</b>	<b>Similaridade %</b>	<b>Referência</b>
Banda 1, 2	<i>Clostridium</i> sp.	DQ196630	91	Bowman <i>et al.</i> (2006)
Banda 3	<i>Klebsiella</i> sp.	EU196756	97	Niu <i>et al.</i> (2007). Não publicado
Banda 4	<i>Enterobacter</i> sp.	EU430750	93	Zhu <i>et al.</i> (2008). Não publicado

As Bandas 1 e 2, observadas em ambos os reatores e que dão a indicação da população bacteriana dominante, apresentaram similaridade com *Clostridium* sp., microrganismo predominante em processos aplicados à produção de hidrogênio em reatores sob condições de elevadas vazões (HUNG *et al.*, 2007).

A Banda 3, observada no reator R1, apresenta similaridade com *Klebsiella* sp., espécie envolvida com a produção de hidrogênio através de carboidratos (HUNG *et al.*, 2007).

A Banda 4, observada no reator R2, está relacionada com a espécie *Enterobacter* sp.. De acordo com o exposto no trabalho de Fernandes (2008), esta espécie está associada à rota de utilização do NADH, que envolve a geração de hidrogênio por meio da enzima hidrogenase pelo processo de reoxidação do NADH que é produzido via glicólise (Shin *et al.*, 2007).

A Figura 5.14 mostra a árvore filogenética de consenso, com *primers* para o Domínio *Bactéria*, proveniente da informação de seqüências obtidas da biomassa dos reatores R1 e R2 com 64 dias de operação.

Na construção da mencionada árvore filogenética, foram acrescentadas seqüências conhecidas de *Clostridium* sp. (EU331374) e de *Enterobacter cloacae*

(EF474084) que ajudam a indicar a posição filogenética das bandas recortadas e seqüenciadas.

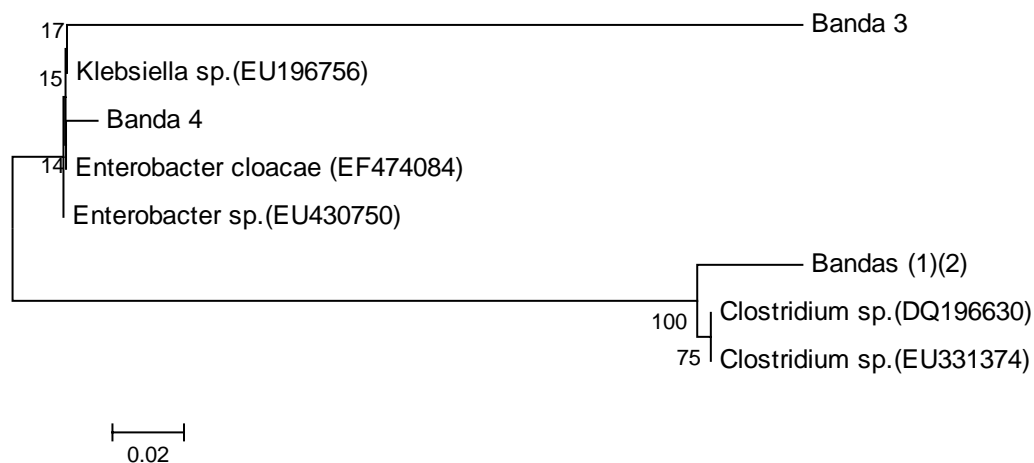


Figura 5.14. Árvore filogenética de consenso baseada nas seqüências das bandas recortadas do DGGE com *primers* para o Domínio *Bacteria*, das amostras provenientes do biofilme dos reatores operados com TDH de 0,5 h (os valores presentes nos nós das árvores indicam percentagens que o ramo se repetiu - 500 reamostragens de *bootstraps*)

A aplicação das técnicas de biologia molecular, embora tenham indicado alguma variação para as populações de bactérias presentes nos dois reatores, não foram suficientes para justificar comportamentos tão diferentes em termos de produção de hidrogênio nos dois reatores. No entanto, apenas *primers* para Domínio *Bacteria* foram usados enquanto a microscopia ótica indicou uma maior diversidade no reator R1, com morfologias similares a leveduras. No trabalho realizado por Fernandes (2008) em reator de leito fixo, alimentado com solução de sacarose enriquecida com os mesmos nutrientes utilizados em R1 e com resultados similares aos obtidos nesse reator em termos de produção de hidrogênio (produção por curto período), observou-se a presença de 3 gêneros distintos de leveduras nas amostras analisadas: *Candida* sp., *Galactomyces* sp. e *Kluyveromyces* sp.





é favorecida com pH 5,5 e a produção de solventes com pH de aproximadamente 4,5.

A degradação média dos carboidratos variou de 34% para o TDH de 0,5 hora a 54,2% para o TDH de 1 hora, conforme pode ser notado na Figura 5.16.

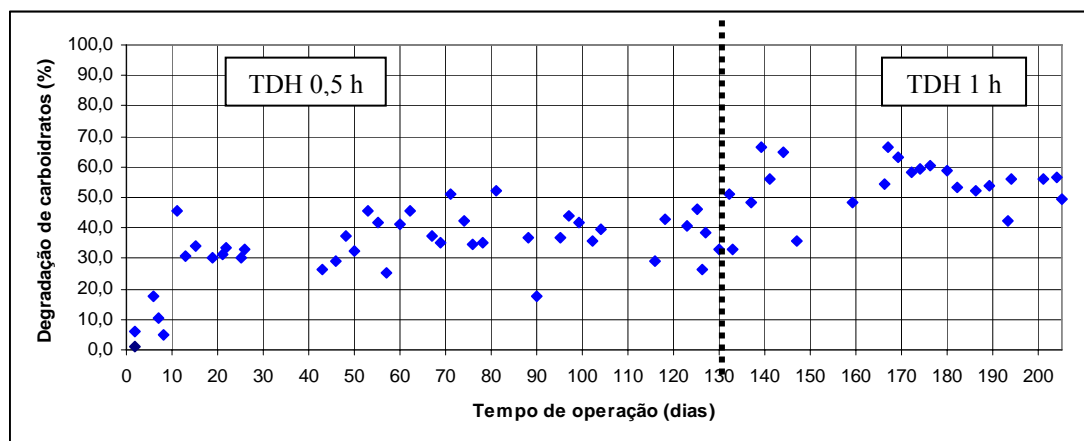


Figura 5.16. Degradação dos carboidratos pelo reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

Esse aumento na degradação do substrato está relacionado diretamente com o aumento do TDH e implicou no aumento da geração de produtos líquidos. Uma vez que não houve acréscimo na produção de hidrogênio, conforme nota-se na Figura 5.18, pode-se relacionar a maior degradação de carboidratos ao aumento da produção de ácidos e álcoois, mostrados nas Figuras 5.19 e 5.20.

A dinâmica de degradação do substrato e a geração de ácidos e álcoois permite relacionar o tempo de detenção hidráulica teórico de 1 hora com o aumento da utilização dos carboidratos, pois a operação do reator com maior tempo de detenção tende a melhorar o aproveitamento do substrato pela biomassa. Esse fato também é relatado no trabalho desenvolvido por Chang *et al.* (2002), operando reatores de leito fixo variando o TDH de 0,5 a 5 h.

A redução média da DQO foi de 13,9% para o TDH de 1 hora, bastante

inferior à redução média de 23,1% observada para o TDH de 0,5 hora. A Figura 5.17 exemplifica a queda na redução da DQO.

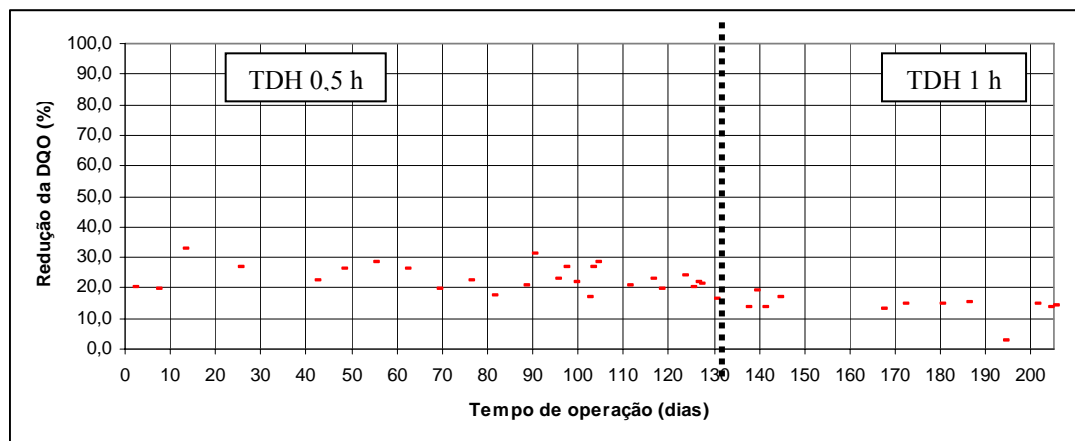


Figura 5.17. Redução da DQO em % pelo reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

Essa mudança ocorrida após o início da operação com TDH de 1 hora pode ser atribuída ao aumento na formação de compostos mais reduzidos, como ácidos de cadeia longa e álcoois, que pode ser observada nas Figuras 5.19 e 5.20. Tal hipótese é coerente, pois o período de maior geração de ácidos e álcoois coincide com o de baixa redução da DQO.

O comportamento da produção de hidrogênio, mostrado na Figura 5.18, apresenta concordância com a dinâmica dos fatores associados, pois nota-se que o período de maior geração de ácidos e álcoois (Figuras 5.19. e 5.20.) coincide com o de menor produção de hidrogênio.

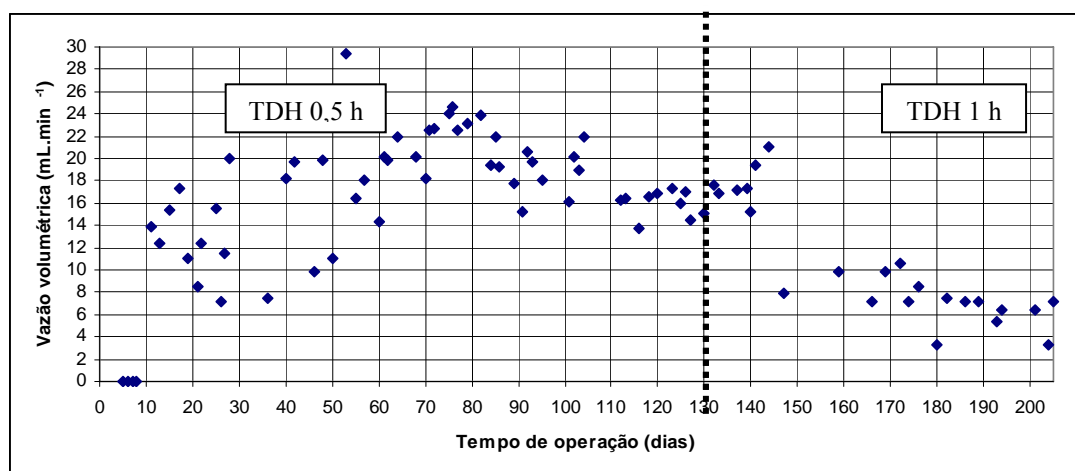


Figura 5.18. Vazão volumétrica do hidrogênio produzido no reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

No período em que o reator R2 foi operado com TDH de 0,5 h, a produção média de hidrogênio foi de  $17,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Desempenho inferior foi observado para a operação com TDH de 1 hora, pois atingiu-se, em média,  $7,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

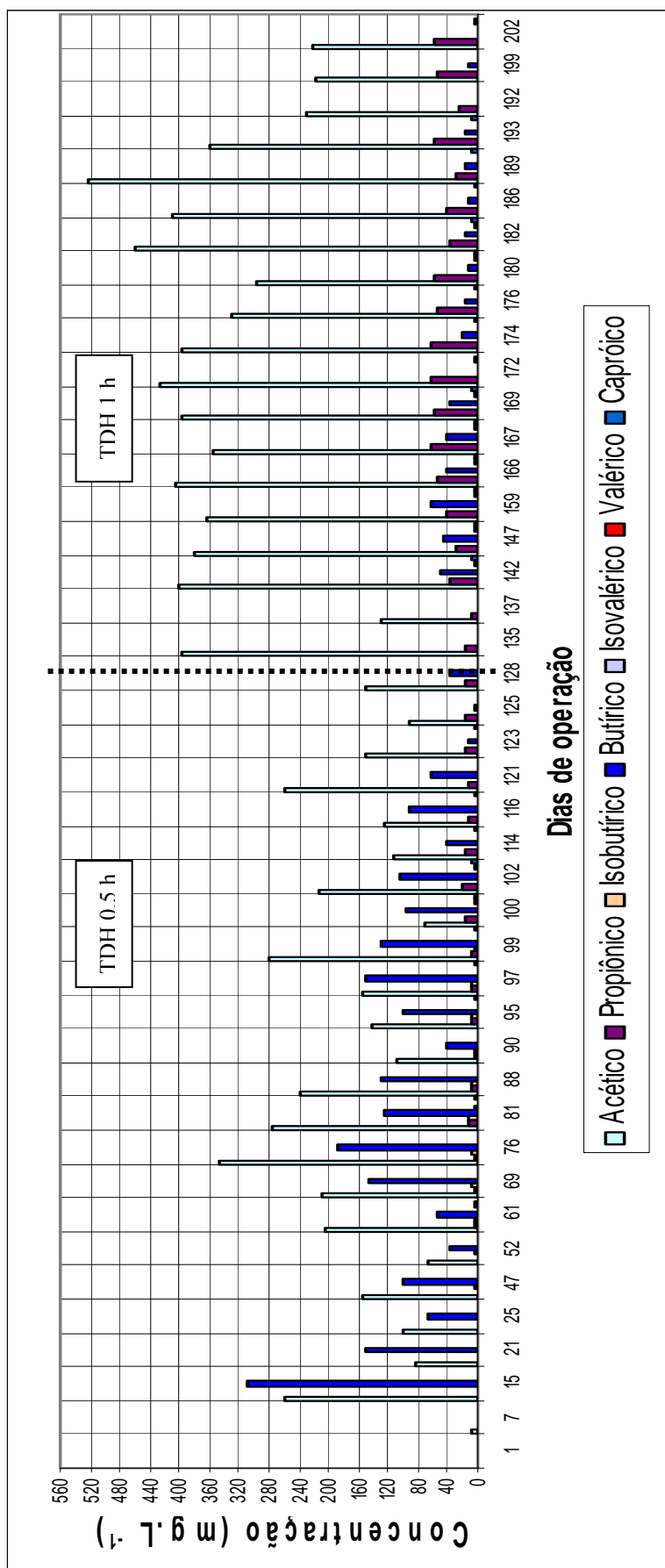


Figura 5.19. Distribuição dos ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capróico ao longo da operação do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

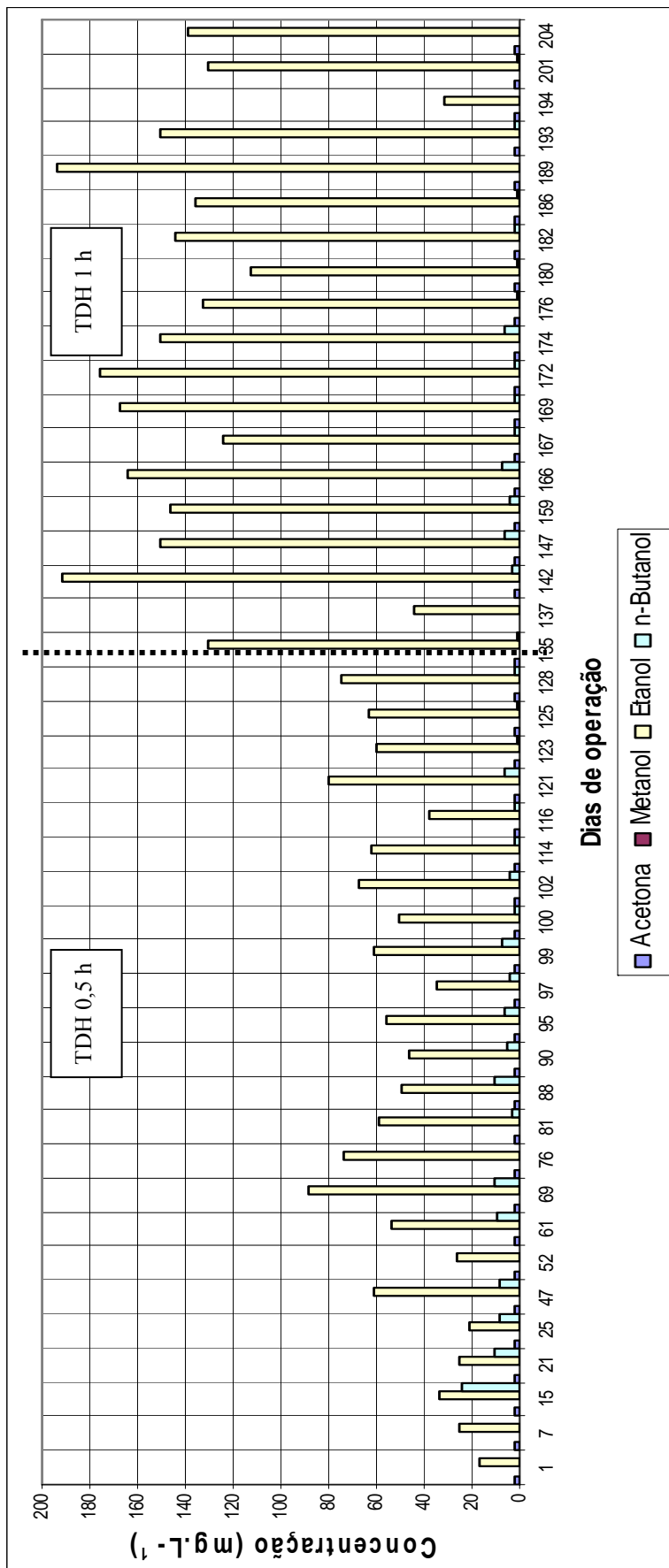


Figura 5.20. Distribuição dos álcoois acetona, metano, etanol e n-butanol ao longo da operação do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

A composição do biogás também apresentou variação quando o TDH de 0,5 hora foi aumentado para 1 hora.

A Figura 5.21. mostra que após o aumento do TDH, a tendência foi de queda na fração de  $H_2$  presente no biogás.

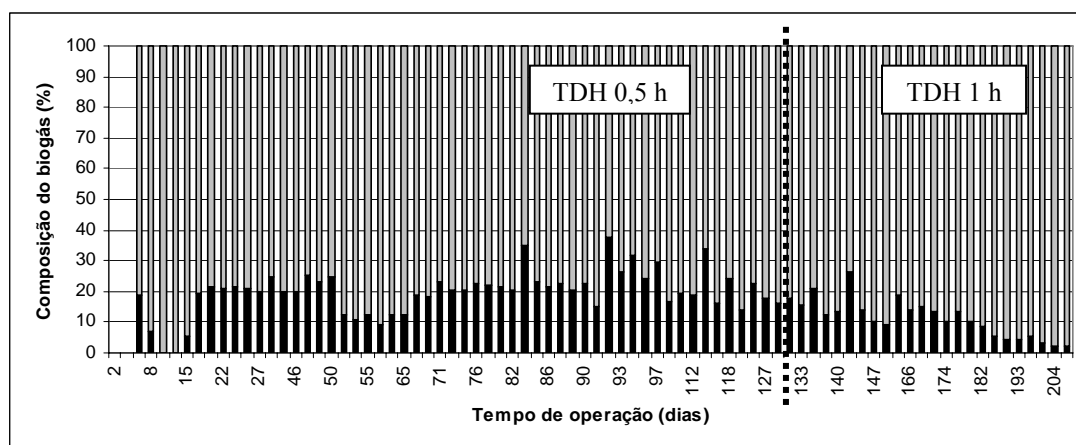


Figura 5.21. Composição de  $H_2$  (■) e  $CO_2$  (□) no biogás do reator R2 operado com TDH de 0,5 e 1 h.

Conforme já observado na dinâmica dos fatores associados à produção de hidrogênio, a produção de ácidos de cadeia longa e compostos mais reduzidos conduz à redução na produção do  $H_2$ , pois o mesmo é empregado na síntese destes compostos ao invés de ser liberado como gás.

#### 5.2.8. Determinação do padrão de escoamento do reator R2

O comportamento hidrodinâmico do reator anaeróbio de leito fixo (R2) foi avaliado nos dois tempos de detenção hidráulica empregados na sua operação: 0,5

hora e 1 hora. Os dados obtidos com a realização do ensaio do tipo degrau foram ajustados para obtenção das curvas F e E, sendo a curva E, representativa da distribuição do tempo de detenção hidráulica.

A Figura 5.22 apresenta a curva F obtida com o ensaio hidrodinâmico para o TDH teórico de 0,5 hora, realizado no 126º dia de operação do reator R2, e a Figura 5.23 apresenta a curva E (DTR) para esta mesma condição.

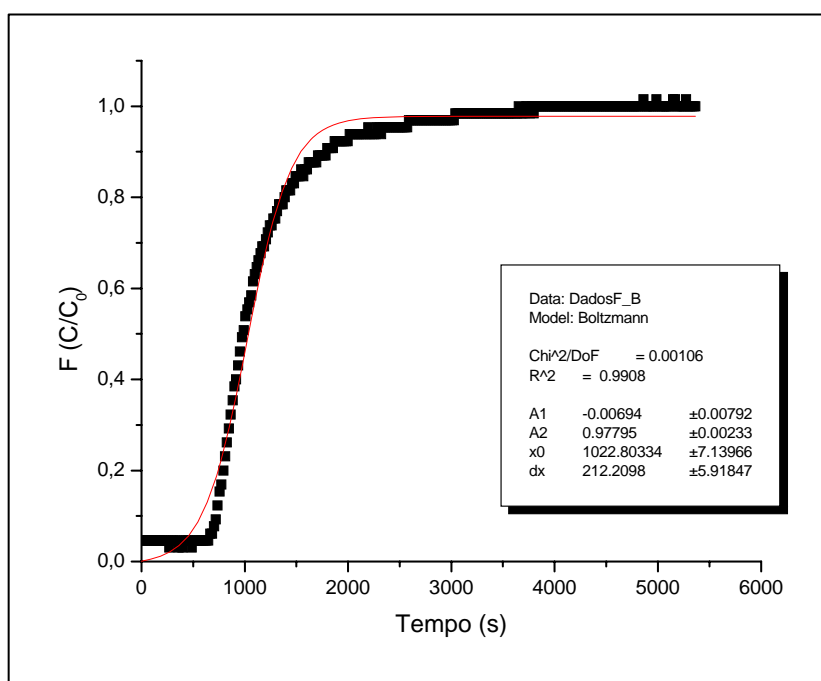


Figura 5.22. Curva F obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 30 minutos.



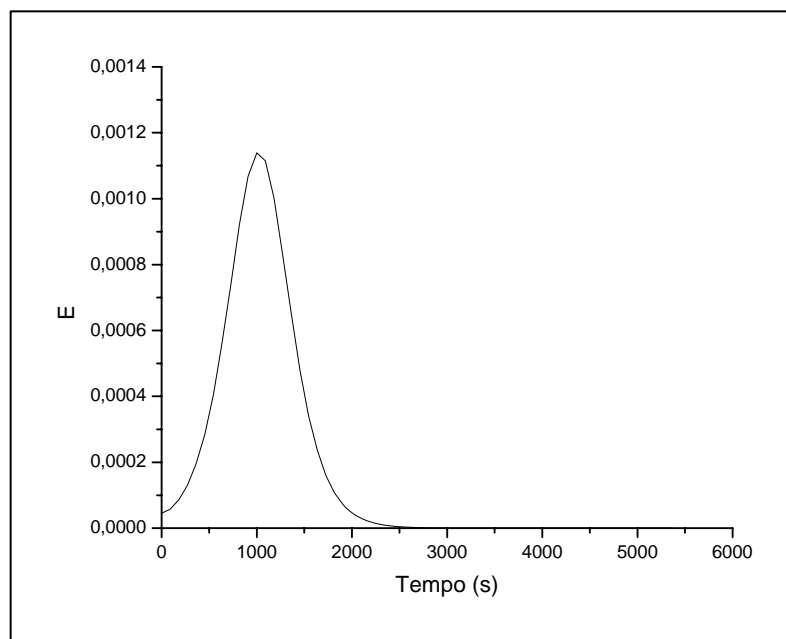


Figura 5.23. Curva E obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 30 minutos.

A curva F apresentou comportamento característico do ensaio do tipo degrau, com patamar final estabelecido e permitiu um ajuste sigmóide com coeficiente de correlação de 0,99. A curva E, derivada obtida a partir do ajuste sigmóide de Boltzman, representou o comportamento mais próximo ao fluxo pistonado.

O tempo de detenção hidráulica real, determinado a partir da curva E, foi de 17,2 minutos, menor do que o TDH teórico, estabelecido em 30 minutos. De acordo com Levenspiel (2000), a redução no tempo de detenção hidráulica resulta da presença de canais preferenciais, zonas mortas e curtos-circuitos. Apesar da presença de canais preferenciais visíveis, o reator R2 operado com TDH real de 17 minutos apresentou bom desempenho na produção de hidrogênio. O fluxo pistonado favorece a produção de hidrogênio, pois, segundo Levenspiel (2000), o escoamento pistonado de um reator fornece a maioria dos produtos intermediários das reações envolvidas.

As Figuras 5.24 e 5.25 apresentam, respectivamente, as curvas F e E obtidas no ensaio com tempo de detenção hidráulica de 1 hora, realizado no 200º dia de operação do reator R2.

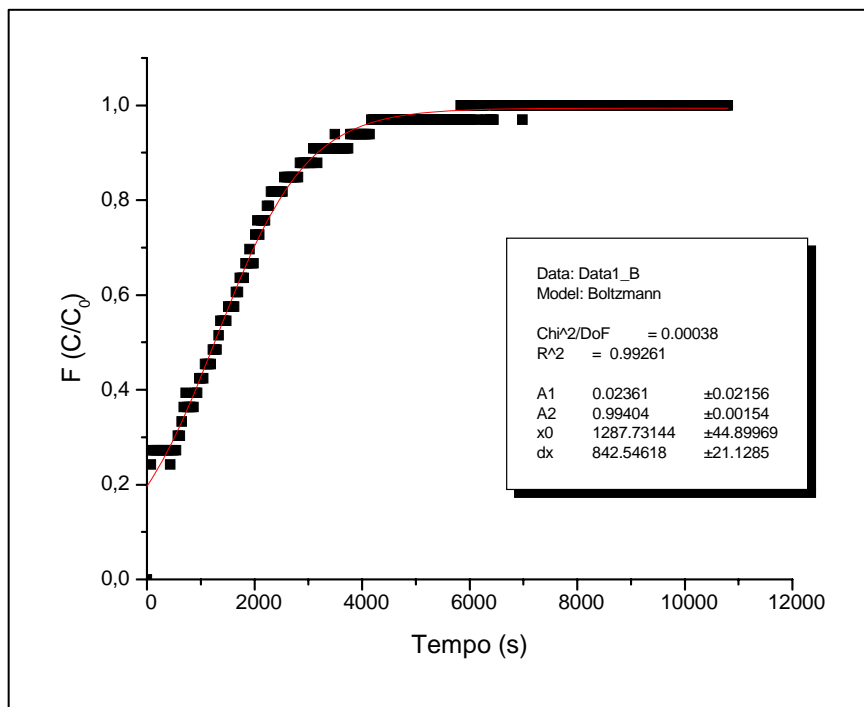


Figura 5.24. Curva F obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 1 hora.

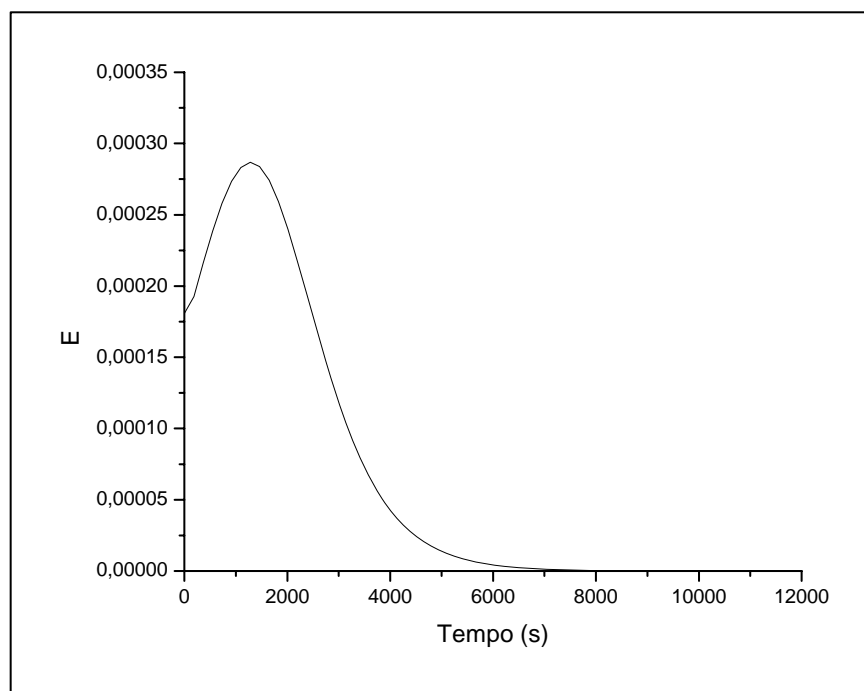


Figura 5.25. Curva E obtida em ensaio do tipo degrau para TDH teórico de 1 hora.

Para a interpretação dos dados obtidos com o ensaio hidrodinâmico do reator R2 operado com TDH teórico de 1 hora, adotou-se o mesmo procedimento utilizado anteriormente, ou seja, empregou-se o ajuste sigmóide de Boltzman sobre a curva F, com bom coeficiente de correlação (0,99) e, a partir da derivada desta sigmóide, construiu-se a curva E. Nesse caso, o TDH real obtido foi de 24,5 minutos, bem menor do que o teórico estabelecido. Nesta condição, além da colmatação do leito e da presença de caminhos preferenciais, pode ter ocorrido maior dispersão do traçador em função da menor vazão utilizada.

Às curvas experimentais obtidas foram ajustados modelos matemáticos uniparamétricos para representação do escoamento no reator. Foram utilizados os modelos de N-reactores de mistura completa em série e de dispersão longitudinal para tanques fechados (Levenspiel, 2000). O modelo de N-reactores de mistura completa em série fornece uma idéia sobre o comportamento do reator se este fosse constituído por uma série de reatores de mistura completa. O número de reatores é representado pelo N. A dispersão longitudinal, por sua vez, indica se no reator ocorre grande ou pequena dispersão no escoamento hidrodinâmico. Isso está representado pela razão  $D/uL$ , denominada número de dispersão, sendo D o coeficiente de difusão, u a velocidade de escoamento e L o comprimento do reator. Os resultados obtidos em cada condição podem ser visualizados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8. Ajuste dos modelos de N reatores em série e de dispersão longitudinal.

<b>TDH teórico</b>	<b>N-reactores em série (N)</b>	<b>Dispersão Longitudinal (D/uL)</b>
0,5 h	9	0,06
1 h	3	0,17

Levenspiel (2000) apresenta curvas-resposta do traçador para tanques fechados e com grandes desvios no escoamento (Figura 5.26).

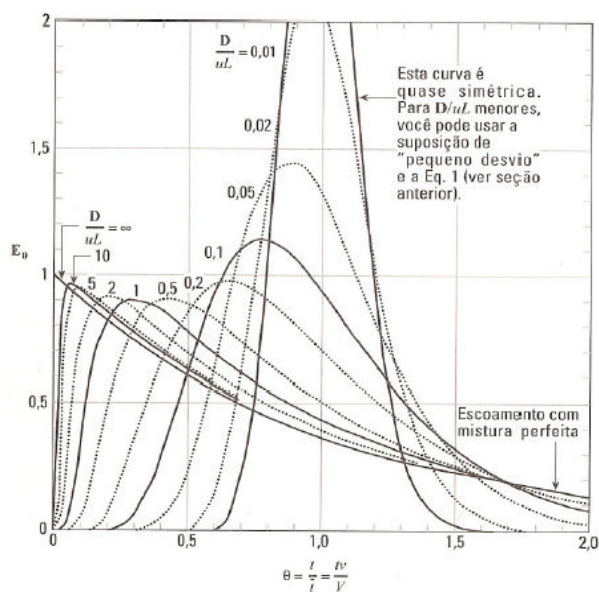


Figura 5.26. Curvas DTR para escoamento em tanques fechados (Levenspiel, 2000).

De acordo com o autor, quanto menor a razão  $D/uL$ , mais o regime de escoamento do reator aproxima-se de um pistonado ideal e quando essa razão tende ao infinito, o reator aproxima-se de um reator com escoamento em mistura perfeita.

Para os resultados obtidos no presente trabalho, com o reator R2 sendo inicialmente operado com TDH teórico de 0,5 h, tem-se uma razão  $D/uL$  de 0,06, característica de um reator com escoamento próximo ao pistonado, como se pode ver pela Figura 5.26. Porém, com o aumento do TDH teórico para 1 h, a dispersão no escoamento aumenta (0,17) e a característica de “escoamento pistão” diminui, caminhando em direção ao modelo de mistura.

Quando se analisa os “N” obtidos nas duas condições estudadas, também são observadas diferenças significativas no modelo de escoamento. A Figura 5.27

apresenta as curvas-resposta para os modelos de tanques em série apresentadas por Levenspiel (2000).

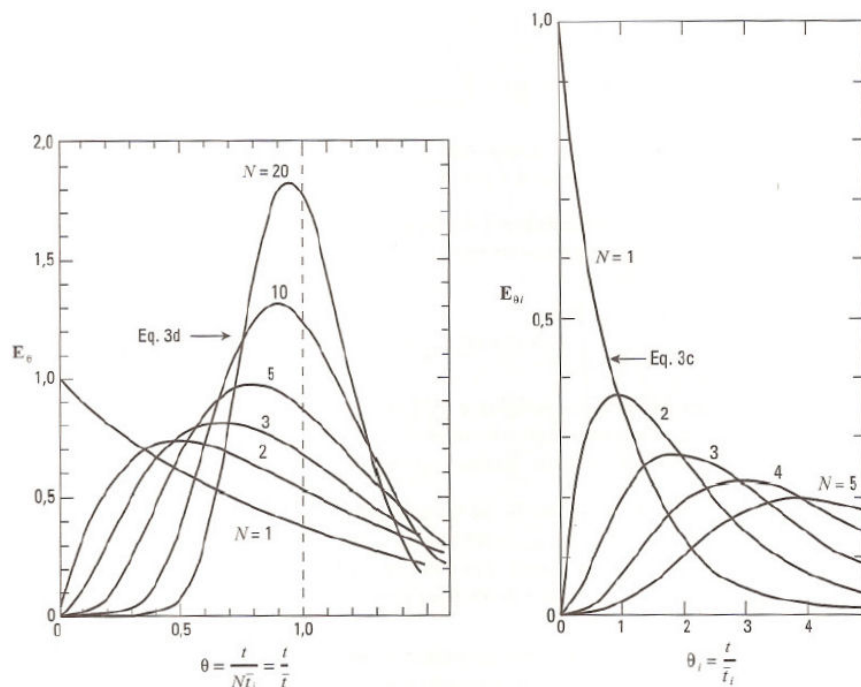


Figura 5.27. Curvas de escoamento para modelo de N-reactores de mistura em série (Levenspiel, 2000).

Com base na Figura 5.27., pode-se aferir que a característica de reator pistonado obtida com o TDH teórico de 0,5 h ( $N = 9$ ) diminuiu com o aumento do TDH teórico, sendo representada pelo menor N obtido ( $N = 3$ ), mais próximo de um reator de mistura completa, cujo N seria igual a 1.

O desempenho inferior apresentado pelo reator R2 operado com TDH teórico de 1 h pode, também, estar associado a mudança na característica do escoamento, de próximo a pistonado para modelo com maior mistura, sendo esta ocasionada principalmente pela colmatação do leito. Segundo Levenspiel (2000), a mistura inibe a formação de todos os intermediários das reações processadas.

## CAPÍTULO 6

### CONCLUSÕES

---

Os resultados obtidos com a realização dos experimentos permitem concluir que é possível produzir hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária semi-sintética simulando efluente de indústria de refrigerantes.

Com base nos resultados, as seguintes conclusões adicionais podem ser tiradas:

- Para a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária semi-sintética simulando efluente de indústria de refrigerantes, não foi necessária a adição de meio contendo macro e micronutrientes.
- A adição de meio contendo macro e micronutrientes ao reator R1 atuou negativamente sobre a produção de hidrogênio. Há indicações de que o meio rico em macro e micronutrientes propicie a existência de microrganismos que não são reconhecidos como produtores de hidrogênio, como, por exemplo, leveduras.
- O reator R1, com adição de meio nutriente, apresentou menor geração de hidrogênio e produção efêmera (11 dias) durante o período de operação (65 dias),

enquanto o reator R2, sem adição de meio nutriente apresentou maior geração de hidrogênio e continuidade na produção durante o período de operação (205 dias).

- O reator R2, mostrou melhor desempenho na produção de hidrogênio ( $17,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $\text{H}_2$ ) quando foi operado com TDH de 0,5 h em comparação com a operação com TDH de 1 h ( $7,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $\text{H}_2$ ).

- Ensaio hidrodinâmico no reator R2, antes e após a mudança de TDH, mostraram diferenças nas características de escoamento deste sistema quando submetido ao TDH de 1 h (132° ao 205° dia de operação). A transição do escoamento similar ao pistonado para o próximo à mistura completa possivelmente influenciou na mudança da composição dos produtos do reator.

## **CAPÍTULO 7**

### **SUGESTÕES**

---

Como sugestões para trabalhos futuros, têm se:

- Avaliar a utilização de água residuária real de indústria de refrigerantes;
- Avaliar a utilização de reatores anaeróbios de leito fixo e fluxo ascendente operando em série na produção de hidrogênio;
- Avaliar o desempenho do reator frente a choques de carga orgânica;
- Avaliar o comportamento do reator submetido ao aumento de escala;
- Modelar a produção de hidrogênio, ácidos e álcoois;
- Estudar os fatores determinantes na transição da produção de ácidos para álcoois;
- Estudar a produção de hidrogênio em reator de leito expandido.



## CAPÍTULO 8

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

BAHL, H.; ANDERSCH W.; BRAUN, K.; GOTTSCHALK, G. Effect of pH and butyrate concentration on the production of acetone and butanol by *Clostridium acetobutylicum* grown in continuous culture. **Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 14, p. 17-20, 1982.

BOWMAN, S. K.; MOE, M. W.; RASH, A. B.; BAE, S. H.; RAINEY A. F. Bacterial diversity of an acidic Louisiana groundwater contaminated by dense nonaqueous-phase liquid containing chloroethanes and other solvents. **Federation of European Microbiological Societies**, v. 58, p. 120–133, 2006.

CAPUTO, HOMERO PINTO. **Mecânica dos solos e suas aplicações**, 1988.

CETESB: Levantamento dos Despejos de uma Indústria de Refrigerantes no Estado de São Paulo, 1985.

CHANG, J. S.; LEE, K. C.; LIN, P. J. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. **Internacional Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1167-1174, 2002.

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

CHEN, C. C.; LIN, C. Y. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 695-699, 2004.

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

DAS, DEBABRATA.; VEZIROGLU T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 26, p. 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, USP, 1987.

DUBOIS, S. M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. L.; REBERS, P. A.; SMITH, F., Colorimetric Methods for determination of sugar and related substance. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 13-21, 1956.

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

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

FERNANDES, B.S. Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fixo. São Carlos. 116 p. **Tese (doutorado)** – Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 2008.

GAFFRON, H.; RUBIN, J. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. **J Gen Physiol.** v. 26, p. 219-240, 1942.

GRIFFITHS, R. I.; WHITELEY, A. S.; O'DONNELL, A. G.; BAILEY, M. J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA and rRNA-based microbial community composition. **Applied Environmental and Microbiology**, v. 66, p. 5488-5491, 2000.

GOLDEMBERG, J. Políticas para enfrentar o aquecimento global, In: Aquecimento Global, **O relatório do Greenpeace**, ed. Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro, p. 152-174, 1992.

HAN, S. K.; SHIN, H. S. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 569-577, 2004.

HAHN, J. J. Hydrogen production from biomass. **Tese (doutorado)** – Faculty of the Graduate School at the University of Missouri-Columbia, 116 p. 2006.

HAWKES, F. R.; DINSDALE, R.; HAWKES D. L.; HUSSY I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1339–47, 2002.

HUNG, C. H.; LEE, K. S.; CHENG, L. H.; HUANG, Y. H.; LIN, P. J.; CHANG, J. S. Quantitative analysis of a high-rate hydrogen-producing microbial community in anaerobic agitated granular sludge bed bioreactors using glucose as substrate. **Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75 (3), p. 693-70, 2007.

KAWAGOSHI, Y.; HINO, N; FUJIMOTO, A.; NAKAO M.; FUJITA Y.; SUGIMURA S.; FURUKAWA, K. Effect of inoculum conditioning on hydrogen fermentation and pH effect on bacterial community relevant to hydrogen production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100 (5), p. 524–530, 2005

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

KOTHARI R.; BUDDHI, D.; SAWHNEY, R.L. Comparison of environmental and economic aspects of various hydrogen production methods. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2006.

LAY, J. J. Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 88 (3), 2000.

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

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 bioreactor. **Biotechnology Letter**, v. 25, p. 133-138, 2003.

LEITE, J. A. C.; FORESTI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Produção e ácidos graxos voláteis por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fixo com argila expandida com suporte da biomassa, **XIV SINAFERM**, Florianópolis, SC, 2003.

LEVENSPIEL, O. **Chemical reaction engineering**. 3.ed. New York, John Wiley & Sons Inc., 2000.

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

LIN, C. Y.; LAY, C. H. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. **Internacional Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 41–45, 2004.

LIN, C. Y.; LAY, C. H. Effect of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 275–281, 2004.

LIU, H.; FANG, H. H. P. Hydrogen production from wastewater by acidogenic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 47(1), p. 153-158, 2002.

MIZUNO, O.; DINSDALE, R.; HAWKES, F. R.; HAWKES, D. L, NOIKE, T. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Bioresour. Technology**, v. 73(1), p. 59–65, 2000.

MORAES, E. M.; ADORNO, M. A. T.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios tratando resíduos líquidos e sólidos. **Anais**, Vol. II da Oficina e Seminário Latino Americano sobre Digestão Anaeróbia, Recife – 5 a 9 novembro, p. 146-149, 2000.

MORAES, V. Avaliação do desempenho de dois reatores anaeróbios horizontais de leitos fixos (RAHLF), um contendo biomassa auto-imobilizada e outro contendo suporte de espuma de poliuretano, no tratamento de água residuária de indústria de refrigerante. São Carlos. 94 p. **Dissertação (mestrado)** – Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 2002.

MUYZER, G.; WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S RNAr. **Applied Environmental and Microbiology**, v.59 (3), p. 695-700, 1993.

NAKAMURA, M.; KANBE, H.; MATSUMOTO, J. Fundamental study on hydrogen production in the acid-forming phase and its bacteria in anaerobic treatment process – the effects of solids retention time, **Water Science and Technology**, v. 28 (7), p. 81-88, 1993.

NIELSEN, A.; LIU, W. T.; FILIPE, C.; GRADY, L.; MOLIN, S.; STAHL, A. Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65 (3), p. 1251-1258, 1999.

NIU *et al.* (2007). Não publicado. Disponível no site: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>  
Acesso realizado em 14 de Dezembro de 2007.

OH, S. E.; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. The relation effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environmental Science and Technology**, v. 37, p. 5186-5190, 2003.

PIVELI, R. P. Curso de Especialização: Engenharia de Controle da Poluição Ambiental (CEECPA – Bauru), **Disciplina**: Tratamento de Efluentes Industriais. São Paulo. USP. Faculdade de Saúde pública, Departamento de Saúde Ambiental – Núcleo de Informações em Saúde ambiental, 1999.

SCHRÖDER, U., SCHOLZ, F., Bacterial batteries. **Nature Biotechnology**, v. 21(10), p. 1151-1152, 2003.

SHIN, J. H., YOON, J. H.; AHN, E. K.; KIM, M. S.; SIM, S. J.; PARK, T. H. Fermentative hydrogen production by the newly isolated *Enterobacter asburiae* SNU-1. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.32, p. 192–199, 2007.

SILVA, A. J., ZAIAT, M. Avaliação de material suporte para imobilização de bactéria redutora de sulfato e arqueas metanogênicas, **Anais**: I Seminário do Projeto Temático, p.191-200, 2002.

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



STOJIC', D. L.; MARCETA, M. P.; SOVILJ, S. P., MILJANIC', S. S. Hydrogen generation from water electrolysis – possibilities of energy saving. **Journal of Power Sources**, v. 118, p. 315–319, 2003.

VAN GINKEL, S. W.; OH, S. E.; LOGAN, B. E. Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1535-1542, 2005.

VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environmental Science and Technology**, v. 35, p. 4719-4725, 2001.

VIJAYARAGHAVAN, K.; SOOM, M. A. M. Trends in biological hydrogen production – a review. **International Journal of Hydrogen Energy**, in press, 2004.

WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B.; LIAO, C. S.; TAY, J. H. Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation. **Water Research**, v. 37, p. 2789–2793, 2003.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Microbial hydrogen production with immobilized sewage sludge, **Biotechnology Progress**, v. 18, p. 921-926, 2002.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactor. **Biotechnology Progress**, v. 19, p. 828-832, 2003.

ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E. Spartial and Temporal Varations of Monitoring Performence Parameters in Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Sludge (HAIS) Reactor treating Synthetic Substrate. **Water Research**, v. 31, p. 1760-1766, 1997.

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

ZHU *et al.* (2008). Não publicado. Disponível no site: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>  
Acesso realizado em 14 de Dezembro de 2007.

## **APÊNDICE A – Resultados da Primeira Etapa**

**(R1 e R2 – TDH 0,5 h)**

pH							
Reator R1				Reator R2			
Data	Dias de operação	pH afluente	pH efluente	Data	Dias de operação	pH afluente	pH efluente
1/jun	1	6,3	5,9	1-jun	1	6,4	6,2
2/jun	2	6,5	5,9	2-jun	2	6,5	6,5
4/jun	4	6,5	6,1	4-jun	4	6,5	6,1
5/jun	5	6,4	6,1	5-jun	5	6,4	6,2
6/jun	6	6,2	5,8	6-jun	6	6,2	5,9
7/jun	7	6,6	6,1	7-jun	7	6,6	6,2
8/jun	8	6,7	6,2	8-jun	8	6,6	6,1
11/jun	11	6,5	6,3	11-jun	11	6,7	6,2
12/jun	12	6,0	5,5	12-jun	12	6,6	6,1
13/jun	14	6,8	6,4	13-jun	14	6,7	6,4
15/jun	15	6,9	6,5	15-jun	15	6,8	6,3
16/jun	16	6,7	6,0	16-jun	16	6,4	5,8
17/jun	18	6,6	6,0	17-jun	18	6,8	5,7
19/jun	20	5,4	5,1	19-jun	20	6,8	6,1
21/jun	22	6,7	6,2	21-jun	21	6,4	6,1
22/jun	25	6,6	6,3	22-jun	25	6,6	6,4
26/jun	29	6,4	6,2	26-jun	29	6,4	6,0
12/jul	45	6,6	6,0	12-jul	45	6,3	5,9
16/jul	49	6,3	5,8	16-jul	49	6,0	5,5
18/jul	51	6,7	6,2	18-jul	51	6,6	6,1
20/jul	53	6,8	6,1	20-jul	53	6,7	5,8
23/jul	56	6,2	5,3	23-jul	56	6,2	5,9
25/jul	58	6,4	5,2	25-jul	58	6,9	6,3
27/jul	60	6,5	6,5	27-jul	60	6,9	6,3
30/jul	63	6,0	5,8	30-jul	63	6,4	5,4
1/ago	65	6,6	5,6	1-ago	65	6,5	5,1
3/ago	67	6,4	5,9	6-ago	70	6,7	6,1

Carboidratos (mg.L <sup>-1</sup> de Glicose)					
Reator R1					
Data	Dias de operação	Carb afluente	Carb efluente	Eficiência	Deg
2/jun	2	1604,2	862,5		46,2
6/jun	6	1047,9	622,2		40,6
7/jun	7	1532,6	807,7		47,3
8/jun	8	862,5	491,6		43,0
11/jun	11	1928,7	1187,0		38,5
13/jun	13	1410,4	841,4		40,3
15/jun	15	1410,4	795,0		43,6
19/jun	19	1734,9	710,7		59,0
21/jun	21	1262,8	811,9		35,7
22/jun	22	1427,2	908,8		36,3
25/jun	25	1536,8	904,6		41,1
26/jun	26	1401,9	1073,2		23,4
13/jul	43	1503,1	1001,5		33,4
16/jul	46	1730,7	1250,2		27,8
18/jul	48	1444,1	980,5		32,1
20/jul	50	1751,7	1064,8		39,2
23/jul	53	1545,2	1191,2		22,9
25/jul	55	1182,8	967,8		18,2
27/jul	57	1688,5	1334,5		21,0
30/jul	60	1557,9	946,8		39,2
1/ago	62	1507,3	1001,5		33,6
3/ago	67	1157,5	1064,8		8,0

Carboidratos (mg.L <sup>-1</sup> de Glicose)					
Reator R2					
Data	Dias de operação	Carb afluente	Carb efluente	Eficiência Deg	
2/jun	2	934,1	879,3	5,9	
6/jun	6	942,5	778,2	17,4	
7/jun	7	1519,9	1364,0	10,3	
8/jun	8	1713,8	1633,7	4,7	
11/jun	11	2072,0	1123,8	45,8	
13/jun	13	1300,8	900,4	30,8	
15/jun	15	1279,7	845,6	33,9	
19/jun	19	1869,7	1300,8	30,4	
21/jun	21	1237,6	849,8	31,3	
22/jun	22	1823,4	1212,3	33,5	
25/jun	25	1233,3	858,2	30,4	
26/jun	26	1848,7	1241,8	32,8	
13/jul	43	1380,9	1014,2	26,6	
16/jul	46	1663,2	1178,6	29,1	
18/jul	48	1241,8	778,2	37,3	
20/jul	50	1507,3	1022,6	32,2	
23/jul	53	1473,6	803,5	45,5	
25/jul	55	1106,9	643,3	41,9	
27/jul	57	1507,3	1128,0	25,2	
30/jul	60	1326,1	782,4	41,0	
1/ago	62	1532,6	833,0	45,6	
6/ago	70	1810,7	1132,2	37,5	

DQO (mg.L <sup>-1</sup> )				
Reator R1				
Data	Dias de operação	DQO afluente	DQO efluente	Redução DQO
2/jun	2	2511,8	2280,8	9,2
7/jun	7	2537,4	2101,1	17,2
13/jun	13	2588,8	2126,8	17,8
25/jun	25	2306,4	1947,1	15,6
12/jul	42	2588,8	2024,1	21,8
18/jul	48	2691,4	2537,4	5,7
25/jul	55	2177,5	1821,9	16,3
1/ago	62	2126,7	1872,7	11,9
3/ago	64	2050,5	1542,5	24,8

DQO (mg.L <sup>-1</sup> )				
Reator R2				
Data	Dias de operação	DQO afluente	DQO efluente	Redução DQO
2/jun	2	2665,8	2126,8	20,2
7/jun	7	2614,4	2101,1	19,6
13/jun	13	2357,8	1587,8	32,7
25/jun	25	2024,1	1485,2	26,6
12/jul	42	2178,1	1690,5	22,4
18/jul	48	3102,1	2280,8	26,5
25/jul	55	1872,7	1339,3	28,5
1/ago	62	1923,5	1415,5	26,4
8/ago	69	2457,0	1974,3	19,6

Vazão volumétrica de hidrogênio (mL.min <sup>-1</sup> )					
Reator R1			Reator R2		
Data	Dia de operação	Vazão volumétrica	Data	Dia de operação	Vazão volumétrica
5/jun	5	11,41	5/6	5	0
6/jun	6	9,1026	6/6	6	0
7/jun	7	9,608	7/6	7	0
8/jun	8	8,19	8/6	8	0
11/jun	11	0	11/6	11	13,806
13/jun	13	0	13/6	13	12,362
15/jun	15	0	15/6	15	15,444
17/jun	17	0	17/6	17	17,316
19/jun	19	0	19/6	19	11,118
21/jun	21	0	21/6	21	8,502
22/jun	22	0	22/6	22	12,424
25/jun	25	0	25/6	25	15,596
26/jun	26	0	26/6	26	7,14
27/jun	27	0	27/6	27	11,554
28/jun	28	0	28/6	28	19,93
6/jul	36	0	6/7	36	7,404
10/jul	40	0	10/7	40	18,212
12/jul	42	0	12/7	42	19,632
16/jul	46	0	16/7	46	9,81
18/jul	48	0	18/7	48	19,82
20/jul	50	0	20/7	50	10,998
23/jul	53	0	23/7	53	29,446
25/jul	55	0	25/7	55	16,414
27/jul	57	0	27/7	57	18,018
30/jul	60	0	30/7	60	14,274
31/jul	61	0	31/7	61	20,124
1/ago	62	0	1/8	62	19,89
2/ago	64	0	2/8	64	21,996
			6/8	68	20,122
			8/8	70	18,252



Composição do biogás (%)							
Reator R1				Reator R2			
Data	Dia de operação	H2	CO2	Data	Dia de operação	H2	CO2
2/jun	2	8,25	91,75	2/jun	2	0,00	0,00
6/jun	6	12,56	87,44	6/jun	6	0,00	0,00
7/jun	7	1,00	99,00	7/jun	7	18,71	81,29
8/jun	8	0,02	99,98	8/jun	8	6,75	93,25
11/jun	11	2,29	97,71	11/jun	11	0,04	99,96
13/jun	13	1,15	98,85	13/jun	13	0,17	99,83
15/jun	15	2,95	97,05	15/jun	15	5,26	94,74
19/jun	19	4,39	95,61	19/jun	19	19,44	80,56
21/jun	21	0,00	100,00	21/jun	21	21,47	78,53
22/jun	22	0,86	99,14	22/jun	22	21,15	78,85
25/jun	25	2,99	97,01	25/jun	25	21,47	78,53
26/jun	26	0,36	99,64	26/jun	26	20,94	79,06
27/jun	27	1,77	98,23	27/jun	27	19,86	80,14
28/jun	28	2,82	97,18	28/jun	28	24,88	75,12
13/jul	43	0,00	100,00	13/jul	43	19,63	80,37
16/jul	46	0,00	100,00	16/jul	46	19,92	80,08
18/jul	48	0,00	100,00	18/jul	48	25,28	74,72
19/jul	49	4,95	95,05	19/jul	49	23,36	76,64
20/jul	50	0,16	99,84	20/jul	50	24,67	75,33
23/jul	53	0,13	99,87	23/jul	53	12,58	87,42
24/jul	54	1,01	98,99	24/jul	54	10,94	89,06
25/jul	55	0,58	99,42	25/jul	55	12,55	87,45
26/jul	56	0,00	100,00	26/jul	56	9,30	90,70
1/ago	62	1,77	98,23	1/ago	62	12,48	87,52
3/ago	65	2,92	97,08	3/ago	65	12,37	87,63
				6/ago	68	18,98	81,02
				8/ago	70	18,43	81,57

## **APÊNDICE B – Resultados da Segunda Etapa**

**(R2 – TDH 0,5 e TDH 1,0 h)**

pH							
TDH 0,5 h				TDH 1,0 h			
Reator R2				Reator R2			
Data	Dias de operação	pH afluente	pH efluente	Data	Dias de operação	pH afluente	pH efluente
1-jun	1	6,4	6,2	10-out	132	6,3	4,1
2-jun	2	6,5	6,5	15-out	137	6,4	4,0
4-jun	4	6,5	6,1	17-out	139	6,7	4,7
5-jun	5	6,4	6,2	18-out	140	6,4	4,5
6-jun	6	6,2	5,9	19-out	141	6,7	5,0
7-jun	7	6,6	6,2	21-out	143	6,6	6,0
8-jun	8	6,6	6,1	22-out	144	7,3	5,0
11-jun	11	6,7	6,2	25-out	147	6,6	5,6
12-jun	12	6,6	6,1	6-nov	159	7,1	5,9
13-jun	14	6,7	6,4	13-nov	166	6,4	5,1
15-jun	15	6,8	6,3	14-nov	167	6,6	5,8
16-jun	16	6,4	5,8	16-nov	169	6,7	5,7
17-jun	18	6,8	5,7	19-nov	172	6,6	5,9
19-jun	20	6,8	6,1	21-nov	174	6,5	5,4
21-jun	21	6,4	6,1	23-nov	176	6,4	5,1
22-jun	25	6,6	6,4	27-nov	180	6,3	5,2
26-jun	41	6,4	6,0	29-nov	182	6,2	5,1
12-jul	45	6,3	5,9	3-dez	186	6,1	4,9
16-jul	47	6,0	5,5	6-dez	189	6,2	5,0
18-jul	49	6,6	6,1	10-dez	193	6,4	5,6
20-jul	51	6,7	5,8	11-dez	194	6,6	6,5
23-jul	54	6,2	5,9	18-dez	201	6,4	6,4
25-jul	56	6,9	6,3	21-dez	204	7,4	7,2
27-jul	58	6,9	6,3	22-dez	205	7,1	5,4
30-jul	61	6,4	5,4				
1-ago	62	6,5	5,1				
6-ago	67	6,7	6,1				
13-ago	74	6,9	6,1				
15-ago	76	6,5	5,9				
17-ago	78	6,7	5,9				
27-ago	88	6,7	5,9				
29-ago	90	7,0	6,5				
3-set	95	6,9	5,8				
7-set	99	5,9	5,7				
20-set	112	6,2	5,0				
21-set	113	7,0	6,2				
24-set	116	6,1	5,2				
4-out	126	6,3	5,8				
5-out	127	6,4	4,9				
8-out	130	7,4	6,0				
10-out	132	6,3	4,1				
15-out	137	6,4	4,0				
17-out	139	6,7	4,7				
18-out	140	6,4	4,5				
19-out	141	6,7	5,0				
21-out	143	6,6	6,0				
22-out	144	7,3	5,0				

---

25-out	147	6,6	5,6
6-nov	159	7,1	5,9
13-nov	166	6,4	5,1
14-nov	167	6,6	5,8
16-nov	169	6,7	5,7
19-nov	172	6,6	5,9
21-nov	174	6,5	5,4
23-nov	176	6,4	5,1
27-nov	180	6,3	5,2
29-nov	182	6,2	5,1
3-dez	186	6,1	4,9
6-dez	189	6,2	5,0
10-dez	193	6,4	5,6
11-dez	194	6,6	6,5
18-dez	201	6,4	6,4
21-dez	204	7,4	7,2
22-dez	205	7,1	5,4

---

Carboidratos (mg.L <sup>-1</sup> de Glicose)				
TDH 0,5 h				
Reator R2				
Data	Dias de operação	Carb afluente	Carb efluente	Eficiência Deg
2/jun	2	934,1	879,3	5,9
6/jun	6	942,5	778,2	17,4
7/jun	7	1519,9	1364,0	10,3
8/jun	8	1713,8	1633,7	4,7
11/jun	11	2072,0	1123,8	45,8
13/jun	13	1300,8	900,4	30,8
15/jun	15	1279,7	845,6	33,9
19/jun	19	1869,7	1300,8	30,4
21/jun	21	1237,6	849,8	31,3
22/jun	22	1823,4	1212,3	33,5
25/jun	25	1233,3	858,2	30,4
26/jun	26	1848,7	1241,8	32,8
13/jul	43	1380,9	1014,2	26,6
16/jul	46	1663,2	1178,6	29,1
18/jul	48	1241,8	778,2	37,3
20/jul	50	1507,3	1022,6	32,2
23/jul	53	1473,6	803,5	45,5
25/jul	55	1106,9	643,3	41,9
27/jul	57	1507,3	1128,0	25,2
30/jul	60	1326,1	782,4	41,0
1/ago	62	1532,6	833,0	45,6
6/ago	67	1810,7	1132,2	37,5
8-ago	69	1722,2	1115,3	35,2
10-ago	71	1570,5	769,7	51,0
13-ago	74	1747,5	1005,8	42,4
15-ago	76	1591,6	1039,5	34,7
17-ago	78	1713,8	1106,9	35,4
20-ago	81	1578,9	757,1	52,1
27-ago	88	1734,9	1094,3	36,9
29-ago	90	1966,7	1616,9	17,8
3-set	95	1591,6	1001,5	37,1
5-set	97	1739,1	972,0	44,1
7-set	99	1680,1	976,3	41,9
10-set	102	1313,4	841,4	35,9
12-set	104	1515,7	917,2	39,5
24-set	116	2156,3	1528,4	29,1
26-set	118	1727,3	989,2	42,7
1-out	123	2004,6	1191,2	40,6
3-out	125	1596,4	859,2	46,2
4-out	126	1460,9	1077,4	26,3
5-out	127	1623,4	997,3	38,6
8-out	130	1916,1	1288,1	32,8

Carboidratos (mg.L <sup>-1</sup> de Glicose)					
TDH 1,0 h					
Reator R2					
Data	Dias de operação	Carb afluente	Carb efluente	Eficiência	Deg
10-out	132	1393,5	681,2		51,1
11-out	133	1789,7	1200,3		32,9
15-out	137	1511,5	782,4		48,2
17-out	139	1612,7	537,9		66,6
19-out	141	1401,9	613,8		56,2
22-out	144	1444,1	504,2		65,1
25-out	147	1720,5	1103,3		35,9
6-nov	159	1579,3	812,1		48,6
13-nov	166	1678,1	765,4		54,4
14-nov	167	1564,2	523,5		66,5
16-nov	169	1442,3	531,1		63,2
19-nov	172	1698,4	711,2		58,1
21-nov	174	1567,8	634,4		59,5
23-nov	176	1714,5	678,1		60,4
27-nov	180	1567,3	643,6		58,9
29-nov	182	1621,5	755,3		53,4
3-dez	186	1684,3	803,5		52,3
6-dez	189	1470,8	675,3		54,1
10-dez	193	1596,3	918,3		42,5
11-dez	194	1734,7	765,4		55,9
18-dez	201	1624,4	712,3		56,1
21-dez	204	1735,4	753,2		56,6
22-dez	205	1824,0	923,5		49,4

DQO (mg.L <sup>-1</sup> )					
TDH 0,5 h					
Reator R2					
Data	Dias de operação	DQO afluente	DQO efluente	Redução DQO	
2/jun	2	2665,8	2126,8	20,2	
7/jun	7	2614,4	2101,1	19,6	
13/jun	13	2357,8	1587,8	32,7	
25/jun	25	2024,1	1485,2	26,6	
12/jul	42	2178,1	1690,5	22,4	
18/jul	48	3102,1	2280,8	26,5	
25/jul	55	1872,7	1339,3	28,5	
1/ago	62	1923,5	1415,5	26,4	
8/ago	69	2457,0	1974,3	19,6	
15/ago	76	2634,8	2050,5	22,2	
20/ago	81	2203,0	1821,9	17,3	
27/ago	88	2152,1	1710,2	20,5	
29/ago	90	2304,6	1588,0	31,1	
3/set	95	2159,8	1670,0	22,7	
5/set	97	2253,8	1648,9	26,8	
7/set	99	2330,0	1821,9	21,8	
10/set	102	2558,6	2126,7	16,9	
11/set	103	2304,6	1684,5	26,9	
12/set	104	2313,3	1658,2	28,3	
19/set	111	2158,2	1709,5	20,8	
24/set	116	2158,2	1659,9	23,1	
26/set	118	2133,4	1710,4	19,8	
1/out	123	2059,1	1563,4	24,1	
3/out	125	2430,9	1935,1	20,4	
4/out	126	1811,2	1417,2	21,8	
5/out	127	2059,8	1616,6	21,5	
8/out	130	1928,1	1614,9	16,2	

DQO (mg.L <sup>-1</sup> )					
TDH 1,0 h					
Reator R2					
Data	Dias de operação	DQO afluente	DQO efluente	Redução DQO	
15/out	137	2034,3	1761,6	13,4	
17/out	139	2257,4	1821,6	19,3	
19/out	141	2183,0	1882,1	13,8	
22-out	144	1566,7	1301,6	16,9	
14-nov	167	2034,4	1767,2	13,1	
19-nov	172	1928,7	1644,8	14,7	
27-nov	180	2185,3	1860,0	14,9	
3-dez	186	2253,2	1910,4	15,2	
11-dez	194	1711,2	1663,0	2,8	
18-dez	201	1928,1	1639,0	15,0	
21-dez	204	2048,6	1770,3	13,6	
22-dez	205	2048,6	1759,4	14,1	

Vazão volumétrica (mg.L <sup>-1</sup> )						
TDH 0,5 h			TDH 1,0 h			
Reator R2			Reator R2			
Data	Dia de operação	vazão volumétrica	Data	Dia de operação	vazão volumétrica	
5/6	5	0	10/10	132	17,55	
6/6	6	0	11/10	133	16,9	
7/6	7	0	15/10	137	17,2	
8/6	8	0	17/10	139	17,34	
11/6	11	13,806	18/10	140	15,21	
13/6	13	12,362	19/10	141	19,468	
15/6	15	15,444	22/out	144	21,06	
17/6	17	17,316	25/10	147	7,9	
19/6	19	11,118	6/11	159	9,8	
21/6	21	8,502	13/11	166	7,1	
22/6	22	12,424	16/11	169	9,9	
25/6	25	15,596	19/11	172	10,5	
26/6	26	7,14	21/11	174	7,1	
27/6	27	11,554	23/11	176	8,5	
28/6	28	19,93	27/11	180	3,3	
6/7	36	7,404	29/11	182	7,4	
10/7	40	18,212	3/12	186	7,1	
12/7	42	19,632	6/12	189	7,1	
16/7	46	9,81	10/12	193	5,3	
18/7	48	19,82	11/12	194	6,4	
20/7	50	10,998	18/12	201	6,4	
23/7	53	29,446	21/12	204	3,3	
25/7	55	16,414	22/12	205	7,1	
27/7	57	18,018				
30/7	60	14,274				
31/7	61	20,124				
1/8	62	19,89				
2/8	64	21,996				
6/8	68	20,122				
8/8	70	18,252				
9/8	71	22,464				
10/8	72	22,698				
13/8	75	24,102				
14/8	76	24,57				
15/8	77	22,464				
17/8	79	23,166				
20/8	82	23,868				
22/8	84	19,422				
23/8	85	21,996				
24/8	86	19,188				
27/8	89	17,784				
29/8	91	15,21				
30/8	92	20,592				
1/9	93	19,656				
3/9	95	18,018				
9/9	101	16,146				



10/9	102	20,124
11/9	103	18,95
12/9	104	21,87
20/9	112	16,26
21/9	113	16,4
24/9	116	13,68
26/9	118	16,5
28/9	120	16,9
1/10	123	17,31
3/10	125	15,9
4/10	126	17
5/10	127	14,5
8/10	130	15,12

---

Biogás (%)							
TDH 0,5 h				TDH 1,0 h			
Reator R2				Reator R2			
Data	Dia de operação	H2	CO2	Data	Dia de operação	H2	CO2
2/jun	2	0,00	0,00	10/out	132	17,5	82,5
6/jun	6	0,00	0,00	11/out	133	15,6	84,4
7/jun	7	18,71	81,29	15/out	137	20,9	79,1
8/jun	8	6,75	93,25	17/out	139	12,2	87,8
11/jun	11	0,04	99,96	18/out	140	13,4	86,6
13/jun	13	0,17	99,83	19/out	141	26,3	73,7
15/jun	15	5,26	94,74	22/out	144	14,1	85,9
19/jun	19	19,44	80,56	25/out	147	10,2	89,8
21/jun	21	21,47	78,53	27/out	149	9,0	91,0
22/jun	22	21,15	78,85	6/nov	159	18,8	81,2
25/jun	25	21,47	78,53	13/11	166	14,0	86
26/jun	26	20,94	79,06	16/11	169	15,3	84,7
27/jun	27	19,86	80,14	19/11	172	13,6	86,4
28/jun	28	24,88	75,12	21/11	174	10,2	89,8
13/jul	43	19,63	80,37	23/11	176	13,4	86,6
16/jul	46	19,92	80,08	27/11	180	10,1	89,9
18/jul	48	25,28	74,72	29/11	182	8,5	91,55
19/jul	49	23,36	76,64	3/12	186	5,3	94,66
20/jul	50	24,67	75,33	6/12	189	4,2	95,8
23/jul	53	12,58	87,42	10/12	193	4,4	95,6
24/jul	54	10,94	89,06	11/12	194	5,5	94,5
25/jul	55	12,55	87,45	18/12	201	3,1	96,9
26/jul	56	9,30	90,70	21/12	204	2,1	97,88
1/ago	62	12,48	87,52	22/12	205	2,2	97,8
3/ago	65	12,37	87,63				
6/ago	68	18,98	81,02				
8/ago	70	18,43	81,57				
9/ago	71	23,2	76,8				
10/ago	72	20,6	79,4				
13/ago	75	20,3	79,7				
14/ago	76	22,3	77,7				
15/ago	77	22,1	77,9				
17/ago	79	21,7	78,3				
20/ago	82	20,6	79,4				
22/ago	84	34,7	65,3				
23/ago	85	22,9	77,1				
24/ago	86	21,3	78,7				
25/ago	87	22,4	77,6				
27/ago	89	20,2	79,8				
28/ago	90	22,6	77,4				
29/ago	91	15,2	84,8				
30/ago	92	37,8	62,2				
31/ago	93	26,4	73,6				
3/set	95	31,6	68,4				
4/set	96	24,2	75,8				
5/set	97	29,6	70,4				

11/set	103	16,6	83,4
12/set	104	19,6	80,4
20/set	112	18,9	81,1
21/set	113	33,9	66,1
24/set	116	16,3	83,7
26/set	118	24,1	75,9
28/set	120	14,0	86,0
4/out	126	22,6	77,4
5/out	127	17,9	82,1
8/out	130	16,2	83,8

---