

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS

**PROPOSTA DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DA
ATIVIDADE HIDROGÊNICA ESPECÍFICA.**

VIVIANE TREVISAN

Tese submetida ao Programa de Pós Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Luiz Olinto Monteggia

Banca examinadora

Prof. Dr. Antonio Domingues Benetti – IPH/UFRGS

Prof. Dr. Lademir Luiz Beal - UCS

Prof. Dr. Luis Alcides Schiavo Miranda – UNISINOS

Prof. Dr. Marcelo Zaiat - USP

Porto Alegre, Dezembro de 2010.

Nunca deixem que lhe digam
Que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém (...)
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança (...)

Renato Russo / Flávio Venturini

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

Aos meus pais Nelso e Ani e à minha tia Lenis pelo carinho, apoio e incentivo tão importantes nesta etapa.

Ao Prof. Dr. Luiz Olinto Monteggia pela amizade, orientação, apoio e confiança.

Ao PPG em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental / IPH - UFRGS e ao CNPq pela concessão da bolsa para a realização deste trabalho.

Aos professores e funcionários do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Em especial ao funcionário Silvio L. S. de Oliveira pelo incentivo e auxílio nas coletas e na solução de alguns ‘probleminhas’ que surgiram no decorrer desse trabalho.

Aos professores Dr. Ivo Wentz e Dra. Veronica Schmidt do setor de suínos da FAVET/UFRGS pelo auxílio no trabalho com os suínos.

Ao colega Guilherme Baumgarten pela ajuda na solução dos “probleminhas” do respirômetro.

Aos colegas do PPG Dayana Agudelo, Felipe K. Leal, Saulo V. Della Giustina, Andréa Souza Castro, Lúcia Ribeiro, Eliete Canterle, Viviane Juliano, Simone Oliveira, Carla Muller, Emilio Wild pela amizade, incentivo, convivência e trocas de idéias pelos corredores e durante o café.

Ao bolsista IC Henrique Delabary pelo auxílio e amizade.

Aos amigos Diego Altieri da Silveira, Maria Cristina de Almeida e Silva, Juliana Nichele, Roberto Perez Campello e Ligia Ukstin Campello pela grande amizade, nascida nas catacumbas do Laboratório de Saneamento.

Sumário

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas	xiv
Apresentação	1
1 - Introdução	3
2. Revisão bibliográfica	5
2.1. Bioenergia e biomassa	5
2.2. Hidrogênio	7
2.2.1. Produção biológica de hidrogênio	8
2.2.1.1. Biofotólise utilizando algas e cianobactérias	10
2.2.1.2. Fotodecomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas	11
2.2.1.3. Produção de hidrogênio por meio da fermentação de compostos orgânicos	12
2.2.1.4. Sistemas híbridos utilizando bactérias fotossintéticas e bactérias fermentativas	13
2.2.2. Fatores que afetam a produção de hidrogênio	14
2.2.2.1. pH	14
2.2.2.2. Temperatura	15
2.2.2.3. Mistura	15
2.2.2.4. Características do lodo	16
2.2.2.5. Composição do efluente	17
2.2.2.6. Meios nutricionais	17
2.2.3. Configuração dos reatores	19
2.3. Testes em batelada para a avaliação da atividade de microrganismos anaeróbios	20

3. Objetivos	22
3.1. Objetivo Geral	22
3.2. Objetivos Específicos	22
4 - Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica de lodos	23
5 - Determinação da atividade hidrogênica específica de diferentes substratos orgânicos	61
6 - Influência do controle de pH na produção de hidrogênio a partir da glicose	84
7 - Efeito do pH e da temperatura na concentração de hidrogênio produzido a partir de efluentes da suinocultura	98
8 – Discussão geral	124
9 -Conclusões	132
10 - Recomendações	134
11 – Referências bibliográficas	135
Anexos	145

Resumo

A produção de hidrogênio pelo processo fermentativo sofre influência da concentração e das características do substrato orgânico, do valor do pH do efluente e da concentração de lodo no reator. A determinação da atividade hidrogênica específica de substratos orgânicos e de lodos pode auxiliar na análise do volume de hidrogênio produzido durante a fermentação, na produção de ácidos graxos voláteis, no grau de acidificação e avaliar a toxicidade de compostos aos microrganismos produtores de hidrogênio. Para determinação das condições ideais para a medida da atividade hidrogênica específica foram realizados testes em batelada utilizando glicose como fonte de matéria orgânica nas concentrações de 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000 e 20.000 mg.DQO.L⁻¹. Foram testados os valores de pH de 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5 e as concentrações de lodo de 1.250; 2.500; 5.000 e 7.500mgSVT.L⁻¹. A maior atividade hidrogênica obtida foi de 483 mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, para o valor de DQO de 12.000mgO₂.L⁻¹, no valor de pH igual a 6,0 e concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹. O maior volume de hidrogênio produzido foi de 38mL.gDQO⁻¹ no valor de DQO de 16.000mgO₂.L⁻¹, no pH de 5,5 e concentração de lodo de 5.000mgSVT.L⁻¹. A análise dos ácidos graxos voláteis indicou que os maiores percentuais de ácido acético e ácido propiônico foram obtidos quando o valor do pH testado foi de 6,5, na concentração SVT de 7.500mg.L⁻¹. Nas demais condições estudadas, o ácido butírico foi o ácido graxo volátil predominante no efluente. O valor do grau de acidificação foi influenciado provavelmente pela matéria orgânica proveniente do lodo, resultando em valores acima de 1,0. Testes de medida da atividade hidrogênica específica realizados com diferentes substratos orgânicos (ácido propiônico, ácido butírico, efluente protéico, glicerol e efluente do processo de produção de fungicida) permitiram avaliar a aplicabilidade do teste de atividade e o potencial que os substratos orgânicos possuem para gerar hidrogênio. Foram utilizadas as concentrações de matéria orgânica apresentadas acima, valor do pH inicial igual a 6,0 e concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹. A maior atividade hidrogênica e volume de hidrogênio produzido foram obtidas para o efluente protéico, 6,8mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹ e 1,74mL.gDQO⁻¹, respectivamente. O ácido graxo volátil encontrado em maior porcentagem após a fermentação dos substratos orgânicos foi o ácido acético. Foi observado alto grau de acidificação nos testes com o ácido butírico devido as altas concentrações residuais no efluente. A influência do controle no valor do pH sobre os microrganismos produtores de hidrogênio foi avaliada em testes com e sem controle de pH, utilizando glicose como fonte de matéria orgânica na concentração de 12.000mg.DQO.L⁻¹, nos valores de pH de 5,0; 5,5 e 6,0 e na concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹. Os resultados indicaram que as maiores porcentagens de hidrogênio, produção de ácidos graxos voláteis, grau de acidificação e remoção de matéria orgânica ocorreram quando não houve o controle do pH, indicando que há a necessidade de um ajuste inicial no valor do pH, porém o controle pode prejudicar o desempenho do processo. Além disso, foi estudada a otimização do processo de produção de hidrogênio a partir de efluente da suinocultura, utilizando reatores anaeróbios seqüenciais em batelada, um reator acidogênico e outro metanogênico. Foram analisados o controle do tempo de detenção celular e os efeitos do pH e da temperatura da fase acidogênica sobre a produção de hidrogênio. No reator acidogênico foram testados os tempos de detenção celular de 1,4; 1,7 e 2,5 dias, os valores de pH de 5,0 e 6,0 e as temperaturas ambiente (de 15 a 25°C), 35°C e 55°C. A maior concentração de hidrogênio obtida no biogás foi de 21,3 %, para o tempo de detenção celular de 1,4 dia, o valor do pH inicial ajustado para 5,0 e na temperatura de 35°C. Nesta condição foi verificado o aumento na concentração de ácidos graxos voláteis no efluente do reator acidogênico, indicando a ocorrência da hidrólise das substâncias complexas e conseqüente aumento na concentração de hidrogênio.

Abstract

Hydrogen production by fermentation process is influenced by the concentration and characteristics of organic substrate, the effluent pH value and biomass concentration. The determination of specific hydrogenic activity of organic substrates and biomass can be a tool to analyze the hydrogen volume produced during the fermentation, the volatile fatty acids production, the degree of acidification and evaluated compounds toxicity to the hydrogen producing microorganisms. To determine the ideal conditions for the measurement of specific hydrogen activity were realized batch tests using glucose as source of organic matter at concentrations of 1,000, 2,000, 4,000, 8,000, 12,000, 16,000 and 20,000mg.COD.L⁻¹. The pH values tested were 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5 and the biomass concentration of 1,250, 2,500, 5,000 and 7,500mgTVS.L⁻¹. The higher hydrogen activity was 483mLH₂.gTVS⁻¹.h⁻¹ for the organic matter concentration of 12,000mg.L⁻¹, pH value of 6.0 and biomass concentration of 2,500mgTVS.L⁻¹. The higher hydrogen volume produced was 38mL.gCOD⁻¹ in the initial organic matter concentration of 16,000mg.L⁻¹, at pH value 5.5 and sludge concentration of 5,000mgTVS.L⁻¹. Volatile fatty acids analysis indicated that the highest percentage of acetic acid and propionic acid were obtained when the pH tested was 6.5, at biomass concentration of 7,500mgTVS.L⁻¹. In other studied conditions, the butyric acid was the predominant volatile fatty acids in the effluent. The degree of acidification value was probably affected by organic matter from sludge, resulting in values above 1.0. Tests measuring the specific hydrogen activity were performed with different organic substrates (propionic acid, butyric acid, proteic effluent, glycerol and fungicide production effluent) permitted to evaluate the applicability of the activity test and the potential that organic substrates have to produce hydrogen. Using the organic matter concentrations presented above, initial pH value equal to 6.0 and biomass concentration of 2,500mgTVS.L⁻¹. The higher hydrogen activity and hydrogen volume produced were obtained for the proteic effluent, 6.8mLH₂.gTVS⁻¹.h⁻¹ and 1,74mL.gCOD⁻¹, respectively. The volatile fatty acid found in highest percentage after fermentation of organic substrates was acetic acid. A high degree of acidification was observed on tests with butyric acid due the high residual concentration in the effluent. The influence of pH control on hydrogen producing microorganisms was evaluated in tests with and without pH control, using glucose as organic matter source at concentration of 12,000mg.COD.L⁻¹, the pH values tested was 5.0, 5.5 and 6.0 and the biomass concentration was 2,500mgTVS.L⁻¹. The results indicated that the higher hydrogen percentages, volatile fatty acid production, degree of acidification and organic matter removal occurred when the pH was not controlled; indicating that an initial adjustment in the pH was needed, but the control may affect the process performance. Additional studies about the optimization of hydrogen production from raw swine waste using two batch anaerobic reactors, one acidogenic reactor and other methanogenic reactor were performed. The influence of sludge age and the pH and temperature effects on acidogenic phase were analyzed. In acidogenic reactor were tested the sludge ages of 1.4, 1.7 and 2.5 days, pH values of 5.0 and 6.0 and temperatures: ambient (15 to 25°C), 35°C and 55°C. The higher hydrogen concentration in the biogas was 21.3% for the sludge age of 1.4 days, initial pH equal to 5.0 and temperature 35 °C. In this condition there was an increase in volatile fatty acids concentration in the acidogenic reactor effluent, indicating the occurrence of complex substances hydrolysis and consequently the increase in hydrogen concentration.

Lista de figuras

2 – Revisão bibliográfica

Figura 01 – Etapas da digestão anaeróbia da matéria orgânica complexa. As porcentagens expressam o valor da DQO. 10

4 - Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica de lodos

Figura 01 - Esquema do respirômetro anaeróbio utilizado nos testes 27

Figura 02 - Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹. 30

Figura 03 - Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹. 31

Figura 04 – Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹. 32

Figura 05 – Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹. 33

Figura 06 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹. 35

Figura 07 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹. 36

Figura 08 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹. 36

Figura 09 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹. 37

Figura 10 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹. 40

Figura 11 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹. 42

Figura 12 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹. 44

Figura 13 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 7.500 mgSVT.L⁻¹. 46

Figura 14 - Valores do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 1.250mg.L ⁻¹ .	48
Figura 15 - Valores do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 2.500mg.L ⁻¹ .	49
Figura 16 - Valores do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 5.000mg.L ⁻¹ .	50
Figura 17 - Valores do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 7.500mg.L ⁻¹ .	50
Figura 18 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 1.250mg.L ⁻¹ .	51
Figura 19 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 2.500mg.L ⁻¹ .	52
Figura 20 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 5.000mg.L ⁻¹ .	53
Figura 21 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 7.500mg.L ⁻¹ .	54
<i>5 - Determinação da atividade hidrogênica específica de diferentes substratos orgânicos</i>	
Figura 01 – AHE do acetato de sódio, ácidos propiônico e butírico, glicerol 5% e efluente de fungicida, em função dos valores de DQO testados.	68
Figura 02 – AHE do efluente protéico em função dos valores de DQO testados	69
Figura 03 – AHE obtidas nos testes com glicose em função dos valores de DQO testadas.	70
Figura 04 – Volume de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica em função da DQO adicionada para os substratos orgânicos estudados e para o acetato de sódio.	71
Figura 05 – Volume de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica em função da DQO adicionada nos testes realizados com glicose.	72
Figura 06 – Valores do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO dos testes que utilizaram acetato de sódio, ácido propiônico, ácido butírico e glicose como substratos orgânicos.	73
Figura 07 - Valor do pH final do <i>mixed liquor</i> em função da DQO dos testes utilizando efluente protéico, glicerol, efluente de fungicida e glicose.	74

Figura 08 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO para os substratos orgânicos estudados e para o acetato de sódio. 78

Figura 09 – Valores do grau de acidificação em função da DQO inicial, para cada substrato orgânico estudado e para o acetato de sódio. 80

6 - Influência do controle de pH na produção de hidrogênio a partir da glicose

Figura 01 – Variação do valor do pH em função do tempo para cada valor de pH estudado. 88

Figura 02 – Concentração dos ácidos acético propiônico e butírico em função do valor do pH inicial para os testes realizados com e sem controle de pH. 92

7 - Efeito do pH e da temperatura na concentração de hidrogênio produzido a partir de efluentes da suinocultura

Figura 01 – Sistema utilizado no tratamento do efluente da suinocultura. 1 – tanque de alimentação, R1 – reator acidogênico e R2 - reator metanogênico. 103

Figura 02– Composição média do biogás do reator acidogênico para cada TDC testado. 108

Figura 03 – Concentração média de metano no biogás formado no reator metanogênico para cada TDC testado no reator acidogênico. 109

Figura 04 – Porcentagem média de hidrogênio formado no reator acidogênico nos valores de pH e temperaturas estudados. 114

Figura 05 - Porcentagem média de metano obtida no reator acidogênico nos valores de pH e nas temperaturas estudadas. 115

Figura 06 - Porcentagens médias de metano formado no reator metanogênico nos valores de pH e temperaturas do afluente. 116

Lista de tabelas

2 – Revisão bibliográfica

Tabela 01 – Meios nutricionais estudados para produção de hidrogênio	18
--	----

4 - Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica de lodos

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado nos testes de medida de atividade.	26
---	----

Tabela 02 – Concentrações de AGV antes da adição do substrato orgânico, para cada concentração de SVT utilizada.	39
--	----

Tabela 03 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 1.250mg.L ⁻¹ .	39
--	----

Tabela 04 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 2.500mg.L ⁻¹ .	41
--	----

Tabela 05 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 5.000mg.L ⁻¹ .	43
--	----

Tabela 06 - Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 7.500mg.L ⁻¹ .	45
--	----

5 - Determinação da atividade hidrogênica específica de diferentes substratos orgânicos

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado na medida da AHE dos substratos orgânicos.	64
---	----

Tabela 02 – Características dos substratos orgânicos testados.	67
--	----

Tabela 03 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com acetato de sódio anidro e ácido propiônico.	75
--	----

Tabela 04 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com ácido butírico e efluente protéico.	76
--	----

Tabela 05 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com glicerol 5% e efluente de fungicida.	76
---	----

Tabela 06 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com glicose.	77
---	----

6 - Influência do controle de pH na produção de hidrogênio a partir da glicose

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado nos testes de fermentação.	86
Tabela 02 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $5,0 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.	89
Tabela 03 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $5,5 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.	90
Tabela 04 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $6,0 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.	90
Tabela 05 – Grau de acidificação obtido para cada valor de pH testado.	93
Tabela 06 – Percentual de remoção de matéria orgânica, em base DQO, em cada fermentador para as condições estudadas.	93

7 - Efeito do pH e da temperatura na concentração de hidrogênio produzido a partir de efluentes da suinocultura

Tabela 01 – Características do efluente coletado na propriedade rural.	102
Tabela 02 – Parâmetros físicos e químicos analisados e suas respectivas metodologias.	105
Tabela 03 – Alcalinidade média das amostras dos reatores em cada TDC estudados.	106
Tabela 04 – Tabela 04 – Valores médios de DQO total obtidos em cada etapa para os TDC estudados e eficiência global de remoção.	106
Tabela 05 – Concentração de ST e SVT em cada estágio do sistema para os TDC estudados.	107
Tabela 06 - Percentuais de ST e SVT removidos do sistema em cada TDC estudado.	107
Tabela 07- Variação da alcalinidade nos valores de pH e temperaturas estudadas.	110
Tabela 08 - Variação da DQO total nos valores de pH e temperaturas estudadas.	111
Tabela 09 – Percentuais de DQO total removidos em cada estágio e remoção global.	111
Tabela 10 - Variação do teor de sólidos nos valores de pH e temperaturas estudadas.	112
Tabela 11 – Percentuais médios de remoção de ST e SVT em cada estágio e remoção global para as condições estudadas.	113

Tabela 12 – Concentrações dos AGV na entrada e na saída do reator acidogênico em cada condição estudada.

Lista de Abreviaturas

- AGV – ácido graxo volátil
- AHE – Atividade Hidrogênica Específica
- AME – atividade metanogênica específica
- ATP – adenosina tri fosfato
- CNTP – Condições normais de temperatura e pressão
- CoA – Co-enzima A
- DBO₅ - demanda bioquímica de oxigênio aos 5 dias
- DQO – demanda química de oxigênio
- FID – detector de ionização por chama
- G.A. – grau de acidificação
- ST – sólidos totais
- SSV – sólidos suspensos voláteis
- SVT – sólidos voláteis totais
- TCD – detector de condutividade térmica
- TDC – tempo de detenção celular
- UASB - reator de manta de lodo com fluxo ascendente
- μ - taxa de multiplicação dos microrganismos

Apresentação

Esta tese está apresentada sob a forma de artigos que serão submetidos à publicação.

Os Capítulos 1 e 2 descrevem, respectivamente, uma introdução do trabalho desenvolvido nesta tese e a revisão bibliográfica, que aborda alguns dos processos de produção biológica de hidrogênio, a influência dos parâmetros operacionais que afetam diretamente a produção de hidrogênio e a importância do desenvolvimento de um teste em batelada para avaliar a capacidade de produção de hidrogênio que diferentes tipos de lodos e de substratos orgânicos possuem.

No Capítulo 3 estão descritos o objetivo geral e os objetivos específicos a serem atingidos por este trabalho.

O Capítulo 4 apresenta uma nova metodologia para determinação da capacidade de produção de hidrogênio que um lodo ou substrato possuem, denominada “Atividade Hidrogênica Específica”. Foram realizados testes em batelada a fim de determinar o valor do pH, a concentração de matéria orgânica, sob a forma de glicose, e a concentração de sólidos voláteis totais ideais para a medida dessa atividade. Além disso, foi analisado o volume de hidrogênio produzido, a produção de ácidos graxos voláteis e o valor do grau de acidificação para cada condição testada

O Capítulo 5 relata os resultados obtidos na medida da Atividade Hidrogênica Específica, utilizando a metodologia apresentada no Capítulo 4, de substratos como: glicose, ácido propiônico, ácido butírico, efluente com alto teor protéico, glicerol e efluente proveniente da fabricação de fungicida. Estão inseridos neste capítulo, também, a produção de hidrogênio, a concentração de ácidos graxos voláteis e o valor do grau de acidificação para cada substrato testado.

No Capítulo 6 foi estudado o comportamento do pH durante o processo de produção de hidrogênio a partir da glicose e avaliada a influência do controle do mesmo na porcentagem de hidrogênio no biogás, na concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico e no valor do grau de acidificação utilizando um fermentador em escala laboratorial.

O Capítulo 7 mostra os resultados de um estudo de produção de hidrogênio a partir de dejetos da suinocultura, utilizando um sistema de reatores anaeróbios em duas etapas onde foram analisados o tempo de detenção celular, a influência do ajuste do pH inicial e da

temperatura na remoção de matéria orgânica, no teor sólidos, na produção de ácidos graxos voláteis e na composição do biogás produzido.

Nos Capítulos 8, 9 e 10, estão respectivamente, a discussão geral inter-relacionando os resultados descritos em cada capítulo, as conclusões e recomendações geradas por este trabalho.

1 - Introdução

Os efeitos crescentes das mudanças climáticas e a diminuição das reservas energéticas fizeram necessária a busca por fontes alternativas de energia como a biomassa, que inclui plantas, algas, lodos, resíduos de animais e esgotos domésticos, em substituição à madeira, ao carvão e ao petróleo e seus derivados.

A bioenergia, é considerada a fonte de energia do futuro e está em ascensão devido a uma combinação de fatores que incluem: um melhor conhecimento do papel atual da biomassa e suas contribuições como combustível; sua disponibilidade, sua versatilidade e sustentabilidade; seus benefícios ambientais, locais e globais e o desenvolvimento de oportunidades empresariais.

O Brasil se destaca entre as economias industrializadas pela elevada participação das fontes renováveis em sua matriz energética devido a alguns privilégios da natureza, como uma bacia hidrográfica contando com vários rios de planalto, fundamental na produção de eletricidade e o fato de ser o país com maior área de clima tropical do mundo, um diferencial positivo para a produção de energia de biomassa.

A decomposição anaeróbia da biomassa produz biogás, o qual pode ter sua capacidade calorífica aumentada pela presença de hidrogênio em sua composição. O hidrogênio é um carreador energético promissor e sua obtenção e uso vem se destacando nos últimos anos.

Pesquisas sobre a otimização da produção biológica de hidrogênio mostram diferenças significativas em termos de valores de pH ideais para o processo, da utilização de diferentes tipos de substratos orgânicos e concentrações de lodos empregados, além de tratamentos aplicados ao mesmo com a finalidade de inibir a metanogênese. Devido a essas diferenças, verificou-se a necessidade de desenvolvimento de um teste rápido para quantificar a capacidade de produção de hidrogênio de lodos biológicos e de substratos orgânicos e auxiliar na identificação de fatores que possam causar inibição ou toxicidade aos microrganismos produtores de hidrogênio.

Com base nesses aspectos, foi desenvolvido o teste de “atividade hidrogênica específica (AHE)” para determinar a influência dos parâmetros supra citados na produção biológica de hidrogênio.

Além disso, neste trabalho foi realizada a aplicação do teste para avaliar a capacidade de produção de hidrogênio do ácido propiônico, ácido butírico, efluente protéico,

glicerol e efluente do processo de produção de fungicida, como substrato de referência (branco) foi utilizada solução de acetato de sódio anidro.

O efeito do controle do valor do pH sobre a produção de hidrogênio também foi avaliado e, finalmente, realizou-se um estudo utilizando sistema de dois reatores seqüenciais em batelada, um reator acidogênico e outro metanogênico, onde foi determinada a influência do valor do pH e da temperatura da fase acidogênica na produção biológica de hidrogênio a partir de efluentes da suinocultura.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Bioenergia e biomassa

A industrialização e o rápido crescimento demográfico têm contribuído para aumentar os problemas ambientais no que diz respeito à utilização de energia e geração de resíduos. Os processos industriais têm gerado uma grande quantidade de produtos e resíduos indesejáveis, os quais possuem potencial para produzir energia limpa (Badkoubi *et al.* 2004).

O Protocolo de Kyoto e as ameaças de mudanças climáticas juntamente com as políticas de redução da poluição incentivaram a busca por fontes alternativas de energia, as quais podem substituir a energia derivada do carvão ou do petróleo (Amon *et al.* 2004). Essas fontes, além de reduzirem os impactos ambientais, são o caminho para a formação de uma sociedade ecologicamente sustentável (Jonsson & Hillring, 2006; Junginger *et.al.*, 2006).

O Brasil é um país que apresenta tradição no uso de fontes renováveis de energia, onde se destaca o uso da energia hidrelétrica como responsável pela maior parcela, (acima de 80%), de toda geração de eletricidade. Em segundo lugar, o etanol, proveniente da cana-de-açúcar, é utilizado como mistura na gasolina ou puro. Por outro lado, existem ainda com pouco aproveitamento, um enorme potencial de fontes renováveis de energia, destacando-se entre elas a energia solar, eólica e biomassa, sendo a última definida como toda matéria orgânica de origem animal e vegetal.

As tecnologias com base em fontes renováveis são atrativas não só devido às vantagens ambientais, mas também sociais. A bioenergia, hoje, é considerada como a fonte de energia do futuro e está em ascensão devido a uma combinação de fatores que incluem: um melhor conhecimento do papel atual da biomassa e suas contribuições potenciais futuras como combustível; sua disponibilidade, sua versatilidade e sustentabilidade; seus benefícios ambientais, locais e globais e o desenvolvimento de oportunidades empresariais (Ayoub *et. al.*, 2007).

A possibilidade de criação de fontes de suprimento descentralizadas e em pequena escala é fundamental para o desenvolvimento sustentável, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. No interesse desses últimos, sobressaem as centrais que utilizam fontes renováveis e não requerem alta tecnologia para instalação ou técnicos especializados para sua operação (Souza, *et al.*, 2004). Além disso, a cadeia de produção da bioenergia é um poderoso motor da atividade econômica, pois produz energia através do uso de matéria prima local, diminuindo a necessidade da utilização de combustíveis fósseis (Ayoub *et. al.*, 2007).

A diversidade de tecnologias em energia renovável a torna conveniente para prover potência a redes elétricas existentes e produzir energia para sistemas isolados ou em ilha. Por ser um país tropical, existe aqui um enorme potencial de biomassa, devido à grande produtividade de massa vegetal.

Os processos térmicos para geração de energia a partir da biomassa são muito utilizados na Europa e no Canadá e incluem a pirólise, a combustão e a gaseificação. Na pirólise a biomassa é decomposta num ambiente sem oxigênio, produzindo gás combustível (gaseificação), carvão e biocombustível. No processo de combustão ocorre a queima da biomassa na presença de oxigênio, produzindo energia térmica para uso doméstico e industrial. Os processos biológicos anaeróbios utilizados para a produção de energia são a fermentação a qual produz álcoois e a digestão da biomassa que gera biogás (Bridgwater, 2006).

Ao contrário da energia dos combustíveis fósseis, a biomassa é renovável e não contribui para o acúmulo de dióxido de carbono na atmosfera terrestre, ou melhor, todo dióxido de carbono liberado durante o uso da biomassa é absorvido novamente no processo de fotossíntese para formação da mesma. A biomassa oferece muito mais do que apenas o fornecimento de energia, podendo contribuir significativamente para a redução das mudanças climáticas (Ayoub *et al.*, 2007).

A biomassa é uma das mais promissoras fontes de energia renovável e inclui plantas, algas, lodos, resíduos rurais e pecuários, esgotos domésticos, em substituição aos combustíveis fósseis (Junginger *et al.*, 2006).

No Brasil, pode-se citar o exemplo do aproveitamento de resíduos da cana de açúcar, onde temos usinas com possibilidade de venda de energia para o sistema elétrico, o que ainda não aconteceu de maneira mais acentuada pela falta de regulamentação no setor elétrico (Souza *et al.*, 2004).

Os resíduos rurais incluem todos os tipos gerados pelas atividades produtivas nas zonas rurais, os quais são: os resíduos agrícolas, florestais e pecuários. Os resíduos da pecuária são constituídos por esterco e outros produtos resultantes da atividade biológica do gado bovino, suíno, caprino e outros, cuja relevância local justifica seu aproveitamento energético. Este tipo de resíduo é importante matéria prima para a produção de biogás através da digestão anaeróbia (Souza *et al.*, 2005).

O biogás é um combustível gasoso com um conteúdo energético elevado semelhante ao gás natural. Esse combustível pode ser utilizado para geração de energia elétrica, térmica ou mecânica em uma propriedade rural, contribuindo para a redução dos custos de produção (Chynowet, 1996).

Ele é composto de metano e dióxido de carbono com traços de sulfeto de hidrogênio, nitrogênio e hidrogênio. Devido à presença de compostos ácidos, o biogás requer um cuidadoso tratamento para remover os mesmos e evitar problemas de corrosão. (Metcalf & Eddy, 2003). A utilização do biogás como combustível, reduz a necessidade de madeira e de petróleo para geração de energia, preservando a natureza e as reservas energéticas e sua combustão não desprende fumaça e não deixa resíduos poluidores no ambiente, reduzindo os impactos ambientais como o aquecimento global, a formação de chuva ácida e os danos a vegetação e além disso, representa um recurso eficiente para o tratamento de efluentes e melhoria do padrão sanitário do meio ambiente (Chynowet, 2001, 2004).

Países como Índia (Chanakya & Moletta, 2004; Yeole *et al.*, 2004), México (Robles-Martinez *et al.*, 2004), Áustria (Amon *et al.*, 2004), Estados Unidos (Parry *et al.*, 2004), Canadá (Chakraborti *et al.*, 2004; Caners *et al.*, 2004), Sri Lanka (Weerasinghe *et al.*, 2004) possuem plantas de tratamento de efluentes provenientes da agricultura para a obtenção do biogás.

Utilizando os mecanismos biológicos apropriados pode-se obter o hidrogênio como produto da digestão anaeróbia da biomassa. A maior vantagem da energia proveniente do hidrogênio é a ausência de emissões poluentes com a sua queima ou utilização em células combustíveis (Davila-Vazquez *et al.*, 2008)

2.2. Hidrogênio

O hidrogênio é o elemento mais abundante no universo, fazendo parte de cerca de $\frac{3}{4}$ de toda a matéria existente. A atmosfera contém cerca de 0,07 % de hidrogênio, enquanto que na superfície terrestre este valor é de 0,14 %, sendo o elemento de menor densidade dentre todos os demais. Nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), a massa de 1 litro do hidrogênio é de cerca de 0,09 gramas enquanto que a massa de 1 litro de ar é de 1,2 gramas (Das & Veziroglu, 2001).

Devido a sua baixa densidade ele se dispersa através do ar muito mais rapidamente que os outros combustíveis gasosos. É um gás incolor, inodoro, insípido e atóxico, produz uma

chama quase invisível quando queima e precisa de pouca quantidade de energia para entrar em ignição. Como qualquer outro combustível, o hidrogênio é inflamável e potencialmente perigoso, necessitando de apenas 5 % de oxigênio para se manter em combustão quando comparado com os 12 % necessários para combustão dos hidrocarbonetos. Apesar disso, é pouco provável que ele entre em combustão espontânea uma vez que sua temperatura de auto ignição é de 550°C, enquanto que para os sub produtos do petróleo essa temperatura varia de 228 – 500 °C (Abdel-Aal *et al.*, 2005).

Durante a sua queima ele produz água, portanto, é considerado um combustível limpo, não poluente e inofensivo para as pessoas e para o meio ambiente quando comparado a outros combustíveis (Levin *et al.*, 2004)

De acordo com Midilli & Dincer (2007) dentre as vantagens da utilização da energia proveniente do hidrogênio destacam-se:

- A energia gerada pelo hidrogênio é limpa, renovável, não tóxica e que não produz emissões nocivas ao meio ambiente e pode ser transportada com segurança através de tubulações;
- Pode ser produzido a partir de fontes não fósseis de combustível utilizando-se várias técnicas de produção e pode ser armazenado por longos períodos de tempo, quando comparado com a eletricidade;
- Garante sustentabilidade industrial devido a sua utilização como matéria prima nas indústrias petroquímica, alimentícia, microeletrônica, metalúrgica e na síntese de polímeros e produtos químicos;
- Promove benefícios econômicos para pequenas comunidades, pois o sistema em pequena escala reduz o tempo necessário para o início da sua operação, além de se adaptar facilmente ao aumento da demanda de energia.

O hidrogênio produz mais energia por unidade de peso do que qualquer outro combustível, cerca de três vezes mais que a gasolina e cerca de sete vezes mais que o carvão, sendo que cada grama de hidrogênio produz 120,7 kJ de energia (Busby, 2005).

Os Estados Unidos utilizam mais de 90 bilhões de metros cúbicos anuais de gás hidrogênio em aplicações comerciais como a produção de amônia, síntese de metanol, hidrogenação de óleos e graxas, produção de medicamentos, cosméticos, plásticos, sabões, entre outros e sua aplicação como combustível ocorre em veículos automotivos (carros, motos e ônibus)

e no lançamento de ônibus espaciais (Baykara, 2005; Busby, 2005). O consumo mundial de hidrogênio é de cerca de 450 bilhões de metros cúbicos por ano (Busby, 2005).

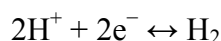
Conforme Baykara (2005), o hidrogênio é um combustível que pode ser obtido a partir de várias fontes naturais (gás natural, água, biomassa, carvão, sulfeto de hidrogênio, etc.) utilizando-se tecnologias que dependem dos recursos disponíveis em cada país.

As opções existentes para a produção e utilização do hidrogênio como combustível podem adaptar-se as diferentes fontes e a infra-estrutura energética de cada país. No leste do Canadá o hidrogênio pode facilmente ser produzido a partir da energia hídrica, nos países do Mediterrâneo é obtido a partir da energia solar e no noroeste da Europa a partir da energia eólica (Baykara, 2005).

A transição para a economia baseada no hidrogênio e as conseqüentes melhorias ambientais, sociais, tecnológicas, industriais e econômicas de um país podem ser as melhores soluções para acelerar e assegurar a sustentabilidade global (Midilli & Dincer, 2007).

2.2.1. Produção biológica de hidrogênio

Todos os processos de produção biológica de hidrogênio são dependentes da presença de uma enzima produtora de hidrogênio, a hidrogenase. Entretanto, não há evidências de que a quantidade ou atividade dessa enzima é um fator limitante na produção de hidrogênio. Em alguns sistemas microbianos, a atividade catalítica supera a quantidade de hidrogênio produzido, sugerindo que outros fatores metabólicos limitam esse processo (Hallenbeck & Benemann, 2002). As hidrogenases catalisam a mais simples das reações químicas, mostrada abaixo.



Muitos microrganismos contêm as enzimas níquel ferro (NiFe) ou níquel ferro selênio hidrogenase (NiFeSe hidrogenase) que possuem sítios ativos formados por complexos metálicos, cuja atividade biológica na produção de hidrogênio é maior que a dos microrganismos que possuem apenas a enzima hidrogenase (Hallenbeck & Benemann, 2002).

Na Figura 01 estão mostradas as etapas do processo de digestão anaeróbia da matéria orgânica complexa.

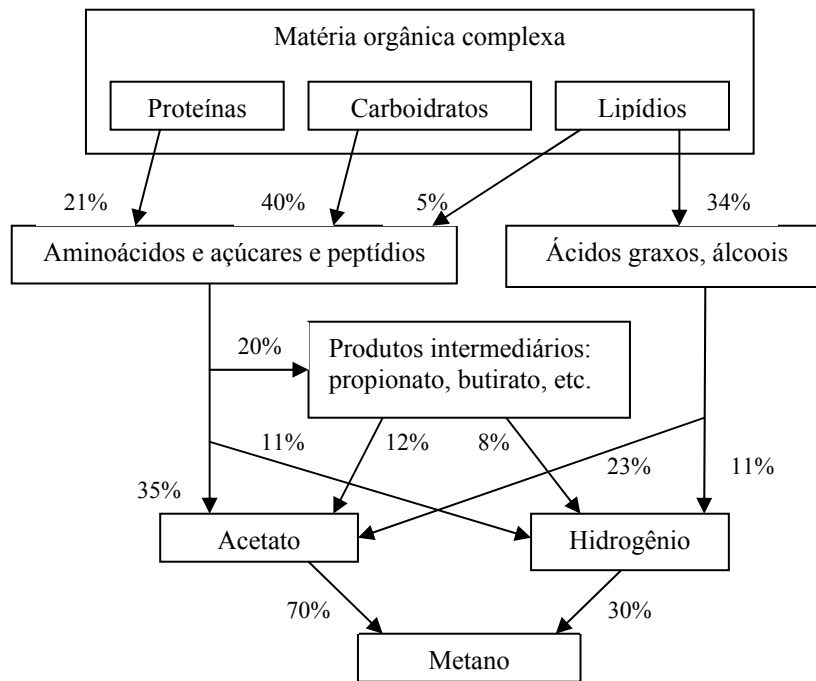


Figura 01 – Etapas da digestão anaeróbia da matéria orgânica complexa. As percentagens expressam o valor da DQO. Fonte: Gujer & Zehnder, 1983.

De acordo com Das & Veziroglu (2001), os processos de produção biológica de hidrogênio podem ser classificados em: biofotólise utilizando algas e cianobactérias, fotodecomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas, produção de hidrogênio através da fermentação de compostos orgânicos e sistemas híbridos utilizando bactérias fotossintéticas e bactérias fermentativas, os quais estão descritos a seguir.

2.2.1.1. Biofotólise utilizando algas e cianobactérias

Utiliza o mesmo processo da fotossíntese das plantas e das algas, mas adaptado para a geração hidrogênio. A fotossíntese envolve a absorção de luz por dois sistemas fotossintéticos que operam em série: o primeiro é a quebra da molécula da água e a liberação de oxigênio (fotossistema I ou PSII) e o segundo fotossistema (PSI) que produz o agente redutor para a produção de dióxido de carbono. Nestes dois processos, dois fótons, um para cada fotossistema, são empregados para remover um elétron da água e usá-lo na produção de dióxido de carbono ou na formação de hidrogênio (Das & Veziroglu, 2001).

Nas plantas verdes ocorre apenas a produção de dióxido de carbono, pois as mesmas não possuem as enzimas hidrogenases que catalisam a reação de formação do hidrogênio.

Microalgas, tanto as eucariotas (algas verdes) quanto as procariotas (cianobactérias) possuem a enzima hidrogenase e podem produzir hidrogênio quando submetidas a determinadas condições ambientais. Entretanto, a quantidade de hidrogênio produzido é muito menor que a produção de dióxido de carbono. Pequenas quantidades de oxigênio inibem a atividade das hidrogenases durante a biofotólise o que reduz a produção de hidrogênio (Das & Veziroglu, 2001).

Muitas espécies de microalgas, particularmente as algas verdes, produzem hidrogênio após um período em ambiente anaeróbico e escuro, durante o qual a enzima hidrogenase é ativada. Quando as algas são expostas a luz (mas ainda em condições anaeróbicas), a produção de hidrogênio diminui até cessar completamente uma vez que a fotossíntese é restabelecida (Das & Veziroglu, 2001).

Dentre as algas verdes utilizadas para a produção de hidrogênio encontram-se: *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii* e *C. moewusii*. No caso das cianobactérias as mais utilizadas são: *Heterocystous Anabaena azollae*, *Anabaena CA*, *A. variabilis*, *A. cylindrica*, *Nostoc muscorum*, *N. spongiaeforme*, entre outras (Martinez-Perez *et al.*, 2007).

2.2.1.2. Fotodecomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas

Conforme Das & Veziroglu (2001), as bactérias fototróficas (utilizam luz para produzir energia) são indicadas como os mais promissores sistemas microbianos para a produção de hidrogênio, tendo como benefícios:

- a) alta taxa de conversão;
- b) habilidade para usar uma larga faixa do espectro de luz;
- c) habilidade para consumir matéria orgânica de efluentes, podendo, ser utilizada no tratamento de esgotos e produção de hidrogênio, simultaneamente.

Um dos maiores obstáculos para a obtenção de hidrogênio nesses sistemas é a geração fotossintética de oxigênio que inibe a atividade das hidrogenases, reduzindo a produção de hidrogênio (Das & Veziroglu, 2001).

As bactérias fotossintéticas mais utilizadas na produção de hidrogênio são: *R. capsulatus*, *R. sulidophilus*, *Rhodopseudomonas sphaeroides*, *R. palustris*, dentre outras (Martinez-Perez *et al.*, 2007).

2.2.1.3. Produção de hidrogênio por meio da fermentação de compostos orgânicos

A produção de hidrogênio por bactérias fermentativas é tecnicamente mais simples que a produção realizada pelas bactérias fotossintéticas. Os processos fermentativos geram hidrogênio a partir da decomposição dos carboidratos presentes nos resíduos orgânicos (Han & Shin, 2004).

Os polissacarídeos como a celulose, a pectina e o amido são hidrolisados e transformados em compostos de baixo peso molecular tais como os açúcares e o metanol, sendo então transportados para o interior das células bacterianas e convertidos em vários produtos (McInerney & Bryant, 1980).

De acordo com McInerney & Bryant (1980), os açúcares são degradados a piruvato pela via de Embden-Meyerhof-Parnas gerando elétrons, designados como 2H. Os produtos formados dependerão do modo como o piruvato será metabolizado no interior da célula bacteriana. Algumas espécies bacterianas produzem acetato, dióxido de carbono e hidrogênio a partir do piruvato, em outras culturas o piruvato é transformado em propionato, butirato, succinato, etanol ou lactato. A proporção de cada um desses produtos será determinada pela pressão parcial de hidrogênio no ecossistema. A Acetil CoA e o dióxido de carbono são produzidos a partir do piruvato através da ação da enzima ferredoxin oxidoreductase, gerando elétrons que serão eliminados na forma de hidrogênio ou utilizados na produção de propionato, succinato, lactato ou butirato. Além disso, a Acetil CoA pode ser reduzida a etanol através da reação com acetaldeído ou pode ser utilizada para formar acetato.

Ainda de acordo com McInerney & Bryant (1980), a formação do butirato ocorre pela condensação da Acetil CoA e do acetato e está associada a formação de ATP, que corresponde a energia utilizada para o crescimento celular. O lactato formado a partir da redução do piruvato é encontrado em grande quantidade em resíduos bovinos e resíduos vegetais, tendo importância tanto como substrato quanto como intermediário na formação do propionato, o qual pode ser formado através de duas vias metabólicas. Na primeira, ocorre a reação do dióxido de carbono com o fosfoenolpiruvato formando o oxaloacetato, em seguida, ocorre a redução e transformação do oxaloacetato em succinato, o qual sofrerá uma descarboxilação para formar propionato. Na segunda via, o propionato é formado a partir do lactato com influência de enzimas como a lactil CoA, a fosfolactil CoA e acrilil CoA.

Quando a pressão parcial de hidrogênio é baixa, o fluxo de elétrons gerados durante a degradação dos açúcares é direcionado para formar o hidrogênio, facilitando a degradação do piruvato em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio (McInerney & Bryant, 1980).

Quando a pressão parcial de hidrogênio aumenta no ecossistema é possível prever quais produtos serão formados pelas bactérias fermentativas, a partir da degradação do piruvato. A produção de propionato a partir do piruvato é termodinamicamente a mais favorável das reações ($\Delta G^\circ = -87,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$), seguida pelo butirato ($\Delta G^\circ = -77,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$), succinato ($\Delta G^\circ = -66,9 \text{ kJ.mol}^{-1}$), etanol ($\Delta G^\circ = -38,9 \text{ kJ.mol}^{-1}$), e lactato ($\Delta G^\circ = -25,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$) (Martinez-Perez *et al.*, 2007).

O propionato e os ácidos graxos de cadeia longa são substâncias mais importantes na formação de hidrogênio do que o lactato e o etanol. Estudos sugerem que mais de 50% da matéria orgânica do substrato é transformada em propionato e em ácidos graxos de cadeia longa.

Dentre as bactérias fermentativas utilizadas pra produção de hidrogênio estão: *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*, *Desulfovibrio vulgaris* e *Escherichia coli.*, presentes em culturas mistas encontradas em lodos anaeróbios (Martinez-Perez *et al.*, 2007).

Conforme Das & Veziroglu (2001), a produção industrial de hidrogênio por processos fermentativos possui várias vantagens, tais como:

- (a) bactérias fermentativas possuem uma alta taxa de produção de hidrogênio;
- (b) podem produzir hidrogênio constantemente (dia e noite), a partir de substratos orgânicos;
- (c) tem uma taxa de crescimento capaz de prover de microrganismos o sistema de produção.

2.2.1.4. Sistemas híbridos utilizando bactérias fotossintéticas e bactérias fermentativas

Os sistemas híbridos compreendem as bactérias fotossintéticas e as não fotossintéticas. As não fotossintéticas produzem hidrogênio a partir da degradação de carboidratos sem o uso de luz, produzindo ácidos orgânicos que servem de fonte para as bactérias fotossintéticas produzirem hidrogênio (Das & Veziroglu, 2001).

As bactérias anaeróbias decompõem os carboidratos para obter energia e elétrons, porém, os ácidos orgânicos formados na reação não são transformados em hidrogênio, enquanto que as bactérias fotossintéticas têm a capacidade de utilizar os ácidos orgânicos para a produção

de hidrogênio. A combinação desses dois tipos de bactérias além de aumentar a produção de hidrogênio, reduz a quantidade de energia luminosa demandada pelas bactérias fotossintéticas (Das & Veziroglu, 2001).

2.2.2. Fatores que afetam a produção de hidrogênio

Estudos demonstraram que a produção de hidrogênio é influenciada por muitos fatores, tais como: pH, temperatura, agitação, características do lodo, composição do efluente e meios nutricionais (Mu *et al.*, 2006).

2.2.2.1. pH

Estudos mostraram que o pH é um fator determinante na produção do hidrogênio, devido aos efeitos sobre as enzimas hidrogenases e sobre as rotas metabólicas envolvidas no processo (Fang & Liu, 2002).

De acordo com Li *et al.* (2007), o pH do meio produz efeitos sobre os microrganismos, tais como:

- (a) mudanças nas características da membrana celular influenciando na ingestão dos nutrientes;
- (b) influência sobre a atividade enzimática durante o processo metabólico;
- (c) influencia o aparecimento de substâncias tóxicas no meio.

No processo de digestão anaeróbia, o hidrogênio é produzido durante a fase exponencial do crescimento de alguns microrganismos como a *Clostridium sp.* Quando a sua população atinge a fase estacionária de crescimento, as reações de formação de hidrogênio cessam e isso ocorre quando o valor do pH é menor ou igual a 4,5, portanto, é importante remover o excesso de hidrogênio do meio líquido e manter o pH numa faixa ótima para que sua produção seja mantida (Khanal *et al.*, 2004). Durante a produção do hidrogênio ocorre a formação dos ácidos graxos voláteis como o ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico que, em altas concentrações, podem inibir os microrganismos produtores de hidrogênio e, por consequência, diminuem a produção de hidrogênio (Wang *et al.*, 2008).

Mudanças no pH podem causar alterações drásticas em um grande número de espécies de uma população heterogênea presente num reator acidogênico. Muitos aspectos do metabolismo microbiano são fortemente influenciados pelas variações de pH, incluindo a

utilização de fontes de carbono, a eficiência na degradação do substrato, a síntese de proteínas e a liberação de metabólitos pela célula (Zheng & Yu, 2004).

A faixa ótima de pH para a produção de hidrogênio varia conforme o substrato orgânico utilizado. A faixa de pH ideal é de 4,0 a 4,5 para a sacarose, 4,7 a 5,7 para o amido, 5,5 para glicose (Fang *et al.*, 2002), entre 6 e 7 para xilose (Lin & Chang, 2004) e 6 para águas residuárias da indústria alimentícia (Oh & Logan, 2006).

2.2.2.2. Temperatura

A temperatura é outro fator que influencia as atividades fisiológicas dos microrganismos e a taxa de formação dos produtos da fermentação. A produção de hidrogênio é instável quando a temperatura do meio sofre variações, mostrando que os microrganismos fermentativos são sensíveis a essas variações e que necessitam de um tempo de adaptação para estabilizar a produção de hidrogênio numa certa temperatura (Lin & Chang, 2004).

Estudos realizados por Shin *et al.* (2004) mostraram que há uma grande diferença na produção de hidrogênio quando a temperatura do meio sofre um aumento gradual em comparação com a diminuição gradual da mesma. Isso mostra que o aumento e a diminuição da temperatura tem efeito diversificado na fisiologia dos microrganismos, uma vez que cada célula de um microrganismo é considerada como um microsistema. O aquecimento gradual do meio mantém o interior da célula ordenado, enquanto que o resfriamento gradual causa uma desordem no interior da célula provocando uma queda no metabolismo da mesma e conseqüente diminuição da produção de hidrogênio.

Zhang & Shen (2006) estudaram o efeito da temperatura na produção de hidrogênio utilizando sucrose como substrato e demonstraram que a elevação brusca da temperatura do sistema provoca inibição dos microrganismos e conseqüente diminuição da produção de hidrogênio. Os resultados indicaram que a temperatura ideal para o processo é de 35°C.

2.2.2.3. Mistura

A intensidade da mistura é considerada um fator importante e que influencia a produção biológica de hidrogênio. Um contato eficiente entre o substrato e a biomassa pode

melhorar a performance do reator além de aumentar o fluxo da transferência de massa (Zheng & Yu, 2007).

Durante a fermentação anaeróbia a hidrodinâmica gás-líquido e líquido-líquido nos reatores está relacionada com a velocidade de mistura, além disso, a mistura pode acelerar a produção dos gases. A pressão parcial do hidrogênio na fase líquida é um fator crucial durante a sua produção biológica, uma vez que a mistura vigorosa é capaz de reduzir essa pressão parcial, podendo ser considerada benéfica para a produção do gás. Porém, estudos mostraram que o aumento da velocidade de mistura não garante o aumento da taxa de crescimento e da atividade dos microrganismos (Zheng & Yu, 2007).

2.2.2.4. Características do lodo

De acordo com Arooj *et al.* (2007), as características do lodo desempenham um papel importante na produção de hidrogênio. Microrganismos não sedimentáveis, resultantes da estratificação do lodo na fase de sedimentação, apresentaram uma maior atividade na produção de hidrogênio quando comparados aos microrganismos sedimentáveis, ambos presentes em reatores seqüenciais em batelada.

Além da estratificação, o tempo de sedimentação também é um parâmetro operacional importante no processo de produção de hidrogênio. Um lodo não sedimentável contém maiores concentrações de butirato e menores de propionato quando comparado a um lodo sedimentável. O aumento da concentração do propionato com o tempo causa uma mudança na comunidade microbiana, promovendo um decréscimo na produção de hidrogênio. A alta produção de hidrogênio em lodos não sedimentáveis deve-se a presença do microrganismo *Clostridium butyricum sp.* e a ausência do microrganismo *Selenomonas sp.*, cuja presença está associada a baixas produções de hidrogênio (Arooj *et al.*, 2007).

O pré-tratamento do lodo anaeróbio é uma alternativa que ajuda a acelerar a hidrólise, reduzindo o impacto dessa etapa limitante e aumentando a produção de hidrogênio durante a digestão anaeróbia. Muitos microrganismos produtores de hidrogênio formam endosporos, que se desenvolvem quando são submetidos a condições ambientais desfavoráveis e garantem a sobrevivência do microrganismo quando submetido a altas temperaturas, radiação ou oxidantes químicos (Davila-Vazquez *et al.*, 2008). Os microrganismos metanogênicos não formam endosporos, portanto, o tratamento térmico pode ser utilizado para selecionar apenas

microrganismos produtores de hidrogênio numa cultura mista (Wang & Wan, 2009). Porém, o tratamento térmico pode resultar na ruptura da membrana celular do lodo, ocorrendo a liberação do material intracelular, o que aumenta a quantidade de carbono no afluente (Smith & Goransson, 1992).

2.2.2.5. Composição do efluente

A conversão de diferentes tipos de resíduos orgânicos em hidrogênio, através da digestão anaeróbia, ocorre através de uma série de reações bioquímicas complexas catalizadas por diversos grupos de microrganismos (Mohan *et al.*, 2007).

Os resíduos orgânicos domésticos possuem grande potencial econômico para a produção de hidrogênio, pois além de fonte energética, a digestão anaeróbia reduz os custos com tratamento e disposição (Van Ginkel *et al.*, 2005).

Os resíduos de processos agrícolas (dejetos animais e restos da colheita) e os resíduos de indústrias alimentícias possuem baixo custo e altas concentrações de carboidratos, permitindo sua utilização para o estudo da produção de hidrogênio (Yang *et al.*, 2007).

A biodegradabilidade de resíduos animais está principalmente relacionada a quantidade de carboidratos presentes, os quais são a principal matéria prima para a produção de hidrogênio. Cada composto presente nesse tipo de resíduo é degradado em diferentes condições de pH e tempo de detenção hidráulico, mostrando que a produção de hidrogênio depende do ajuste das condições de processo (Han & Shin, 2004).

2.2.2.6. Meios nutricionais

A produção de hidrogênio requer certos micronutrientes essenciais para o crescimento, a atividade e o metabolismo bacteriano. Diferentes formulações nutricionais têm sido usadas na produção biológica de hidrogênio, entretanto, a maioria delas é para o enriquecimento de culturas puras. Os lodos provenientes de estações de tratamento contêm uma microflora mista que requer um meio nutricional diferente do utilizado para culturas puras. O estudo de formulações nutricionais para esse tipo de microflora se faz necessário para otimizar a produção de hidrogênio a partir de resíduos orgânicos (Lin & Lay, 2005)

Tabela 01 – Meios nutricionais estudados para produção de hidrogênio (continuação).

Nutrientes (mg.L ⁻¹)	Referências											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
MnSO ₄ . 5H ₂ O	-	210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,44	-	-	0,8	-	5	-	-	-	-	-	5
ZnO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	-	160	1.000	-	0,5	-	-	400	-	0,075	0,5	-

Referências: A – Majizat *et al.*, (1997); B – Onodera *et al.*, (1999); C – Zoetemeyer *et al.*, (1982); D – Nakamura *et al.*, (1993); E – Mizuno *et al.*, (2000a) ; F – Endo *et al.*, (1982); G – Kataoka *et al.*, (1997); H – Lay (2000); I – Ueno *et al.*, (1995); J – Zoetemeyer *et al.*, (1982); K – Mizuno *et al.*, (2000b); L – Cha & Noike (1997)

2.2.3. Configuração dos reatores

O reator de mistura contínua é a configuração mais freqüentemente utilizada em pesquisas de produção de hidrogênio (Ren *et al.*, 2006; Show *et al.*, 2007; Chen & Lin, 2003; Ren *et al.*, 2010). Nela os microrganismos produtores de hidrogênio ficam em suspensão no *mixed liquor*, o que facilita a transferência de massa do efluente para o microrganismo, porém são sensíveis a mudanças no pH e em baixos tempos de detenção hidráulica os microrganismos podem ser carregados para fora do sistema prejudicando a eficiência do processo (Hallemebeck *et al.*, 2009).

Dessa forma, uma variedade de sistemas de bio-reatores incluindo os reatores de leito fixo (Chang *et al.*, 2002), reatores de leito empacotado (Rachman *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003), reatores UASB (*up-flow anaerobic sludge blanket*) (Yu & Mu, 2006; Chang & Lin, 2004), reatores de leito fluidizado (Wu *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2010) foram utilizados para a produção de hidrogênio com a finalidade de imobilização e retenção dos microrganismos dentro do reator.

Geralmente, sistemas de crescimento aderido, embora não apropriados para afluentes com alta concentração de sólidos, permitem uma melhor retenção da biomassa ativa e a utilização de baixos tempos de detenção hidráulica (Gavala *et al.*, 2006).

Estudo realizado por Yu *et al.* (2002) comparando reatores UASB e de mistura contínua, mostrou que a produção volumétrica de hidrogênio foi maior no reator UASB.

Resultado similar ao obtido por Gavala *et al.* (2006), em que a configuração do reator UASB apresentou desempenho mais estável na produção de hidrogênio que o reator de mistura completa.

2.3. Testes em batelada para a avaliação da atividade de microrganismos anaeróbios

Vários trabalhos já foram desenvolvidos com a finalidade de otimizar a metodologia de avaliação da atividade de microrganismos anaeróbios. Conforme Monteggia (1991) a eficiência de um reator anaeróbio depende diretamente da atividade biológica dos microrganismos envolvidos no processo. O controle de parâmetros como pH, alcalinidade, ácidos graxos voláteis, produção de gás, remoção de matéria orgânica, fornece informações sobre a condição operacional do reator. Entretanto, esses parâmetros não antecipam desequilíbrios no sistema biológico, causados por variações bruscas na vazão ou na composição do afluente.

De acordo com James *et al* (1990), os testes de medida de atividade podem ser utilizados para realizar os seguintes estudos:

- avaliar o comportamento da biomassa anaeróbia sob a influência de compostos inibidores;
- observar as mudanças na atividade do lodo devido à possibilidade de aumento das concentrações de materiais inertes, por exemplo, metais;
- avaliar os parâmetros cinéticos em batelada.

Conforme Monteggia (1997), a determinação da atividade de um lodo é realizada por um teste de laboratório em batelada, sob condições ambientais controladas. O resultado é calculado a partir da medição direta da taxa de produção de um determinado composto ou consumo de um substrato, por unidade mássica de biomassa, representada pela medida de sólidos voláteis, e pela unidade de tempo.

Para a realização do teste deve-se ter um ambiente anaeróbio, com as condições de temperatura, pH e potencial redox necessárias, além de nutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, elementos traço) para obtenção da atividade biológica máxima. Faz-se necessário, também, uma adequada população de microrganismos e alimento suficiente (substrato teste) acima de concentrações limitantes, para obtenção da taxa máxima de remoção de substrato, e o uso de um equipamento de laboratório capaz de monitorar as mudanças da atividade metabólica (produção de gás) ou o consumo do substrato teste durante o ensaio (Monteggia, 1997).

O desenvolvimento de um teste eficiente e capaz de propiciar resultados confiáveis num curto período de tempo, para quantificar a capacidade que diferentes tipos de lodos

biológicos e de substratos orgânicos possuem para produção de hidrogênio se faz necessário para auxiliar na determinação dos parâmetros de controle para reatores acidogênicos.

Pesquisas sobre a otimização da produção biológica de hidrogênio mostram diferenças significativas em termos da utilização de diferentes tipos de substratos orgânicos, meios nutricionais, tipos e concentrações de lodos empregados e tratamentos aplicados ao mesmo, havendo a necessidade de uma padronização dessa análise.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral desse projeto de pesquisa foi desenvolver e padronizar os procedimentos laboratoriais a serem aplicados na avaliação da atividade hidrogênica de diferentes tipos de lodos e de substratos orgânicos a fim de verificar capacidade máxima de produção de hidrogênio de ambos.

3.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho foram:

- Avaliar o efeito do valor do pH, da concentração de matéria orgânica e da concentração de lodo na produção de hidrogênio.
- Avaliar a concentração de ácidos graxos voláteis produzidos e o grau de acidificação em cada condição estudada.
- Utilizar o procedimento desenvolvido para determinar a atividade hidrogênica, o volume de hidrogênio produzido e de ácidos graxos voláteis além do grau de acidificação de diferentes substratos orgânicos.
- Aplicar os parâmetros e critérios estabelecidos no estudo para operação de um fermentador em escala de laboratório com e sem controle de pH.
- Avaliar os parâmetros operacionais de um sistema de reatores anaeróbios em duas etapas, acidogênica e metanogênica, na produção de hidrogênio utilizando efluentes líquidos gerados na criação e manejo de suínos.

4 - Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica de lodos

Resumo: A produção de hidrogênio pelo processo fermentativo sofre influência da concentração de matéria orgânica, da concentração de lodo e do valor do pH do substrato orgânico. A determinação da atividade hidrogênica específica de um lodo pode auxiliar na quantificação da sua capacidade de produção de hidrogênio, além de detectar fatores que causem inibição ao mesmo. Os ácidos graxos voláteis (AGV), produzidos durante a fermentação da matéria orgânica e produção de hidrogênio, podem ser utilizados na síntese de polímeros biodegradáveis ou como fonte de carbono facilmente biodegradável no processo de remoção de nutrientes, reduzindo os custos com a adição de fontes externas de carbono. Na determinação das condições ideais para a medida da atividade hidrogênica específica foi utilizada glicose como fonte de matéria orgânica nas concentrações de 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000 e 20.000mg.DQO.L⁻¹. Foram testadas as concentrações de lodo de 1.250; 2.500; 5.000 e 7.500mgSVT.L⁻¹ e valores de pH de 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5. A maior atividade hidrogênica foi de 483mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, para as seguintes condições iniciais: concentração de matéria orgânica de 12.000mgDQO.L⁻¹, concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹ e pH igual a 6,0. Cabe também salientar que o volume de hidrogênio produzido, em relação a matéria orgânica adicionada (base DQO), atingiu 38mL.gDQO⁻¹ na concentração de matéria orgânica de 8.000mgDQO.L⁻¹, concentração de biomassa de 5.000mg SVT.L⁻¹ e pH de 5,5. Na determinação dos AGV os maiores percentuais de ácido acético foram obtidos quando o valor do pH inicial foi de 6,5, na concentração SVT de 7.500mg.L⁻¹. Nas demais condições, o ácido butírico foi o AGV predominante no efluente. O aumento na concentração de SVT nos digestores aumentou o percentual de ácido propiônico nas amostras.

Palavras chave: hidrogênio, atividade hidrogênica específica, AGV, pH.

1. Introdução

A produção de hidrogênio por bactérias fermentativas é tecnicamente mais simples que a produção realizada pelas bactérias fotossintéticas. Os processos fermentativos geram hidrogênio a partir da decomposição dos carboidratos presentes nos resíduos orgânicos (Han & Shin, 2004).

Dentre as bactérias fermentativas utilizadas para produção de hidrogênio destacam-se as seguintes espécies: *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*, *Desulfovibrio vulgaris* e *Escherichia coli.*, presentes em culturas mistas encontradas em lodos anaeróbios (Martinez-Perez *et al.*, 2007).

Estudos demonstraram que o pH é um fator determinante na produção do hidrogênio devido aos efeitos sobre as enzimas hidrogenases e sobre as rotas metabólicas envolvidas no processo (Fang & Liu, 2002; Zheng & Yu, 2004).

A faixa ótima de pH para a produção de hidrogênio apresenta variação conforme o resíduo orgânico utilizado. A faixa de pH ideal é de 4,0 a 4,5 para a sucrose, 4,7 a 5,7 para o amido, 5,5 para glicose (Fang & Liu, 2002), entre 6,0 e 7,0 para xilose (Lin & Cheng, 2006) e 6 para águas residuárias da indústria alimentícia (Oh & Logan, 2005).

A temperatura é outro fator que influencia as atividades fisiológicas dos microrganismos e a taxa de formação dos produtos da fermentação. A produção de hidrogênio é instável quando a temperatura do meio sofre variações, indicando que os microrganismos fermentativos são sensíveis a essas variações e que necessitam de um tempo de adaptação para estabilizar a produção de hidrogênio numa certa temperatura (Lin & Chang, 2004).

As características do lodo desempenham um papel importante na produção de hidrogênio. Microrganismos não-sedimentáveis, resultantes da estratificação do lodo na fase de sedimentação, apresentaram uma maior atividade na produção de hidrogênio quando comparados aos microrganismos sedimentáveis, ambos presentes num reator seqüencial em batelada. A alta produção de hidrogênio em lodos não sedimentáveis foi atribuída a presença da espécie *Clostridium butyricum sp.* e a ausência da espécie *Selenomonas sp.*, cuja presença está associada a baixas produções de hidrogênio (Arooj *et al.*, 2007).

Os lodos provenientes de estações de tratamento de efluentes contêm uma cultura mista que requer um meio nutricional diferente do utilizado para culturas puras. O estudo de formulações nutricionais para esse tipo de microflora se faz necessário para otimizar a produção de hidrogênio a partir de resíduos orgânicos (Lin & Lay, 2005).

Os AGV são produtos intermediários que se formam durante a degradação de carboidratos, proteínas e lipídios na etapa acidogênica da digestão anaeróbia. Os componentes mais importantes gerados na decomposição da matéria orgânica são os ácidos voláteis de cadeia

curta, como os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, valérico e isovalérico, além do hidrogênio, dióxido de carbono e alguns álcoois. (Grady Jr. *et.al.*, 1999).

Esses compostos podem ser substâncias promotoras, inibidoras ou tóxicas para os microrganismos fermentativos, dependendo da sua concentração. Em baixas concentrações os AGV não causam efeito sobre os microrganismos, entretanto, em altas concentrações, podem se tornar inibidores do processo fermentativo que produz hidrogênio. Os AGV, em sua forma dissociada, podem atravessar a parede celular dos microrganismos e provocar uma queda do pH no interior da célula, fazendo com que ela utilize a energia que seria empregada no crescimento microbiano para estabilizar suas condições fisiológicas. Desse modo, ocorre a redução da energia necessária para o crescimento microbiano, prejudicando-o. Altas concentrações de AGV dissociados também podem aumentar a força iônica do meio líquido provocando a ruptura da membrana celular dos microrganismos (Zheng & Yu, 2005).

Os AGV originados durante a fermentação e produção do hidrogênio podem ser utilizados em processos de remoção biológica de nutrientes, uma vez que esses compostos são uma fonte de carbono facilmente biodegradável (Ucizik & Henze, 2008). Além disso, os AGV podem ser utilizados na indústria química para a síntese de polímeros biodegradáveis, em substituição aos derivados do petróleo, agregando maior valor ao processo fermentativo (Liu *et al.*, 2006; Bengtsson *et al.*, 2008) e como aditivos na produção de fibras resistentes ao calor e a luz solar (Zhang *et al.*, 2009).

A eficiência global de um reator acidogênico pode ser medida pelo grau de acidificação, o qual corresponde à razão entre a DQO de todos os produtos da acidogênese no efluente e no biogás e a DQO do substrato orgânico utilizado (Yu & Fang, 2001).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e padronizar os procedimentos laboratoriais a serem aplicados na avaliação da atividade hidrogênica específica (AHE) de lodos a fim de verificar sua capacidade máxima de produção de hidrogênio. Além disso, foi analisada a produção dos ácidos acético, propiônico e butírico e o grau de acidificação do digestor. A partir dos resultados obtidos foram propostos parâmetros de controle para maximização da produção de hidrogênio em reatores acidogênicos.

2. Materiais e métodos

2.1. Efluente

O substrato orgânico utilizado consistiu em uma solução de glicose nas concentrações de 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000 e 20.000mg.L⁻¹, em base DQO.

2.2. Lodo

O lodo granular utilizado nos testes foi coletado num reator UASB de uma empresa de processamento de soja e autoclavado a 120°C durante 30 minutos a fim de eliminar microrganismos metanogênicos, conforme descrito por Xiao & Liu (2009). Foram testadas as concentrações de sólidos voláteis totais (SVT) de 1.250; 2.500; 5.000 e 7.500mg.L⁻¹.

2.3. pH

Para as concentrações de SVT de 2.500, 5.000 e 7.500mg.L⁻¹, foram testados os valores de pH de 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5. Devido aos resultados obtidos nos testes com os valores de pH e concentrações de lodo mencionadas, para a concentração de 1.250mgSVT.L⁻¹ foram testados apenas os valores de pH 5,5 e 6,0.

2.4. Meio nutricional

O meio nutricional utilizado foi baseado em estudos realizados por Lin & Lay (2005) e por Feng *et al.* (2008) e cuja composição encontra-se descrita na Tabela 01.

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado nos testes de medida de atividade.

<i>Nutrientes</i>	<i>Concentração (mg.L⁻¹)</i>
MgCl ₂ .6H ₂ O	40
CaCl ₂ .2H ₂ O	1.000
NH ₄ Cl	50
ZnCl ₂	2,5
MnSO ₄ .4H ₂ O	3,8
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	10
CuSO ₄ .5H ₂ O	5
KCl	130
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1.000
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	2.550
NiCl ₂ .6H ₂ O	2,5
KI	12,5
NaCl	1.000
FeSO ₄ .7H ₂ O	1
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5

2.5. Sistema utilizado na determinação da AHE

O sistema utilizado neste estudo foi o equipamento denominado respirômetro anaeróbio, desenvolvido por Monteggia (1991) para realização do teste de Atividade Metanogênica Específica (AME).

O equipamento consiste em 8 digestores com volume útil de 450mL cada, com agitação magnética e mantidos em ambiente com temperatura controlada. O controle e liberação do gás resultante da fermentação nos digestores foram realizados através de válvulas solenóides de três vias, com controle de abertura por manômetro calibrado contendo contato elétrico para energização do sistema de abertura das válvulas.

A medida do volume de gás produzido durante o teste foi realizada de forma semi-contínua pelo monitoramento do número de pulsos referentes à descarga de volume pré-determinado de biogás em função da pressão e temperatura.

Os dados de produção de biogás foram captados e armazenados por um software desenvolvido especialmente para o processamento desses resultados. O esquema do respirômetro anaeróbio está mostrado na Figura 01.

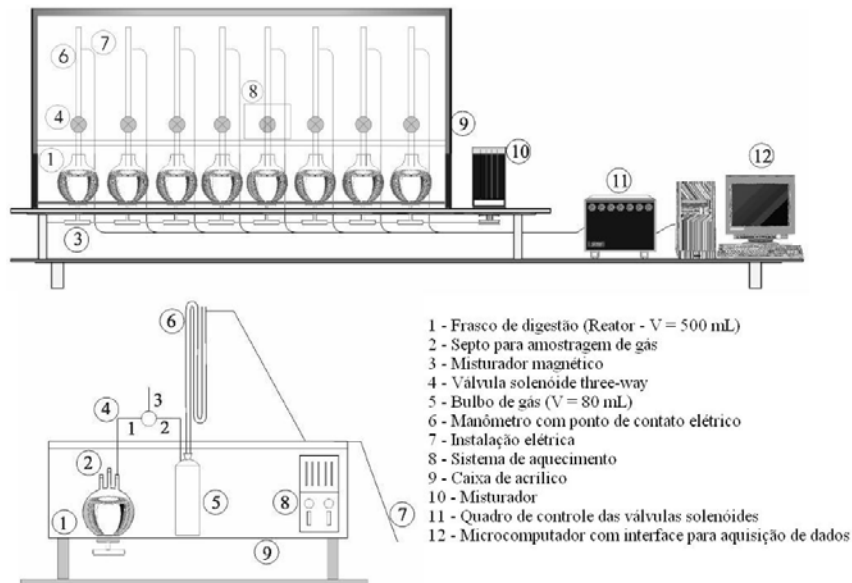


Figura 01 – Esquema do respirômetro anaeróbio utilizado nos testes.

2.5.1. Procedimento operacional

Os testes para determinar a AHE dos lodos foram realizados conforme a seqüência a seguir:

- Autoclavagem do lodo;
- Adição de quantidade pré-determinada de lodo e do meio nutricional, em igual volume, conforme descrito por Lin & Lay (2005);
- Ajuste do pH utilizando ácido clorídrico (HCl) 1mol.L^{-1} ou hidróxido de sódio (NaOH) 1mol.L^{-1} ;
- Borbulhamento de gás nitrogênio no interior dos digestores durante 1 minuto, para eliminar o ar atmosférico;
- Ajuste da temperatura do teste para 35°C ;
- Aclimatação do lodo durante o período noturno;
- Colocação do substrato orgânico (glicose) em concentração pré-estabelecida;
- Ajuste do pH utilizando HCl 1mol.L^{-1} ou NaOH 1mol.L^{-1} ,
- Procedimento adicional de eliminação do ar atmosférico através da inserção de gás nitrogênio no interior dos digestores;
- Coleta de amostras do biogás a cada duas horas, para determinação da porcentagem de hidrogênio.

O final do teste foi determinado pelas reduções na porcentagem de hidrogênio no biogás e no volume de biogás produzido.

2.5.2. Procedimentos analíticos

A análise da composição do biogás foi realizada utilizando cromatógrafo gasoso Dani GC 1000 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Molecular Sieve 80/100. As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 50°C ; T detector: 50°C ; T coluna: 40°C ; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 25mL.min^{-1} e o volume de amostra injetada foi de 1mL , conforme metodologia adaptada de Morimoto *et al.* (2004).

A análise das concentrações dos ácidos graxos acético, propiônico e butírico foram realizadas por cromatografia gasosa, conforme metodologia adaptada do *Standard Methods* (2005). Utilizou-se um cromatógrafo gasoso Dani GC 1000, com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar AT 1000 ($30\text{m} \times 0,32\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$). As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 150°C ; T detector: 240°C ; T forno: 95°C por 2min., 140°C a $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$, 200°C a $40^{\circ}\text{C.min}^{-1}$, 200°C por 5min; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 1mL.min^{-1} e o volume de amostra injetada foi de $1\mu\text{L}$. Antes da análise, as amostras foram

centrifugadas por 30 minutos e filtradas utilizando filtro de fibra de vidro com diâmetro de poro de 0,6 μ m, a fim de eliminar a interferência dos sólidos suspensos.

Para verificar a contribuição de AGV proveniente do lodo autoclavado foi coletada uma alíquota do sobrenadante antes da colocação do substrato orgânico, a qual foi analisada para determinar a concentração de AGV.

O grau de acidificação foi determinado pela razão entre a DQO dos produtos da acidogênese no efluente (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) e no biogás (hidrogênio) e a DQO inicial dentro do digestor, conforme metodologia descrita por Bengtsson *et al.* (2008).

2.5.3. Cálculo da AHE

A metodologia de cálculo da atividade hidrogênica foi adaptada daquela proposta por Beal & Monteggia (2009) para o cálculo da atividade metanogênica, onde foi utilizado o Método da Tangente para a determinação da atividade máxima em cada condição estudada. A seqüência de passos para o cálculo foi a seguinte:

1. Análise da composição do gás gerado via cromatografia gasosa;
2. Construção da curva que representa a Composição percentual de hidrogênio x Tempo;
3. Modelagem da curva obtida;
4. Cálculo do volume produzido de hidrogênio a cada pulso registrado, utilizando a curva obtida no item 3;
5. Construção do gráfico de Produção acumulada de hidrogênio x Tempo;
6. Modelagem da curva obtida;
7. Derivação da equação que melhor representou a curva obtida, no período de tempo do teste;
8. Cálculo das inclinações das tangentes da curva a cada intervalo de tempo de 0,1h, utilizando a equação derivada obtida no item 7;
9. Identificação do maior volume de hidrogênio produzido por hora, correspondente ao maior valor da inclinação das tangentes obtidas;
10. Determinação da AHE, expressa em $\text{mLH}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, através da razão entre o valor encontrado no item 9 e a concentração de biomassa inserida no digestor.

3. Resultados e discussão

3.1. Atividade Hidrogênica Específica

A Figura 02 apresenta os resultados das AHE obtidas em função dos valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 1.250mg.L^{-1} .

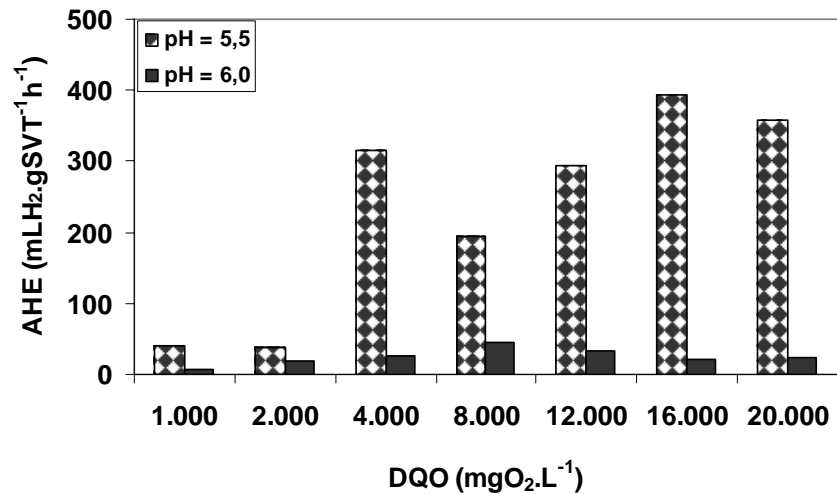


Figura 02 - Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 1.250mg.L^{-1} .

O pH afetou drasticamente a AHE, a qual apresentou um decréscimo significativo quando o valor do pH inicial dos testes foi ajustado para 6,0. No pH inicial de 5,5 o valor máximo da atividade foi de $392,5\text{mLH}_2.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$, para a DQO de $16.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$, enquanto que para a mesma DQO mas com o pH inicial ajustado para 6,0 a atividade foi de $20,3\text{mLH}_2.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$, representando um decréscimo de 95%. Zheng e Yu (2004) relataram decréscimo de 51% na produção específica de hidrogênio quando o valor do pH foi elevado de 5,5 para 6,0, na concentração de SVT de 800mg.L^{-1} .

As baixas atividades observadas nos valores de DQO abaixo de $4.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$ indicaram que a quantidade de matéria orgânica pode ter sido insuficiente para os microrganismos presentes no digestor.

A Figura 03 apresenta as AHE em função dos valores iniciais de DQO em cada pH inicial testado para a concentração de SVT de 2.500mg.L^{-1} .

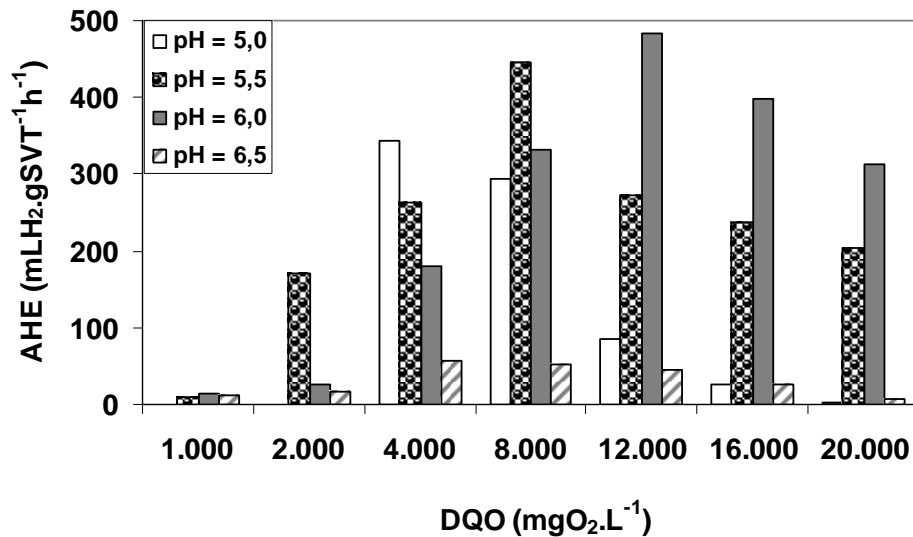


Figura 03 - Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

A partir dos resultados apresentados na Figura 03, verificou-se um aumento na atividade quando os valores do pH inicial foram iguais a 5,5 e 6,0, valores que estão dentro da faixa considerada ideal para o crescimento de microrganismos fermentativos (de 5,0 a 6,0). Fang & Liu (2002) e Cheong & Hansen (2006) avaliaram o efeito do pH inicial na degradação da glicose e constataram que o pH ideal para a degradação da glicose e produção de hidrogênio corresponde a faixa entre 5,5 e 5,7. O teste realizado com o pH inicial ajustado para 6,0 resultou no maior valor da AHE (483mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹) no valor de DQO de 12.000mgO₂.L⁻¹.

A variação da AHE em função do pH inicial tem relação com as comunidades microbianas presentes nos digestores as quais, de acordo com os resultados obtidos, tiveram sua atividade prejudicada quando o valor do pH inicial foi ajustado para 6,5.

Outro fator determinante na medida da atividade foi a DQO utilizada nos testes, a qual influencia diretamente na taxa de crescimento dos microrganismos. Os microrganismos fermentativos possuem elevada taxa de crescimento específico ($\mu = 2,0d^{-1}$) por isso necessitam de quantidades maiores de matéria orgânica. As baixas atividades observadas nos valores de DQO abaixo de 4.000mgO₂.L⁻¹ indicaram que a quantidade de matéria orgânica pode ter sido insuficiente para prover a demanda energética necessária para o crescimento adequado dos microrganismos presentes no digestor. Já para as DQO acima de 12.000mgO₂.L⁻¹ as AHE

também apresentaram redução. van Ginkel *et al.* (2001) testando diferentes concentrações de matéria orgânica observou um aumento na pressão parcial do hidrogênio nos digestores com o aumento da concentração de matéria orgânica inserida nos mesmos. No estudo citado foi verificado, também, que o aumento da concentração de matéria orgânica causou um decréscimo na eficiência da conversão da mesma em hidrogênio, sugerindo que o excesso pode ter sido convertido em álcoois ao invés de ácidos graxos e hidrogênio.

Na Figura 04 estão os resultados das AHE em função dos valores iniciais de DQO em cada pH inicial testado para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

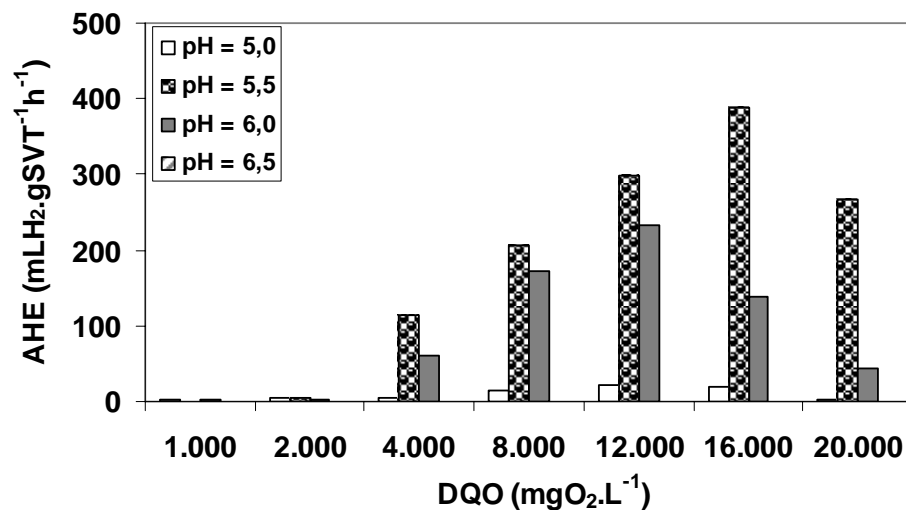


Figura 04 – Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

O aumento na concentração de SVT no digestor provocou alteração na condição ambiental em que foi obtida a maior AHE, em comparação com os testes realizados com a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹. Para o teste com a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹ a atividade máxima (389,5mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹) foi verificada quando o pH inicial foi ajustado para 5,5 e a DQO foi de 16.000mgO₂.L⁻¹, demonstrando a necessidade de maior quantidade de matéria orgânica para que os microrganismos possam atingir sua atividade máxima.

Neste caso, as baixas atividades foram observadas nos valores de DQO inferiores a 12.000mgO₂.L⁻¹ indicando que essas concentrações estavam abaixo das quantidades requeridas pelos microrganismos produtores de hidrogênio.

Novamente os testes resultaram em baixas AHE para os valores de pH de 5,0 e 6,5, os quais apresentaram AHE máximas de 21 e 26mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, respectivamente, no valor de DQO de 12.000mgO₂.L⁻¹.

A Figura 05 apresenta os resultados das AHE em função dos valores iniciais de DQO e pH testado para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

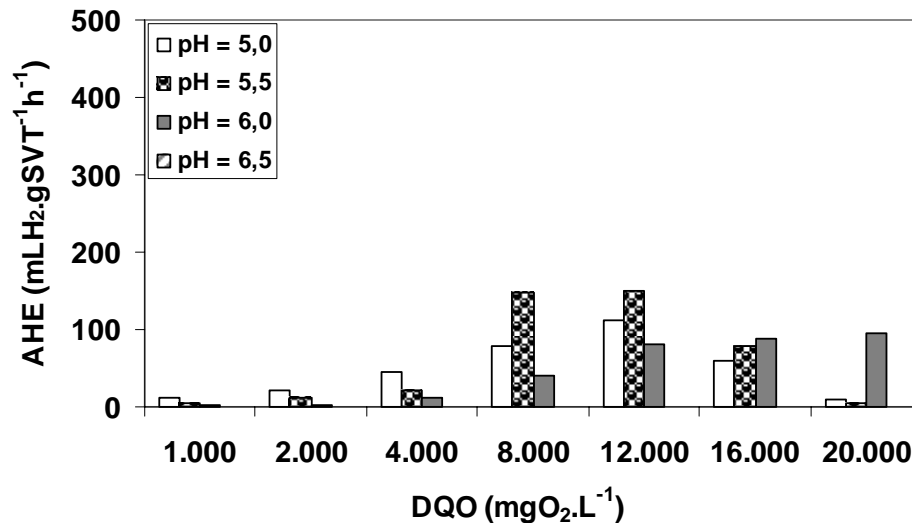


Figura 05 – Valores da AHE em função de diferentes valores iniciais de DQO e pH para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

O aumento na concentração de SVT nos digestores reduziu a AHE para valores abaixo de 150mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹. A maior AHE (150mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹) foi medida quando o pH dos digestores foi ajustado para 5,5 e o valor da DQO inicial foi de 12.000mgO₂.L⁻¹. Para a mesma DQO, porém com o pH inicial ajustado para 6,5 verificou-se um decréscimo de 99,8% na AHE.

Para os valores de pH inicial de 5,0 e 5,5 verificou-se que a DQO abaixo de 12.000mgO₂.L⁻¹ foi um fator limitante para a medida da atividade devido a pouca quantidade de matéria orgânica disponível, em relação a quantidade de microrganismos presentes no digestor. Os valores de DQO acima de 12.000mgO₂.L⁻¹ também provocaram redução da AHE.

O teste realizado com pH inicial de 6,0 apresentou maior atividade no valor de DQO mais elevado, indicando que as comunidades microbianas ativas nesse valor de pH não foram influenciadas com o aumento da DQO.

Os resultados obtidos em todas as condições testadas mostraram a influência do pH sobre a atividade hidrogênica. Valores inferiores a 5,5 ou superiores a 6,0 inibiram a ação dos microrganismos produtores de hidrogênio. Os resultados obtidos neste estudo sobre o efeito do pH na produção de hidrogênio estão de acordo com os resultados relatados por Mu *et al.* (2009), nos quais o pH foi identificado como o parâmetro mais importante no processo de produção de hidrogênio a partir da glicose.

A concentração insuficiente de matéria orgânica foi uma das causas das baixas atividades medidas nos valores de DQO abaixo de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Alguns modelos cinéticos descrevem o efeito da concentração do substrato sobre o crescimento dos microrganismos produtores de hidrogênio e sobre a produção de hidrogênio, entre eles está o modelo clássico de Monod, o qual estabelece que a taxa de reação aumenta com o aumento da concentração da matéria orgânica até alcançar um valor máximo. Também propõe que em baixas concentrações de matéria orgânica a taxa de reação é proporcional a concentração da mesma, enquanto que em altas concentrações de matéria orgânica a taxa torna-se independente da concentração da mesma (Wang & Wan, 2009).

Os resultados obtidos nesse estudo também demonstraram que as altas DQO prejudicaram a atividade dos microrganismos. van Ginkel *et al.* (2001), relata que altas concentrações de matéria orgânica diminuem a conversão da matéria orgânica em hidrogênio devido à queda brusca no valor do pH do meio e à produção de ácidos em quantidades elevadas.

Para concentrações de SVT acima de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ constatou-se uma redução na atividade hidrogênica. De acordo com Monteggia (1997) e Tsygankov (2007), o uso de quantidade excessiva de lodo pode causar decréscimo na atividade máxima, devido a limitações na transferência de massa do substrato para os microrganismos. Além disso, essa limitação pode aumentar pelo fato dos microrganismos fermentativos possuírem elevada velocidade de multiplicação (horas ao invés de dias) o que provoca um aumento na concentração de SVT presente no digestor num curto período de tempo.

3.2. Volume de hidrogênio produzido no teste de AHE

Os volumes de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica adicionada, em base DQO, para cada valor de pH testado na concentração de SVT de $1.250\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estão mostrados na Figura 06.

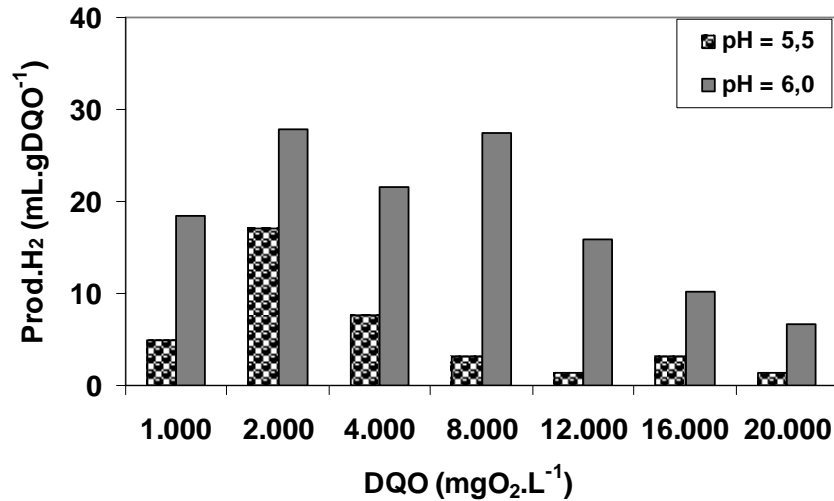


Figura 06 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 1.250mg. L⁻¹.

O maior volume de hidrogênio produzido por unidade de matéria orgânica (28mL.gDQO⁻¹) foi observada quando o pH inicial dos testes foi ajustado para 6,0 e a DQO adicionada no digestor foi de 2.000mgO₂.L⁻¹. Para o mesmo valor de DQO, porém com o pH inicial igual a 5,5 verificou-se um decréscimo de 39% na produção de hidrogênio, indicando a influencia do valor do pH no processo.

A baixa concentração de microrganismos nos digestores fez com que os maiores volumes de hidrogênio fossem obtidos nos valores de DQO mais baixos. Na DQO acima de 4.000mgO₂.L⁻¹, a produção de hidrogênio foi inibida pelo excesso de matéria orgânica nos digestores.

A Figura 07 apresenta os volumes de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada, na concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹, para cada valor de pH testado.

A maior produção volumétrica (31mL.gDQO⁻¹) foi observada quando o valor do pH foi ajustado para 5,5 e a DQO inicial foi de 4.000mgO₂.L⁻¹.

O valor da DQO também influenciou na produção volumétrica de hidrogênio apresentando-se como fator limitante em baixas concentrações e como inibidor em altas concentrações. Para a DQO acima de 4.000mgO₂.L⁻¹ verificou-se o decréscimo na produção hidrogênio por grama de matéria orgânica adicionada, que pode estar relacionado ao desvio da

rota metabólica de conversão da mesma. Conforme van Ginkel *et al.* (2001), o excesso de matéria orgânica pode provocar o aumento na pressão parcial do hidrogênio no *head space* do digestor, provocando o desvio da rota metabólica na direção da formação de álcoois ao invés da formação do hidrogênio.

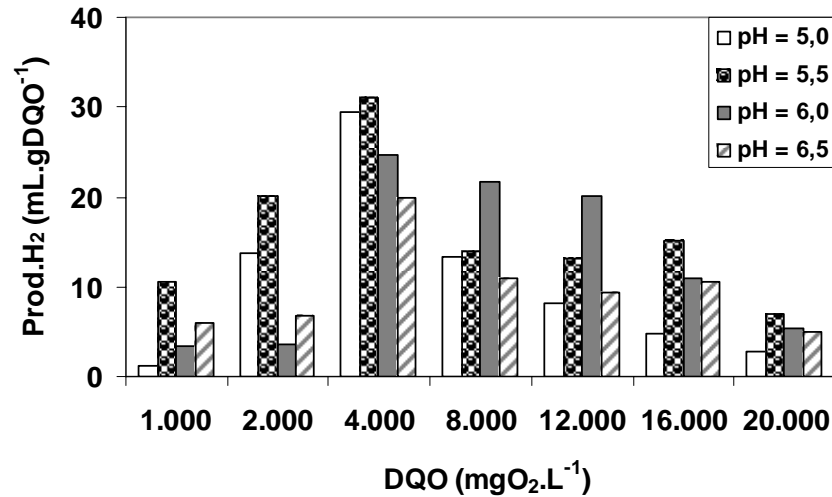


Figura 07 – Volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

Na Figura 08 estão mostrados os volumes de hidrogênio produzidos em função das DQO adicionadas nos digestores para cada pH testado.

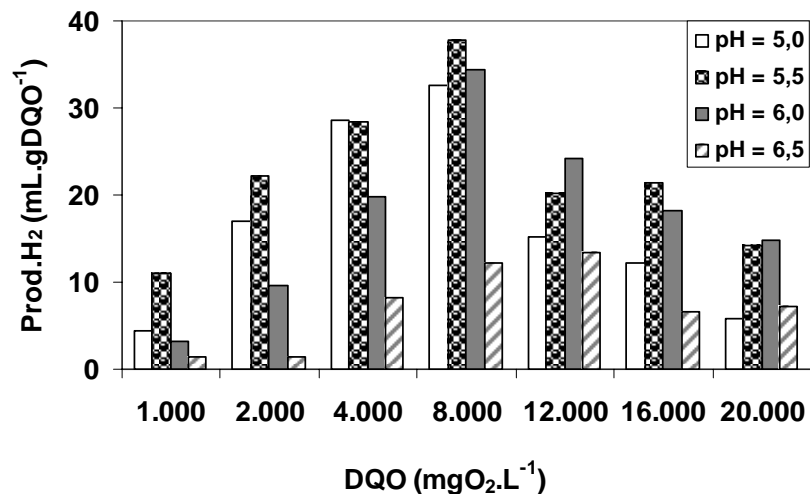


Figura 08 – Volume de hidrogênio produzido em função DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

Verificou-se nessa condição o maior volume de hidrogênio produzido dentre todos os valores de SVT testados, o qual foi de 38mL.gDQO^{-1} quando as condições iniciais do digestor foram: pH igual a 5,5 e DQO de $8.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$.

Novamente observou-se a influência do pH inicial na produção volumétrica de hidrogênio. Comparando o resultado obtido na condição em que ocorreu a produção máxima com o resultado obtido para o mesmo valor de DQO, porém com pH inicial ajustado para 6,5, verificou-se uma redução de 68% na produção volumétrica com o aumento de 1 unidade de pH.

Na faixa de DQO entre 1.000 e $8.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$ ocorreu o aumento gradual no volume de hidrogênio produzido acompanhando o aumento da concentração da matéria orgânica até alcançar o valor máximo no valor de DQO de $8.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$. Nos valores maiores que $8.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$ o volume de hidrogênio produzido em relação a DQO adicionada decaiu.

Os resultados do volume de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada, em cada condição de pH estudada e na concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} estão apresentados na Figura 09.

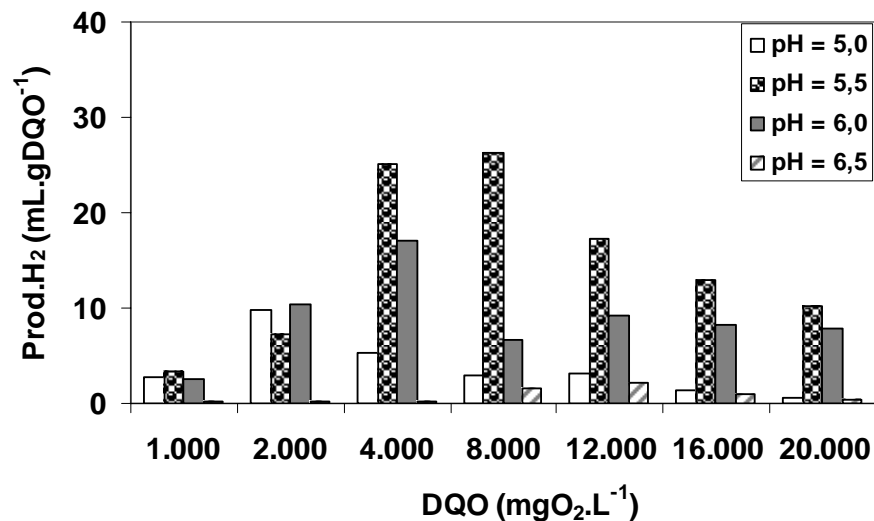


Figura 09 – Volume de hidrogênio produzido em função DQO adicionada nos valores de pH testados para a concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} .

O maior volume de hidrogênio produzido foi observado para a concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} foi de 26mL.gDQO^{-1} quando as condições iniciais do digestor foram: pH igual a 5,5 e DQO igual a $8.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$.

Baixos volumes de hidrogênio foram verificados quando os valores do pH utilizados foram de 5,0 e 6,5. Nesse caso, os maiores volumes de hidrogênio ocorreram quando o pH dos digestores foi ajustado para 5,5.

Novamente observa-se o decréscimo no volume de hidrogênio produzido com o aumento na DQO. O excesso de matéria orgânica prejudicou a transferência de massa do substrato orgânico para os microrganismos.

Os efeitos do pH inicial sobre a atividade dos microrganismos e sobre a produção volumétrica de hidrogênio indicaram que valores de pH abaixo de 5,5 e acima de 6,0 apresentaram forte influência sobre os resultados obtidos. De acordo com Wang e Wan (2009), esse comportamento pode ser explicado utilizando o modelo cinético de Andrew que descreve a influência da concentração de íons hidrogênio (H^+) sobre a sua produção específica. Conforme o modelo citado, nas baixas concentrações de íons H^+ e, por consequência, em altos valores de pH, a produção de hidrogênio apresenta tendência a zero. Enquanto que nas altas concentrações de íons H^+ , e consequentemente em baixos valores de pH, a produção de hidrogênio decresce até atingir o nível em que ocorre a estabilização.

Além disso, mudanças na atividade da enzima hidrogenase, responsável pela reação de produção de hidrogênio, dependem do pH, sendo que a atividade máxima da enzima ocorre quando o valor do pH permanece entre 5,5 e 6,0. Estudos realizados por Tsygankov *et al.* (2007) mostraram que em situações cujo valor do pH foi ajustado para valores abaixo de 5,5 as enzimas apresentaram atividade instável.

Em todas as condições estudadas observou-se que o volume de hidrogênio produzido foi influenciado pela DQO inserida nos digestores. A influência da concentração de matéria orgânica sobre a produção de hidrogênio segue o modelo cinético de Monod, o qual sugere que em baixas concentrações de matéria orgânica a taxa de conversão da mesma em hidrogênio é proporcional a sua concentração, enquanto que em altas concentrações de matéria orgânica a taxa de conversão é independente da concentração da mesma (Wang e Wan, 2009).

O excesso de lodo dentro dos digestores prejudicou a produção de hidrogênio, devido a limitações na transferência do substrato orgânico para os microrganismos.

3.3. Concentração de AGV no *mixed liquor* antes da adição do substrato orgânico

Na Tabela 02 estão apresentadas as concentrações de AGVs do *mixed liquor* antes da adição do substrato orgânico, para cada concentração de SVT utilizada nos testes.

Tabela 02 – Concentrações de AGV antes da adição do substrato orgânico, para cada concentração de SVT utilizada.

SVT (mg.L ⁻¹)	AGV (mg.L ⁻¹)		
	Ác. acético	Ác. propiônico	Ac. butírico
1.250	76,1	82,0	85,2
2.500	257,2	90,1	57,0
5.000	419,7	117,3	56,9
7.500	1.056,8	360,0	87

3.4. Teor dos AGV obtidos nos testes com concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹

Na Tabela 03 estão mostradas as concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico determinadas ao final dos testes com glicose para cada valor de DQO e de pH estudados.

Tabela 03 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

pH	AGV (mg.L ⁻¹)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)						
		1.000	2.000	4.000	8.000	12.000	16.000	20.000
5,5	Ac. Acético	721,9	412,3	3.433,7	1.297,7	2.235,8	1.102,7	3.654,5
	Ac. Propiônico	82,9	73,7	91,7	38,0	107,6	59,1	151,1
	Ac. Butírico	154,3	427,5	5.627,1	2.218,0	2.813,3	1.934,5	4.791,0
6,0	Ac. Acético	2.428,0	2.320,7	1.830,0	2.461,7	893,7	3.306,5	3.990,7
	Ac. Propiônico	98,1	121,5	83,9	149,5	88,1	26,9	221,4
	Ac. Butírico	537,7	1.150,5	1.457,1	3.885,8	1.015,4	2.942,2	6.807,5

O aumento no valor da DQO e o valor do pH não demonstraram influência sobre a concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico analisada, uma vez que os teores desses compostos indicaram uma produção aleatória, sem relação com as variáveis estudadas.

A distribuição percentual mássica dos AGV em função da DQO para cada valor de pH estudado, na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹ está mostrada na Figura 10.

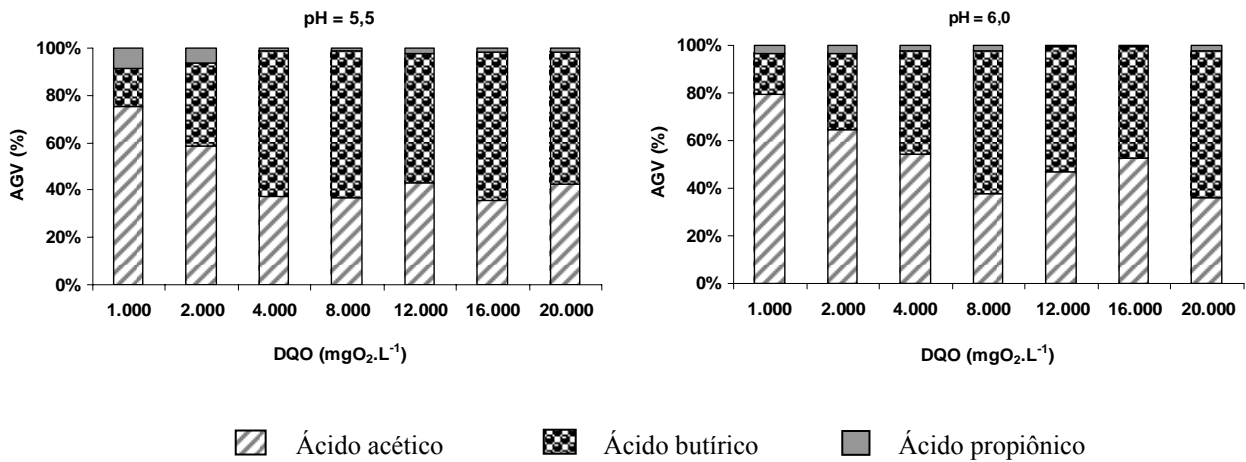


Figura 10 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

Nos testes realizados com o valor do pH ajustado para 5,5, foi observado que o percentual de ácido acético decresceu com o aumento da DQO, enquanto que o percentual de ácido butírico apresentou comportamento inverso, sendo o AGV predominante nas amostras com valores de DQO acima de 4.000mgO₂.L⁻¹.

Nas amostras em que o valor do pH foi ajustado para 6,0, verificou-se decréscimo nos percentuais de ácido acético até a DQO de 8.000mgO₂.L⁻¹, e conseqüente aumento na porcentagem de ácido butírico. Acima dessa concentração foi observada uma oscilação nos valores percentuais de ambos os ácidos.

3.5. Teor dos AGV obtidos nos testes com concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹

A Tabela 04 apresenta as concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico determinadas ao final dos testes com glicose para cada valor de DQO e de pH estudados.

Verificou-se oscilação nas concentrações dos AGV com o aumento no valor da DQO, não sendo verificada uma tendência a produção dos mesmos com o acréscimo de matéria orgânica nos digestores.

Tabela 04 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

pH	AGV (mg.L ⁻¹)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)						
		1.000	2.000	4.000	8.000	12.000	16.000	20.000
5,0	Ac. Acético	3.380,2	656,2	1.858,2	4.740,4	3.585,5	2.959,5	3.257,2
	Ac. Propiônico	348,4	79,3	87,5	26,9	226,0	170,0	215,8
	Ac. Butírico	266,3	911,8	1.446,2	5.217,3	4.421,8	3.232,7	2.856,4
5,5	Ac. Acético	3.722,8	2.391,6	5.014,7	8.500,9	3.200,8	4.934,0	3.271,6
	Ac. Propiônico	499,2	282,2	581,9	820,8	302,8	368,6	320,3
	Ac. Butírico	1.394,4	1.655,0	5.568,5	10.141,7	3.717,7	5.970,9	3.842,6
6,0	Ac. Acético	511,1	763,2	1.869,0	4.702,7	2.740,0	2.467,6	1.018,0
	Ac. Propiônico	3,1	90,4	299,8	516,7	242,2	363,0	171,9
	Ac. Butírico	75,2	392,2	2.569,7	6.747,0	3.599,9	3.667,6	2.726,3
6,5	Ac. Acético	3.001,7	2.549,4	2.644,5	2.274,2	3.510,9	2.774,3	3.363,9
	Ac. Propiônico	406,2	367,9	435,6	312,5	546,9	362,4	332,3
	Ac. Butírico	1.053,5	1.348,5	4.371,4	3.293,2	5.797,5	5.399,7	3.937,2

A Figura 11 apresenta a distribuição percentual mássico dos AGV em função da DQO para os valores de pH estudados, na concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

Em todos os valores de pH testados verificou-se o decréscimo na porcentagem de ácido acético com o aumento da DQO até o valor de 8.000mgO₂.L⁻¹. Nos valores de DQO maiores que 8.000mgO₂.L⁻¹ verificou-se tendência a estabilização no percentual de ácido acético presente nas amostras. Em contrapartida, a formação do ácido butírico foi beneficiada pelo aumento da DQO, resultando num percentual mais alto que o ácido acético quando a DQO utilizada foi acima de 4.000mgO₂.L⁻¹. Acima dessa condição, o percentual de ácido butírico formado também apresentou tendência a estabilização, indicando que tanto a sua formação quanto a formação do ácido acético foram inibidas pelo excesso de matéria orgânica nos digestores. Moosey (1983), relatou que sobrecargas orgânicas provocam o acúmulo de hidrogênio

no digestor fazendo com que os microrganismos acidogênicos alterem a rota metabólica na direção da formação de ácido butírico, em detrimento a formação do ácido acético.

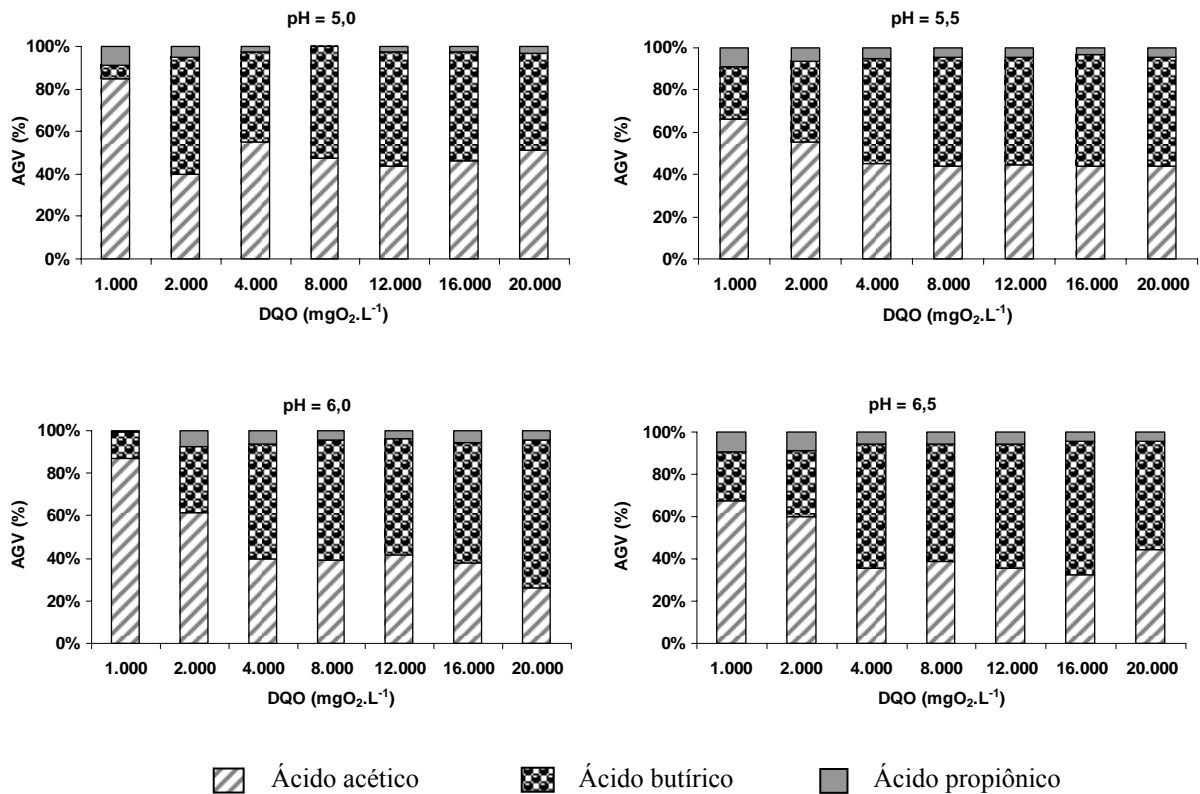


Figura 11 - Distribuição percentual mássico dos AGV em função da DQO e do pH estudados, na concentração de SVT de 2.500mgSVT.L⁻¹.

A porcentagem de ácido propiônico apresentou-se abaixo de 9% nas amostras analisadas, sendo os maiores valores verificados quando o pH inicial dos digestores foi ajustado para 6,5 e na DQO de 1.000mgO₂.L⁻¹.

Não foi verificada influência do ajuste do pH inicial na produção dos AGV analisados, uma vez que não foram observadas mudanças expressivas na concentração dos mesmos com as variações de pH.

3.4. Teor dos AGV obtidos nos testes com concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹

Na Tabela 05 estão as concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico determinadas ao final dos testes com glicose para cada valor de DQO e de pH estudados para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

Tabela 05 – Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

pH	AGV (mg.L ⁻¹)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)						
		1.000	2.000	4.000	8.000	12.000	16.000	20.000
5,0	Ac. Acético	4.010,6	5.257,4	2.093,5	4.226,7	3.308,8	7.289,5	1.356,6
	Ac. Propiônico	701,2	843,9	158,2	346,9	367,9	1.040,2	182,7
	Ac. Butírico	1.388,8	2.407,9	1.083,2	5.083,1	4.199,0	8.178,4	1.544,5
5,5	Ac. Acético	1.522,3	4.672,8	3.016,0	1.010,7	5.806,9	3.053,6	4.022,1
	Ac. Propiônico	149,5	566,8	430,6	414,9	543,6	147,1	289,9
	Ac. Butírico	469,5	2.809,7	2.889,6	998,0	5.745,8	2.530,5	3.760,7
6,0	Ac. Acético	4.021,7	4.025,5	5.975,8	4.505,5	3.962,2	6.641,9	9.321,2
	Ac. Propiônico	62,7	541,0	941,5	501,2	561,9	786,1	1.177,2
	Ac. Butírico	1.467,6	1.408,4	4.386,4	4.548,1	5.229,5	8.443,9	11.658
6,5	Ac. Acético	7.762,5	7.201,6	5.205,2	4.042,4	2.879,6	5.635,0	3.615,4
	Ac. Propiônico	1.011,3	1.141,1	915,0	800,0	686,6	756,7	512,5
	Ac. Butírico	1.405,5	1.210,1	3.467,4	4.856,1	6.244,4	3.400,8	2.739,1

Assim como observado nos testes com as concentrações de SVT de 1.250 e 2.500mg.L⁻¹, não foi constatada tendência entre o aumento da concentração de matéria orgânica nos digestores e a produção de AGV.

A distribuição percentual mássico dos AGV em função dos valores de DQO e pH estudados, na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹ está apresentada na Figura 12.

Nas condições em que o valor do pH inicial foi ajustado para 5,0; 5,5 e 6,0 observou-se a diminuição gradual na porcentagem de ácido acético com o aumento gradual da DQO até o valor de 8.000mgO₂.L⁻¹. Acima desse valor verificou-se que a porcentagem de ácido acético permaneceu estável, mesmo com o aumento da concentração de matéria orgânica nos digestores. Nas mesmas condições de pH, a porcentagem de ácido butírico formado durante a fermentação apresentou aumento gradual até a DQO de 8.000mgO₂.L⁻¹, mantendo-se estável e

com percentuais muito próximos aos do ácido acético nas concentrações posteriores. Esse comportamento pode ser atribuído ao excesso de matéria orgânica no digestor, que compromete a atividade dos microrganismos produtores de ácidos.

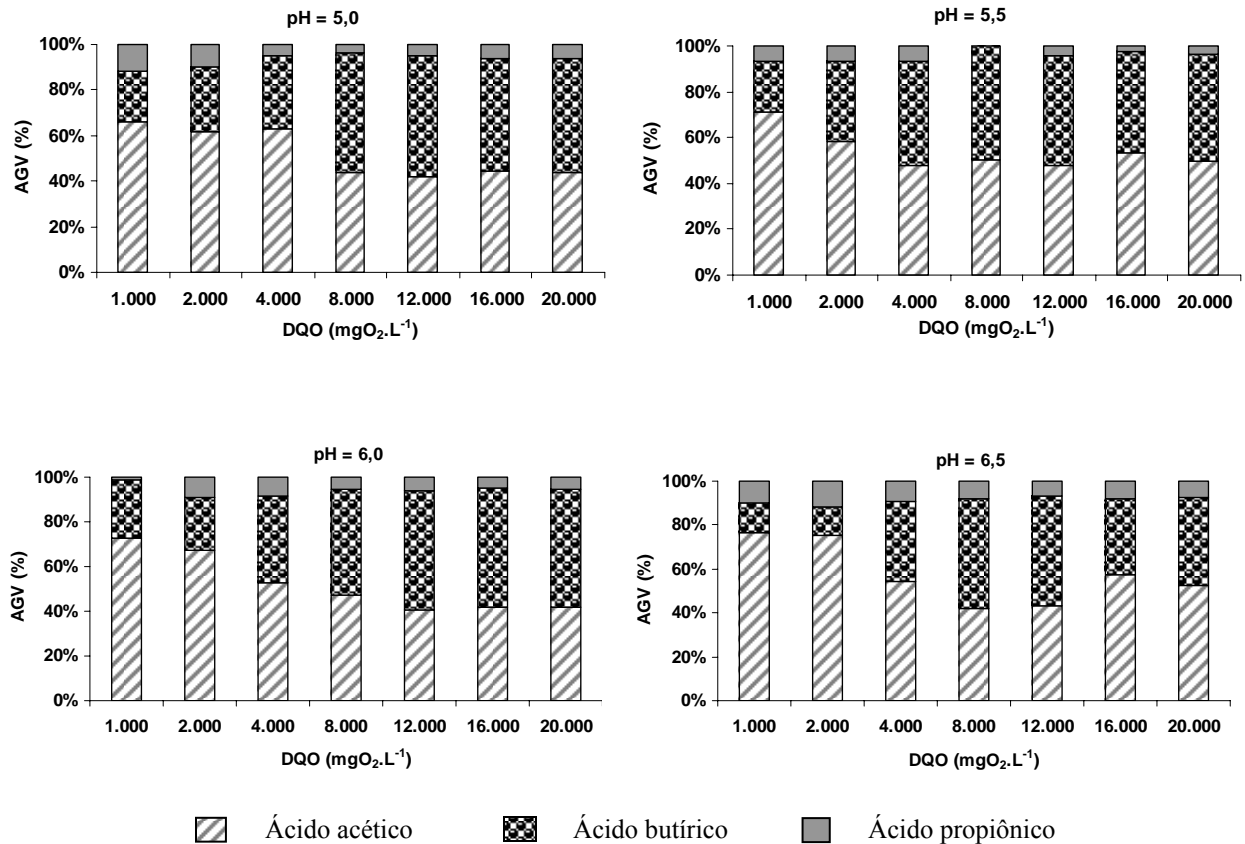


Figura 12 - Distribuição percentual mássico dos AGV em função da DQO e do pH estudados, na concentração de SVT de 5.000 mgSVT.L⁻¹.

Os resultados obtidos nos testes realizados com o pH inicial do digestor ajustado pra 6,5 demonstraram decréscimo gradual no percentual de ácido acético formado até o valor de DQO de 8.000mgO₂.L⁻¹, apresentando oscilação nas concentrações posteriores. Nesta condição, observou-se maior produção de ácido acético do que de ácido butírico ao final do período. Estudos realizados por Horiuchi *et al.*, (2002) com reatores acidogênicos alimentados com glicose, verificaram que quando o pH do reator foi ajustado para valores acima de 6,0, houve a predominância da produção de ácido acético sobre a produção de ácido butírico, indicando que o pH provocou mudanças nos microrganismos dominantes dentro do digestor.

Verificou-se que o acréscimo na concentração de SVT provocou um aumento no percentual de ácido propiônico, cujo valor máximo apresentou-se em 12 % nas amostras analisadas, sendo o maior valor verificado quando o pH inicial dos digestores foi ajustado para 6,5.

3.5. Teor dos AGV obtidos nos testes com concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹

A concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico determinadas ao final dos testes com glicose para cada valor de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹ estão na Tabela 06.

Tabela 06 - Concentração dos AGV para os valores iniciais de DQO e de pH estudados na concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

pH	AGV (mg.L ⁻¹)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)						
		1.000	2.000	4.000	8.000	12.000	16.000	20.000
5,0	Ac. Acético	5.143,1	3.918,1	4.691,7	6.008,9	3.013,8	4.142,4	5.297,1
	Ac. Propiônico	495,4	1.437,1	497,0	180,4	358,3	403,6	1.065,7
	Ac. Butírico	745,8	1.723,5	3.587,4	2.781,1	4.779,9	227,9	4.157,6
5,5	Ac. Acético	1.906,5	2.029,9	2.827,2	4.399,6	4.313,2	3.745,5	1.387,1
	Ac. Propiônico	156,7	107,0	539,2	920,2	533,9	403,7	355,9
	Ac. Butírico	484,7	721,5	2.554,4	5.704,0	5.261,6	4.455,2	1.282,8
6,0	Ac. Acético	1.516,4	3.366,0	8.200,8	4.687,6	5.130,5	9.125,9	13.122
	Ac. Propiônico	43,1	57,4	1.712,2	384,8	762,7	1.415,1	2.067,3
	Ac. Butírico	429,8	650,5	4.868,9	1.711,9	3.416,0	6.325,0	9.232,4
6,5	Ac. Acético	3.581,9	11.527,7	9.276,6	7.546,6	6.377,5	10.342	7.772,6
	Ac. Propiônico	323,5	1.846,4	1.374,4	1.183,0	637,7	1.179,7	1.026,9
	Ac. Butírico	589,0	2.306,8	3.381,2	6.135,1	2.899,6	3.581,8	3.080,9

Novamente foi observada oscilação na produção dos AGV com o aumento da DQO para cada valor de pH estudado. Os resultados obtidos em todas as concentrações de SVT estudadas indicaram que a produção dos ácidos analisados ocorre, provavelmente, de maneira aleatória, não sofrendo influência da concentração de matéria orgânica utilizada e do valor do pH inicial.

A Figura 13 mostra a distribuição percentual mássica dos AGVs em função das CMOs para os valores de pH estudados, na concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} .

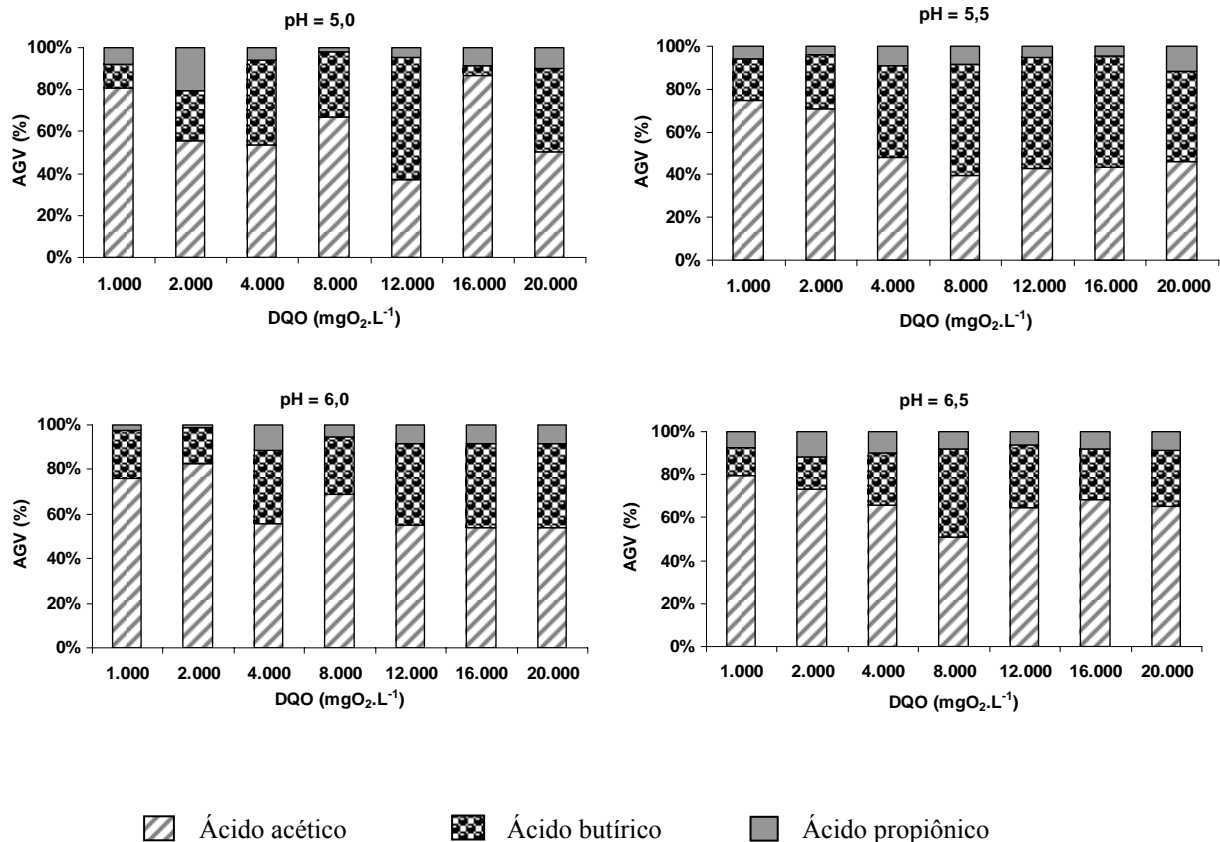


Figura 13 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função da DQO e do pH estudados, na concentração de SVT de 7.500mgSVT.L^{-1} .

Nos testes realizados com o valor do pH dos digestores ajustado para 5,0 observou-se oscilações nas porcentagens dos AGVs em função da DQO, sendo esse comportamento atribuído ao excesso de lodo utilizado que causou limitações na transferência de massa do substrato para os microrganismos.

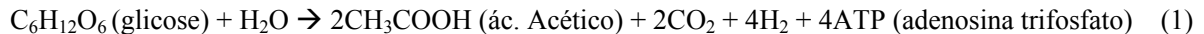
Para os valores de pH iguais a 5,5; 6,0 e 6,5 o aumento no valor da DQO provocou o decréscimo nos percentuais de ácido acético, sendo que os mesmos resultaram em valores constantes para as DQO acima de $12.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$.

Verificou-se que o ácido acético foi o AGV predominante nos testes realizados com pH ajustado para 5,0; 6,0 e 6,5, para os testes realizados com o pH inicial de 5,5 o ácido butírico apresentou-se em maior porcentagem.

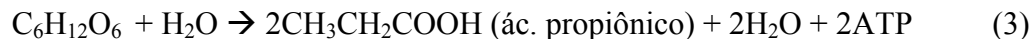
A elevada concentração de SVT pode ter provocado o aumento na quantidade de microrganismos responsáveis pela produção de ácido propiônico dentro do digestor, favorecendo a produção do mesmo que resultou num percentual máximo de 20 % nas amostras analisadas.

As maiores concentrações de ácido acético foram obtidas quando o valor do pH dos digestores foi ajustado para 6,5. Para o ácido butírico e o ácido propiônico, as maiores concentrações foram observadas quando o valor do pH inicial foi de 6,0. Valores semelhantes aos encontrados por Horiuchi *et al.* (2002) que observaram que o reator acidogênico, alimentado com glicose, produziu maior quantidade de ácido butírico quando o valor do seu pH foi ajustado para 6,0 e quando o valor do pH foi ajustado para valores acima de 6,0 os autores verificaram a predominância do ácido acético dentro do reator.

As maiores porcentagens de ácido acético foram verificadas em baixos valores de DQO. Conforme descrito por Mosey (1983), esse comportamento é um indicativo de que a limitação da quantidade de matéria orgânica disponível fez com que os microrganismos acidogênicos convertessem a mesma em ácido acético, uma vez que nesse processo há maior rendimento energético para o crescimento e multiplicação celular, conforme mostrado na equação (1):



Ainda de acordo com Mosey (1983), o aumento na DQO provoca sobrecarga orgânica e conseqüente desvio na rota metabólica, fazendo com que a glicose seja transformada em ácido butírico e ácido propiônico de acordo com as equações (2) e (3):



A concentração de SVT influenciou nos AGV formados durante a fermentação da glicose. Para as concentrações de SVT de 1.250, 2.500 e 5.000mg.L⁻¹ o ácido predominante nas amostras foi o ácido butírico, o qual foi produzido em maior quantidade na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹, enquanto que na concentração de 7.500mgSVT.L⁻¹ o ácido predominante nas amostras foi o ácido acético. Além disso, na concentração mais alta de SVT o percentual de ácido propiônico nas amostras foi maior que nas demais concentrações de SVT testados.

O excesso de microrganismos acidogênicos nos digestores e sua elevada taxa de multiplicação necessitavam de quantidades mais altas de matéria orgânica que as utilizadas nos testes, o que provocou o desvio na rota metabólica de produção de AGV na direção da produção de ácido acético, conforme mostrado pela equação (1).

De acordo com estudos realizados por Mu *et al.* (2007) o lodo tratado termicamente caracteriza-se, principalmente, por possuir microrganismos produtores dos ácidos acético e butírico. Esse comportamento foi observado neste trabalho, uma vez que em todas as concentrações de SVT testadas os AGV produzidos em maior quantidade foram os ácidos acético e butírico. A presença desses ácidos é considerada benéfica, pois na sua formação ocorre a produção de hidrogênio, conforme mostrado nas equações (1) e (2).

3.6. Variação do pH do *mixed liquor* ao final do teste

Os valores do pH final do *mixed liquor* em função do valor da DQO, na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹ estão relatados na Figura 14.

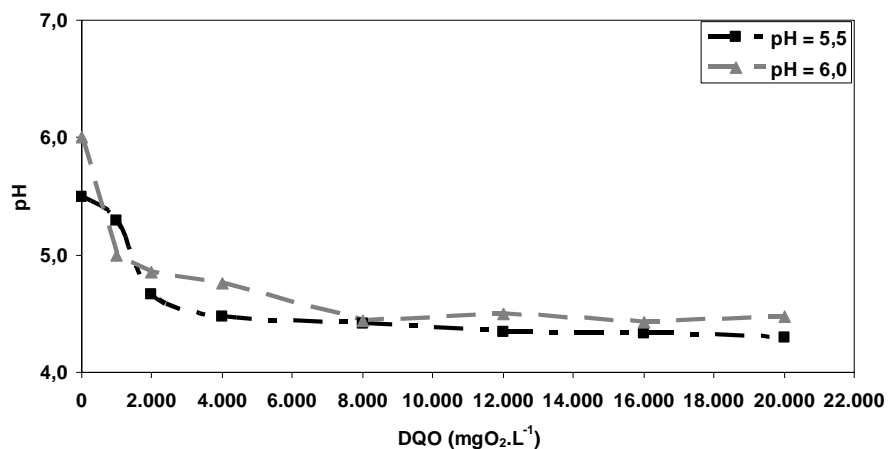


Figura 14 - Valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

Nos valores de DQO compreendidos entre 1.000 e 8.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ verificou-se um decréscimo gradual no valor do pH final de até 1 unidade, em relação ao valor inicial. O valor do pH final mostrou variação de 0,1 unidades para a faixa de DQO compreendida entre 8.000 e 20.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, mantendo-se estável mesmo com o aumento da DQO em todos os valores de pH estudados.

A Figura 15 apresenta os valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO para a concentração de SVT de 2.500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

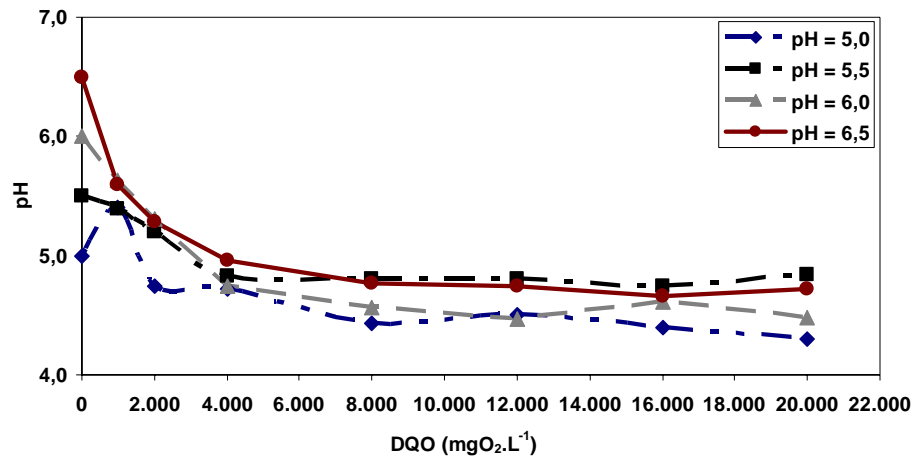


Figura 15 - Valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 2.500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Em todos os valores de pH estudados verificou-se que o valor do pH final do *mixed liquor*, para os valores de DQO acima de 8.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, apresentou tendência à estabilidade mesmo com o aumento da concentração da mesma. A variação no valor do pH final para a faixa de DQO entre 8.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e 20.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ foi de $\pm 0,1$ unidade, a qual foi observada em todos os valores de pH testados. Para as DQO menores que 4.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, ocorreu o decréscimo gradual no valor do pH final com o aumento da concentração da mesma.

Na Figura 16 estão apresentados os valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 5.000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

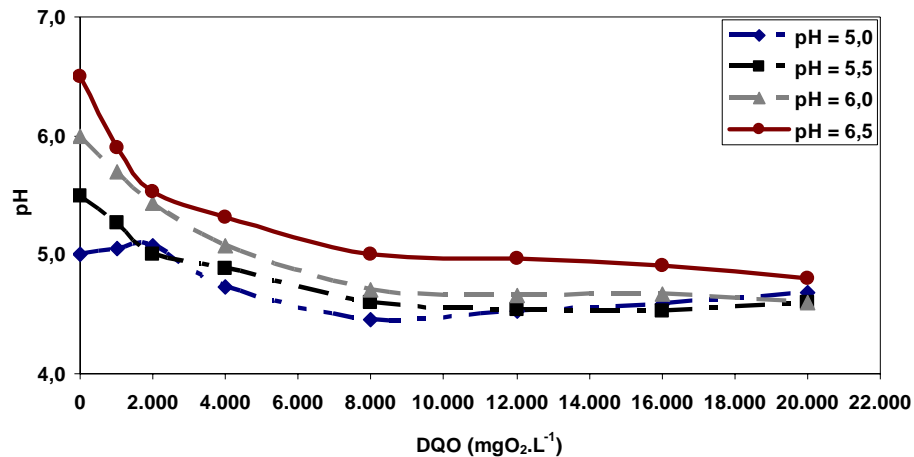


Figura 16 - Valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

Novamente foi observado que para a DQO compreendida entre 1.000 e 8.000mgO₂.L⁻¹ ocorreu o decréscimo gradual no valor do pH final de até 1 unidade, em relação ao valor inicial. O valor do pH final apresentou variação de 0,2 unidades para a faixa de DQO entre 8.000 e 20.000mgO₂.L⁻¹, mantendo-se estável mesmo com o aumento da mesma. Esse comportamento foi observado em todos os valores de pH testados.

Os valores do pH final do *mixed liquor* para cada valor de DQO testado, na concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹ estão mostrados na Figura 17.

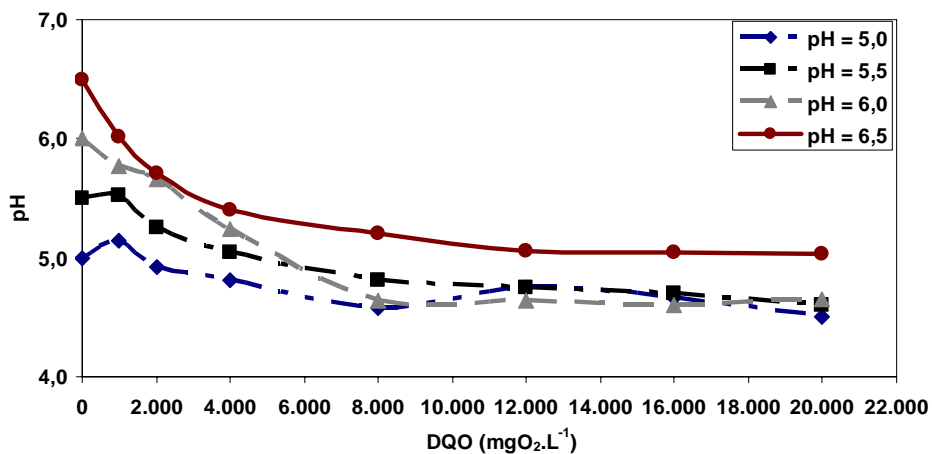


Figura 17 - Valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO inicial, para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

Como ocorrido nas demais concentrações de SVT testadas verificou-se o decréscimo no valor do pH final do *mixed liquor* na faixa de DQO entre 1.000 e 8.000mgO₂.L⁻¹ seguida sua pela estabilização nos valores acima de 8.000mgO₂.L⁻¹, para todos os valores de pH testados.

A estabilização do valor do pH final, independente do acréscimo na DQO, indicou que o excesso de matéria orgânica nos digestores causou saturação no meio, prejudicando a conversão do substrato orgânico pelos microrganismos. Esse efeito adverso pode ser observado nos resultados dos percentuais dos ácidos acético e butírico determinados nas amostras, os quais, na maior parte dos testes, permaneceram constantes para valores de DQO acima de 8.000mgO₂.L⁻¹.

Não foi verificada influência da concentração de SVT sobre o valor do pH final do *mixed liquor*, indicando que a concentração de matéria orgânica nos digestores foi o parâmetro determinante no decréscimo do mesmo.

3.7. Grau de acidificação

Na Figura 18 estão mostrados os valores do grau de acidificação (G.A.) obtidos em cada condição de pH e DQO estudados, quando foi utilizada a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

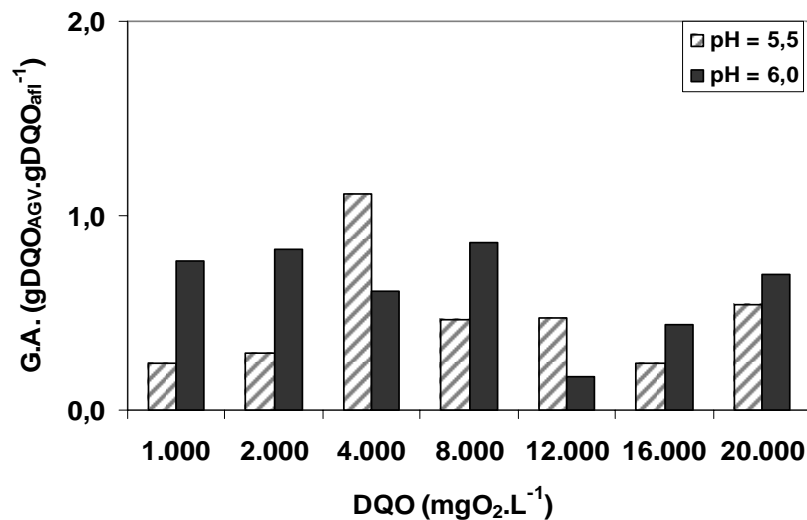


Figura 18 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

Os valores do grau de acidificação foram mais altos quando o valor do pH inicial dos testes foi ajustado para 6,0. O valor máximo ocorreu quando o valor da DQO foi de $8.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, decrescendo nas concentrações mais altas.

No teste realizado com pH ajustado para 5,5 observou-se o maior valor no grau de acidificação quando na DQO de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, o qual decresceu em concentrações acima desse valor, provavelmente devido a inibição da produção de ácidos provocada pelo excesso de matéria orgânica.

Os valores do grau de acidificação em função da DQO inicial para cada valor de pH estudado na concentração de SVT de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estão representados na Figura 19.

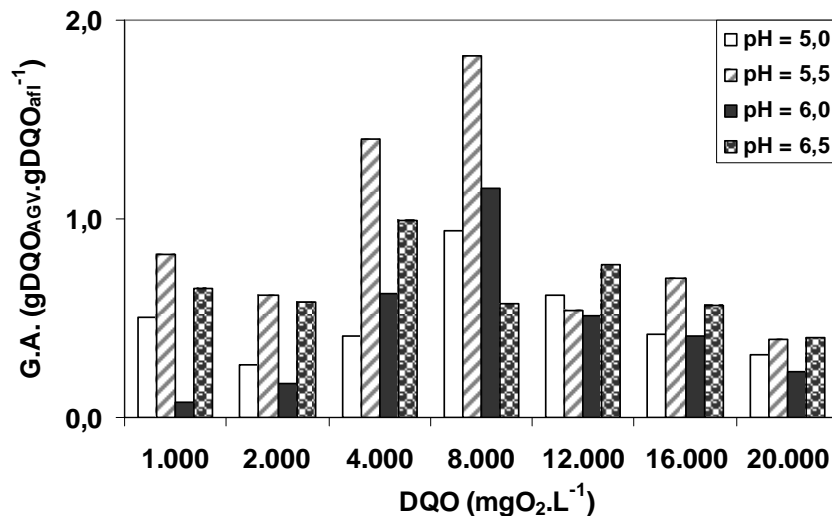


Figura 19 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Para os valores de pH iguais a 5,0; 5,5 e 6,0 o valor do grau de acidificação apresentou crescimento até a DQO de $8.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, onde atingiu seu valor máximo, seguido pelo decréscimo nos valores acima desta concentração. Para o valor de pH igual a 6,5 o grau de acidificação foi mais alto no valor de DQO de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, decrescendo nas concentrações posteriores.

O decréscimo no valor do grau de acidificação observado nas DQO mais elevadas está relacionado ao excesso de matéria orgânica. Estudo realizado por Yu & Fang (2001) sugere que o decréscimo no valor do grau de acidificação com o aumento da concentração de matéria

orgânica ocorre devido a mudança na rota metabólica dos microrganismos, que em altos valores de DQO passam a produzir álcoois ao invés de AGV e hidrogênio.

A Figura 20 apresenta os valores do grau de acidificação em função da DQO para cada valor de pH estudado na concentração de SVT de 5.000mg.L^{-1} .

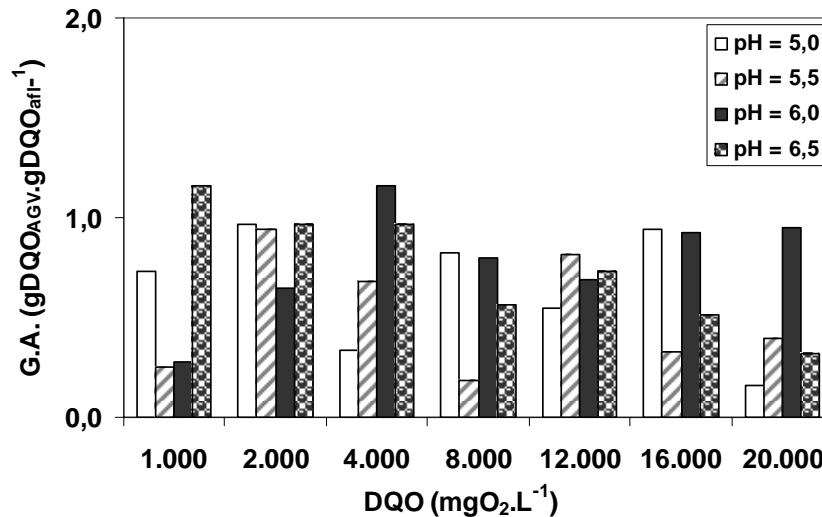


Figura 20 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de 5.000mg.L^{-1} .

Verificou-se oscilação nos valores do grau de acidificação com o aumento da DQO quando os valores iniciais de pH foram ajustados para 5,0 e 5,5, indicando que para a concentração de SVT de 5.000mg.L^{-1} esse valores de pH causaram instabilidade nas rotas metabólicas de conversão da matéria orgânica em ácidos.

Nos valores de pH iguais a 6,0 e 6,5 foi observada, respectivamente, tendência a estabilização e ao decréscimo do grau de acidificação nos valores de DQO acima de $4.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$, devido ao excesso de matéria orgânica nos digestores.

Na Figura 21 estão os valores dos graus de acidificação em função da DQO inicial para cada valor de pH estudado na concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} .

Os maiores valores do grau de acidificação, na concentração de SVT de 7.500mg.L^{-1} , foram obtidos quando o valor do pH inicial dos testes foi ajustado para 6,5.

Nos valores de pH de 5,0; 5,5 e 6,5 verificou-se o decréscimo no valor do grau de acidificação para a DQO acima de $4.000\text{mgO}_2\text{.L}^{-1}$, novamente indicando que altas concentrações de matéria orgânica prejudicaram a acidificação dos digestores. Para o valor de pH igual a 6,0 foi

observado o acréscimo no valor do grau de acidificação até o valor de DQO de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, seguido pelo decréscimo na DQO de $8.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, acima dessa concentração o valor do grau de acidificação mostrou-se novamente crescente.

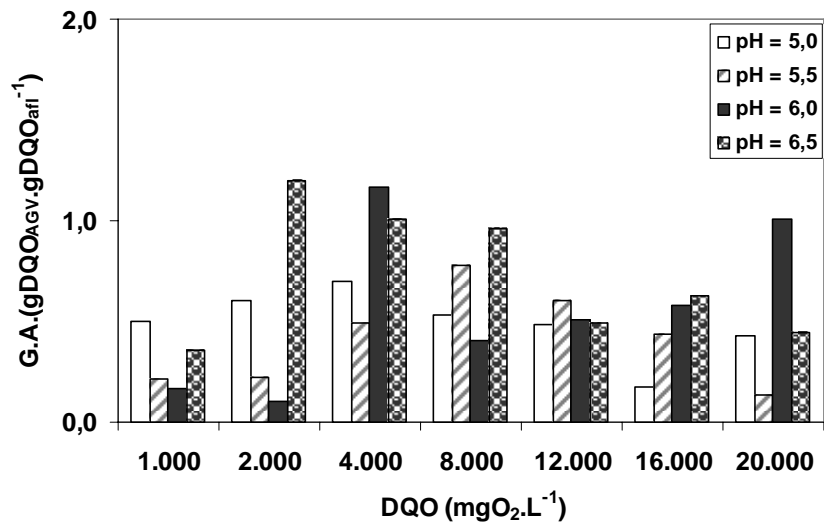


Figura 21 – Grau de acidificação em função da DQO inicial para a concentração de SVT de $7.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Os decréscimos observados nos valores do grau de acidificação com o aumento da DQO podem ter ocorrido devido ao excesso de matéria orgânica que, por causa de limitações na transferência de massa do substrato para os microrganismos, reduziu a produção de AGV e hidrogênio.

Foram observados valores do grau de acidificação acima de 1,0, indicando que a produção de AGV foi maior que a quantidade de matéria orgânica adicionada nos digestores. Essa discrepância nos valores pode ser um indício de que ocorreu interferência da matéria orgânica liberada do interior das células dos microrganismos devido a autoclavagem do lodo, que pode ter sido transformada em ácidos durante o processo fermentativo.

Dentre os valores de pH testados, os valores de 6,0 e 6,5 apresentaram maiores graus de acidificação. Borja *et al.* (2005) obtiveram resultados semelhantes em testes utilizando efluente rico em carboidratos.

4. Conclusões

A metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica, mostrou-se eficiente para medir a capacidade de produção de hidrogênio de um lodo, a partir de um substrato orgânico solúvel, de fácil degradação.

O tratamento térmico do lodo utilizando a autoclavagem por 30 minutos eliminou os microrganismos metanogênicos, uma vez que não houve produção de metano em nenhuma das condições testadas. Porém, a autoclavagem provocou o rompimento da membrana celular dos microrganismos do lodo causando a liberação do material contido em seu interior para o meio reacional, prejudicando a sedimentação ao final do teste.

O valor do pH inicial foi um fator determinante na conversão do substrato orgânico em hidrogênio. Os resultados desse estudo demonstraram que a maior atividade hidrogênica e a maior produção volumétrica ocorreram quando o pH inicial permaneceu na faixa entre 5,5 e 6,0. A formação dos AGV também foi influenciada pelo valor do pH provavelmente devido a mudanças nas rotas metabólicas, as quais produziram ácido acético em maior quantidade quando o valor do pH inicial foi ajustado para 6,5 e ácido butírico em quantidade superior para os demais valores de pH estudados.

Os valores de DQO abaixo de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ limitaram a atividade dos microrganismos e a produção volumétrica de hidrogênio, porém favoreceram a produção de ácido acético, enquanto que os valores acima de $12.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ provocaram inibição da atividade dos microrganismos e da produção volumétrica de hidrogênio além de favorecerem a produção de ácido butírico.

As altas concentrações de SVT inseridas nos digestores prejudicaram a atividade hidrogênica e a produção de hidrogênio, devido a elevada taxa de multiplicação dos microrganismos fermentativos ($\mu = 2,0\text{d}^{-1}$), o que provocou um aumento na concentração de SVT no digestor e inibiu o processo. Além disso, o excesso de microrganismos provocou desvio da rota metabólica na direção da produção de ácido acético, uma vez que havia pouca quantidade de matéria orgânica disponível para a alta população microbiana presente nos digestores.

As condições operacionais recomendadas para a realização do teste de AHE são as seguintes: utilização de glicose como substrato orgânico, valor do pH inicial de 6,0, DQO igual a $12.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e concentração de SVT de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

O maior volume de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica adicionada foi de 38mL.gDQO⁻¹ observado no pH de 5,5, DQO igual a 8.000mgO₂.L⁻¹ e concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

Valores do grau de acidificação acima de 1,0 ocorreram possivelmente devido a interferência da matéria orgânica dissolvida proveniente do lodo autoclavado, a qual pode ter sido transformada em AGV.

A melhor condição para a produção de ácido acético, o qual é a fonte de carbono preferencial dos microrganismos em processos de remoção biológica de nutrientes, ocorreu quando o valor do pH foi ajustado para 6,5, na concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹ e na DQO de 2.000mgO₂.L⁻¹.

5. Referências bibliográficas

- ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H. N.; SKIADAS, I. V.; LYBERATOS, G. Influence of pH on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**. 35, 1921–1928, 2010.
- AROOJ, M. F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. Sludge characteristics in anaerobic SBR system producing hydrogen gas. **Water Research**. 41, 1177 – 1184, 2007.
- APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.
- BEAL, L. L.; MONTEGGIA, L. O. Proposta de uma nova metodologia para o cálculo da atividade metanogênica. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, XXV, Recife, Brazil. II 127, 2009.
- BENGTSSON, S.; HALLQUIST, J.; WERKERA, A.; WELANDERA, T. Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. **Biochemical Engineering Journal**. 40, 492–499, 2008.
- BORJA, R.; SANCHEZ, E.; RINCON, B.; RAPOSO, F.; MARTIN, M. A.; MARTIN, A. Study and optimisation of the anaerobic acidogenic fermentation of two-phase olive pomace **Process Biochemistry**. 40, 281–291, 2005.

- CHEONG D. Y.; HANSEN, C. L. Acidogenesis characteristics of natural, mixed anaerobes converting carbohydrate-rich synthetic wastewater to hydrogen. **Process Biochemistry**. 41, 1736–1745, 2006.
- ELEFSINIOTIS, P.; WAREHAM, D.G. Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction. **Enzyme and Microbial Technology**. 41, 92–97, 2007.
- FANG, H. H. P.; LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource technology**. 82, 87-93, 2002.
- FENG, Y.; WANG, X.; LOGAN, B. E.; LEE, H. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. **Appl Microbiol Biotechnol**. 78, 873–880, 2008.
- GRADY JR., C. P. L.; DAIGGER, T. G.; LIM, H.C. **Biological wastewater treatment. Second edition, revised and expanded**. New York, USA. Ed. Marcel Dekker, 1999. 1076p.
- HAN, S. K.; SHIN, H. S. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 569 – 577, 2004.
- HORIUCHI, J. I.; SHIMIZU, T.; TADA, K.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. **Bioresource Technology**. 82, 209-213, 2002.
- HUSSY, I.; HAWKES, F. R.; DINSDALE, R; HAWKES, D. L. Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet. **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 471 – 483, 2005.
- JAMES, A.; CHERNICHARO, C. A. L.; CAMPOS, C. M. M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Water Research**. 24 (7), 813-825, 1990.
- KHANAL S.K.; CHEN, W. H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 1123 – 1131, 2004.
- KRAEMER, J. T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnol Lett**. 29, 685–695, 2007.
- LAY, J. J.; LEE, Y. J.; NOIKE, T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. **Water Research**. 33 (11), 2579-2586, 1999.

- LIN, C. Y.; CHANG, R. C. Fermentative hydrogen production at ambient temperature. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 715 – 720, 2004.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 285 – 292, 2005.
- LIN, C. Y.; CHENG, C. H. Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 832 – 840, 2006.
- LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicone gel immobilized anaerobic sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 2200-2210, 2006.
- LIU, X.; ZHU, Y.; YANG, S. T. Butyric acid and hydrogen production by *Clostridium tyrobutyricum* ATCC 25755 and mutants. **Enzyme and Microbial Technology**. 38, 521–528, 2006.
- MARTÍNEZ-PÉREZ, N.; CHERRYMAN, S. J.; PREMIER, G. C.; DINSDALE, R. M.; HAWKES, D. L.; HAWKES, F. R.; KYAZZE, G.; GUWY, A. J. The potential for hydrogen-enriched biogas production from crops: Scenarios in the UK. **Biomass and Bioenergy**. 31, 95–104, 2007.
- MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology**. 41, 506-515, 2007.
- MONTEGGIA, L. O. **The Use of Specific Methanogenic Activity for Controlling Anaerobic Reactors**. PhD thesis, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne-UK. 1991.
- MONTEGGIA, L. O. Proposta de metodologia para avaliação do Parâmetro “atividade metanogênica específica”. In: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 754-766, 1997.
- MOOSEY, F. E. Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile fatty acids from glucose. **Water Science and Technology**. 15, 209 – 232, 1983.

- MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A.A.Y.; NGAN, M.A.; FAKHRU'L-RAZI, A.; IYUKE, S.E.; BAKIR, A.M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 709 – 713, 2004.
- MU, Y.; YU, H.Q.; WANG, Y. The role of pH in the fermentative H₂ production from an acidogenic granule-based reactor. **Chemosphere**. 64, 350–358, 2006.
- MU, Y. YU, H. Q.; WANG, G. Evaluation of three methods for enriching H₂ producing cultures from anaerobic sludge. **Enzyme and Microbial Technology**. 40, 947-953, 2007.
- MU, Y.; ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Determining optimum conditions for hydrogen production from glucose by an anaerobic culture using response surface methodology (RSM). **International Journal of Hydrogen Energy**. 34, 7959 – 7963, 2009.
- OH, S. E.; LOGAN, B. E. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Research**. 39, 4673–4682, 2005.
- TSYGANKOV, A. A. Biological generation of hydrogen. **Russian Journal of General Chemistry**. 77 (4), 685-693, 2007.
- TSYGANKOV, A. A.; MINAKOV, E. A.; ZORIN, N. A.; GOSTEVA, K. S.; VORONIN, O. G.; KARYAKIN, A. A. Measuring the pH dependence of hydrogenase activities. **Biochemistry Moscow**. 72 (9), 968-973, 2007.
- UCISIK, A. S.; HENZE, M. Biological hydrolysis and acidification of sludge under anaerobic conditions: The effect of sludge type and origin on the production and composition of volatile fatty acids. **Water Research**. 42, 3729-3738, 2008.
- VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environ. Sci. Technol**. 35, 4726-4730, 2001.
- WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C.P.; LEE, D.J.; CHANG, B.V.; LIAO, C.S. Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*, **J. Biotechnol**. 102, 83–92, 2003.
- WANG, J.; WAN, W. Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**. 34, 3313 – 3323, 2009a.

- WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**. 34, 799–811, 2009b.
- XIAO, B.; LIU, J. Biological hydrogen production from sterilized sewage sludge by anaerobic self-fermentation. **Journal of Hazardous Materials**. 168, 163-167, 2009.
- YOKOI, H.; MORI, S.; HIROSE, J.; HAYASHI, S.; TAKASAKI, Y. H₂ production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter* sp. M-19. **Biotechnology Letters**. 20 (9), 895–899, 1998.
- YU, H. Q.; FANG, H. H. P. Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters. **Water Research**. 35 (15), 3697–3705, 2001.
- YU, H.Q.; FANG, H.H.P. Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. **Water Science and Technology**. 45, 201–206, 2002.
- YU, H. Q.; FANG, H. H. P. Acidogenic of gelatine-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. **Water Research**. 37 (1), 55–66, 2003.
- ZHANG, C.; YANG, H.; YANG, F.; MA, Y. Current progress on butyric acid production by fermentation. **Curr Microbiol**. 59, 656–663, 2009.
- ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Roles of pH in biologic production of hydrogen and volatile fatty acids from glucose by enriched anaerobic cultures. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 112, 79 – 90, 2004.
- ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. **Journal of Environmental Management**. 74, 65–70, 2005.

5 - Determinação da atividade hidrogênica específica de diferentes substratos orgânicos

Resumo: Efluentes provenientes de processos industriais podem ser aproveitados como fonte de matéria orgânica para a geração de hidrogênio. Neste trabalho foi avaliada a capacidade de produção de hidrogênio dos substratos orgânicos: ácido propiônico, ácido butírico, efluente protéico, glicerol, efluente da produção do fungicida Tebuconazol e glicose. Foram também avaliados a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) e o grau de acidificação de cada substrato. As condições utilizadas no estudo foram: concentração de matéria orgânica de 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000 e 20.000mg.DQOL⁻¹; concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹ e pH inicial igual a 6,0. A maior atividade hidrogênica foi obtida para a glicose (483mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹), seguida do efluente protéico (6,8mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹), para os demais substratos orgânicos a atividade hidrogênica apresentou-se abaixo de 0,26mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹. O maior volume de hidrogênio produzido ocorreu quando o substrato utilizado foi a glicose (24,8mL.gDQO⁻¹) seguido pelo efluente protéico (1,74mL.gDQO⁻¹). O ácido graxo volátil encontrado em maior porcentagem após a fermentação dos substratos orgânicos foi o ácido acético, exceto quando o substrato utilizado foi o ácido butírico que sofreu degradação parcial e ficou acumulado no efluente. Foi observado alto grau de acidificação no teste utilizando o ácido butírico devido a alta concentração residual do mesmo no efluente.

Palavras chave: hidrogênio, atividade hidrogênica específica, substratos orgânicos, ácidos graxos voláteis

1. Introdução

A necessidade de mudança na matriz energética que atualmente se baseia na utilização de fontes não renováveis, para sistemas que utilizam energia proveniente do hidrogênio não está apenas fundamentada nos riscos associados às mudanças climáticas, mas também na escassez das reservas de combustíveis fósseis (Baykara, 2005).

O uso do hidrogênio como carreador energético apresenta vantagens quando comparado aos combustíveis fósseis, pois sua combustão produz apenas água, sem geração de

dióxido de carbono; além de possuir capacidade calorífica quase 3 vezes maior que a gasolina (van Ginkel *et al.*, 2001).

A produção de hidrogênio por via biológica pode ocorrer durante a degradação anaeróbia de substratos orgânicos complexos, onde polissacarídeos, proteínas e lipídios são hidrolizados por enzimas, formando açúcares, aminoácidos e ácidos graxos que são degradados por microrganismos acidogênicos que os transformam em ácidos graxos voláteis, dióxido de carbono e hidrogênio (Yu & Fang, 2001).

Os critérios utilizados na seleção de substratos orgânicos para a produção de hidrogênio incluem sua disponibilidade, seu custo e sua biodegradabilidade. Açúcares simples como a glicose, a sucrose e a lactose são facilmente biodegradáveis e são os substratos mais estudados para a produção de hidrogênio, entretanto são fontes de matéria orgânica com alto valor comercial (Kapdam & Kargi, 2006).

O hidrogênio pode ser produzido a partir de resíduos orgânicos domésticos, agrícolas, pecuários e industriais. Os efluentes provenientes de indústrias alimentícias, de indústrias de biocombustíveis e de indústrias de bioinseticidas possuem potencial para a produção de hidrogênio por possuírem altas concentrações de carboidratos e proteínas. Porém a natureza complexa desses substratos pode causar um efeito adverso na sua biodegradabilidade, uma vez que cada componente requer diferentes condições ambientais para produzir hidrogênio (Kapdam & Kargi, 2006). Em alguns casos, o pré-tratamento do substrato orgânico (acidificação, tratamento térmico, etc.) pode beneficiar o processo de produção de hidrogênio (Wang & Wan, 2009).

O teste de medida da atividade hidrogênica específica (AHE) apresenta-se como uma ferramenta útil para avaliar a capacidade de produção de hidrogênio de um lodo, bem como avaliar o potencial que um substrato orgânico possui para gerar hidrogênio. Além disso, o teste permite observar alterações no comportamento do lodo anaeróbio, quando submetido a compostos inibidores ou tóxicos.

Os objetivos desse estudo foram determinar a atividade hidrogênica específica, avaliar o volume de hidrogênio produzido, determinar o percentual dos ácidos graxos voláteis produzidos e o grau de acidificação para cada substrato orgânico nas condições testadas.

2. Materiais e métodos

2.1. Efluente

Os substratos orgânicos utilizados neste trabalho foram soluções de ácido propiônico, ácido butírico e glicerol com elevado grau de impurezas e, por consequência com baixo valor comercial, proveniente de uma empresa fabricante de biodiesel. Foram utilizados também: efluente protéico oriundo de uma indústria de processamento de soja; efluente proveniente do processo de produção do fungicida Tebuconazol, o qual continha compostos químicos de estrutura complexa; e glicose. Todos os efluentes foram utilizados nas concentrações, representadas em função da demanda química de oxigênio (DQO), de 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000 e 20.000mg.L⁻¹. Além destes substratos orgânicos foram realizados testes com acetato de sódio anidro nas mesmas concentrações. Este teste foi empregado como referência, uma vez que durante a fermentação do acetato não há produção de hidrogênio.

2.2. Lodo

A concentração de sólidos voláteis totais (SVT) utilizada no teste foi de 2.500mg.L⁻¹, considerada ideal após testes de padronização da medida da atividade hidrogênica específica. O lodo granular, proveniente de um reator UASB de uma indústria de processamento de soja, foi autoclavado a 120°C durante 30 minutos para eliminar microrganismos metanogênicos, conforme descrito por Xiao & Liu (2009).

2.3. pH

O valor do pH utilizado nos testes foi igual a 6,0, considerado ideal para a medida da atividade hidrogênica específica de acordo com testes preliminares.

2.4. Meio nutricional

O meio nutricional utilizado foi baseado em estudos realizados por Lin & Lay (2005) e por Feng *et al.* (2008) e cuja composição está descrita na Tabela 01.

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado na medida da AHE dos substratos orgânicos.

Nutrientes	Concentração (mg.L⁻¹)
MgCl ₂ .6H ₂ O	40
CaCl ₂ .2H ₂ O	1.000
NH ₄ Cl	50
ZnCl ₂	2,5
MnSO ₄ .4H ₂ O	3,8
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	10
CuSO ₄ .5H ₂ O	5
KCl	130
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1.000
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	2.550
NiCl ₂ .6H ₂ O	2,5
KI	12,5
NaCl	1.000
FeSO ₄ .7H ₂ O	1
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5

2.5. Sistema utilizado na determinação da AHE

O sistema utilizado no estudo foi o equipamento denominado respirômetro anaeróbio, desenvolvido por Monteggia (1991) para realização do teste de Atividade Metanogênica Específica (AME).

O equipamento era formado por 8 digestores de vidro com volume útil de 450 mL cada, com agitação magnética e mantidos em ambiente com temperatura controlada. O controle e liberação do gás resultante da fermentação dos digestores foi realizado por válvulas solenóides de três vias, conectadas a manômetros com possibilidade de ajuste da pressão de operação do sistema.

A medida do volume de gás produzido durante o teste foi realizada de forma semi-contínua pelo monitoramento do número de pulsos referentes à descarga de volume pré-determinado de biogás em função da pressão e temperatura.

2.5.1. Procedimento operacional

Os testes para determinar a atividade hidrogênica dos substratos orgânicos foram realizados conforme a seqüência a seguir:

- Autoclavagem do lodo;

- Adição da quantidade de lodo necessária ao teste e do meio nutricional, em igual volume, conforme descrito por Lin & Lay (2005);
- Ajuste do pH para 6,0 utilizando HCl 1mol.L⁻¹ ou NaOH 1mol.L⁻¹;
- Inserção de gás nitrogênio no interior dos frascos durante 1 minuto, a fim de eliminar o ar atmosférico;
- Ajuste da temperatura do teste para 35°C;
- Adaptação do lodo durante o período noturno;
- Colocação do substrato orgânico em concentração pré-estabelecida;
- Ajuste do pH utilizando HCl 1mol.L⁻¹ ou NaOH 1mol.L⁻¹
- Procedimento adicional de eliminação do ar atmosférico através da inserção de gás nitrogênio no interior dos digestores;
- Coleta de amostras do biogás a cada duas horas, para determinação da porcentagem de hidrogênio.

O final do teste foi determinado pelas reduções na porcentagem de hidrogênio e no volume de biogás produzido.

2.5.2. Procedimentos analíticos

A caracterização dos substratos orgânicos foi realizada conforme metodologias descritas no *Standard Methods* (2005).

Para a análise da composição do biogás foi utilizado cromatógrafo gasoso Dani GC 1000 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Molecular Sieve 80/100. As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 50°C; T detector: 50°C; T coluna: 40°C; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 25mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetada foi de 1mL, conforme metodologia adaptada de Morimoto *et al.* (2004).

A concentração dos ácidos graxos acético, propiônico e butírico foi determinada por cromatografia gasosa, conforme metodologia descrita no *Standard Methods* (2005). Utilizou-se cromatógrafo gasoso Dani GC 1000, com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar AT 1000 (30m x 0,32mm x 0,25µm). As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 150°C; T detector: 240°C; T forno: 95°C por 2 min., 140°C a 10°C.min⁻¹, 200°C a 40°C.min⁻¹, 200°C por 5 min. e retorno a temperatura inicial; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 1mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetada foi de 1µL. Antes da injeção no

cromatógrafo, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos e filtradas utilizando filtro de fibra de vidro com diâmetro de poro de $0,6\mu\text{m}$, para eliminar os sólidos suspensos.

A fim de verificar a contribuição de AGV provenientes do lodo autoclavado foi coletada uma alíquota do sobrenadante do *mixed liquor* para análise antes da adição do substrato orgânico.

O grau de acidificação foi determinado pela razão entre a demanda química de oxigênio (DQO) dos produtos da acidogênese no efluente (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) e no biogás (hidrogênio) e a DQO inicial dentro do digestor, conforme metodologia descrita por Bengtsson *et al.* (2008).

2.5.3. Cálculo da AHE

O cálculo da atividade hidrogênica foi adaptado da metodologia proposta por Beal & Monteggia (2009) para o cálculo da atividade metanogênica, onde foi utilizado o Método da Tangente para a determinação da atividade máxima em cada condição estudada. A sequência de passos para o cálculo foi a seguinte:

1. Análise da composição do gás gerado via cromatografia gasosa;
2. Construção da curva que representa a Composição percentual de hidrogênio x Tempo;
3. Modelagem da curva obtida;
4. Cálculo do volume produzido de hidrogênio a cada pulso registrado, utilizando a curva obtida no item 3;
5. Construção do gráfico de Produção acumulada de hidrogênio x Tempo;
6. Modelagem da curva obtida;
7. Derivação da equação que melhor representou a curva obtida, no período de tempo do teste;
8. Cálculo das inclinações das tangentes da curva a cada intervalo de tempo de 0,1h, utilizando a equação derivada obtida no item 7, no período de tempo do teste;
9. Identificação do maior volume de hidrogênio produzido por hora, correspondente ao maior valor da inclinação das tangentes obtidas;
10. Determinação da AHE, expressa em $\text{mLH}_2\cdot\text{gSVT}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, através da razão entre o valor encontrado no item 9 e a concentração de biomassa inserida no digestor.

3. Resultados e discussão

3.1. Caracterização dos substratos orgânicos industriais

Na Tabela 02 estão caracterizados os substratos orgânicos industriais utilizados no estudo.

Tabela 02 – Características dos substratos orgânicos testados.

Parâmetro	Efl. Protéico	Glicerol 5%	Efl. fungicida
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	598	149	52.090
Amônia (mgNH ₄ -N.L ⁻¹)	6,1	3,9	2.625
Nitrogênio total Kjeldahl (mgN.L ⁻¹)	297	ND	2.692
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)	22.764	ND	10.759
Sólidos voláteis totais (mg.L ⁻¹)	17.092	ND	4.853
DQO solúvel (mgO ₂ .L ⁻¹)	26.182	57.818	76.753
pH	4,8	6,6	11,2

ND – não determinado.

3.2. AHE dos substratos orgânicos

Na Figura 01 estão apresentados os resultados das atividades hidrogênicas, em função da DQO para os substratos orgânicos testados e para o acetato de sódio que foi empregado como referência para o teste de AHE.

A atividade hidrogênica para o acetato de sódio apresentou-se abaixo de 0,06mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, que pode estar relacionada ao consumo da matéria orgânica proveniente do material celular liberado durante a autoclavagem do lodo, uma vez que no processo de digestão anaeróbia o acetato é transformado apenas em metano e monóxido de carbono, sem a geração de hidrogênio.

Verificou-se que dentre os ácidos graxos voláteis testados a maior atividade ocorreu na concentração de matéria orgânica de 2.000mgDQO.L⁻¹ quando foi utilizado ácido propiônico (0,26mLH₂.gSVT⁻¹.h⁻¹) como substrato orgânico. Foi observado que para DQO acima de 2.000mgO₂.L⁻¹, a atividade sofreu um decréscimo aproximando-se de zero quando a DQO utilizada foi igual a 20.000mgO₂.L⁻¹. Estudos realizados por Zheng & Yu (2005) relataram inibição dos microrganismos produtores de hidrogênio com o aumento da concentração dos ácidos graxos voláteis em digestores anaeróbios.

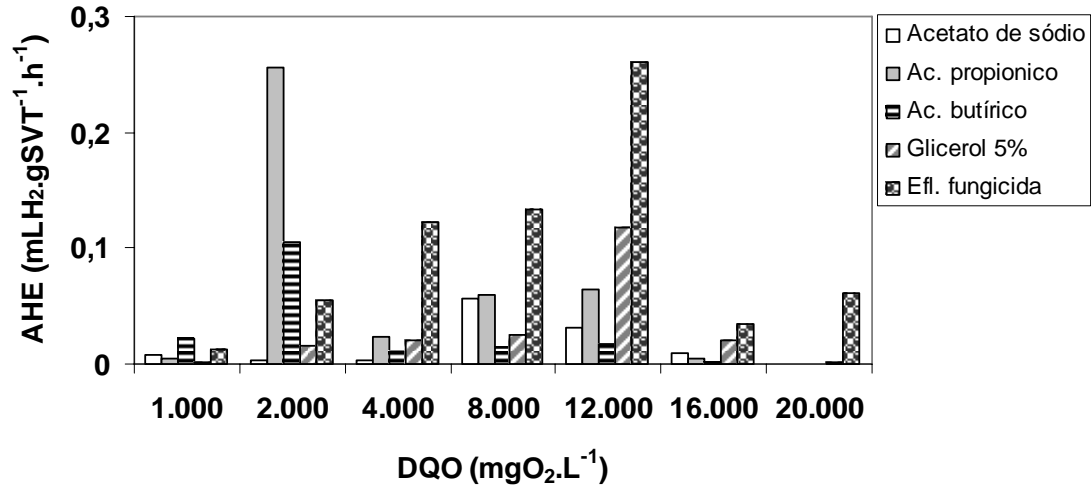


Figura 01 – AHE do acetato de sódio, ácidos propiônico e butírico, glicerol 5% e efluente de fungicida, em função dos valores de DQO testados.

Os resultados obtidos com a solução de glicerol 5% demonstraram atividade máxima de $0,11 \text{ mLH}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na DQO de $12.000 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Para DQO acima desse valor ocorreu decaimento na AHE, de acordo com trabalho realizado por Seifert *et al.* (2009) o aumento da concentração de glicerol de 5 para $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ aumentou a produção específica de hidrogênio, semelhante aos resultados obtidos neste trabalho, onde as concentrações de glicerol descritas correspondem aos valores de DQO entre 8.000 e $12.000 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ e que apresentaram AHE crescentes.

Estudos realizados por Papanikolau *et al* (2000) utilizando glicerol como substrato orgânico indicaram que a presença do microrganismo *Clostridium butyricum* nos digestores provocou decréscimo na formação de hidrogênio e aumento significativo da produção de 1,3-propanodiol. A presença desse microrganismo aliada ao excesso de matéria orgânica, podem ter provocado desvio da rota metabólica na direção da produção desse álcool.

O efluente oriundo do processo de produção de fungicidas obteve atividade hidrogênica máxima semelhante ao observado nos testes realizados com ácido propiônico ($0,26 \text{ mLH}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), porém na DQO de $12.000 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. A AHE decaiu com o aumento da DQO provavelmente devido a toxicidade do efluente, o qual possui em sua composição elementos aromáticos como o tebuconazole e o propiconazole, que podem afetar a atividade enzimática dos microrganismos.

Na Figura 02 estão apresentados os resultados das atividades hidrogênicas, em função da DQO para o efluente protéico.

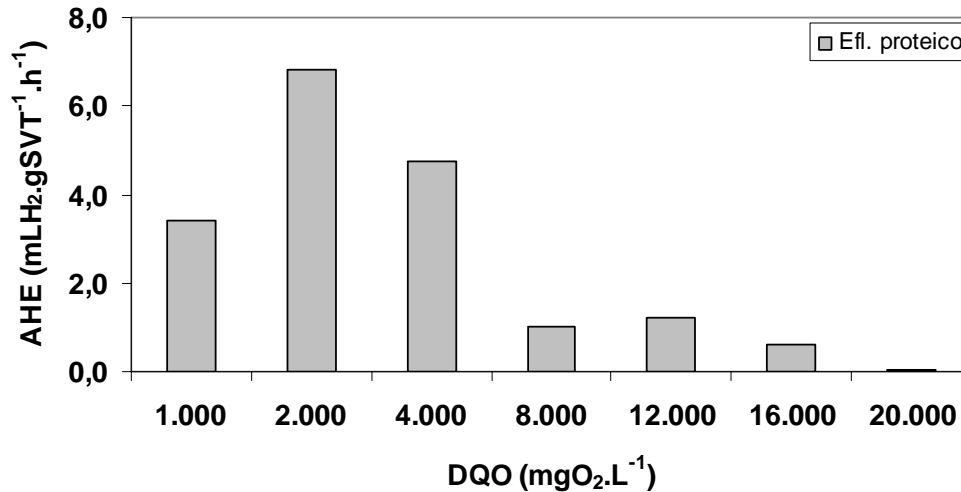


Figura 02 – AHE do efluente protéico em função dos valores de DQO testados.

Dentre os substratos orgânicos provenientes da indústria (efluente protéico, glicerol e efluente de fungicida), o efluente protéico foi o que apresentou melhor desempenho na medida de atividade hidrogênica dentre os testados, a qual chegou a $6,8 \text{ mLH}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para o valor de DQO de $2.000 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ decaindo nas concentrações acima desse valor. Estudos realizados por Okamoto *et al.* (2000) relataram que efluentes industriais ricos em proteínas não são facilmente fermentados pelos microrganismos produtores de hidrogênio. No processo de digestão anaeróbia a quebra das proteínas libera amônia que, em altas concentrações, causa toxicidade aos microrganismos. O aumento na DQO pode ter provocado o aumento na concentração de amônia dentro dos digestores causando a redução na AHE.

A Figura 03 mostra os resultados das atividades hidrogênicas, em função da DQO obtidas nos testes com a glicose.

A maior AHE, dentre os substratos orgânicos industriais e sintéticos testados, foi obtida quando o substrato utilizado foi a glicose, a qual resultou em $483 \text{ mLH}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Observou-se que a variação nas DQO influenciou a AHE, a qual apresentou comportamento crescente até atingir seu valor máximo quando a DQO inicial foi igual a $12.000 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, decrescendo nas concentrações posteriores. A AHE foi muito superior ao observado nos testes

com os outros substratos orgânicos, uma vez que a glicose é facilmente biodegradável e a principal fonte de energia para o crescimento dos microrganismos fermentativos.

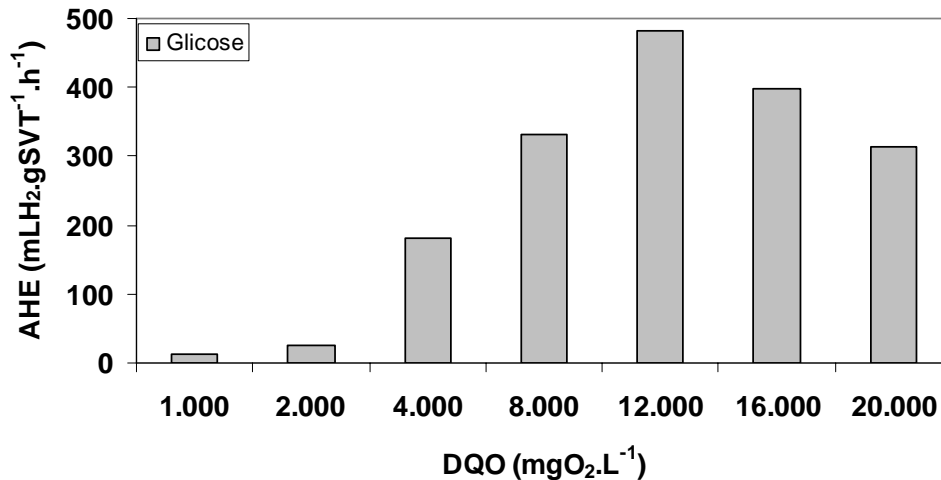


Figura 03 – AHE obtidas nos testes com glicose em função dos valores de DQO testadas.

3.3. Volume de hidrogênio produzido no teste de AHE

Na Figura 04 está o volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos digestores, para os substratos orgânicos testados e para o acetato de sódio.

A utilização do acetato de sódio como substrato permitiu verificar a eficiência do processo de autoclavagem do lodo na eliminação dos microrganismos metanogênicos, uma vez que esse composto é o precursor de 70 a 75% do gás metano gerado em condições anaeróbias. Como a digestão anaeróbia do acetato produz metano, o qual não foi detectado em nenhum dos testes realizados, o hidrogênio encontrado no biogás provavelmente teve origem da digestão do material celular liberado pelo tratamento térmico.

O aumento da concentração de matéria orgânica nos digestores, quando foi utilizado o ácido propiônico e o ácido butírico como substratos orgânicos, provocou decréscimo na produção volumétrica de hidrogênio, indicando que esses substratos provocam inibição dos microrganismos produtores de hidrogênio. Resultados semelhantes foram obtidos por Wang *et al.* (2008) e van Niel *et al.* (2003) em estudos sobre o efeito inibidor dessas substâncias no processo de produção de hidrogênio.

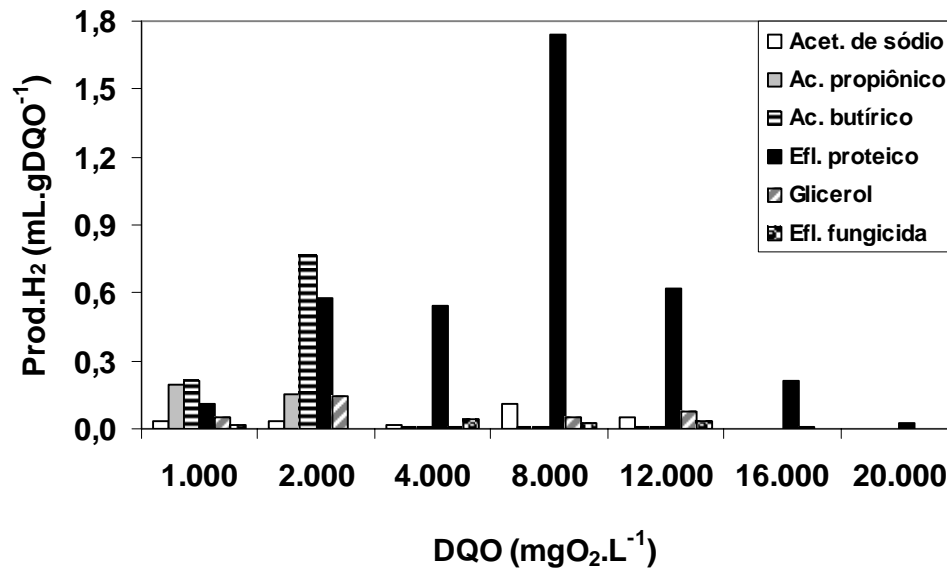


Figura 04 – Volume de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica em função da DQO adicionada para os substratos orgânicos estudados e para o acetato de sódio.

Estudos realizados por van Ginkel *et al.* (2005) mostraram que a presença do ácido butírico no meio é mais prejudicial para a produção de hidrogênio do que a presença do ácido acético. Durante a produção de acetato ocorre a liberação de hidrogênio, enquanto que na produção de butirato o hidrogênio produzido é rapidamente consumido para a produção de solventes.

Para o efluente protéico verificou-se que a produção volumétrica de hidrogênio foi mais elevada, atingindo $1,74 \text{ mL.gDQO}^{-1}$. O valor da DQO inicial influenciou na produção de hidrogênio, sendo que abaixo de $4.000 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$ foram produzidos baixos volumes de hidrogênio devido a pouca quantidade de matéria orgânica disponível para os microrganismos. O decréscimo na produção de hidrogênio na DQO acima de $8.000 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$ pode ser atribuída a formação de amônia dentro dos digestores. Xiao *et al.*, (2010), relatam decréscimo na produção de hidrogênio uma vez que durante a degradação da proteína ocorre a formação de alguns produtos intermediários como o glutamato, que pode agir como doador de elétrons, a prolina que pode agir como acceptor de elétrons e a treonina que age como doador e acceptor de elétrons. Esses produtos são responsáveis pela formação de hidrogênio seguida pelo seu consumo parcial com a finalidade de dar continuidade ao processo de digestão anaeróbia.

O volume de hidrogênio produzido foi menor que $0,15\text{mL.gDQO}^{-1}$ quando o substrato orgânico utilizado foi a solução de glicerol 5%, conforme Papanikolau *et al.* (2000) a fermentação do glicerol produz baixos volumes de hidrogênio, uma vez que o sub produto de sua degradação é o 1,3-propanodiol.

Quando o substrato orgânico utilizado foi o efluente da produção de fungicida a presença de compostos aromáticos como o tebuconazole e o propiconazole podem ter provocado toxicidade aos microrganismos, comprometendo a produção de hidrogênio, principalmente na DQO acima de $4.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$. A baixa produção volumétrica observada quando a DQO apresentava-se abaixo de $4.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$, provavelmente ocorreu devido a limitação na concentração do substrato orgânico.

A Figura 05 mostra o volume de hidrogênio produzido em função da DQO adicionada nos digestores, nos testes realizados com glicose.

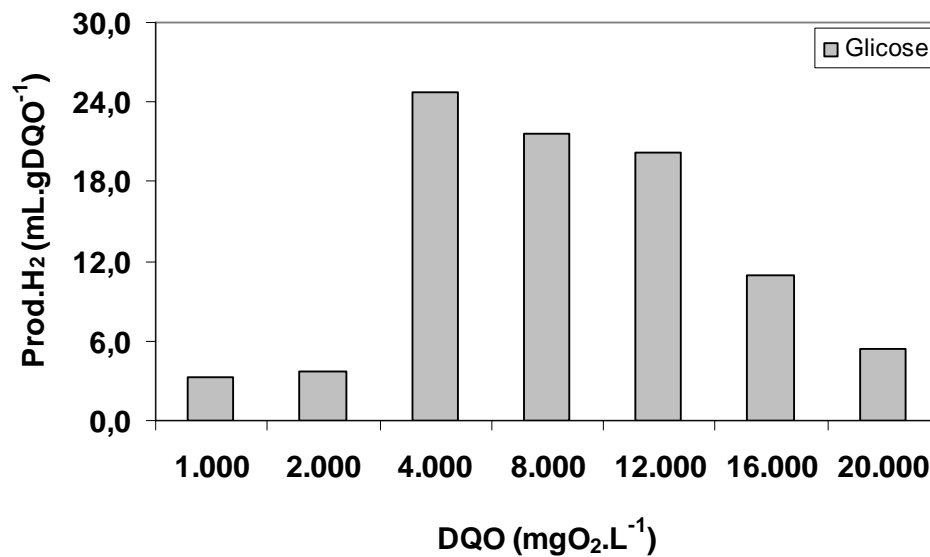


Figura 05 – Volume de hidrogênio produzido por massa de matéria orgânica em função da DQO adicionada nos testes realizados com glicose.

Por ser um substrato facilmente biodegradável, a glicose produziu o maior volume de hidrogênio dentre todos os substratos orgânicos testados, $24,8\text{mL.gDQO}^{-1}$, que foi limitada nos valores de DQO abaixo de $4.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$, e inibida nos valores de DQO acima de $12.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$, conforme observado nos testes de medida da AHE.

3.4. Variação do pH nos testes de medida da AHE

A Figura 06 mostra os resultados das medidas de pH do *mixed liquor* realizadas ao final de cada um dos testes onde foram utilizados como efluentes soluções de acetato de sódio, ácido propiônico, ácido butírico e glicose.

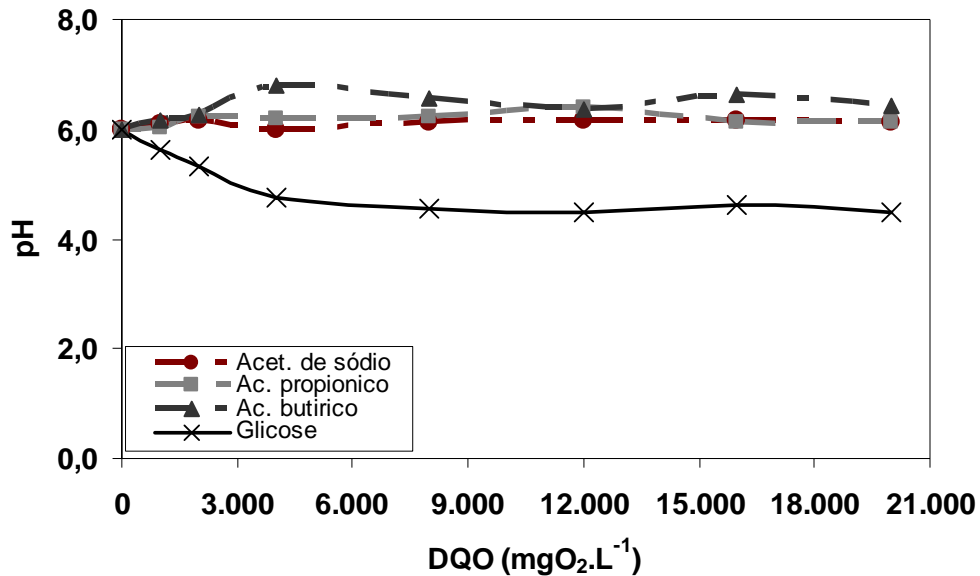


Figura 06 – Valores do pH final do *mixed liquor* em função da DQO dos testes que utilizaram acetato de sódio, ácido propiônico, ácido butírico e glicose como substratos orgânicos.

Verificou-se que para o acetato de sódio e para os ácidos propiônico e butírico a variação no valor do pH ao final do teste, em relação ao valor do pH inicial, foi de $\pm 0,2$ unidades independentemente do aumento na DQO. A maior variação, 0,8 unidades de pH para cima, ocorreu quando foi utilizado ácido butírico na DQO de $4.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$.

No teste realizado utilizando glicose como substrato orgânico foi observado que o aumento da DQO dentro dos digestores provocou decréscimo mais acentuado no valor do pH final do *mixed liquor*, indicando que houve a fermentação da glicose e conseqüente produção de AGVs.

Na Figura 07 estão os resultados da variação do valor do pH ao final dos testes realizados com efluente protéico, glicerol 5% e efluente do processo de produção de fungicida, comparados com a variação observada nos testes com glicose.

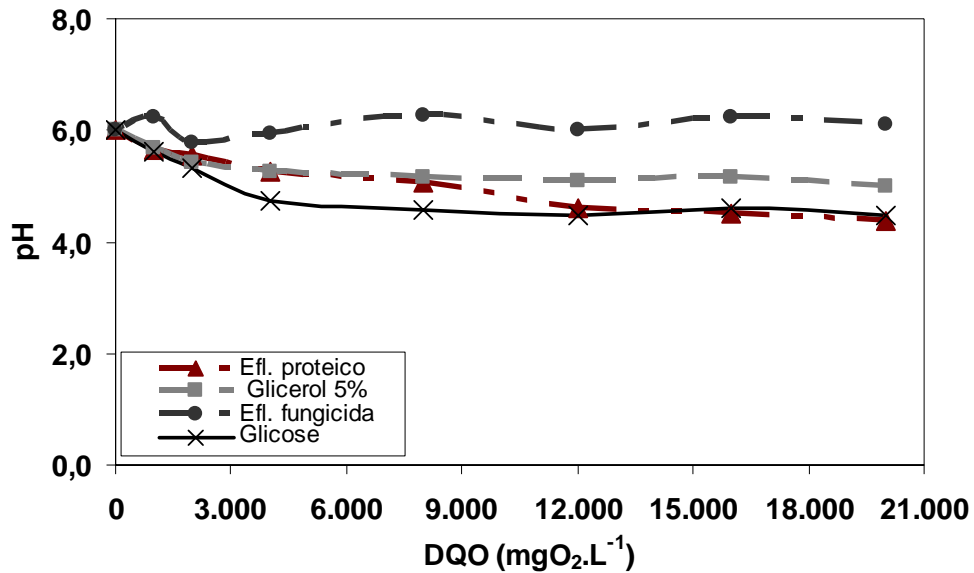


Figura 07 - Valor do pH final do *mixed liquor* em função da DQO dos testes utilizando efluente protéico, glicerol, efluente de fungicida e glicose.

A fermentação do efluente protéico e do glicerol 5% provocou decréscimo no valor do pH ao final do teste, o qual diminuiu gradualmente com o aumento da DQO de ambos os efluentes. Foi verificada a redução de 1,6 unidades de pH para o efluente protéico e 1 unidade para a solução de glicerol na DQO de 20.000mO₂.L⁻¹, comportamento semelhante ao observado no teste com a glicose.

No teste com efluente do processo de produção de fungicida foi observada a variação de $\pm 0,1$ unidade no pH final do *mixed liquor*, independente da DQO estudada. Esse comportamento pode ser explicado pela elevada capacidade de tamponamento apresentada pelo efluente o que dificultou o ajuste do seu pH antes do início do teste. Além disso, essa capacidade tampão pode ter influenciado na produção de hidrogênio, uma vez que, em testes preliminares, verificou-se a necessidade da queda no valor do pH para que houvesse a formação do hidrogênio.

A estabilização do valor do pH final, independente do acréscimo no valor das DQO, indicou que o excesso de matéria orgânica nos digestores pode ter causado saturação no meio, prejudicando a conversão do substrato orgânico pelos microrganismos. Este efeito adverso pode ser observado nos resultados de AHE e no volume de hidrogênio produzido onde se verificou decréscimo em ambos os parâmetros nos valores de DQO mais elevados.

3.5. Produção de ácidos graxos

3.5.1. Distribuição percentual dos AGV nos substratos orgânicos estudados

Antes da adição dos substratos orgânicos foram analisadas as concentrações de AGV no sobrenadante do *mixed liquor* para o teor de SVT de 2.500mg.L⁻¹. As concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico determinadas foram de 257,2; 90,1 e 57,0mg.L⁻¹ respectivamente.

As Tabelas 03, 04 e 05 descrevem as concentrações dos AGV analisadas ao final dos testes com os substratos orgânicos estudados.

Tabela 03 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com acetato de sódio anidro e ácido propiônico.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Acetato de sódio anidro			Ácido Propiônico		
	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiônico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiônico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)
1.000	3.476,1	179,9	183,2	1.800,5	216,6	139,8
2.000	5.766,1	1.110,9	767,8	461,5	87,5	43,9
4.000	10.346,1	960,5	600,4	1.560,3	226,7	150,7
8.000	19.505,9	375,8	274,0	992,0	156,5	99,5
12.000	19.617,8	231,2	149,2	863,1	263,4	118,3
16.000	37.826,1	542,7	296,6	1.148,6	268,4	147,2
20.000	46.986,1	26,9	327,9	1.494,6	356,3	167,0

Observando os resultados descritos na Tabela 03 foi constatada uma oscilação nas concentrações dos AGV analisados, com o aumento do valor da DQO. Esse comportamento indica que a composição química dos substratos orgânicos estudados pode ter provocado influência sobre o metabolismo dos microrganismos produtores de ácidos. Nas Tabelas 04 e 05 observou-se comportamento semelhante.

Tabela 04 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com ácido butírico e efluente protéico.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Ácido Butírico			Efluente protéico		
	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiónico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiónico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)
1.000	785,0	119,2	512,5	10.238,5	588,1	636,6
2.000	2.215,4	424,1	2.806,4	1.839,2	90,3	405,5
4.000	3.756,8	717,7	7.631,5	3.770,5	431,7	1.292,2
8.000	813,5	51,0	2.870,6	2.934,1	382,2	1.695,8
12.000	1.200,1	222,4	9.595,0	2.768,9	353,5	420,4
16.000	1.544,0	454,8	13.184,8	3.713,8	358,7	367,2
20.000	660,4	267,9	16.774,1	2.624,2	248,2	116,9

Tabela 05 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com glicerol 5% e efluente de fungicida.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Glicerol 5%			Efluente fungicida		
	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiónico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiónico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)
1.000	453,3	45,5	73,7	1.228,5	32,2	61,7
2.000	2.030,7	451,8	1.165,9	2.687,7	165,9	212,9
4.000	1.697,2	319,0	784,8	7.020,2	519,2	466,3
8.000	1.111,6	289,8	612,3	10.447,0	352,9	253,5
12.000	533,9	26,9	183,5	11.603,5	188,7	279,4
16.000	1.345,3	522,8	1.007,2	21.412,7	357,5	218,7
20.000	1.654,6	696,9	846,6	7.278,8	34,4	59,7

A Tabela 06 mostra os resultados das análises dos AGV ao final do teste que utilizou glicose como substrato orgânico. Foi observado um acréscimo gradual na concentração dos AGV analisados até o valor de DQO igual a 8.000mgO₂.L⁻¹, acima dessa concentração de matéria orgânica verificou-se decréscimo nos valores das concentrações dos AGV com o aumento no valor da DQO.

Tabela 06 – Concentração dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com glicose.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Glicose		
	Ácido acético (mg.L ⁻¹)	Ácido propiônico (mg.L ⁻¹)	Ácido butírico (mg.L ⁻¹)
1.000	511,1	3,1	75,2
2.000	763,2	90,4	392,2
4.000	1.869,0	299,8	2.569,7
8.000	4.702,7	516,7	6.747,0
12.000	2.740,0	242,2	3.599,9
16.000	2.467,6	363,0	3.667,6
20.000	1.018,0	171,9	2.726,3

Na Figura 08 estão apresentadas as distribuições percentuais mássicas dos ácidos acético, propiônico e butírico em função dos valores de DQO para cada substrato orgânico estudado e para o acetato de sódio.

No teste realizado com o acetato de sódio foi observada a formação dos ácidos propiônico e butírico, principalmente nas DQO mais baixas, os quais podem ter se originados da matéria orgânica liberada do interior das células microbianas para o *mixed liquor* por ocasião da autoclavagem do lodo, porém esse aspecto necessita de estudos posteriores.

O AGV predominante na fermentação do ácido propiônico foi o ácido acético, correspondendo a mais de 69% do total de ácidos produzidos. Sua porcentagem manteve-se constante mesmo com o aumento da DQO. Verificou-se a presença de ácido butírico no efluente o qual provavelmente teve origem a partir do material celular liberado com a autoclavagem do lodo, uma vez que as rotas metabólicas de degradação do ácido propiônico não resultam na formação do ácido butírico.

Quando o ácido butírico foi o substrato orgânico estudado verificou-se um decréscimo no percentual de ácido acético com o aumento da DQO, por outro lado, nessa mesma condição, a porcentagem de ácido butírico sofreu um acréscimo gradual, indicando que o aumento da concentração do mesmo no digestor provocou toxicidade aos microrganismos fermentativos. Estudo realizado por Zheng & Yu (2005) apresentou resultados semelhantes de decréscimo na produção de ácido acético com o aumento na concentração de ácido butírico no digestor.

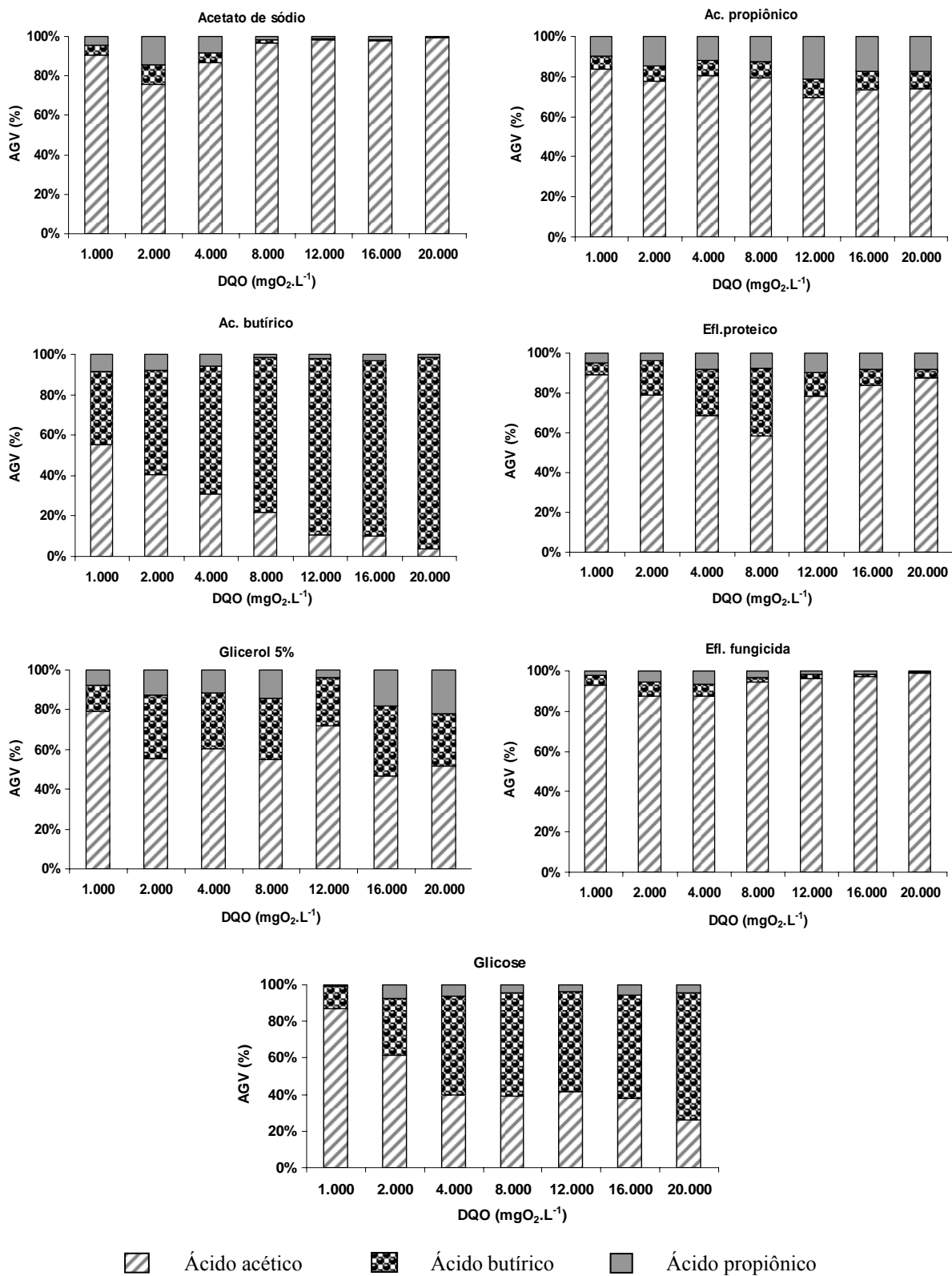


Figura 08 – Distribuição percentual mássica dos AGV em função dos valores de DQO para os substratos orgânicos estudados e para o acetato de sódio.

A porcentagem dos AGV obtidos na fermentação do glicerol foi variável e sem relação aparente com o aumento na DQO. O ácido acético foi o subproduto predominante em todas as concentrações de substrato testadas, variando de 47 a 79%.

O efluente do processo de fabricação de fungicida foi considerado, dentre os substratos orgânicos provenientes da indústria, ideal para a produção de ácido acético, uma vez que a variação percentual desse ácido ficou entre 87,7 e 98,7% no efluente do digestor, apresentando comportamento crescente com o aumento da DQO. As porcentagens dos ácidos propiônico e butírico apresentaram-se abaixo de 6,5 e 7,0%, respectivamente, as quais sofreram redução com o aumento da DQO.

Nos testes realizados utilizando glicose como substrato orgânico observou-se que a porcentagem de ácido acético apresentou decréscimo com o aumento da DQO até $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, acima dessa concentração a porcentagem de ácido acético manteve-se constante até a DQO de $20.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ quando sofreu novo decréscimo. Por outro lado, a porcentagem de ácido butírico sofreu acréscimo com o aumento da DQO, apresentando-se em maior quantidade que o ácido acético nas DQO acima de $4.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Esse comportamento é um indicativo da presença do microrganismo *Clostridium butyricum* no lodo, o qual transforma a matéria orgânica em ácido butírico.

3.6. Grau de acidificação

A Figura 09 mostra os valores do grau de acidificação (G.A.) em função da DQO inicial, para cada substrato orgânico estudado e para o acetato de sódio.

No teste realizado com acetato de sódio provavelmente houve a contribuição da DQO proveniente do material celular, liberado durante o processo de autoclavagem do lodo, no aumento da concentração de ácido acético no efluente. Esta influência foi detectada nas análises de AGV e no cálculo do grau de acidificação.

Os menores graus de acidificação foram observados quando os substratos orgânicos utilizados nos testes foram o ácido propiônico, o efluente protéico e o glicerol 5%. Nesses casos, verificou-se que o aumento da DQO provocou decréscimo no grau de acidificação, uma vez que a produção de ácidos foi inibida pelo excesso de matéria orgânica. De acordo com estudos realizados por Yu & Fang (2001) a acidificação de carboidratos, proteínas e lipídeos decresce com o aumento da concentração do substrato orgânico.

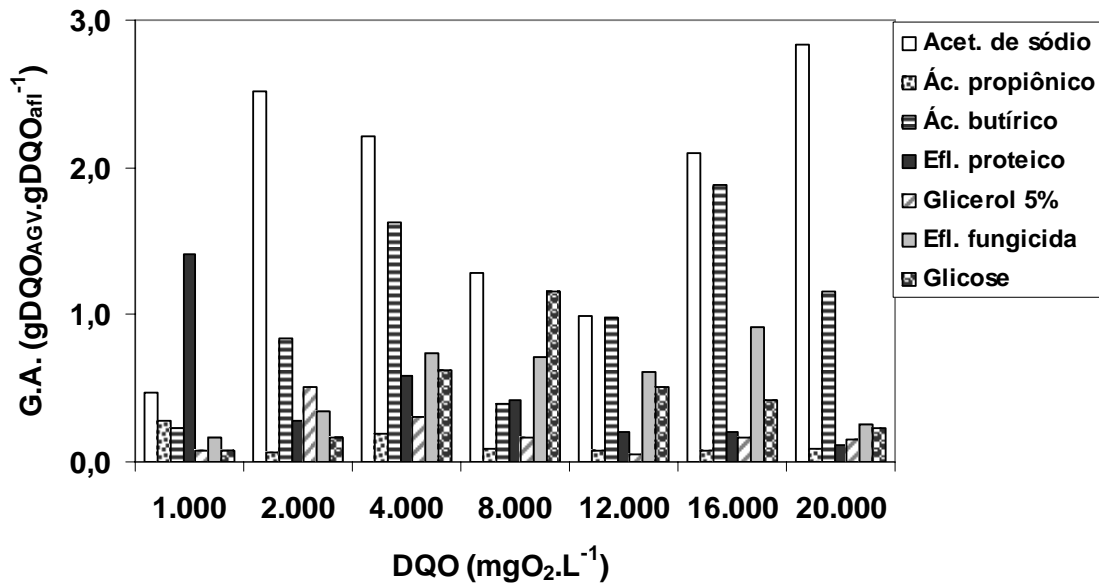


Figura 09 – Valores do grau de acidificação em função da DQO inicial, para cada substrato orgânico estudado e para o acetato de sódio.

O grau de acidificação da glicose foi crescente até a DQO atingir 8.000mgO₂.L⁻¹, ocorrendo decréscimo nas concentrações posteriores. Esse comportamento indica que valores de DQO abaixo de 8.000mgO₂.L⁻¹ limitou a conversão da glicose em AGV, enquanto que para as DQO acima desse valor houve inibição do processo de conversão da glicose em AGV.

4. Conclusões

A AHE foi influenciada pela composição dos substratos orgânicos estudados, sendo que os melhores resultados foram obtidos com a glicose e com o efluente protéico. Os demais substratos orgânicos apresentaram baixa capacidade de produção de hidrogênio, uma vez que nas DQO estudadas provocaram toxicidade aos microrganismos produtores de hidrogênio.

As variações da AHE e no volume de hidrogênio produzido em função da DQO para os substratos orgânicos testados reportaram que as baixas DQO provocaram limitações na atividade dos microrganismos e na produção volumétrica de hidrogênio, enquanto que as altas DQO provocaram inibição da atividade dos microrganismos e da produção volumétrica de hidrogênio.

O AGV produzido em maior porcentagem na fermentação dos substratos: ácido propiônico, efluente protéico, glicerol e efluente da produção de fungicida foi o ácido acético. Quando o ácido butírico foi o substrato utilizado, verificou-se pouca degradação do mesmo devido as suas altas porcentagens determinadas no efluente ao final do teste. No caso da glicose observou-se que a variação da DQO provocou alterações nos AGV produzidos, nas concentrações mais baixas de substrato a porcentagem de ácido acético apresentou-se maior que a de ácido butírico, porém o aumento gradual da DQO provocou mudanças no metabolismo dos microrganismos causando inversão no ácido graxo predominante, que passou a ser o ácido butírico.

O cálculo do grau de acidificação pode ter sofrido influência da matéria orgânica liberada do interior das células microbianas por ocasião da autoclavagem do lodo, uma vez que em alguns casos foi observada a concentração de AGV acima da DQO adicionada.

Apesar dos substratos orgânicos: ácido propiônico, ácido butírico, efluente protéico, glicerol e efluente da produção de fungicida produzirem baixos volumes de hidrogênio, os AGV formados durante a fermentação podem ser aproveitados na remoção biológica de nutrientes, uma vez que esses compostos são fontes de carbono facilmente biodegradável.

5. Referências bibliográficas

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.

BAYKARA, S. Z. Hydrogen as fuel: a critical technology? **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 545 – 553, 2005.

BEAL, L. L.; MONTEGGIA, L. O. Proposta de uma nova metodologia para o cálculo da atividade metanogênica. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, XXV, Recife, Brazil. II 127. 2009.

BENGTSSON, S.; HALLQUIST, J.; WERKER, A.; WELANDER, T. Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. **Biochemical Engineering Journal**. 40, 492–499, 2008.

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

FENG, Y.; WANG, X.; LOGAN, B. E.; LEE, H. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. **Appl Microbiol Biotechnol.** 78, 873–880, 2008.

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

LIN, C. Y.; LAY, C. H. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy.** 30, 285 – 292, 2005.

MONTEGGIA, L. O. **The Use of Specific Methanogenic Activity for Controlling Anaerobic Reactors.** PhD thesis, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne-UK. 1991.

MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A.A.Y.; NGAN, M.A.; FAKHRU'L-RAZI, A.; IYUKE, S.E.; BAKIR, A.M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy.** 29, 709 – 713, 2004.

OKAMOTO M, MLYAHARA T, MLZUNO O, NOIKE T. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solid wastes. **Water Science and Technology.** 41 (3), 25–32, 2000.

PAPANIKOLAOU S, RUIZ-SANCHEZ P, PARISET B, BLANCHARD F, FICK M. High production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated *Clostridium butyricum* strain. **Journal of Biotechnology.** 77, 191–208, 2000.

SEIFERT, K.; WALIGORSKA, M.; WOJTOWSKI, M.; LANIECKI, M. Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy.** 34, 3671-3678, 2009.

SRIKANTH, S.; VENKATA MOHAN, S.; PRATHIMA DEVI, M.; PERI, D.; SARMA, P. N. Acetate and butyrate as substrates for hydrogen production through photo-fermentation: Process optimization and combined performance evaluation. **International Journal of Hydrogen Energy.** 34, 7513-7522, 2009.

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

VAN NIEL, E. W. J.; CLAASSEN, P. A. M.; STAMS, A. J. M. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. **Biotechnol Bioeng.** 81, 255–62, 2003.

WANG, B.; WAN, W.; WANG J. Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy.** 33, 7013 – 7019, 2008.

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

XIAO, B.; LIU, J. Biological hydrogen production from sterilized sewage sludge by anaerobic self-fermentation. **Journal of Hazardous Materials.**168, 163-167, 2009.

XIAO, B.; HAN, Y.; LIU, J. Evaluation of biohydrogen production from glucose and protein at neutral initial pH. **International Journal of Hydrogen Energy.** 35, 6152 – 6160, 2010.

YANG, P.; ZHANG, R.; MCGARVEY, J. A.; BENEMANN, J. R. Biohydrogen production from cheese processingwastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. **International Journal of Hydrogen Energy.** 32, 4761 – 4771, 2007.

YU, H. Q.; FANG, H. H. P. Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters. **Water Research.** 35 (15), 3697-3705, 2001.

ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. **Journal of Environmental Management.** 74, 65 – 70. 2005.

6 - Influência do controle de pH na produção de hidrogênio a partir da glicose

Resumo: Os microrganismos anaeróbios produtores de hidrogênio sofrem influência de fatores ambientais principalmente do pH. O comportamento do pH durante o processo de digestão anaeróbia pode influenciar na porcentagem de hidrogênio no biogás e na produção de ácidos graxos voláteis (AGV). Para verificar esta influência foram realizados testes com fermentadores com controle de pH e sem controle de pH, utilizando glicose como fonte de matéria orgânica na concentração de 12.000mgDQO.L⁻¹, concentração de lodo de 2.500mgSVT.L⁻¹ e testados os valores de pH de 5,0; 5,5 e 6,0. As maiores porcentagens de hidrogênio, produção de AGV, grau de acidificação e remoção de matéria orgânica ocorreram quando não houve o controle do pH ao longo do teste.

Palavras chave: hidrogênio, controle de pH, AGV, glicose

1. Introdução

O hidrogênio é um carreador energético que, durante sua combustão, produz energia limpa sem a emissão dos gases responsáveis pelo efeito estufa. Existem diversos processos de produção de hidrogênio, dentre os quais está a conversão biológica da matéria orgânica. Um grande número de espécies de microrganismos anaeróbios obrigatórios e facultativos, cianobactérias e bactérias fotossintéticas têm-se mostrado excelentes produtores de hidrogênio. A produção biológica de hidrogênio a partir da biomassa apresenta-se como solução promissora no que diz respeito ao aproveitamento de resíduos que normalmente são dispostos no meio ambiente, na maior parte dos casos, sem o tratamento adequado (Cheong & Hansen, 2006).

Microrganismos acidogênicos do gênero *Clostridium sp.* têm sido estudados devido ao seu potencial para gerar hidrogênio e podem ser classificados como microrganismos proteolíticos ou sacarolíticos dependendo do substrato orgânico que será degradado. Microrganismos acidogênicos proteolíticos degradam proteínas e aminoácidos, enquanto que os acidogênicos sacarolíticos degradam carboidratos e são amplamente estudados devido a sua habilidade em produzir altas quantidades de hidrogênio (Khanal *et al.*, 2004).

O mecanismo da fermentação acidogênica da matéria orgânica envolve a solubilização da matéria em suspensão, a hidrólise de compostos solúveis como os açúcares,

aminoácidos e ácidos graxos de cadeia longa e a formação de ácidos graxos voláteis como os ácidos acético, propiônico, butírico e valérico (Borja *et al.*, 2005).

De acordo com Mosche & Jordening (1999), a cinética da fermentação acidogênica pode ser descrita considerando dois aspectos: a assimilação do substrato baseado na redução da demanda química de oxigênio (DQO) e na formação de produtos baseados na produção de ácidos voláteis. O mecanismo da utilização do substrato pela célula microbiana é descrito como uma seqüência de três processos complexos: contato do microrganismo com a molécula do substrato; transporte para o interior da célula e metabolismo do substrato.

Muitos aspectos do metabolismo microbiano são influenciados por variações do pH, incluindo: a utilização de fontes de carbono, eficiência na degradação do substrato, síntese de proteínas e liberação de produtos do metabolismo celular. Estudos mostraram que o pH é um fator importante para a formação de produtos intermediários, além de afetar a atividade das enzimas hidrogenases e das rotas metabólicas de produção de hidrogênio (Zheng & Yu, 2004).

Alterações no pH provocam mudanças num grande número de espécies de uma população microbiana presente num reator acidogênico, causando diferenças na faixa ótima de pH para a produção de hidrogênio, a qual varia conforme o resíduo orgânico utilizado (Zheng & Yu, 2004). De acordo com Fang & Liu (2002), a faixa de pH ideal para produção de hidrogênio utilizando sucrose é de 4,0 a 4,5; para o amido varia de 4,7 a 5,7 e para glicose 5,5. Conforme Lin & Cheng (2006) para xilose o pH ideal está entre 6,0 e 7,0. Para águas residuárias da indústria alimentícia o valor fica em torno de 6,0 (Oh & Logan, 2006).

Este trabalho teve como objetivos estudar o comportamento do pH durante o processo de produção de hidrogênio e avaliar a influência do controle externo do pH na porcentagem de hidrogênio no biogás, na produção dos ácidos acético, propiônico e butírico, no grau de acidificação e na remoção de matéria orgânica do fermentador.

2. Materiais e métodos

2.1. Efluente

Foi utilizado como efluente solução de glicose na concentração, representada em base DQO, de $12.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, determinada em testes de padronização da medida da atividade hidrogênica de lodos.

2.2. Lodo

O lodo granular empregado nos testes foi oriundo de um reator UASB utilizado no tratamento de efluentes de uma indústria de processamento de soja. O lodo foi submetido ao processo de autoclavagem a 120°C durante 30 minutos, para eliminar os microrganismos metanogênicos, conforme descrito por Xiao & Liu (2009). Foi testada a concentração de sólidos voláteis totais (SVT) de 2.500mg.L⁻¹, a qual apresentou melhor desempenho em testes de medida de atividade realizados anteriormente.

2.3. pH

Foram testados os seguintes valores de pH inicial: 5,0; 5,5 e 6,0. Nos testes com controle a variação no valor do pH em relação ao seu valor inicial foi de ± 0,1 unidade. Para controle do pH utilizou-se solução de NaOH 1 mol.L⁻¹.

2.4. Meio nutricional

A solução nutricional utilizada nos testes, composta por micro e macro nutrientes, foi baseada em trabalhos realizados por Lin & Lay (2005) e por Feng *et al.* (2008) e cuja composição está descrita na Tabela 01.

Tabela 01 – Composição do meio nutricional utilizado nos testes de fermentação.

<i>Nutrientes</i>	<i>Concentração (mg.L⁻¹)</i>
MgCl ₂ .6H ₂ O	40
CaCl ₂ .2H ₂ O	1.000
NH ₄ Cl	50
ZnCl ₂	2,5
MnSO ₄ .4H ₂ O	3,8
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	10
CuSO ₄ .5H ₂ O	5
KCl	130
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1.000
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	2.550
NiCl ₂ .6H ₂ O	2,5
KI	12,5
NaCl	1.000
FeSO ₄ .7H ₂ O	1
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5

2.5. Procedimento operacional

Os testes foram realizados utilizando fermentadores New Brunswick modelo BioFlo 110 com volume útil de 4L, de acordo com o seguinte procedimento:

- Autoclavagem do lodo;
- Adição da quantidade de lodo necessária ao teste e de igual volume de meio nutricional, conforme descrito por Lin & Lay (2005);
- Ajuste do pH utilizando HCl 1mol.L⁻¹ ou NaOH 1mol.L⁻¹;
- Inserção de gás nitrogênio no interior dos fermentadores, para eliminar o ar atmosférico;
- Ajuste da temperatura do teste para 35°C;
- Adaptação do lodo as condições operacionais durante o período noturno;
- Colocação do substrato orgânico (glicose) nos fermentadores;
- Ajuste do pH utilizando HCl 1mol.L⁻¹ ou NaOH 1mol.L⁻¹;
- Inserção de gás nitrogênio no interior dos fermentadores para eliminação do ar atmosférico.

O final do teste foi determinado pelo decréscimo na porcentagem de hidrogênio no biogás produzido.

2.6. Procedimentos analíticos

A análise da composição do biogás foi realizada utilizando cromatógrafo gasoso Dani GC 1000 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Molecular Sieve 80/100. As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 50°C; T detector: 50°C; T coluna: 40°C; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 25mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetado foi de 1mL, conforme adaptação da metodologia descrita por Morimoto *et al.* (2004).

A análise da concentração dos ácidos graxos acético, propiônico e butírico foi realizada através de cromatografia gasosa, conforme metodologia descrita no *Standard Methods* (2005). Utilizou-se o cromatógrafo gasoso Dani GC 1000, com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar AT 1000 (30m x 0,32mm x 0,25µm). As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 150°C; T detector: 240°C; T forno: 95°C por 2 min., 140°C a 10°C.min.⁻¹, 200°C a 40°C.min.⁻¹, 200°C por 5min e retorno a temperatura inicial; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 1mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetada foi de 1µL. Antes da análise no cromatógrafo, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos e filtradas

utilizando filtro de fibra de vidro com diâmetro de poro de 0,6 μ m, a fim de eliminar a interferência dos sólidos suspensos.

Para verificar a concentração de AGV proveniente do lodo autoclavado foi coletada uma alíquota do sobrenadante do *mixed liquor* antes da adição do substrato orgânico.

O mesmo procedimento de preparação de amostra utilizado para a análise de AGV foi adotado para a análise da concentração de matéria orgânica, em base DQO, determinada conforme procedimento descrito no *Standard Methods* (2005).

O grau de acidificação foi determinado pela razão entre a DQO dos produtos da acidogênese no efluente (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) e no biogás (hidrogênio) e a DQO inicial dentro do fermentador, conforme metodologia descrita por Bengtsson *et al.* (2008).

3. Resultados e discussão

3.1. Variação do pH no fermentador sem controle

A Figura 01 mostra a variação observada no valor do pH em função do tempo nos valores de pH estudados.

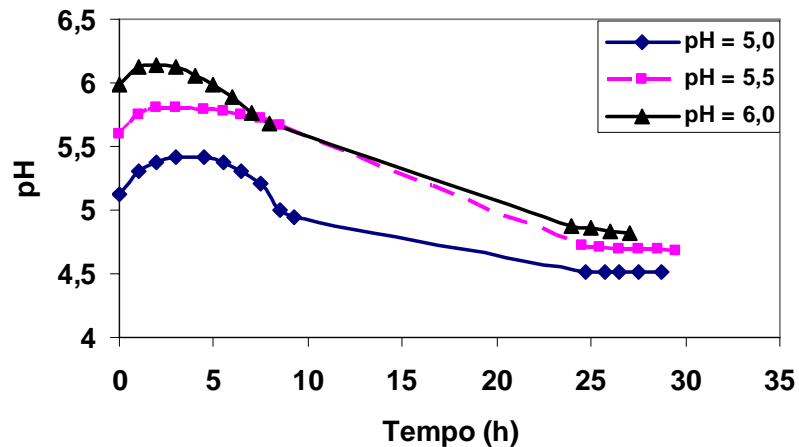


Figura 01 – Variação do valor do pH em função do tempo para cada valor de pH estudado.

Nos testes realizados com valores iniciais de pH iguais a 5,0 e 5,5 foi observado um aumento de 0,4 unidades de pH nas primeiras 5 horas do teste. Transcorrido esse período

verificou-se o decréscimo gradual nos valores do pH, que ao final dos testes apresentou-se em $4,6 \pm 0,1$.

Assim como ocorrido nos testes com os valores de pH de 5,0 e 5,5, no teste realizado com o valor do pH ajustado para 6,0 também foi observado um acréscimo de 0,2 unidades no valor do mesmo, porém esse comportamento foi observado nas 3 primeiras horas de teste. Ao final do teste o valor do pH apresentou-se em 4,8.

Nos testes realizados observou-se um pequeno aumento no valor do pH no início do processo fermentativo, provavelmente devido a adaptação dos microrganismos a condição ambiental imposta. A produção de hidrogênio e o acúmulo dos AGV dentro do fermentador provocaram uma queda gradual nos valores do pH do *mixed liquor*, os quais permaneceram na faixa entre 4,5 a 4,8 ao final do teste.

3.2. Porcentagem de hidrogênio no biogás

A partir das análises cromatográficas realizadas durante o período de testes, foi calculada a porcentagem de hidrogênio no biogás ao longo do processo de fermentação. Nas Tabelas 02, 03 e 04 estão os percentuais de hidrogênio em função do tempo para os testes realizados nos valores de pH inicial de 5,0; 5,5 e 6,0, respectivamente, nos fermentadores com e sem controle de pH.

Tabela 02 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $5,0 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.

Tempo (h)	Hidrogênio (%)	
	<i>Fermentador sem controle de pH</i>	<i>Fermentador com controle de pH</i>
2,4	0,00	0,12
3,3	0,23	0,26
5,6	1,52	0,71
6,7	2,83	0,94
7,9	6,95	0,61
8,7	12,45	0,99
25,5	21,44	19,14
26,6	20,61	19,73
27,5	20,23	20,38
28,8	19,81	20,14

Tabela 03 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $5,5 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.

Tempo (h)	Hidrogênio (%)	
	<i>Fermentador sem controle de pH</i>	<i>Fermentador com controle de pH</i>
2,6	0,00	0,44
3,4	0,15	0,29
4,9	0,27	0,59
6	1,17	1,45
7	3,08	1,23
8,2	1,23	2,88
26,2	20,69	20,06
27,2	20,50	20,51
29,9	20,06	19,83

Tabela 04 – Porcentagem de hidrogênio obtido nos testes com o valor do pH inicial ajustado para $6,0 \pm 0,1$ nos fermentadores com e sem controle de pH.

Tempo (h)	Hidrogênio (%)	
	<i>Fermentador sem controle de pH</i>	<i>Fermentador com controle de pH</i>
1,6	0,19	0,90
2,7	0,24	1,42
4,6	1,14	2,65
6	4,46	1,91
7,2	6,70	1,86
8	9,10	1,65
26	19,90	19,72
26,7	20,90	19,02
28,2	20,03	19,31

Em todos os valores de pH estudados, a porcentagem de hidrogênio determinada no biogás do fermentador sem controle de pH apresentou aumento acentuado nas primeiras 8 horas, enquanto que no fermentador com controle de pH este aumento foi menor, indicando forte interferência do controle do pH na partida do processo fermentativo.

O valor do pH inicial mostrou influência na produção de hidrogênio do fermentador sem controle. Para o pH inicial de 5,0 a porcentagem de hidrogênio atingiu o valor

máximo de 12,5%, enquanto que para os valores de pH inicial igual a 5,5 e 6,0 essa porcentagem foi de 1,23 e 9,1%, respectivamente, nas 8 horas iniciais dos testes.

Dentre os valores de pH testados, foi verificado que a condição que resultou na maior porcentagem de hidrogênio no biogás ocorreu quando o pH inicial foi ajustado para 5,0, corroborando o estudo realizado por van Ginkel *et al.* (2001) onde os autores estabeleceram, utilizando testes em batelada, que o valor de pH ideal para a máxima produção de hidrogênio foi igual a 5,0.

Os resultados indicaram que a produção de hidrogênio nos fermentadores com controle de pH foi inibida nas primeiras horas, provavelmente devido a necessidade de um tempo de aclimação dos microrganismos à nova condição de pH antes do início da produção de hidrogênio. Os percentuais de hidrogênio no período final dos testes variaram entre 19,0 e 21,44%, independentemente do valor de pH testado e do controle ou não do mesmo, sendo esse resultado mais um indicativo da provável necessidade de adaptação inicial dos microrganismos às condições de processo. Conforme Li *et al.* (2007), o pH é um fator que influencia as atividades dos microrganismos fermentativos os quais necessitam alterar sua fisiologia para adequarem-se as variações ambientais.

A adição de NaOH ao *mixed liquor* para o controle do pH não deve ter causado efeito adverso aos microrganismos uma vez que a concentração máxima de sódio adicionada aos fermentadores foi de 600 mg.L⁻¹. Conforme descrito por Grady Jr. (1999), a concentração a partir da qual é observada toxicidade causada pelo sódio em processos anaeróbios situa-se na faixa de 3.500 a 8.000 mg.L⁻¹.

Os efeitos negativos do controle do pH sobre o processo de fermentação de efluentes domésticos foram observados por Cokgor *et al.* (2009). Os autores verificaram decréscimo na eficiência do processo fermentativo e aumento no tempo de partida do processo quando o valor do pH foi controlado durante todo o período dos testes.

3.3. Produção dos AGV

Antes da adição do substrato orgânico no fermentador foram determinadas as concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico no sobrenadante do *mixed liquor*, as quais resultaram em 257,2mg.L⁻¹; 90,1mg.L⁻¹ e 57mg.L⁻¹, respectivamente.

Na Figura 02 estão os resultados das análises dos AGV para os valores de pH testados com e sem controle.

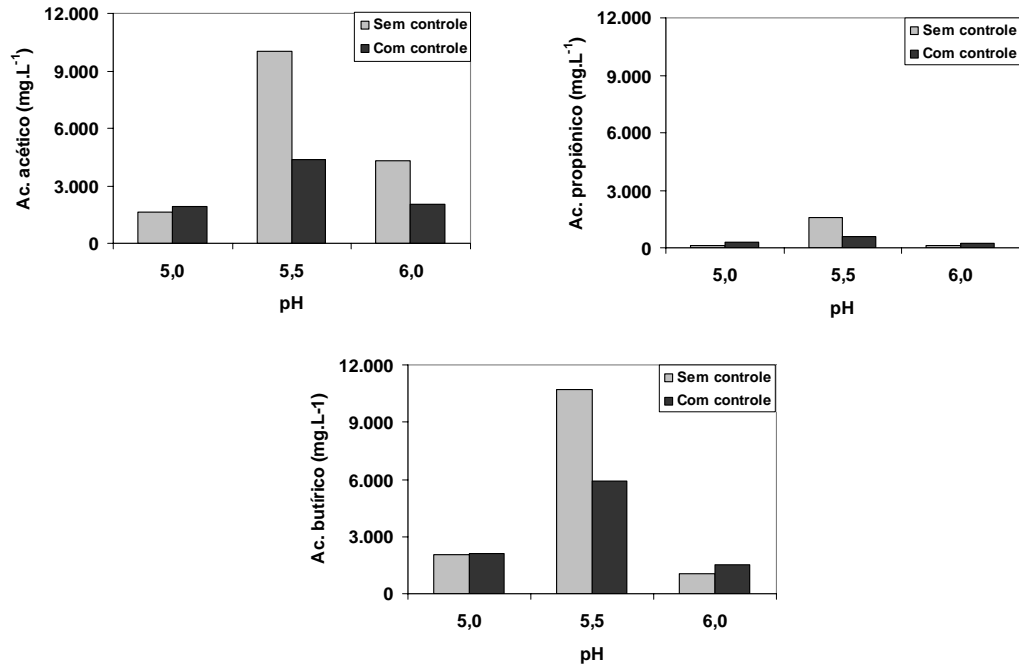


Figura 02 – Concentração dos ácidos acético propiônico e butírico em função do valor do pH inicial para os testes realizados com e sem controle de pH.

Os resultados obtidos demonstraram que o controle de pH durante o período do teste prejudicou a produção dos AGV. As maiores concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico foram observadas quando o pH inicial foi ajustado para 5,5 e o processo foi mantido sem controle do pH.

O teste em que o valor do pH não foi controlado apresentou as concentrações máximas de ácido acético, propiônico e butírico de 10.264, 1.655 e 10.791mg.L⁻¹, respectivamente. Para o teste realizado com controle do valor do pH durante o processo de fermentação, os respectivos valores das concentrações dos AGV foram de 4.629, 677 e 5.993mg.L⁻¹. O ácido butírico foi o AGV encontrado em maior quantidade ao final do teste, seguido pelo ácido acético e ácido propiônico, indicando a presença de microrganismos do gênero *Clostridium sp.* no lodo utilizado, os quais conforme Kong *et al.* (2006), são responsáveis pela presença, em altas concentrações, dos ácidos acético e butírico em processos anaeróbios. Estudos realizados por Ylmaz & Demirer (2008) e Cokgor *et al.* (2009) com reatores controlados

e sem controle de pH apresentaram resultados semelhantes em termos da diminuição na produção de AGV influenciada pelo controle de pH.

Durante o teste com pH controlado observou-se a formação de espuma na superfície do *mixed liquor* quando a porcentagem de hidrogênio no biogás superou 10%. A constante adição de NaOH para controlar o pH no valor determinado pode ter provocado a saponificação dos ácidos graxos produzidos no interior do fermentador, diminuindo sua porcentagem ao final do teste. Não foi observada formação de espuma no reator sem controle de pH.

Na Tabela 05 estão apresentados os graus de acidificação obtidos em cada valor de pH testado.

Tabela 05 – Grau de acidificação obtido para cada valor de pH testado.

Fermentador	Grau de acidificação ($\text{gDQO}_{\text{AGV}} \cdot \text{gDQO}_{\text{aft}}^{-1}$)		
	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,0$	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,5$	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$
Sem controle de pH	0,36	2,05	0,41
Com controle de pH	0,40	1,03	0,33

Verificou-se que o grau de acidificação foi influenciado pelo valor do pH inicial do teste e pelo controle do mesmo. O maior grau de acidificação foi observado quando o valor do pH inicial foi ajustado para 5,5 e o fermentador foi mantido sem o controle do pH, indicando que essas condições são ideais para a produção de ácidos que posteriormente podem ser aproveitados em outros processos. Ylmaz & Demirer (2008) e Cokgor *et al.* (2009) verificaram que o controle de pH diminuiu a acidificação dos efluentes testados em comparação aos efluentes fermentados sem controle de pH, comportamento semelhante ao que foi observado nesse trabalho.

Na Tabela 06 estão apresentados os percentuais de remoção de matéria orgânica em cada fermentador para as condições estudadas.

Tabela 06 – Percentual de remoção de matéria orgânica, em base DQO, em cada fermentador para as condições estudadas.

Fermentador	Remoção de DQO solúvel (%)		
	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,0$	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,5$	$\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$
Sem controle de pH	21,7	57,6	84,3
Com controle de pH	11,5	15,2	42,5

Os maiores percentuais de remoção de matéria orgânica ocorreram quando não houve controle do pH. O pH inicial também influenciou nesse percentual, sendo que o valor de pH mais elevado (6,0) propiciou maior remoção de matéria orgânica ao final do teste.

4. Conclusões

O percentual de hidrogênio no biogás produzido nos fermentadores sem controle de pH foi influenciado pelo valor do pH inicial, sendo a maior produção observada no valor mais baixo de pH. O controle no valor do pH também influenciou a produção de hidrogênio, o qual decresceu quando o pH foi controlado durante o período dos testes. Além disso, verificou-se que o controle do pH retardou o tempo de partida do processo fermentativo, bem como o aumento da porcentagem de hidrogênio no biogás quando comparado com o fermentador sem controle de pH.

A produção de AGV, principalmente os ácidos acético e butírico, foi maior quando o pH inicial foi de 5,5 e os fermentadores foram mantidos sem controle de pH. O controle do pH prejudicou a produção de AGV provavelmente devido a adição constante de álcali, que pode ter provocado a saponificação desses compostos.

Novamente o controle de pH apresentou efeito negativo sobre o grau de acidificação dos fermentadores o qual foi maior quando o pH inicial foi ajustado para 5,5 e mantido sem controle.

A remoção de matéria orgânica também foi prejudicada pelo controle do pH, sendo menor quando o pH do fermentador foi controlado durante todo o período do teste.

O ajuste do pH inicial dos testes demonstrou um papel fundamental no processo de produção de hidrogênio, porém seu controle durante o todo o processo de fermentação causou prejuízos na produção do hidrogênio, na produção de AGV e na remoção de matéria orgânica. Esses resultados demonstraram que o controle do pH durante a fermentação não apresenta efeitos positivos sobre os microrganismos envolvidos no processo. Entretanto, são necessários estudos adicionais para determinar quais são as reais causas deste comportamento.

5. Referências bibliográficas

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.

- BORJA, R.; SANCHEZ, E.; RINCON, B.; RAPOSO, F.; MARTIN, M.A.; MARTIN, A. Study and optimisation of the anaerobic acidogenic fermentation of two-phase olive pomace. **Process Biochemistry**. 40, 281–291, 2005.
- BENGTSSON, S.; HALLQUIST, J.; WERKER, A.; WELANDER, T. Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. **Biochemical Engineering Journal**. 40, 492–499, 2008.
- CHEONG, D. Y.; HANSEN, C. L. Acidogenesis characteristics of natural, mixed anaerobes converting carbohydrate-rich synthetic wastewater to hydrogen. **Process Biochemistry**. 41, 1736–1745, 2006.
- COKGOR, E. U.; OKTAY, S.; TAS, D. O.; ZENGIN, G. E.; ORHON, D. Influence of pH and temperature on soluble substrate generation with primary sludge fermentation. **Bioresource Technology**. 100, 380–386, 2009.
- FAN, Y.; LI, C.; LAY, J. J.; HOU, H.; ZHANG, G. Optimization of initial substrate and pH levels for germination of sporing hydrogen-producing anaerobes in cow dung compost. **Bioresource Technology**. 91, 189–193, 2004.
- FANG, H. H. P.; LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource technology**. 82, 87-93, 2002.
- FENG, Y.; WANG, X.; LOGAN, B. E.; LEE, H. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. **Appl Microbiol Biotechnol**. 78, 873–880, 2008.
- GRADY JR., C. P. L.; DAIGGER, T. G.; LIM, H.C. **Biological wastewater treatment. Second edition, revised and expanded**. New York, USA. Ed. Marcel Dekker, 1999. 1076p.
- KHANAL S.K.; CHEN, W. H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 1123 – 1131, 2004.
- KONG, Q.; HE, G.Q.; CHEN, F.; RUAN, H. Studies on a kinetic model for butyric acid bioproduction by *Clostridium butyricum*. **Letters in Applied Microbiology**. 43, 71–77, 2006.
- KRAEMER, J. T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnol Lett**. 29, 685–695, 2007.

- LI, Y. F.; REN, N. Q.; CHEN, Y.; ZHENG, G.Z. Ecological mechanism of fermentative hydrogen production by bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 755 – 760, 2007.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, 30, 285 – 292, 2005.
- LIN, C. Y.; CHENG, C. H. Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 832 – 840, 2006.
- MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A.A.Y.; NGAN, M.A.; FAKHRU'L-RAZI, A.; IYUKE, S.E.; BAKIR, A.M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 709 – 713, 2004.
- MÖSCHE, M.; JÖRDENING, H. J. Comparison of different models of substrate and product inhibition in anaerobic digestion. **Water Research**. 33 (11), 2545 – 2554, 1999.
- OH, S. E.; LOGAN, B. E. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Research**. 39, 4673–4682, 2005.
- VAN GINKEL, S.; SUNG, S. W.; LI, L.; LAY, J. J. Role of initial sucrose and pH levels on natural, hydrogen-producing, anaerobe germination. Proceedings of the 2001 DOE Hydrogen Program Review. 2001.
- WANG, B.; WAN, W.; WANG J. Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**. 33, 7013 – 7019, 2008.
- XIAO, B.; LIU, J. Biological hydrogen production from sterilized sewage sludge by anaerobic self-fermentation. **Journal of Hazardous Materials**. 168, 163-167, 2009.
- YILMAZ, V.; DEMIRER, G. N. Improved anaerobic acidification of unscreened dairy manure. **Environmental Engineering Science**. 25 (3), 309-317, 2008.

ZHENG, X. J.; YU, H. Q. Roles of pH in biologic production of hydrogen and volatile fatty acids from glucose by enriched anaerobic cultures. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 112, 79 – 90. 2004.

7 - Efeito do pH e da temperatura na concentração de hidrogênio produzido a partir de efluentes da suinocultura

Resumo: O aumento na produção de suínos provocou a geração de grandes quantidades de dejetos em pequenas extensões de terra. Os dejetos suínos são classificados como resíduos de grande potencial poluidor por possuírem alta concentração de matéria orgânica a qual pode ser utilizada para a produção de biogás. O hidrogênio contido no biogás produzido a partir da decomposição anaeróbia desses dejetos pode ser utilizado como carreador energético limpo e renovável. O hidrogênio apresenta-se como uma alternativa promissora para a redução das emissões de gases oriundos da queima de combustíveis fósseis. Neste trabalho foram analisados o efeito do tempo de detenção celular na composição do biogás e os efeitos do pH e da temperatura da fase acidogênica na remoção de matéria orgânica, na otimização da produção de hidrogênio e no aumento da concentração de ácidos graxos voláteis utilizando efluentes gerados na criação de suínos. Foram empregados no processo reatores anaeróbios em dois estágios, um reator acidogênico e outro metanogênico. No reator acidogênico foram testados os tempos de detenção celular de 1,4; 1,7 e 2,5 dias, os valores de pH de 5,0 e 6,0 e as temperaturas: ambiente (de 15°C a 25°C), 35°C e 55°C. A maior remoção de matéria orgânica foi de 55%, para o tempo de detenção celular de 1,4 dia, valor de pH igual a 5,0 e temperatura de 35°C; nessas mesmas condições foi observada a maior concentração de hidrogênio obtida no biogás: 21,3% e a maior concentração de ácidos graxos no efluente do reator acidogênico.

Palavras-chave: hidrogênio, dejetos suínos, temperatura, pH.

1. Introdução

Os sistemas de produção de animais têm sofrido grandes transformações ao longo do tempo para suprir a crescente demanda por seus produtos. As características e tendências dos sistemas produtivos modernos apontam para um modelo de confinamento em unidades restritas, com aumento de escala de produção (Kunz, 2005).

Esta situação cria, em muitos casos, grandes problemas ambientais nas regiões produtoras, devido a alta geração de resíduos que na maioria dos casos tem como destino a simples disposição no solo. Esta prática faz com que se tenha um excesso de elementos no solo

(matéria orgânica, sólidos, nutrientes e patógenos), tornando difícil a absorção à mesma taxa em que estes elementos são aplicados. Este fato acarreta a lixiviação e/ou percolação destes elementos para os corpos d'água superficiais e subterrâneos, causando a poluição destes ambientes (Leneman *et al.* 1993; Sevrin-Reyssac, 1998; Kunz, 2005).

O lançamento indiscriminado das águas residuárias da suinocultura pode ocasionar sérios problemas sanitários, com a ocorrência de verminoses, alergias, hepatites; e ambientais, com a morte de peixes e animais, toxicidade em plantas e eutrofização dos recursos hídricos, além da proliferação de insetos e ocorrência de mau cheiro (Perdomo, *et al.* 2007).

A poluição nas regiões produtoras de suínos é alta, pois, enquanto o valor da demanda bioquímica de oxigênio aos 5 dias (DBO_5) do esgoto doméstico está entre 200 e $500\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, a DBO_5 dos dejetos de suínos oscila entre 30.000 e $52.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, ou seja, em torno de 260 vezes superior (Fernandes & Oliveira, 2006).

Antes de se escolher o sistema de tratamento é importante voltar as atenções para dentro do sistema de produção. O manejo e o tratamento do dejetos devem ser vistos como parte do processo produtivo. Tudo que for feito dentro das instalações influenciará positiva ou negativamente a eficiência do sistema de manejo e o tratamento de dejetos (Kunz, 2005).

Os sistemas de tratamento mais utilizados para os efluentes suinícolas são constituídos, essencialmente, por uma etapa inicial de separação da fração sólida seguido por lagoas interligadas em série. Uma das principais dificuldades para implantação desses sistemas de tratamento nas condições de campo é a disponibilidade de áreas para a sua construção, uma vez que o tempo de residência necessário para estes tratamentos encontra-se, na maioria dos casos, acima de 100 dias, exigindo uma grande capacidade de armazenamento das lagoas e, conseqüentemente, ocupando extensas áreas (Higarashi *et al.*, 2004).

Estudos realizados por Belli Filho *et al.* (2001) avaliaram a aplicação dos reatores de manta de lodo com fluxo ascendente (UASB) para tratar dejetos de suínos, em comparação às lagoas anaeróbias. Os resultados indicaram que o UASB pode apresentar-se como alternativa às lagoas anaeróbias, uma vez que sua eficiência na remoção de matéria orgânica foi semelhante a das lagoas, porém com tempo de detenção hidráulica (TDH) inferior (36 horas no UASB contra 120 dias nas lagoas).

Os reatores UASB possuem características operacionais e hidrodinâmicas mais eficiente que as lagoas e boa adaptação às condições climáticas do Brasil, para o tratamento de

diversos efluentes líquidos. Limitações do processo anaeróbio nos reatores UASB estão relacionadas à hidrólise dos sólidos suspensos voláteis (SSV) do afluente, considerados prejudiciais ao desenvolvimento do lodo granular, e que estão presentes em altas concentrações nas águas residuárias da suinocultura (Fernandes & Oliveira, 2006).

Os dejetos suínos direcionados a um biodigestor para serem decompostos reduzem em até 60% sua carga poluente e é obtido o biogás que pode substituir o gás de cozinha no aquecimento de aviários, entre outras utilidades. Com alto teor nutriente, os resíduos sólidos do biodigestor podem ser transformados em fertilizante natural para plantas (Perdomo *et al.*, 2007).

Devido a recente ratificação do protocolo de Kyoto, a biodigestão anaeróbia tem se difundido rapidamente dentro da suinocultura, pela possibilidade dos produtores obterem algum retorno financeiro pela venda de créditos de carbono. No que diz respeito a fração líquida, o processo de biodigestão anaeróbia apresenta grandes limitações, principalmente quando se trata da remoção de nutrientes, sendo necessário um tratamento complementar (Kunz, 2005).

Para tratar águas residuárias com altos teores de SSV é vantajoso aplicar o processo anaeróbio em dois estágios, o qual consiste em dois reatores em série, um para hidrólise parcial do material orgânico complexo (acidogênico) e o outro para digerir os compostos solúveis formados no primeiro reator (metanogênico). Esse processo apresenta vantagens como: tempo de processo reduzido; baixa razão alimento/microrganismo o que favorece a biodegradação, a floculação biológica e a sedimentação; permite o tratamento de efluentes a altas taxas; o processo apresenta melhor desempenho quando comparado com a digestão realizada em um único reator devido aos baixos volume e custo dos reatores. Além disso, apresenta a vantagem de ser desnecessário um sedimentador em separado, bem como a recirculação externa de lodo biológico, como é o caso do reator anaeróbio de contato. (Gosh, 1991, 1996; Azbar & Speece, 2001; Han *et al.*, 2002).

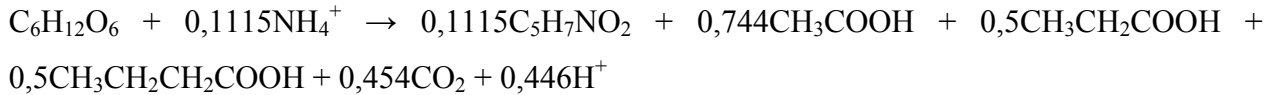
O dejetos suíno é um excelente resíduo para ser utilizado na obtenção de hidrogênio por decomposição anaeróbia, pois apresenta uma composição média de 54% de carboidratos e 21% de proteínas. Porém essa composição pode apresentar grandes variações dependendo do sistema de manejo adotado e, principalmente, da quantidade de água e nutrientes excretados pelos animais. O dejetos líquido dos suínos contém matéria orgânica, N, P, K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu e outros elementos incluídos nas dietas dos animais (Diesel *et al.*, 2002).

De acordo com Choi (2007), as reações químicas envolvidas na conversão do dejetos suíno em hidrogênio são as seguintes:

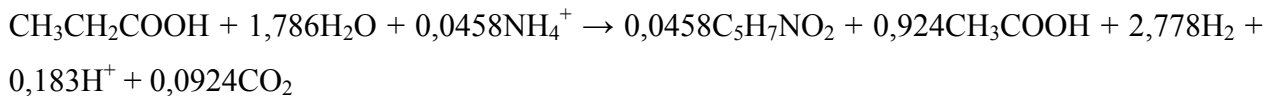
Hidrólise do dejetos



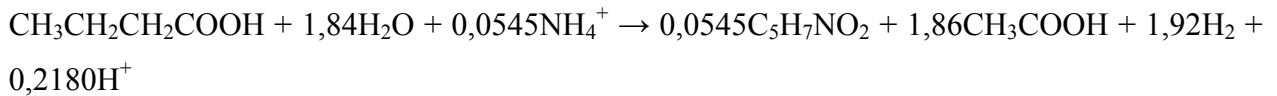
Acetogênese



Hidrogênese do propionato



Hidrogênese do butirato



A biodegradabilidade de resíduos animais está principalmente relacionada a quantidade de carboidratos presentes, os quais são a principal matéria prima para a produção de hidrogênio. Cada composto presente no resíduo é degradado em diferentes condições de pH e tempo de detenção hidráulico, mostrando que a produção de hidrogênio depende do ajuste das condições de processo (Han & Shin, 2004).

O hidrogênio é considerado um combustível limpo, não poluente e inofensivo para as pessoas e para o meio ambiente quando comparado a outros combustíveis, pois durante sua queima ocorre a produção de água (Levin *et al.*, 2004).

O hidrogênio produz mais energia por unidade de peso do que qualquer outro combustível, cerca de três vezes mais que a gasolina e cerca de sete vezes mais que o carvão, sendo que cada grama de hidrogênio produz 120,7kJ de energia (Busby, 2005).

Neste trabalho foram avaliados o tempo de detenção celular (TDC) adequado à produção de hidrogênio e os efeitos do pH e da temperatura da fase acidogênica no tratamento do

efluente da suinocultura, na concentração de hidrogênio no biogás formado e na produção de ácidos graxos voláteis (AGV), utilizando um sistema de dois reatores em série.

2. Materiais e métodos

2.1. Efluente

O efluente utilizado foi coletado numa propriedade rural que possuía uma criação de suínos composta por aproximadamente 100 animais, localizada no interior de Porto Alegre, o mesmo está caracterizado na Tabela 01. Foram utilizadas 6 amostragens para o cálculo do valor médio e do desvio padrão de cada parâmetro caracterizado, os quais estão mostrados nos Anexos, Tabela D.1.

O manejo dos animais consistiu na lavagem das pocilgas sem a ocorrência de raspagem preliminar, gerando um efluente com alto teor de matéria orgânica. O efluente foi coletado semanalmente e peneirado utilizando-se uma peneira com malha de 5mm, a fim de remover sólidos mais grosseiros, e posteriormente armazenado sob condições de refrigeração na temperatura de 4°C.

Tabela 01 – Características do efluente coletado na propriedade rural.

Parâmetro	Valor médio	Desvio padrão
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	3.047,0	526,9
Amônia (mgNH ₄ -N.L ⁻¹)	727,7	77,8
Nitrogênio total Kjeldahl (mgN.L ⁻¹)	1.673,8	340,9
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)	23.868,5	1.425,2
Sólidos voláteis totais (mg.L ⁻¹)	17.652,8	1.990,4
DQO total (mgO ₂ .L ⁻¹)	50.838,2	10.268,1
pH	6,5	0,5

2.2. Sistema operacional utilizado

O sistema, operado em batelada, foi constituído de um tanque para armazenamento do efluente líquido; um reator anaeróbio acidogênico com capacidade para 23L e um reator anaeróbio metanogênico com capacidade para 46L, ambos em acrílico. A mistura foi promovida por um agitador mecânico instalado na parte superior dos reatores. O sistema está mostrado na Figura 01.

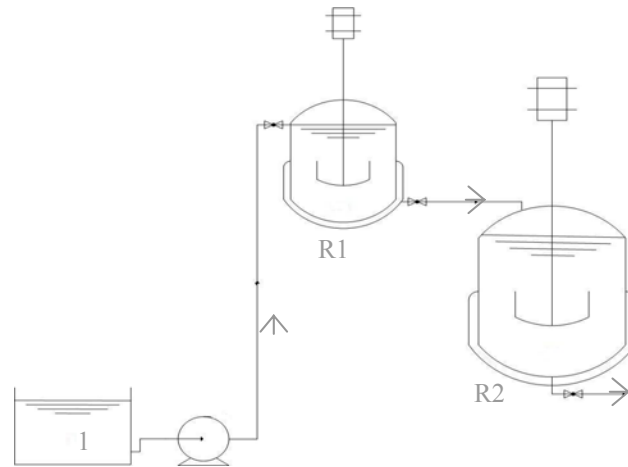


Figura 01 – Sistema utilizado no tratamento do efluente da suinocultura. 1 – tanque de alimentação, R1 – reator acidogênico e R2 - reator metanogênico.

2.3. Operação do reator acidogênico

Para a autoinoculação e enriquecimento de 1,5L de lodo acidogênico no reator, foram utilizados 18L de efluente, com tempo de reação de 24 horas. A temperatura do efluente foi mantida em $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante todo o período do teste e o pH do efluente foi ajustado para $5,0 \pm 0,2$, por meio da adição de HCl ou NaOH 1mol.L^{-1} . Este procedimento foi repetido por um período de 45 dias.

O tempo de reação utilizado foi baixo, pois a fermentação dos açúcares simples e aminoácidos em ácidos acético, propiônico e butírico e hidrogênio completa-se em 24 horas (Grady Jr. *et al.*, 1999).

Os tempos de detenção celular (TDC) testados no reator acidogênico foram de 2,5; 1,7 e 1,4 dias, correspondendo ao descarte de 2; 3 e 3,5L de lodo acidogênico, sendo o limite superior estabelecido em função da necessidade de controle do desenvolvimento das bactérias *Methanosarcina*, que ocorre a partir do terceiro dia (Grady Jr. *et al.*, 1999). Durante os testes de controle do TDC manteve-se o reator a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Gavala *et. al.*, 2006) e o pH do efluente na entrada foi ajustado para $5,0 \pm 0,2$ (Van Ginkel & Sung, 2001).

Após o controle do TDC a operação do reator acidogênico foi realizada de acordo com o seguinte procedimento:

1 – Preparo de 18 litros de afluente, composto por 80% de dejetos suínos e 20% de água;

- 2 – Ajuste do valor do pH do afluente para 5,0 ou 6,0 por meio da adição de NaOH (1mol.L^{-1}) ou HCl (1mol.L^{-1});
- 3 – Bombeamento do afluente para dentro do reator acidogênico;
- 4 – Após 23 horas, a agitação foi desligada e o efluente foi deixado em processo de sedimentação por 1 hora;
- 5 – Transferência de 14,5L de efluente do reator acidogênico para o reator metanogênico;
- 6 – Retirada, sob agitação, de 3,5L de lodo acidogênico;
- 7 – Inserção de nova batelada de afluente no reator acidogênico.

Foram testadas, no reator acidogênico, as temperaturas: ambiente (de 15°C a 25°C), 35°C e 55°C . Estudos realizados por Souza (2005) mostraram forte influência da temperatura sobre o tempo gasto para atingir o nível máximo de produção de biogás utilizando efluente suíno.

2.4. Operação do reator metanogênico

O lodo utilizado para finalizar o processo de digestão iniciado no reator acidogênico foi proveniente de uma indústria de processamento de gelatina.

A inoculação se deu com o reator vazio para onde transferiu-se 5 L de lodo e 25 L de efluente com diluição de 50%, os quais ficaram em agitação por 23 horas. Passado esse tempo o efluente permaneceu em repouso por uma hora e o sobrenadante foi descartado antes de receber a próxima carga de efluente. Esse procedimento foi repetido durante 30 dias. Para finalizar a adaptação do lodo, nos 15 dias subseqüentes o reator recebeu o efluente oriundo do reator acidogênico.

A operação do reator metanogênico durante o teste consistiu na retirada diária de 14,5L de efluente, após 1 hora de sedimentação, e adição de 14,5L de afluente oriundo do reator acidogênico. O tempo de reação utilizado foi de 48 horas, a temperatura do reator metanogênico foi mantida em $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e o valor do pH do afluente não foi ajustado. O parâmetro idade do lodo não foi controlado durante o teste, uma vez que o foco principal do estudo estava na operação do reator acidogênico.

2.5. Procedimentos analíticos

Nos testes de produção de hidrogênio utilizando efluente da suinocultura foram analisados os parâmetros descritos na Tabela 02, sendo o efluente analisado na entrada e na saída

dos reatores anaeróbios, além da análise da composição do biogás em cada uma das etapas do processo e a formação dos ácidos graxos acético, propiônico e butírico.

Tabela 02 – Parâmetros físicos e químicos analisados e suas respectivas metodologias.

Parâmetro	Método	Referência
Alcalinidade	Potenciométrico	<i>Standard Methods (2005)</i>
pH	Potenciométrico	<i>Standard Methods (2005)</i>
Sólidos totais (ST)	Gravimétrico	<i>Standard Methods (2005)</i>
Sólidos voláteis totais (SVT)	Gravimétrico	<i>Standard Methods (2005)</i>
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Titulométrico	<i>Standard Methods (2005)</i>
Ácidos graxos voláteis (AGV)	Cromatográfico	<i>Standard Methods (2005)</i>

O sistema foi operado durante 7 meses, incluindo a partida dos reatores e a aclimação entre as etapas. Foram realizadas 8 repetições de cada ensaio, após a estabilização das condições operacionais.

A análise da composição do biogás foi realizada utilizando cromatógrafo gasoso Dani GC 1000 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Molecular Sieve 80/100. As condições cromatográficas utilizadas foram: T injetor: 50°C; T detector: 50°C; T coluna: 40°C; o gás de arraste utilizado foi Hélio com fluxo de 25mL.min⁻¹ e o volume de amostra injetada foi de 1mL, conforme metodologia adaptada de Morimoto *et al.* (2004).

3. Resultados e discussão

3.1. Controle do TDC no reator acidogênico

Durante o controle do TDC ideal para o processo de produção de hidrogênio foram analisados: alcalinidade, DQO total, teor de sólidos e concentração dos gases gerados. Nas tabelas e figuras a seguir estão os resultados obtidos nas análises do efluente inicial e nas saídas dos reatores acidogênico e metanogênico em cada um dos TDC estudados. Foram realizadas 4 repetições para cada condição estudada.

A Tabela 03 apresenta os dados de alcalinidade medida em cada ponto do sistema. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão contidos nos Anexos, Tabelas D.2 e D.3.

Tabela 03 – Alcalinidade média das amostras dos reatores em cada TDC estudados.

TDC (dias)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)		
	<i>Afluente</i>	<i>Efluente acidogênico</i>	<i>Efluente metanogênico</i>
2,5	2.305,5	1.316,2	3.070,3
1,7	2.548,5	1.883,9	3.280,2
1,4	2.218,8	1.434,1	2.260,7

n = 4

Verifica-se uma redução na alcalinidade do efluente que sai do reator acidogênico, em relação ao efluente inicial, variando de 26% para 1,7 dias de TDC a 43% para o TDC de 2,5 dias, indicando que houve consumo da alcalinidade devido a produção de ácidos.

Na Tabela 04 estão os valores médios de DQO medidos em cada estágio do sistema e a eficiência global de remoção, obtida após a saída do efluente do reator metanogênico. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão mostrados nos Anexos, Tabelas D.4 e D.5.

Tabela 04 – Valores médios de DQO total obtidos em cada etapa para os TDC estudados e eficiência global de remoção.

TDC (dias)	DQO total (mgO ₂ .L ⁻¹)			<i>Eficiência global de remoção (%)</i>
	<i>Afluente</i>	<i>Efluente acidogênico</i>	<i>Efluente metanogênico</i>	
2,5	52.736,8	38.210,5	18.235,8	65
1,7	46.736,8	33.789,5	22.736,8	51
1,4	36.766,6	28.891,1	11.688,4	68

n = 4

Foi observado um decréscimo de mais de 20% na concentração da matéria orgânica na saída do reator acidogênico em todos os TDC estudados. A remoção global da DQO total, que corresponde a passagem do efluente pelos dois reatores, foi maior para o TDC de 1,4 dia (68%) indicando que nesta condição o reator acidogênico maximizou a hidrólise dos compostos presentes no efluente, facilitando a sua degradação no reator metanogênico, o qual para essa condição removeu 59% da DQO total do efluente proveniente do reator acidogênico.

Para o tratamento de efluentes complexos, como o efluente da suinocultura, são necessários TDC mais elevados a fim de hidrolisar os compostos com velocidade de degradação lenta e, assim, aumentar a eficiência do processo de remoção de matéria orgânica.

Na Tabela 05 estão mostrados os dados de ST e SVT em cada estágio do sistema nos TDCs estudados. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão contidos nos Anexos, Tabelas D.6, D.7, D.8 e D.9.

Tabela 05 – Concentração de ST e SVT em cada estágio do sistema para os TDC estudados.

TDC (dias)	Sólidos	Concentração (mg.L ⁻¹)		
		<i>Afluente</i>	<i>Efluente acidogênico</i>	<i>Efluente metanogênico</i>
2,5	ST	27.576,0	24.150,0	12.017,0
	SVT	21.709	18.477,0	7.990,0
1,7	ST	24.223,0	19.143,0	11.735,0
	SVT	18.597	13.562,0	6.636,0
1,4	ST	22.450,0	18.674,0	9.273,0
	SVT	17.201,0	15.158,0	5.599,0

n = 4

Na Tabela 06 estão os percentuais de ST e SVT removidos do sistema para os TDCs estudados.

Tabela 06 - Percentuais de ST e SVT removidos do sistema em cada TDC estudado.

TDC (dias)	Sólidos	Remoção (%)		
		<i>Reator acidogênico</i>	<i>Reator metanogênico</i>	<i>Global</i>
2,5	ST	12	50	56
	SVT	15	57	63
1,7	ST	21	39	52
	SVT	27	51	64
1,4	ST	17	11	50
	SVT	12	63	67

A remoção global de SVT variou entre 63 e 67% para os TDC estudados. Foi observado o decréscimo na eficiência do reator metanogênico na remoção de SVT do efluente oriundo do reator acidogênico para o TDC de 1,7 dia, enquanto que para os TDCs de 1,4 e 2,5 dias as eficiências de remoção foram maiores que 57%.

Na Figura 02 está a composição média do biogás formado no reator acidogênico em cada TDC estudados. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão mostrados nos Anexos, Tabelas D.10 e D.11. Foram analisadas 4 amostras em cada condição estudada.

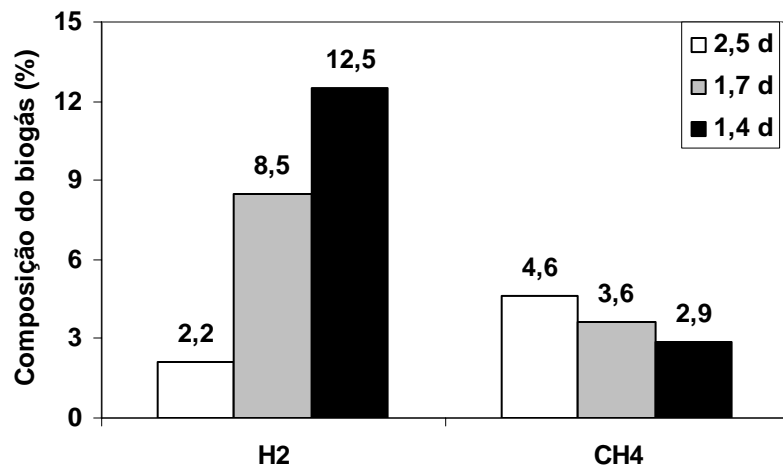


Figura 02– Composição média do biogás do reator acidogênico para cada TDC testado.

A maior concentração de hidrogênio e a menor concentração de metano foram obtidas quando o TDC foi de 1,4 dia, indicando que a ação dos microrganismos metanogênicos foi parcialmente inibida. De acordo com Hawkes *et al.* (2002), os altos tempos de detenção celular no processo de produção de hidrogênio facilitam o crescimento de microrganismos que competem com as bactérias acidogênicas pela utilização do substrato e que são consumidoras de hidrogênio, como as bactérias metanogênicas. Os estudos realizados por Khanal *et al.* (2004) mostraram que a fase metanogênica pode ser inibida através de baixos TDC.

A concentração média de metano no biogás formado no reator metanogênico para cada TDC testado no reator acidogênico foi menor quando o TDC no reator acidogênico foi mais baixo, conforme mostrado na Figura 03.

Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão nos Anexos, Tabelas D.10 e D.11. Foram analisadas 4 amostras em cada condição estudada.

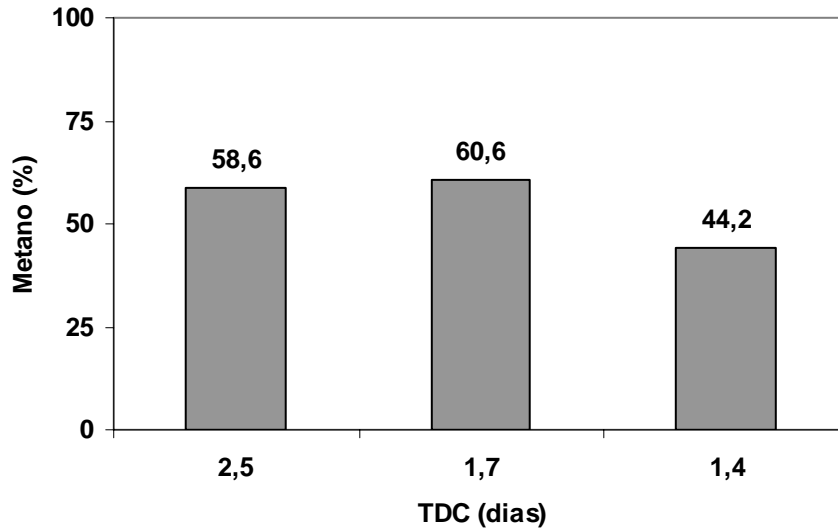


Figura 03 - Concentração média de metano no biogás formado no reator metanogênico para cada TDC testado no reator acidogênico.

A queda na concentração média de metano produzido no reator metanogênico pode ter ocorrido devido a entrada de efluente com alto teor de compostos orgânicos insolúveis, uma vez que o processo de hidrólise no reator acidogênico não ocorreu de maneira adequada devido ao baixo TDC, o que dificultou sua utilização pelos microrganismos metanogênicos (Borja *et al.*, 2005).

Yilmaz & Demirer (2008) estudaram o efeito do TDC na acidificação de reatores anaeróbios que utilizaram dejetos bovinos como efluente e observaram uma queda significativa no pH do efluente e maior acidificação quando o TDC foi de 2 dias.

Com base nos resultados obtidos verificou-se que, nas condições estudadas, o menor TDC (1,4 dia) favoreceu a produção de hidrogênio no reator acidogênico, porém prejudicou a remoção global de DQO e de SVT do efluente, além de diminuir a concentração de metano no biogás produzido no reator metanogênico.

Entretanto, a utilização de TDC elevados propiciou o desenvolvimento de microrganismos consumidores de hidrogênio e microrganismos metanogênicos, os quais são os responsáveis pela transformação do hidrogênio em metano.

Uma vez que o objetivo deste trabalho foi a obtenção de hidrogênio a partir da degradação anaeróbia do efluente da suinocultura, optou-se por utilizar o TDC menor, 1,4 dia, mesmo com a perda da eficiência global do tratamento. Com o TDC controlado, estudou-se a influência do pH e da temperatura na formação do hidrogênio.

3.2. Influência do pH e da temperatura na formação do hidrogênio

Utilizando o TDC determinado no item anterior verificou-se a influência exercida pelo pH e pela temperatura na produção de hidrogênio. Foram realizadas 8 repetições em cada condição estudada e em cada uma delas foram analisados: alcalinidade, DQO, teor de sólidos, concentração dos gases gerados e concentração de AGV.

Os valores médios de alcalinidade em cada ponto do sistema para os valores de pH e as temperaturas estudadas estão na Tabela 07. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão mostrados nos Anexos, Tabelas D.12 e D.13.

Quando o pH inicial do afluente foi ajustado para 6,0 observou-se a redução da alcalinidade de, no máximo, 24% no efluente oriundo do reator acidogênico, em relação ao afluente.

No valor de pH igual a 5,0 foi constatada redução da alcalinidade entre 43 e 59% quando a temperatura do reator permaneceu em 55°C indicando que a condição termofílica favoreceu a ação dos microrganismos acidogênicos produtores de ácidos, que são menos afetados pelas altas temperaturas que os microrganismos metanogênicos.

Tabela 07- Variação da alcalinidade nos valores de pH e temperaturas estudadas.

pH	T (°C) ¹	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)		
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
5,0	Ambiente	2.826,3	1.244,5	2.000,2
	35	2.213,4	1.258,8	2.532,2
	55	3.911,0	1.590,8	2.814,9
6,0	Ambiente	3.785,8	3.972,7	4.150,1
	35	3.137,7	2.955,4	3.374,8
	55	4.664,0	3.544,5	4.386,8

¹ Temperatura de operação do reator acidogênico e do afluente do reator metanogênico.n = 8

O ajuste do pH e a temperatura provocaram alterações no consumo de DQO total em cada estágio do processo. A Tabela 08 mostra as concentrações de matéria orgânica inicial e na saída de cada estágio para cada valor de pH e temperaturas estudadas. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão contidos nos Anexos, Tabelas D.14 e D.15.

Tabela 08 - Variação da DQO total nos valores de pH e temperaturas estudadas.

pH	T (°C) ¹	DQO total (mgO ₂ .L ⁻¹)		
		<i>Afluente</i>	<i>Efluente acidogênico</i>	<i>Efluente metanogênico</i>
5,0	Ambiente	50.958,2	36.291,7	28.852,5
	35	45.470,8	33.762,5	20.206,9
	55	48.195,9	41.613,4	24.519,3
6,0	Ambiente	47.829,3	40.134,2	24.413,8
	35	53.523,6	40.595,7	29.407,1
	55	51.510,6	41.260,7	26.896,5

¹ Temperatura de operação do reator acidogênico e do afluente do reator metanogênico. n= 8.

Na Tabela 09 estão os percentuais de remoção de DQO total em cada estágio do processo e a remoção global.

Tabela 09 – Percentuais de DQO total removidos em cada estágio e remoção global.

pH	T (°C) ¹	Remoção de DQO total (%)		
		<i>Reator acidogênico</i>	<i>Reator metanogênico</i>	<i>Global</i>
5,0	Ambiente	28,8	20,5	43,4
	35	25,7	40,1	55,6
	55	13,7	41,2	49,2
6,0	Ambiente	16,1	39,2	48,9
	35	24,1	27,6	45,0
	55	19,9	34,8	47,8

¹ Temperatura de operação do reator acidogênico e do afluente do reator metanogênico.

n = 8.

O menor percentual de remoção de DQO total observado na etapa acidogênica, para todos os valores de pH e temperaturas testadas, ocorreu quando o valor do pH do efluente foi ajustado para 5,0 e a temperatura do reator foi mantida em 55°C, isso ocorreu uma vez que a alta temperatura diminuiu a taxa de utilização do substrato pelos microrganismos que estavam em processo de aclimatação a fase termofílica. Estudos realizados por Speece (1996) relataram que o período de adaptação do lodo às condições termofílicas pode levar até um ano para ocorrer.

No comparativo realizado entre os valores de pH testados, a maior remoção de DQO total na etapa acidogênica ocorreu para o afluente que teve o valor do pH foi ajustado para 5,0 e o reator foi mantido a temperatura ambiente. Com base nesses resultados, verificou-se que as temperaturas testadas influenciaram a remoção de DQO total para um mesmo valor de pH.

A maior remoção global de DQO total, 55,6%, ocorreu quando o pH do afluente foi ajustado para 5,0 e quando a temperatura do reator acidogênico ficou em 35 °C.

O ajuste do pH e a temperatura também afetaram a fração de sólidos orgânicos que foi metabolizada no processo de digestão anaeróbia. Na Tabela 10 estão relatados os dados médios de ST e SVT em cada estágio do sistema nos valores de pH e temperaturas estudadas. Os valores utilizados para o cálculo da média e o desvio padrão amostral estão mostrados nos Anexos, Tabelas D.16, D.17, D.18 e D.19.

Tabela 10 - Variação do teor de sólidos nos valores de pH e temperaturas estudadas.

pH	T (°C) ¹	Sólidos	Concentração (mg.L ⁻¹)		
			Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
5,0	Ambiente	ST	22.779,5	22.662,5	21.169,5
		SVT	17.272,5	16.925,0	15.457,0
	35	ST	22.740,5	19.313,0	18.397,1
		SVT	17.766,0	14.401,0	12.210,5
	55	ST	22.285,7	18.859,4	11.740,6
		SVT	17.298,9	14.282,9	7.950,3
6,0	Ambiente	ST	25.703,5	24.041,5	13.991,0
		SVT	19.935,0	18.153,5	9.475,0
	35	ST	24.571,5	22.881,1	17.847,0
		SVT	19.058,5	16.986,0	12.253,0
	55	ST	20.745,5	19.266,5	11.974,0
		SVT	15.042,0	13.977,0	7.692,5

¹ Temperatura de operação do reator acidogênico e do afluente do reator metanogênico. n = 8.

Os percentuais médios de remoção de ST e SVT em cada estágio e remoção global estão na Tabela 11.

Tabela 11 – Percentuais médios de remoção de ST e SVT em cada estágio e remoção global para as condições estudadas.

pH	T (°C) ¹	Sólidos	Remoção (%)			
			Reator acidogênico	Reator metanogênico	Global	
5,0	Ambiente	ST	0,5	6,6	7,1	
		SVT	2,0	8,7	10,5	
	35	ST	15,1	4,7	19,1	
		SVT	18,9	15,2	31,3	
	55	ST	15,4	37,7	47,3	
		SVT	17,4	44,3	54,0	
	6,0	Ambiente	ST	6,5	41,8	45,6
			SVT	8,9	47,8	52,5
35		ST	6,9	21,8	27,4	
		SVT	10,9	27,9	35,7	
55		ST	7,1	37,8	42,3	
		SVT	7,0	44,9	48,8	

¹ Temperatura de operação do reator acidogênico e do afluente do reator metanogênico. n = 8.

Quando o pH do afluente foi ajustado para 5,0 e a temperatura do reator acidogênico foi mantida em 55°C observou-se que a remoção global de SVT foi maior dentre todas as condições testadas, 54%. A temperatura termofílica do reator acidogênico favoreceu a hidrólise dos compostos orgânicos complexos presentes no efluente, facilitando sua utilização pelos microrganismos metanogênicos, por ocasião da sua transferência para o reator metanogênico.

A Figura 04 apresenta as porcentagens médias de hidrogênio formado no reator acidogênico nos valores de pH e temperaturas estudados.

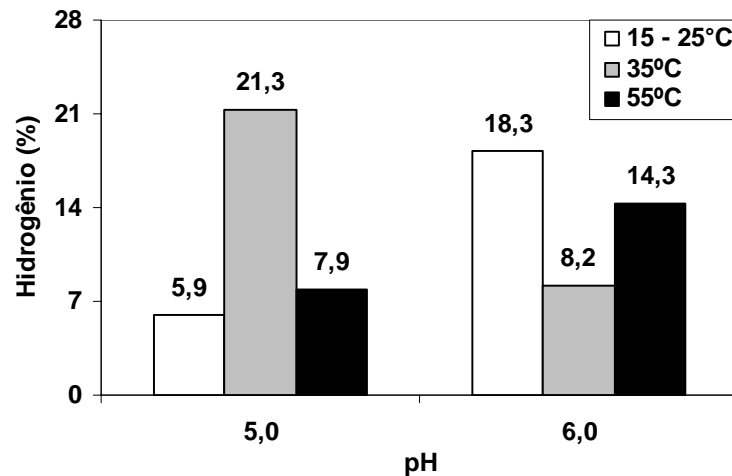


Figura 04 - Porcentagem média de hidrogênio formado no reator acidogênico nos valores de pH e temperaturas estudados. Para $n = 8$.

A porcentagem média de hidrogênio foi mais alta quando o pH foi ajustado para 5,0 e na temperatura de 35°C, sendo possível verificar que nessa condição há a predominância da fermentação ácida, e conseqüente produção de hidrogênio. De acordo com van Haandel (1994), o pH abaixo de 6,0 promove a fermentação ácida e a hidrólise do material orgânico particulado e a temperatura na faixa dos 35°C mantêm as condições ideais para a taxa máxima de digestão anaeróbia.

Na temperatura de 55°C e com o valor do pH do afluente ajustado para 5,0 observou-se que a porcentagem média de hidrogênio no biogás foi de $8,2 \pm 0,4\%$, enquanto que para o mesmo valor de pH e temperatura de 35 °C a porcentagem média foi de $21,3 \pm 1,6\%$.

Estudos realizados por Hernandez & Rodriguez (2007) utilizando dejetos suíno e testando diferentes valores de pH mostraram que quando o pH do afluente foi mantido em 5,0 o percentual de hidrogênio foi de 10% na fase gasosa; enquanto que para o pH 6,0 a porcentagem de hidrogênio no biogás produzido foi de 31%.

Trabalhos realizados por van Ginkel *et al.* (2001) e Fang & Liu (2002) relacionados a produção de hidrogênio em função do pH, utilizando glicose como substrato, mostraram que a produção mais alta de hidrogênio ocorreu no valor de pH igual a 5,5. Entretanto, experimentos realizados por Oh *et al.* (2003) e Wu & Lin (2004) concluíram que o pH ótimo para a produção de hidrogênio a partir da digestão de melaço estava na faixa entre 6,0 e 7,0.

O valor de pH ideal para a produção de hidrogênio, utilizando culturas mistas, varia amplamente, devido a natureza do efluente e a presença de populações bacterianas complexas. O controle do pH pode afetar significativamente a produção de hidrogênio, valores muito baixos, menores de 4,0, ou muito elevados, maiores de 7,0, provocam a inibição da atividade global da enzima hidrogenase responsável pela produção do hidrogênio (Tang *et al.*, 2008).

Estudos realizados por Tang *et al.* (2008) utilizando efluentes bovinos mostraram que a produção de hidrogênio foi maior quando o pH do efluente foi mantido em 5,5 e na faixa de temperatura entre 30 e 45°C decrescendo nas temperaturas acima de 45°C.

Na Figura 05 estão as porcentagens de metano obtidas no reator acidogênico nos valores de pH e temperaturas estudadas.

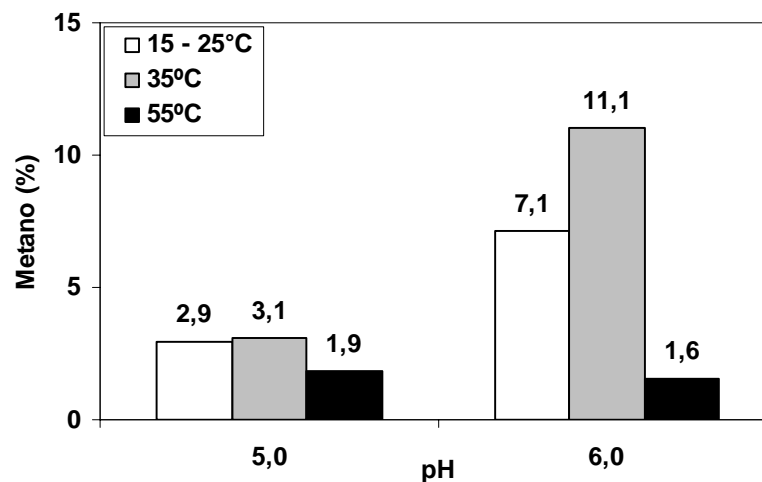


Figura 05 - Porcentagem média de metano obtida no reator acidogênico nos valores de pH e nas temperaturas estudadas.

A porcentagem média de metano no reator acidogênico foi maior quando as condições operacionais aproximaram-se das condições ideais para a metanogênese, ou seja, temperatura de 35°C e pH igual a 6,0. Porém, quando a temperatura do reator foi mantida em 55°C verificou-se o decréscimo na concentração de metano no biogás, indicando que a temperatura provocou um efeito adverso na atividade dos microrganismos metanogênicos. Esse processo foi observado mais claramente quando o valor do pH do afluente foi ajustado para 6,0.

Para o pH 5,0 observou-se a inibição da atividade dos microrganismos metanogênicos provavelmente devido a predominância da fermentação ácida no sistema.

A Figura 06 apresenta as porcentagens de metano formados no reator metanogênico nos valores de pH e nas temperaturas do afluente.

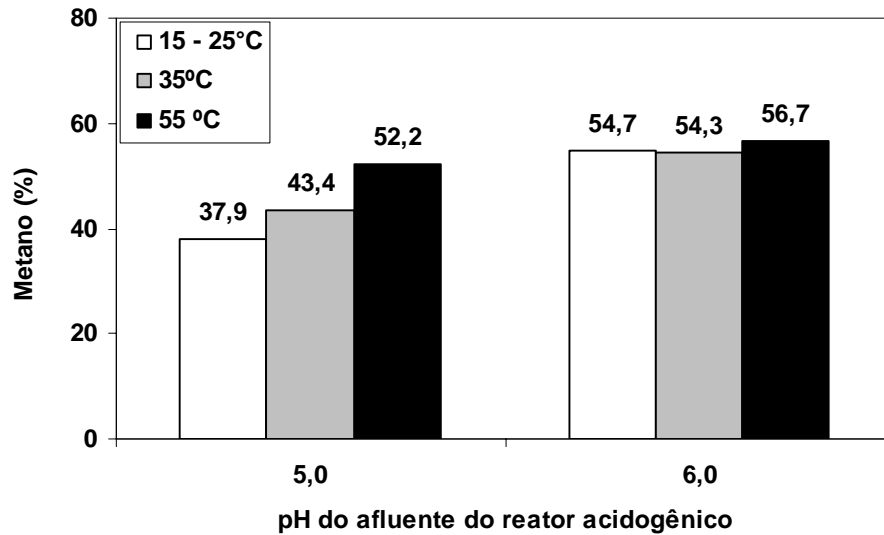


Figura 06 - Porcentagens médias de metano formado no reator metanogênico nos valores de pH e temperaturas do afluente.

Ocorreu um decréscimo na porcentagem de metano no biogás produzido no reator metanogênico quando o pH do efluente do reator acidogênico foi ajustado para 5,0. Este decréscimo ocorreu uma vez que o efluente inserido no reator metanogênico tinha o valor do pH próximo a 5,3, valor abaixo da faixa de pH considerada ótima para os microrganismos produtores de metano (entre 6,0 e 8,0) o que provocou o consumo de uma parte da alcalinidade do reator metanogênico e conseqüente demora na estabilização o pH para a faixa ideal.

Quando o valor do pH do afluente do reator acidogênico foi ajustado para 6,0 a porcentagem de metano no biogás do reator metanogênico foi maior e manteve-se em torno de 55%, independente da temperatura de entrada do efluente, pois o valor do pH do afluente do reator metanogênico foi de 6,2 não sendo necessário um período para a estabilização do reator antes de ocorrer a digestão.

Os resultados obtidos nas análises de alcalinidade, DQO, ST e SVT e porcentagem de hidrogênio e metano no biogás produzido pelos dois reatores, mostraram que o ajuste do pH do efluente de entrada do reator acidogênico influenciou o funcionamento de ambos os reatores.

Yu-Qing & Fang (2003) estudaram o efeito da temperatura e do valor do pH sobre a acidogênese, tratando efluente com alto teor de proteína e os resultados mostraram que o pH apresentou um efeito mais significativo na degradação das proteínas do que a temperatura. O trabalho indicou que o controle do pH é mais importante do que o controle da temperatura na acidogênese, uma vez que o reator operado em pH próximo a 5,0 favoreceu a produção de propionato e hidrogênio, enquanto que a operação realizada com pH entre 6,0 e 7,0 favoreceu a produção de acetato, butirato e iso-butirato.

As concentrações dos AGV determinadas no afluente e no efluente de saída do reator acidogênico para cada condição estudada estão na Tabela 12.

Na condição onde foi observada a maior concentração de hidrogênio no biogás (pH = 5,0 e T = 35°C), o afluente apresentou concentrações de AGV menores que nas demais condições estudadas, indicando que a concentração inicial desses compostos influenciou na produção de hidrogênio. Estudo realizado por Wang *et al.* (2009), confirmou essa influência, pois o autor observou queda na produção de hidrogênio com o aumento da concentração inicial de AGV.

Além disso, nesta mesma condição ocorreu o aumento na concentração de AGV na saída do reator acidogênico indicando a hidrólise das substâncias complexas e, por consequência, maior produção de hidrogênio.

Na condição onde foi constatada a maior concentração de metano no biogás do reator acidogênico (pH = 6,0 e T = 35°C), verificou-se um decréscimo na concentração de ácido acético no efluente de saída do reator acidogênico, indicando a possível utilização desse ácido para a formação do metano.

Conforme estudos realizados por Chin *et al.*, (2003) o crescimento dos microrganismos produtores de hidrogênio e o potencial de produção de hidrogênio decrescem com o aumento da concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico. De acordo com Wang *et al.*, (2008), esse decréscimo ocorre porque uma parte dos AGV não dissociados permeiam a membrana celular dos microrganismos produtores de hidrogênio, afetando sua fisiologia e podendo causar a ruptura da membrana celular.

Tabela 12 – Concentrações dos AGV na entrada e na saída do reator acidogênico em cada condição estudada.

pH	T (°C) ¹	Amostra	Concentração (mg.L ⁻¹)		
			Ac. acético	Ac. propiônico	Ac. butírico
5,0	Ambiente	Afluente	4.186,4	1.487,6	1.065,7
		Efluente	4.100,2	1.089,2	752,0
	35	Afluente	1.744,9	880,6	505,5
		Efluente	2.471,7	1.479,0	388,2
	55	Afluente	6.673,7	2.288,3	1.438,0
		Efluente	8.730,9	2.651,0	1.853,6
6,0	Ambiente	Afluente	8.149,2	4.101,9	3.753,3
		Efluente	9.027,8	4.956,2	5.469,4
	35	Afluente	6.160,5	2.115,5	1.500,2
		Efluente	4.901,4	2.179,2	2.688,9
	55	Afluente	8.710,1	3.767,7	3.366,6
		Efluente	9.623,9	3.855,4	3.922,9

4. Conclusões

As condições mais favoráveis para a operação do sistema anaeróbio em dois estágios, aplicado ao tratamento de efluentes da suinocultura, visando a remoção de matéria orgânica, a produção de hidrogênio e a produção de AGV, foram observadas quando o TDC foi de 1,43 dias, o valor do pH inicial do afluente foi de 5,0 e a temperatura do reator acidogênico foi mantida a 35°C.

A máxima porcentagem de hidrogênio no biogás produzido no reator acidogênico (21,3%) indicou que a configuração de reatores proposta neste trabalho, reator acidogênico seguido por reator metanogênico, possui performance satisfatória para a geração de energia e para o tratamento de efluentes da suinocultura.

A concentração de matéria orgânica removida, na forma de DQO total, apresentou-se na faixa de 45 a 55%, sendo considerada aceitável uma vez que o afluente possuía alta concentração de sólidos suspensos que poderiam influenciar no processo.

O aumento da temperatura do reator acidogênico para 55°C provocou um aumento na produção de metano quando o pH do afluente foi ajustado para 5,0. Este comportamento pode ser um indicativo que os microrganismos produtores de hidrogênio necessitavam de um período para aclimatação a nova condição imposta.

O pH foi o parâmetro operacional mais importante na produção de hidrogênio. Neste trabalho, o ajuste do pH do afluente para 5,0 resultou numa alta produção de hidrogênio e provocou um efeito adverso na produção de metano. O pH do afluente ajustado para 6,0 proporcionou condições operacionais favoráveis para a atividade dos microrganismos metanogênicos.

O reator metanogênico produziu biogás com maior concentração de metano quando o valor do pH do afluente estava próximo a 6,0.

5. Referências bibliográficas

- AZBAR, N.; SPEECE, R. E. Two phase, two stage, and a single stage anaerobic process comparison. **Journal of environmental engineering**. 127 (3), 240-248, 2001.
- BELLI FILHO, P.; CASTILHOS Jr., A. B.; COSTA, R. H. R.; SOARES, S. R.; PERDOMO, C. C. Tecnologias para o tratamento de dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 5 (1), 166-170, 2001.
- BENEMANN, J. R.; CANNIZZARO, C. M.; COONEY, M. Biological production of hydrogen-methane mixtures for clean electricity. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustainability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 2, 654-658, 2004.
- BORJA, R.; SÁNCHEZ, E.; RINCÓN, B.; RAPOSO, F.; MÁRTIN, M. A.; MARTIN, A. Study and optimisation of the anaerobic acidogenic fermentation of two-phase olive pomace. **Process Biochemistry**. 40, 281–291, 2005.
- BUSBY, R. L. **Hydrogen and fuel cells – a comprehensive guide**. Oklahoma (EUA): PennWell, 2005. 445p.
- CHOI, E. **Piggery waste management. Towards a sustainable future**. Londres: IWA, 2007. 174p.

- CHIN HL, CHEN ZS, CHOU CP. Fedbatch operation using *Clostridium acetobutylicum* suspension culture as biocatalyst for enhancing hydrogen production. **Biotechnol Prog.**19, 383–388, 2003.
- DIESEL, R.; MIRANDA, C. R.; PERDOMO, C. C. Coletânea de tecnologias sobre dejetos suínos. **Boletim Informativo de Pesquisa - Embrapa Suínos e Aves e Extensão - EMATER/RS.** 14, 2002.
- FANG, H. H. P.; LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource technology.** 82, 87-93, 2002.
- FERNANDES, G. F. R.; OLIVEIRA, R. A. Desempenho de processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola.** 26 (1), 243-256, 2006.
- GAVALA, H. N.; SKIADAS, J. V.; AHRING, B. K. Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems. **International Journal of Hydrogen Energy.** 31, 1164 – 1175, 2006.
- GOSH, S. Pilot scale demonstration of two phase anaerobic digestion of activated sludge. **Water science and technology.** 23 (Kyoto), 1179-1188, 1991.
- GOSH, S. Improved sludge gasification by two phase anaerobic digestion. **Journal of environmental engineering.** 116 (4), 786-791, 1996.
- GRADY JR., C. P. L.; DAIGGER, T. G.; LIM, H.C. **Biological wastewater treatment.** Second edition, revised and expanded. New York, USA. Ed. Marcel Dekker, 1999. 1076p.
- HAN, S. K.; SHIN, H. S.; SONG, Y. C.; LEE, C. Y.; KIM, S. H. Novel anaerobic process for the recovery of methane and compost from food waste. **Water science and technology.** 45 (10), 313-319, 1992.
- HAN, S. K.; SHIN, H. S. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy.** 29, 569 – 577, 2004.
- HAWKES, F.R.; DINSDALEA, R.; HAWKES, D.L.; HUSSYB, I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. **International Journal of Hydrogen Energy** 27, 1339 – 1347, 2002.

- HERNANDEZ, M. A.; RODRIGUEZ, M. S. Hydrogen production by anaerobic digestion of swine manure. In: 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestions, Brisbane – Australia. P309, 2007.
- HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. V.; KUNZ, A.; RANGEL, K. A.; MENDES, G. L.; MATEI, R. M. Avaliação de um sistema compacto para o tratamento de efluentes da suinocultura. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Suínos e Aves, 5, 2004. 26 p.
- KHANAL S.K.; CHEN, W. H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 1123 – 1131, 2004.
- KUNZ, A. Tratamento de dejetos: desafios da suinocultura tecnificada. **Suinocultura Industrial**, 188 (3), 28 – 30, 2005.
- LENEMAN, H.; GIESEN, G.W.J.; BERENTSEN, P.B.M. Costs of reducing nitrogen and phosphorus emissions on pig farms in the Netherlands. **Journal of Environmental Management**. 39, 107-119, 1993.
- LEVIN, D. B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 173 – 185, 2004.
- MIDILLI, A.; DINCER, I. Key strategies of hydrogen energy systems for sustainability. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 511 – 524, 2007.
- MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A.A.Y.; NGAN, M.A.; FAKHRU’L-RAZI, A.; IYUKE, S.E.; BAKIR, A.M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 709 – 713, 2004.
- OH, S. E.; LOGAN, B. E. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Research**. 39, 4673–4682, 2005.
- PERDOMO, C. C.; LIMA, G. J. M. M.; SCOLARI, T. M. G. Dejetos de suinocultura. Disponível on line:
http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./agropecuario/index.html&conteudo=./agropecuario/dejetos_suininos.html. Acessado em 08 de agosto de 2007.

- SEVRIN-REYSSAC, J. Biotreatment of swine manure by production of aquatic valuable Biomasses. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. 68, 177–186, 1998.
- SOUZA, C. F.; JÚNIOR, J. L.; FERREIRA, W. P. M. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato – considerações sobre a partida. **Eng. Agríc.** 25 (2), 530-539, 2005.
- SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Tennessee, EUA. Ed. Archae Press, 1996. 393 p.
- TANG, G. L.; HUANG, J.; SUN, Z. J.; TANG, Q. Q.; YAN, C. H.; LIU, G. G. Biohydrogen production from cattle wastewater by enriched anaerobic mixed consortia: influence of fermentation temperature and pH. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 106 (1), 80–87, 2008.
- VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environ. Sci. Technol.** 35, 4726-4730, 2001.
- VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos. Um manual para regiões de clima quente**. Campina Grande. Universidade Federal da Paraíba, 1994. 227p.
- WANG, B.; WAN, W.; WANG, J. Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**. 33, 7013-7019, 2008.
- WANG, Y.; ZHAND, Y.; MENG, L.; WANG, J.; ZHANG, W. Hydrogen–methane production from swine manure: Effect of pretreatment and VFAs accumulation on gas yield. **Biomass and Bioenergy**. 33, 1131-1138, 2009.
- WEILAND, P. One and two step anaerobic digestion of solid agroindustrial residues. **Water science and technology**. 27 (2), 145-151, 1993.
- WU, J. H.; LIN, C. Y. Biohydrogen production by mesophilic fermentation of food wastewater. **Water Sci. Technol.** 49, 223–228, 2004.
- YILMAZ, V.; DEMIRER, G. N. Improve anaerobic acidification of unscreened dairy manure. **Environmental Engineering Science**. 25 (3), 309 – 317, 2008.

YU-QING, H.; FANG, H. H. P. Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. **Water Research**. 37, 55 – 66, 2003.

8. Discussão Geral

Os testes laboratoriais aplicados para a avaliação da capacidade da produção de hidrogênio, de lodos anaeróbios e de substratos orgânicos, permitiram verificar claramente a influência do valor do pH inicial, da concentração de matéria orgânica e da concentração de lodo sobre os resultados da medida da AHE, do volume de hidrogênio e da composição de AGV produzidos e do grau de acidificação de cada digestor.

A glicose foi escolhida como substrato orgânico para padronização dos testes por ser facilmente biodegradável, pelo conhecimento das reações que envolvem a formação do hidrogênio e por ser o substrato orgânico mais utilizado nas pesquisas de produção de hidrogênio.

O ajuste do pH inicial apresentou grande influência na atividade dos microrganismos. Dentre os valores de pH testados os que apresentaram melhor desempenho para fins de medida da atividade hidrogênica e para a produção de hidrogênio foram, respectivamente, 6,0 e 5,5. Nos valores de pH de 5,0 e 6,5 foram observadas baixa atividade hidrogênica e baixa produção de hidrogênio. Wang & Wan (2009) afirmaram que o comportamento dos microrganismos produtores de hidrogênio frente as variações de pH segue o modelo cinético de Andrew, o qual determina que com o aumento no valor do pH, acima de um valor ótimo determinado experimentalmente, decresce a produção de hidrogênio a valores próximos a zero.

O valor do pH inicial influenciou nos AGV formados durante o processo de fermentação da glicose. Nos valores de pH 5,0; 5,5 e 6,0 ocorreu a formação preferencial de ácido butírico, enquanto que para o valor de pH igual a 6,5 o ácido acético foi predominante, corroborando estudos realizados por Rodriguez *et al.*(1998); que afirmam que a formação de ácido acético ocorre em valores neutros de pH, enquanto que o ácido butírico é formado quando o valor do pH do reator é menor que 6,0; e por Horiuchi *et al.*, (2002), os quais verificaram que o aumento do valor do pH para valores acima de 6,0 em reatores acidogênicos, provocou o aumento na concentração de ácido acético, em detrimento da produção de ácido butírico.

Nos testes em que o valor do pH foi ajustado para 6,5, nos quais foram observadas concentrações de ácido acético acima de 3.000 mg.L^{-1} (50 mmol.L^{-1}) no efluente final, obteve-se baixos volumes de hidrogênio. Esse resultado apresentou-se semelhante ao obtido por Wang *et al.* (2008) em testes que verificaram a influencia dos AGV na produção de hidrogênio, utilizando glicose como substrato. No referido trabalho, os autores constataram que o ácido acético em

concentrações que variaram de 50 a 200 mmol.L⁻¹ (3.000 a 12.000 mg.L⁻¹) reduziram em mais de 90 % o volume de hidrogênio produzido.

Os valores dos graus de acidificação também foram influenciados pelo ajuste do pH inicial. Os testes com valores de pH de 6,0 e 6,5 resultaram em maior grau de acidificação, uma vez que essas condições foram mais favoráveis à produção de ácidos do que à produção de hidrogênio.

Os testes realizados utilizando os fermentadores permitiram verificar a influência do controle do valor do pH sobre o processo de fermentação da glicose. O controle do valor do pH fez com que nas primeiras 8 horas de teste o percentual de hidrogênio no biogás ficasse entre 50 e 92% menor em relação ao teste realizado sem controle de pH, no mesmo período. A produção de AGV também foi prejudicada pelo controle do pH, sendo essa diferença observada mais claramente quando o valor de pH testado foi de 5,0. Nesta condição, os AGV produzidos no fermentador com controle de pH apresentaram concentrações entre 50 e 66 % menores que as obtidas no fermentador sem controle de pH. Além do percentual de hidrogênio e dos AGV, a remoção de DQO também foi prejudicada pelo controle no valor do pH, apresentando decréscimo entre 35 e 50% em comparação com o processo fermentativo sem controle de pH. Cokgor *et al.* (2009) verificaram decréscimo na eficiência do processo fermentativo e aumento no tempo de partida do processo quando o valor do pH foi controlado durante todo o período dos testes.

A partir da variação na DQO foi possível verificar em quais concentrações a matéria orgânica apresentou-se como fator limitante e em quais concentrações apresentou-se como fator inibidor do processo acidogênico.

Outro fator que denota limitação provocada pelas baixas DQO foi a produção de ácido acético em altas porcentagens, o qual inibe a atividade dos microrganismos produtores de hidrogênio. Mosey (1983) verificou que a limitação da quantidade de matéria orgânica disponível fez com que microrganismos acidogênicos produzissem altas quantidades de ácido acético, uma vez que nesse processo há maior rendimento energético para o crescimento e multiplicação celular.

Em concentrações acima de 12.000mgO₂.L⁻¹, a DQO atuou como inibidora da atividade dos microrganismos, prejudicando o volume de hidrogênio produzido e direcionando o metabolismo microbiano para a formação de ácido butírico. Mosey (1983), relatou que sobrecargas orgânicas provocam alterações no metabolismo dos microrganismos acidogênicos os

quais produzem ácido butírico em maior concentração. van Ginkel *et al.* (2001), propôs que altas concentrações de matéria orgânica diminuem a conversão da mesma em hidrogênio devido à queda brusca no valor do pH do meio e à produção de ácidos em quantidades elevadas.

O decréscimo nos valores do grau de acidificação foi observado quando a DQO inicial nos digestores foi superior a $12.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. De acordo com Yu & Fang (2001), isso ocorre devido a mudança na rota metabólica dos microrganismos, que em altas DQO passam a produzir álcoois ao invés de AGV e hidrogênio.

O excesso de matéria orgânica adicionada nos digestores causou saturação no meio, prejudicando a conversão do substrato orgânico pelos microrganismos. Esse efeito adverso pode ser observado nas concentrações de substrato acima de $8.000\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ onde ocorreu a estabilização do valor do pH final, independente do acréscimo nas DQO.

A concentração inicial de biomassa empregada para avaliação da AHE, estimada pelo parâmetro SVT, influenciou a atividade hidrogênica, o volume de hidrogênio produzido, a produção de AGV e o valor do grau de acidificação.

Os testes realizados com concentração de SVT de $1.250\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ apresentaram resultados de atividade, produção de hidrogênio e produção de AGV abaixo dos valores encontrados quando a concentração de SVT testada foi de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, indicando limitação provocada pela pouca quantidade de microrganismos nos digestores.

Para concentrações de SVT acima de $2.500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ foi observada redução na atividade hidrogênica. Conforme estudos realizados por Monteggia (1997) e Tsygankov (2007), o uso de quantidade excessiva de lodo pode causar decréscimo na atividade máxima, devido a limitações na transferência de massa do substrato para os microrganismos. Além disso, o fato dos microrganismos fermentativos possuírem elevada velocidade de multiplicação ($\mu = 2,0\text{d}^{-1}$) provoca um aumento na concentração de SVT presentes no digestor num curto período de tempo, aumentando essa limitação.

Os AGV formados durante a fermentação da glicose também foram influenciados pela concentração de SVT inseridas nos digestores. Para a concentração de $7.500\text{mgSVT}\cdot\text{L}^{-1}$ o ácido predominante nas amostras foi o ácido acético, uma vez que a pouca matéria orgânica disponível, aliada ao excesso de microrganismos acidogênicos nos digestores e sua elevada taxa de multiplicação direcionou a rota metabólica de produção dos AGV para a produção desse ácido. Nas demais concentrações de SVT o ácido butírico foi o AGV produzido em maior quantidade.

Foi verificado o aumento gradual no percentual de ácido propiônico em função do aumento da concentração de SVT sendo o percentual máximo de 20% na concentração de 7.500mgSVT.L⁻¹.

O grau de acidificação apresentou acréscimo com o aumento na concentração de SVT, chegando ao valor máximo na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

A autoclavagem do lodo granular eliminou os microrganismos metanogênicos que poderiam interferir na produção de hidrogênio e na medida da atividade do lodo, porém o aquecimento pode ter provocado lise da membrana celular que envolvia os grânulos, liberando o material celular e dificultando a sedimentabilidade, a medida da DQO do efluente e a medida da concentração de sólidos ao final do teste, desse modo, não foi possível efetuar as análises de consumo de matéria orgânica e de crescimento microbiano em cada condição estudada. A matéria orgânica liberada do interior das células microbianas pode ter, também, provocado interferência na análise de AGV e no cálculo do valor do grau de acidificação dos digestores, pois, em alguns casos, a concentração de AGV apresentou-se mais alta que a concentração de matéria orgânica inserida nos digestores.

A análise dos parâmetros estudados neste trabalho permitiu determinar as condições mais adequadas para avaliar a AHE, o volume de hidrogênio produzido por unidade de massa, a composição percentual dos AGV produzidos e o grau de acidificação durante a fermentação da glicose. Entretanto, as condições ideais determinadas nos testes utilizando glicose podem necessitar de ajustes devido as características do lodo e dos substratos orgânicos que serão avaliados.

Os testes de medida da AHE realizados com diferentes substratos orgânicos (ácido propiônico, ácido butírico, efluente protéico, glicerol e efluente do processo de produção de fungicida) permitiram avaliar a aplicabilidade do teste de AHE e o potencial que os substratos orgânicos possuem para gerar hidrogênio.

O uso do ácido propiônico e do ácido butírico como substratos orgânicos permitiu verificar que o aumento da concentração desses substratos nos digestores prejudicou a atividade dos microrganismos e provocou o decréscimo no volume de hidrogênio produzido, indicando que esses substratos provocaram efeitos adversos sobre os microrganismos produtores de hidrogênio, corroborando estudos de toxicidade realizados por Wang *et al.* (2008) e van Niel *et al.* (2003).

Os testes utilizando o acetato de sódio anidro como referência, indicaram que o processo de autoclavagem do lodo eliminou os microrganismos metanogênicos, pois não houve produção de metano em nenhum dos testes realizados.

O ácido butírico provocou toxicidade aos microrganismos, os quais interromperam o processo de fermentação e provocaram o acúmulo desse ácido nos digestores. Já o ácido propiônico não apresentou toxicidade aos microrganismos produtores de ácidos, uma vez que sua fermentação resultou em porcentagens de ácido acético acima de 70% no efluente final.

O efluente protéico foi o substrato orgânico que apresentou melhor desempenho na medida de atividade hidrogênica dentre os testados, resultando em $6,8\text{mLH}_2.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Dentre os substratos orgânicos testados o efluente protéico foi o que produziu maior volume de hidrogênio durante os testes, $1,74\text{mL.gDQO}^{-1}$. Okamoto *et al.* (2000) relatam que efluentes ricos em proteínas não são facilmente fermentados pelos microrganismos produtores de hidrogênio. Além disso, a hidrólise das proteínas libera amônia que, em altas concentrações, causa toxicidade aos microrganismos. O aumento na DQO pode ter provocado o aumento na concentração de amônia dentro dos digestores causando a redução na AHE.

A atividade máxima medida nos testes utilizando glicerol foi de $0,11\text{mLH}_2.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$, na DQO de $12.000\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$. Papanikolau *et al* (2000) verificaram que a produção de hidrogênio utilizando glicerol como substrato orgânico provocou aumento significativo da produção de 1,3-propanodiol em detrimento a produção de hidrogênio.

Nos testes realizados com o efluente da fabricação de fungicida a atividade máxima observada foi de $0,26\text{mLH}_2.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$, decaindo nas DQO mais elevadas. A presença de elementos aromáticos como o tebuconazole e o propiconazole na composição do efluente pode ter gerado toxicidade aos microrganismos.

O efluente protéico, o glicerol e o efluente do processo de produção de fungicidas apresentaram-se como substratos ideais para a produção de ácido acético, o qual fez parte de mais de 60 % da composição total dos AGV produzidos durante a fermentação desses compostos. O efluente do processo de produção de fungicidas foi o substrato orgânico que apresentou maior concentração de ácido acético ao final do teste e o maior grau de acidificação.

Assim como ocorreu com a glicose, a estabilização do valor do pH final dos testes realizados com os efluentes, independente do acréscimo no valor da DQO, indicou que o excesso de matéria orgânica nos digestores apresentou efeito adverso na conversão do substrato orgânico

em hidrogênio. Os baixos valores de AHE e de produção volumétrica de hidrogênio nas DQO mais altas são um indicativo dessa influência.

Além dos testes de atividade hidrogênica específica, neste trabalho também foi avaliada a produção de hidrogênio a partir de efluentes da suinocultura utilizando dois reatores anaeróbios seqüenciais em batelada, um reator acidogênico e um reator metanogênico.

Devido as características do efluente da suinocultura, antes do início do teste fez-se necessário o controle do TDC no reator acidogênico devido a presença de microrganismos metanogênicos no lodo, os quais utilizavam o hidrogênio produzido para a formação do metano. O baixo TDC (1,4 dia) minimizou a interferência dos microrganismos metanogênicos sobre a produção de hidrogênio, uma vez que o percentual de metano determinado no biogás foi o menor dentre todas as condições testadas, 3,1%. Após o controle do TDC, foi avaliada a influência exercida pelo pH e pela temperatura na remoção de DQO e de sólidos, na produção de hidrogênio e de AGV.

Dentre os valores de pH testados, a maior remoção de DQO na etapa acidogênica ocorreu quando o valor do pH do afluente foi ajustado para 5,0 e o reator foi mantido a temperatura ambiente. Já a maior remoção global (acidogênico + metanogênico) de DQO, 55,6%, foi verificada quando o valor do pH do afluente ao sistema foi ajustado para 5,0 e a temperatura do reator acidogênico foi mantida em 35°C.

A remoção global de SVT foi maior (54%) quando o valor do pH do afluente foi ajustado para 5,0 e a temperatura do reator acidogênico foi mantida em 55°C, indicando que a temperatura termofílica no reator acidogênico favoreceu a hidrólise dos compostos orgânicos complexos presentes no efluente, facilitando sua utilização pelos microrganismos metanogênicos.

A porcentagem de hidrogênio no biogás foi mais alta (21,3%) quando o valor do pH do afluente foi ajustado para 5,0 e o reator acidogênico mantido a 35°C. Hernandez & Rodriguez (2007) em estudo realizado com dejetos suínos obtiveram maior porcentagem de hidrogênio na fase gasosa (31%) quando o valor do pH do efluente foi ajustado para 6,0. O valor de pH ideal para a produção de hidrogênio, apresenta variações devido a natureza do efluente e a presença de populações bacterianas complexas.

Durante os testes com a temperatura do reator acidogênico ajustada para 55°C foi observado que a concentração de hidrogênio no biogás manteve-se estável em todo o período do teste, independente do valor de pH testado. Esse comportamento foi um indicativo que a

temperatura termofílica provocou efeito adverso sobre a atividade dos microrganismos consumidores de hidrogênio.

A presença de microrganismos metanogênicos no lodo do reator acidogênico provocou a formação de metano, que apresentou-se em maior porcentagem (11,1%) quando as condições operacionais do reator acidogênico foram: valor do pH igual a 6,0 e temperatura de 35°C, ou seja, muito próximas das condições ideais para a metanogênese. A temperatura termofílica influenciou negativamente a atividade dos microrganismos metanogênicos, uma vez que nessa condição foi verificado o decréscimo do percentual de metano no biogás. Essa influência pode ser observada mais claramente quando o valor do pH do afluente foi ajustado para 6,0. Para o pH 5,0 observou-se a redução da atividade dos microrganismos metanogênicos uma vez que a porcentagem máxima de metano verificada no biogás foi de 3,1%.

Quando o pH do efluente do reator acidogênico foi ajustado para 5,0 foi observada a queda na porcentagem de metano no biogás produzido no reator metanogênico. Verificou-se que, neste caso, o efluente proveniente do reator acidogênico apresentava valor de pH de 5,3, abaixo da faixa considerada ótima para os microrganismos produtores de metano (entre 6,0 e 8,0), o que provocou o consumo de uma parte da alcalinidade do reator metanogênico e conseqüente necessidade de um período para a estabilização do pH até o valor ideal para a metanogênese. O mesmo não aconteceu quando o valor do pH do afluente do reator acidogênico foi ajustado para 6,0, neste caso o efluente foi transferido para o reator metanogênico com valor de pH igual a 6,2, o que provocou um aumento na porcentagem de metano no biogás.

As análises dos AGV mostraram que o afluente ao reator acidogênico apresentava concentrações de ácido acético superior a 4.000mg.L⁻¹, ácido propiônico e ácido butírico acima de 1.000mg.L⁻¹. Porém, na condição onde foi observada a maior concentração de hidrogênio no biogás (pH = 5,0 e T = 35°C), o afluente apresentou concentrações de AGV menores que as relatadas acima. Chin *et al.*, (2003) relataram que o excesso de AGV em reatores acidogênicos prejudicou o crescimento dos microrganismos produtores de hidrogênio e o potencial de produção de hidrogênio decresce com o aumento da concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico. Wang *et al.*, (2008), reportam que esse decréscimo ocorre pois uma parte dos AGV não dissociados permeiam a membrana celular dos microrganismos produtores de hidrogênio, afetando sua fisiologia e podendo causar a ruptura da mesma.

No efluente do reator acidogênico foi observado aumento na concentração de AGVs indicando a hidrólise das substâncias complexas. Além disso, verificou-se o decréscimo na concentração de ácido acético no efluente de saída do reator acidogênico na condição onde foi constatada a maior concentração de metano no biogás do reator acidogênico ($\text{pH} = 6,0$ e $T = 35^\circ\text{C}$), indicando a possível utilização desse ácido para a formação do metano.

O reator metanogênico obteve melhor desempenho na produção de metano quando o valor do pH do efluente proveniente do reator acidogênico estava acima de 6,0, considerado próximo do valor ideal para o funcionamento dos microrganismos metanogênicos.

9. Conclusões

A metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica utilizando o respirômetro anaeróbio mostrou-se eficiente para medir a capacidade de produção de hidrogênio de um lodo e de substratos orgânicos, uma vez que num único teste rápido puderam ser avaliadas além da atividade, o volume de hidrogênio produzido por grama de matéria orgânica adicionada, a produção de AGV, a influência do valor do pH, da concentração de matéria orgânica, da concentração de lodo e de compostos potencialmente tóxicos sobre os microrganismos produtores de hidrogênio.

Nos testes realizados empregando glicose como fonte de matéria orgânica foi observado que:

1 - O valor do pH inicial foi um fator determinante na etapa acidogênica da digestão anaeróbia, uma vez que variações de 0,5 unidade de pH provocaram alterações nas rotas metabólicas dos microrganismos. Essas alterações foram observadas na atividade dos microrganismos, no volume de hidrogênio produzido e na produção dos AGV. O controle do valor do pH durante o processo fermentativo afetou negativamente os microrganismos acidogênicos, sendo indicado apenas o ajuste no seu valor inicial sem controle posterior. Entretanto, estudos adicionais se fazem necessários para determinar quais as reais causas deste comportamento.

2 - As concentrações de SVT inseridas nos digestores influenciaram os parâmetros analisados neste trabalho. Os testes realizados com concentração de SVT de 1.250 mg.L^{-1} resultaram em baixos valores de atividade, produção de hidrogênio e produção de AGV que indicaram limitação provocada pela pouca quantidade de microrganismos nos digestores, enquanto que nos testes realizados nas concentrações de SVT de 5.000 mg.L^{-1} e 7.500 mg.L^{-1} foi verificado que o excesso de lodo provocou inibição do processo estudado. A concentração de SVT de 2.500 mg.L^{-1} foi a que se mostrou ideal para a medida da AHE.

Nos testes realizados com glicose e com outros substratos orgânicos, a DQO apresentou dois efeitos distintos. Em concentrações abaixo de $4.000 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$, atuou como fator limitante na atividade dos microrganismos e na produção volumétrica de hidrogênio, além de provocar desvios no metabolismo microbiano a favor da produção de ácido acético. Em concentrações acima de $12.000 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$, atuou como inibidor da atividade dos microrganismos,

prejudicando a produção volumétrica de hidrogênio e direcionando o metabolismo microbiano para a formação de ácido butírico.

O tratamento térmico do lodo agiu de maneira positiva na eliminação dos microrganismos metanogênicos, porém, pode ter provocado o rompimento da membrana celular dos microrganismos que compunham o lodo, causando a liberação da matéria orgânica no *mixed liquor* que prejudicou a sedimentação ao final do teste e comprometeu análises de DQO e do teor de sólidos, além das concentrações de alguns AGV e do cálculo do valor do grau de acidificação.

As condições consideradas ideais para a medida da atividade hidrogênica específica são: glicose como substrato orgânico, valor do pH ajustado para 6,0, DQO de 12.000 mgO₂.L⁻¹ e SVT na concentração de 2.500 mg.L⁻¹.

Entretanto as condições descritas como ideais podem necessitar de pequenos ajustes devido as características de cada lodo e de cada substrato orgânico que serão estudados.

A configuração de reatores anaeróbios em dois estágios, reator acidogênico seguido de reator metanogênico, proposta para o tratamento de efluentes da suinocultura apresentou performance satisfatória para a produção de energia, remoção de matéria orgânica, remoção de sólidos e produção de AGV. Os melhores resultados foram observados quando as condições do reator acidogênico foram: TDC de 1,43 dia, valor do pH do afluente ajustado para 5,0 e a temperatura de 35°C. O reator metanogênico mostrou melhor desempenho na produção de metano quando o valor do pH do efluente proveniente do reator acidogênico estava próximo a 6,0, considerado dentro da faixa ideal para os microrganismos metanogênicos.

10. Recomendações

Recomenda-se o desenvolvimento de estudos adicionais que conduzam a otimização do teste de medida da atividade hidrogênica específica, destacando-se:

- Testar diferentes composições de meio nutricional buscando identificar os micro e macro nutrientes mais importantes para os microrganismos produtores de hidrogênio provenientes de lodo anaeróbio autoclavado.
- Avaliar a atividade hidrogênica utilizando concentrações de SVT na faixa compreendida entre 2.000 e 3.000 mg.L⁻¹ bem como valores intermediários de pH na faixa entre 5,5 e 6,0.
- Verificar a influência do tratamento ácido e alcalino do lodo sobre a AHE, a fim de otimizar a seleção dos microrganismos produtores de hidrogênio.
- Analisar a influência da remoção da matéria orgânica dissolvida do lodo autoclavado sobre a medida da AHE.
- Avaliar a produção de hidrogênio em digestores operados com alimentação contínua com e sem controle do valor do pH durante o processo fermentativo.

11. Referências Bibliográficas

- ABDEL-AAL, H. K.; SADIK, M.; BASSYOUNI, M.; SHALABI, M. A new approach to utilize Hydrogen as a safe fuel. **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 1511 – 1514, 2005.
- AMON, T.; KRYVORUCHKO, V.; AMON, B.; ZOLLITSCH, W.; POTSCHE, E.; MAYER, K. Estimation of biogas production from maize and clover grass by the new methane energy value system. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 3, 1716-1719, 2004.
- APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.
- AROOJ, M. F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. Sludge characteristics in anaerobic SBR system producing hydrogen gas. **Water Research**, 41, 1177 – 1184, 2007.
- AYOUB, N.; MARTINS, R.; WANG, K.; SEKI, H.; NAKA, Y. Two levels decision system for efficient planning and implementation of bioenergy production. **Energy Conversion and Management**, 48, 709–723, 2007.
- BADKOUBI, A.; FOTOOHI, S.; BADKOUBI, G.; BAGHOOLIZADEH, P. Hydrogen gas and methane production in bioelectrolysis in anaerobic solid waste leachate treatment process. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 4, 2220-2221, 2004.
- BARROS, A. R.; AMORIM, E. L. C.; REIS, C. M.; SHIDA, G. M.; SILVA, E. L. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: Effect of support material and hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**. 35, 3379 – 3388, 2010.
- BAYKARA, S. Z. Hydrogen as fuel: a critical technology? **International Journal of Hydrogen Energy**, 30, 545 – 553, 2005.
- BRIDGWATER, T. Review - Biomass for energy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 86,1755–1768, 2006.
- BUSBY, R. L. **Hydrogen and fuel cells – a comprehensive guide**. Oklahoma (EUA): PennWell, 2005. 445p.

- CANERS, C.; WEELDON, I.; PEPPLEY, B.; KARAN, K. Treatment and utilization of wastewater plant biogas as fuel for a solid oxide fuel cell. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 2, 1089-1095, 2004.
- CHA, G. C.; NOIKE, T. Effect of rapid temperature change and HRT on anaerobic acidogenesis. **Water Science Technology**. 36 (6–7), 247–253, 1997.
- CHAKRABORTY, T.; GARG, A.; ACHARI, G. Landfill gas cleaning methodologies to enhance potential for energy generation. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 4, 2189, 2004.
- CHANAKYA, H. N.; MOLETTA, R. Emerging trends in small scale biogas plants for agro-residues and biomass feedstocks - a case study from India. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 1, 550-555, 2004.
- CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Biohydrogen production with fixed bed bioreactors. **International Journal of Hydrogen Energy**. 27, 1167–74, 2002.
- CHANG, F. Y.; LIN, C. Y. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 33–99, 2004.
- CHEN, C.C.; LIN, C.Y. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen producing reactor. **Adv. Environ. Res.** 7, 695–699, 2003.
- CHIN HL, CHEN ZS, CHOU CP. Fedbatch operation using *Clostridium acetobutylicum* suspension culture as biocatalyst for enhancing hydrogen production. **Biotechnol Prog**. 19, 383–388, 2003.
- CHYNOWETH, D.P., Environmental impact of biomethanogenesis. **Envir. Monitoring and Assessment**. 42, 3-18, 1996.
- CHYNOWETH, D.P., OWENS, J.M., AND LEGRAND, R.L. Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. **Renewable Energy**. 22, 1-8, 2001.

CHYNOWETH, D. P. Biomethane from energy crops and organic wastes. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 1, 525-530, 2004.

COKGOR, E. U.; OKTAY, S.; TAS, D. O.; ZENGIN, G. E.; ORHON, D. Influence of pH and temperature on soluble substrate generation with primary sludge fermentation. **Bioresource Technology**. 100, 380–386, 2009.

DAS, D.; VEZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **International Journal of Hydrogen Energy**. 26, 13-28, 2001.

DAVILA-VAZQUEZ, G.; ARRIAGA,S.; ALATRISTE-MONDRAGO'N, F.; LEO'N-RODRI'GUEZ,A.; ROSALES-COLUNGA, L. M.; RAZO-FLORES, E. Fermentative biohydrogen production: trends and perspectives. **Rev Environ Sci Biotechnol**. 7, 27–45, 2008.

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

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

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

GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water Science Technology** 15, 127-167. 1983.

HALLENBECK, P. C.; BENEMANN, J. R. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. **International Journal of Hydrogen Energy**. 27, 1185–1193, 2002.

HALLENBECK, P. C.; GHOSH, D.; SKONIECZNY, M. T.; YARGEAU, V. Microbiological and engineering aspects of biohydrogen production. **Indian Journal of Microbiology**. 49, 48–59, 2009.

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

- HERNANDEZ, M. A.; RODRIGUEZ, M. S. Hydrogen production by anaerobic digestion of swine manure. In: 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestions, Brisbane – Australia. P309, 2007.
- HORIUCHI, J. I.; SHIMIZU, T.; TADA, K.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. **Bioresource Technology**. 82, 209-213, 2002.
- JAMES, A.; CHERNICHARO, C. A. L.; CAMPOS, C. M. M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Water Research**. 24 (7), 813-825, 1990.
- JIANZHENG, J.; NANQI, R.; BAIKUN, L.; ZHI, Q.; JINGUO, H. Anaerobic biohydrogen production from monosaccharides by a mixed microbial community culture. **Bioresource Technology**. 99, 6528–6537, 2008.
- JONSSON, A.; HILLRING, B. Planning for increased bioenergy use—Evaluating the impact on local air quality. **Biomass and Bioenergy**. 30, 543–554, 2006.
- JUNGINGER, M.; VISSERA, E.; HJORT-GREGERSEN, K.; KOORNNEEFA, J.; RAVENC, R.; FAAIJA, A.; TURKENBURGA, W. Technological learning in bioenergy systems. **Energy Policy**. 34, 4024–4041, 2006.
- KATAOKA, N.; MIYA, A.; KIRIYAMA, K. Studies on hydrogen production by continuous culture system of hydrogen producing anaerobic bacteria. **Water Science Technology**. 36, 41–47, 1997.
- KHANAL S.K.; CHEN, W. H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 1123 – 1131, 2004.
- LAY, J. J. Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. **Biotechnol Bioeng**. 68(3), 269–278, 2000.
- LEE, K. S.; LO, Y. S.; LO, Y. C.; LIN, P. J.; CHANG, J. S. H₂ production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed bed bioreactors. **Biotechnol Lett**. 25, 133–138, 2003.
- LEVIN, D. B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 173 – 185, 2004.

- LI, Y. F.; REN, N. Q.; CHEN, Y.; ZHENG, G.Z. Ecological mechanism of fermentative hydrogen production by bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 755 – 760, 2007.
- LIN, C. Y.; CHANG, R. C. Fermentative hydrogen production at ambient temperature. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 715 – 720, 2004.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 285 – 292, 2005.
- LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicone-gel-immobilized anaerobic sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 2200–2210, 2006.
- MAJIZAT, A.; MITSUNORI, Y.; MITSUNORI, W.; MICHIMASA, N.; JUNICHIRO, M. Hydrogen gas production from glucose and its microbial kinetics in anaerobic systems. **Water Science and Technology**. 36 (6–7), 279 – 286, 1997.
- MARTÍNEZ-PÉREZ, N.; CHERRYMAN, S. J.; PREMIER, G. C.; DINSDALE, R. M.; HAWKES, D. L.; HAWKES, F. R.; KYAZZE, G.; GUWY, A. J. The potential for hydrogen-enriched biogas production from crops: Scenarios in the UK. **Biomass and Bioenergy**. 31, 95–104, 2007.
- McINERNEY, M. J.; BRYANT, M. P. **Fuel gas production from biomass**. Cap. 2 - Review of methane fermentation fundamentals. Florida, EUA. Editora D. L. Wise. 19 – 45, 1980.
- METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. Boston, EUA. Editora McGraw-Hill, 2003. 1819 p.
- MIDILLI, A.; DINCER, I. Key strategies of hydrogen energy systems for sustainability. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 511 – 524, 2007.
- MIZUNO, O.; OHARA, T.; SHINYA, M.; NOIKE, T. Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora. **Water Science Technology**. 42 (3–4), 345–350, 2000a.

- MIZUNO, O.; DINSDALE, R.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D. L.; NOIKE, T. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Biores Technol.** 73, 59–65, 2000b.
- MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology.** 41, 506–515, 2007.
- MONTEGGIA, L. O. **The use of specific methanogenic activity for controlling anaerobic reactors.** Ph D Thesis. University of Newcastle Upon Tyne. Inglaterra, 1991. 308 p.
- MONTEGGIA, L. O. Proposta de metodologia para avaliação do Parâmetro “atividade metanogênica específica”. In: 19^o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 754-766, 1997.
- MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A.A.Y.; NGAN, M.A.; FAKHRU’L-RAZI, A.; IYUKE, S.E.; BAKIR, A.M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy.** 29, 709 – 713, 2004.
- MOOSEY, F. E. Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile fatty acids from glucose. **Water Science and Technology.** 15, 209 – 232, 1983.
- MU, Y.; YU, H.Q.; WANG, Y. The role of pH in the fermentative H₂ production from an acidogenic granule-based reactor. **Chemosphere.** 64, 350–358, 2006.
- NAKAMURA, M.; KANBE, H.; MATSUMOTO, J. Fundamental studies on hydrogen production in the acid-forming phase and its bacteria in anaerobic treatment processes—the effects of solids retention time. **Water Science Technology.** 28, 81–88, 1993.
- OH, S. E.; LOGAN, B. E. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Research.** 39, 4673–4682, 2005.
- OKAMOTO, M.; MIYAHARA, T.; MIZUNO, O.; NOIKE, T. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solid wastes. **Water science and technology.** 41 (3), 25-32, 2000.

- ONODERA, H.; MIYAHARA, T.; NOIKE, T. Influence of ammonia concentration on hydrogen transformation of sucrose. In: Asian Waterqual'99. 7th IAWQ Asia-Pacific Regional Conference, Taipei – Taiwan. 2, 1139 – 1144, 1999.
- PARRY, D. L.; COLE, J.; BARRA, J.; BARNEY, B.; McCARTHY, B. Bioenergy conversion of cow manure. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 3, 1805-1808, 2004.
- PAPANIKOLAOU S, RUIZ-SANCHEZ P, PARISET B, BLANCHARD F, FICK M. High production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated *Clostridium butyricum* strain. **Journal of Biotechnology**. 77, 191–208, 2000.
- RACHMAN, M. A.; NAKASHIMADA, Y.; KAKIZONO, T.; NISHIO N. Hydrogen production with high yield and high evolution rate by self-flocculated cells of *Enterobacter aerogenes* in a packed bed reactor. **Appl Microbiol Biotechnol**. 49, 450–454, 1998.
- REN, N. Q.; LI, J. Z.; LI, B.Q.; WANG, Y; LIU, S.R. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 2147–57, 2006.
- REN, N. Q.; TANG, J.; LIU, B. F.; GUO, W.Q. Biological hydrogen production in continuous stirred tank reactor systems with suspended and attached microbial growth. **International Journal of Hydrogen Energy**. 35, 2807–2813, 2010.
- RITTMANN, B. E.; McCARTY, P. L. **Environmental Biotechnology: Principles and Applications**. Ed. MacGraw-Hill, New York. 2001.
- ROBLES-MARTINEZ, F.; DURAN-PARAMO, E.; MORALES-CONTRERAS, M. Biogas production from horticultural wastes. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 3, 1821. 2004.
- RODRIGUEZ, G.C., GONZALEZ-BARCELO, O., GONZALEZ-MARTINEZ, S.. Wastewater fermentation and nutrient removal in sequencing batch reactors. **Water Science and Technology**. 38, 255–264, 1998.
- SHOW, K. Y.; ZHANG, Z. P.; TAY, J. H.; LIANG, D. T.; LEE, D. J.; JIANG, W. J. Production of hydrogen in a granular sludge-based anaerobic continuous stirred tank reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 4744–53, 2007.

- SHIN, H. S.; YOUN, J. H.; KIM, S. H. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. **International Journal of Hydrogen Energy**. 29, 1355 – 1363, 2004.
- SMITH, G.; GÖRANSSON, J. Generation of an effective internal carbon source for the denitification through thermal hydrolysis of pre-precipitated sludge. **Water Science and Technology**. 25, 211–218, 1992.
- SOUZA, S. N. M.; PEREIRA, W. C.; NOGUEIRA, C. E. C.; PAVAN, A. A.; SORDI, A. Custo da eletricidade gerada em conjunto motor gerador utilizando biogás da suinocultura. **Acta Scientiarum Technology**. 26 (2), 127-133, 2004.
- SOUZA, C. F.; JÚNIOR, J. L.; FERREIRA, W. P. M. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato – considerações sobre a partida. **Eng. Agríc.** 25 (2), 530-539, 2005.
- TANG, G. L.; HUANG, J.; SUN, Z. J.; TANG, Q. Q.; YAN, C. H.; LIU, G. G. Biohydrogen production from cattle wastewater by enriched anaerobic mixed consortia: influence of fermentation temperature and pH. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 106 (1), 80–87, 2008.
- TSYGANKOV, A. A. Biological generation of hydrogen. Russian **Journal of General Chemistry**. 77 (4), 685-693, 2007.
- UENO Y, KAWAI T, SATO S, OTSUKA S, MORIMOTO M. Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora. **J Ferment Bioeng**. 79 (4), 395–397, 1995.
- VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environ. Sci. Technol**. 35, 4726-4730, 2001.
- VAN GINKEL, S. W.; OH, S. E.; LOGAN, B. E. Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 1535 – 1542, 2005.
- VAN NIEL, E. W. J.; CLAASSEN, P. A. M.; STAMS, A. J. M. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. **Biotechnol Bioeng**. 81, 255–62, 2003.

WANG, B.; WAN, W.; WANG J. Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**. 33, 7013 – 7019, 2008.

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

WEERASINGHE, K. D. N.; JAYASSINGHE, G. Y.; WIJETHUNGA, S.; PATHIRANAGE, S. R. W.; DE SILVA, S. Biogas liberation pattern from cow done, refuses of vegetable markets and paddy straw when subjected to biomethanation. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 3, 1856-1857, 2004.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S. Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactors. **Biotechnol Prog**. 19 (3), 828–832, 2003.

YANG, P.; ZHANG, R.; MCGARVEY, J. A.; BENEMANN, J. R. Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. **International Journal of Hydrogen Energy**. 32, 4761 – 4771, 2007.

YEOLE, T. Y.; DESHMUKH, S.; PATIL, S.; LAPSIYA, K. L.; RANADE, D.R. Microbial technology to enhance biogas production at low temperature from cattle dung. In: Anaerobic Digestion 2004. Anaerobic bioconversion answer for sustentability. 10th World Congress, Montreal – Canada. 3, 1864-1867, 2004.

YILMAZ, V.; DEMIRER, G. N. Improve anaerobic acidification of unscreened dairy manure. **Environmental Engineering Science**. 25 (3), 309 – 317, 2008.

YU, H. Q.; FANG, H. H. P. Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters. **Water Research**. 35 (15), 3697–3705, 2001.

YU, H.; ZHU, Z.; HU, W. ZHANG, H. Hydrogen production from rice winery wastewater in an up flow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**. 27, 1359–1365, 2002.

YU, H. Q.; MU, Y. Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules. II: reactor performance in 3-year operation. **Biotechnol Bioeng**. 94 (5), 988–995, 2006.

ZHANG, Y.; SHEN, J. Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**. 31, 441 – 446, 2006.

ZHENG, X. J.; YU, H.Q. Biological hydrogen production from anaerobic fermentor at various agitation speeds. In: 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestions, Brisbane – Australia. P193, 2007.

ZOETEMEYER, R.J.; ARNOLDY, P.; COHEN, A.; BOELHOUWER, C. Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of a two-stage digestion process. **Water Research**. 16, 313–321, 1982.

ANEXOS

ANEXO A - Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica de lodos.

Tabela A.1 – Atividades hidrogênicas específicas para os valores de DQO e de pH estudados, na concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0
	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)
1.000	40,0	6,0
2.000	37,1	19,5
4.000	316,0	25,2
8.000	194,3	44,5
12.000	293,3	32,7
16.000	392,5	20,3
20.000	357,1	23,4

Tabela A.2 – Atividades hidrogênicas específicas para os valores de DQO e de pH estudados, na concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0	pH inicial = 6,5
	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)
1.000	0,1	10,5	13,1	11,2
2.000	0,3	171,2	26,1	15,7
4.000	343,7	262,6	180,5	57,2
8.000	293,4	445,6	331,7	51,6
12.000	86,1	271,7	483,0	45,9
16.000	26,1	237,0	397,9	26,6
20.000	3,0	203,1	312,5	7,8

Tabela A.3 – Atividades hidrogênicas específicas para os valores de DQO e de pH estudados, na concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0	pH inicial = 6,5
	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)
1.000	2,2	1,2	1,4	0,2
2.000	4,5	5,2	3,0	0,3
4.000	5,0	114,8	59,7	11,0
8.000	14,2	206,4	173,5	18,5
12.000	21,0	298,0	234,2	26,2
16.000	20,6	389,5	138,9	19,0
20.000	3,3	267,5	44,0	10,7

Tabela A.4 – Atividades hidrogênicas específicas para os valores de DQO e de pH estudados, na concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)
1.000	11,0	5,6	1,2	0,01
2.000	22,0	11,2	2,3	0,02
4.000	44,1	22,5	11,9	0,05
8.000	77,8	147,9	39,6	0,13
12.000	111,2	150,2	81,2	0,25
16.000	60,3	78,3	88,4	0,25
20.000	10,0	5,9	95,5	0,24

Tabela A.5 – Volume de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada nos valores de pH estudados, para a concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0
	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)
1.000	4,9	18,5
2.000	17,0	27,9
4.000	7,7	21,5
8.000	3,1	27,5
12.000	1,3	15,9
16.000	3,1	10,2
20.000	1,4	6,7

Tabela A.6 – Volume de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada nos valores de pH estudados, para a concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)
1.000	1,2	10,5	3,3	5,9
2.000	13,8	20,1	3,7	6,8
4.000	29,6	31,1	24,8	19,9
8.000	13,4	13,8	21,7	11,0
12.000	8,1	13,2	20,2	9,3
16.000	4,7	15,1	11,0	10,5
20.000	2,8	7,0	5,4	5,1

Tabela A.7 – Volume de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada nos valores de pH estudados, para a concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0	pH inicial = 6,5
	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)
1.000	4,4	11,0	3,3	1,4
2.000	17,1	22,3	9,7	1,4
4.000	28,6	28,4	19,9	8,2
8.000	32,6	37,9	34,4	12,2
12.000	15,1	20,2	24,1	13,4
16.000	12,1	21,4	18,3	6,6
20.000	5,9	14,2	14,8	7,2

Tabela A.8 – Volume de hidrogênio produzido por grama de DQO adicionada nos valores de pH estudados, para a concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0	pH inicial = 6,5
	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)	Prod. H ₂ (mL.gDQO ⁻¹)
1.000	2,8	3,3	2,5	0,1
2.000	9,9	7,2	10,4	0,2
4.000	5,3	25,1	17,1	0,1
8.000	3,0	26,2	6,7	1,6
12.000	3,2	17,3	9,2	2,1
16.000	1,4	12,9	8,3	0,9
20.000	0,5	10,2	7,8	0,4

Tabela A.9 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,5 e concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	75,3	8,6	16,1
2.000	58,7	6,1	35,2
4.000	37,5	1,0	61,5
8.000	36,5	1,1	62,4
12.000	43,3	2,1	54,5
16.000	35,6	1,9	62,5
20.000	42,5	1,7	55,7

Tabela A.10 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,0 e concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	79,2	3,2	17,5
2.000	64,6	3,4	32,0
4.000	54,3	2,5	43,2
8.000	37,9	2,3	59,8
12.000	46,6	0,4	53,0
16.000	52,7	0,4	46,9
20.000	36,2	2,0	61,8

Tabela A.11 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,0 e concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	84,6	8,7	6,7
2.000	39,8	4,8	55,3
4.000	54,8	2,6	42,6
8.000	47,5	0,3	52,2
12.000	43,5	2,7	53,7
16.000	46,5	2,7	50,8
20.000	51,5	3,4	45,1

Tabela A.12 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,5 e concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	66,3	8,9	24,8
2.000	55,2	6,5	38,2
4.000	44,9	5,2	49,9
8.000	43,7	4,2	52,1
12.000	44,3	4,2	51,5
16.000	43,8	3,3	53,0
20.000	44,0	4,3	51,7

Tabela A.13 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,0 e concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	86,7	0,5	12,7
2.000	61,3	7,3	31,5
4.000	39,4	6,3	54,2
8.000	39,3	4,3	56,4
12.000	41,6	3,7	54,7
16.000	38,0	5,6	56,4
20.000	26,0	4,4	69,6

Tabela A.14 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,5 e concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	67,3	9,1	23,6
2.000	59,8	8,6	31,6
4.000	35,5	5,8	58,7
8.000	38,7	5,3	56,0
12.000	35,6	5,5	58,8
16.000	32,5	4,2	63,2
20.000	44,1	4,3	51,6

Tabela A.15 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,0 e concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	65,7	11,5	22,8
2.000	61,8	9,9	28,3
4.000	62,8	4,7	32,5
8.000	43,8	3,6	52,6
12.000	42,0	4,7	53,3
16.000	44,1	6,3	49,5
20.000	44,0	5,9	50,1

Tabela A.16 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,5 e concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	71,1	7,0	21,9
2.000	58,0	7,0	34,9
4.000	47,6	6,8	45,6
8.000	50,2	0,2	49,6
12.000	48,0	4,5	47,5
16.000	53,3	2,6	44,1
20.000	49,8	3,6	46,8

Tabela A.17 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,0 e concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	72,4	1,1	26,4
2.000	67,4	9,0	23,6
4.000	52,9	8,3	38,8
8.000	47,1	5,2	47,6
12.000	40,6	5,8	53,6
16.000	41,8	4,9	53,2
20.000	42,0	5,3	52,6

Tabela A.18 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,5 e concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	76,2	9,9	13,8
2.000	75,4	11,9	12,7
4.000	54,3	9,5	36,2
8.000	41,7	8,2	50,1
12.000	43,3	7,0	49,6
16.000	57,5	7,7	34,7
20.000	52,6	7,5	39,9

Tabela A.19 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,0 e concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	80,5	7,8	11,7
2.000	55,3	20,3	24,3
4.000	53,5	5,7	40,9
8.000	67,0	2,0	31,0
12.000	37,0	4,4	58,6
16.000	86,8	8,4	4,8
20.000	50,3	10,1	39,5

Tabela A.20 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 5,5 e concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	74,8	6,1	19,0
2.000	71,0	3,7	25,2
4.000	47,7	9,1	43,1
8.000	39,9	8,3	51,7
12.000	42,7	5,3	52,0
16.000	43,5	4,7	51,8
20.000	45,8	11,8	42,4

Tabela A.21 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,0 e concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,0		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	76,2	2,2	21,6
2.000	82,6	1,4	16,0
4.000	55,5	11,6	32,9
8.000	69,1	5,7	25,2
12.000	55,1	8,2	36,7
16.000	54,1	8,4	37,5
20.000	53,7	8,5	37,8

Tabela A.22 – Porcentagem dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com valor de pH inicial de 6,5 e concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 6,5		
	Ac. Acético (%)	Ac. Propiônico (%)	Ac. Butírico (%)
1.000	79,7	7,2	13,1
2.000	73,5	11,8	14,7
4.000	66,1	9,8	24,1
8.000	50,8	7,9	41,3
12.000	64,3	6,4	29,2
16.000	68,5	7,8	23,7
20.000	65,4	8,6	25,9

Tabela A.23 – Valores do pH final nos testes realizados com concentração de SVT de 1.250 mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0
	pH final	pH final
1.000	5,29	5,0
2.000	4,66	4,85
4.000	4,47	4,76
8.000	4,42	4,44
12.000	4,34	4,50
16.000	4,33	4,43
20.000	4,30	4,47

Tabela A.24 – Valores do pH final nos testes realizados com concentração de SVT de 2.500 mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH inicial = 5,0	pH inicial = 5,5	pH inicial = 6,0	pH inicial = 6,5
	pH final	pH final	pH final	pH final
1.000	5,40	5,39	5,63	5,60
2.000	4,75	5,20	5,31	5,29
4.000	4,72	4,83	4,74	4,96
8.000	4,43	4,80	4,56	4,77
12.000	4,50	4,81	4,47	4,75
16.000	4,40	4,75	4,61	4,66
20.000	4,30	4,84	4,48	4,72

Tabela A.25 – Valores do pH final nos testes realizados com concentração de SVT de 5.000 mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
	pH final	pH final	pH final	pH final
1.000	5,05	5,27	5,70	5,90
2.000	5,07	5,00	5,43	5,53
4.000	4,73	4,88	5,08	5,31
8.000	4,45	4,60	4,70	5,00
12.000	4,53	4,54	4,66	4,97
16.000	4,58	4,53	4,67	4,91
20.000	4,68	4,60	4,60	4,80

Tabela A.26 – Valores do pH final nos testes realizados com concentração de SVT de 7.500 mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
	pH final	pH final	pH final	pH final
1.000	5,14	5,53	5,77	6,02
2.000	4,92	5,26	5,66	5,71
4.000	4,81	5,05	5,24	5,4
8.000	4,58	4,81	4,64	5,2
12.000	4,75	4,75	4,64	5,06
16.000	4,67	4,7	4,6	5,05
20.000	4,5	4,6	4,65	5,03

Tabela A.27 – Graus de acidificação medidos nos testes realizados com concentração de SVT de 1.250mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Grau de acidificação (gDQO _{AGV} . gDQO _{Aff} ⁻¹)	
	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0
1.000	0,24	0,76
2.000	0,29	0,82
4.000	1,11	0,62
8.000	0,46	0,86
12.000	0,48	0,17
16.000	0,24	0,44
20.000	0,54	0,70

Tabela A.28 – Graus de acidificação medidos nos testes realizados com concentração de SVT de 2.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Grau de acidificação (gDQO _{AGV} . gDQO _{Al} ⁻¹)			
	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
1.000	0,51	0,82	0,08	0,65
2.000	0,26	0,62	0,17	0,58
4.000	0,41	1,40	0,62	0,99
8.000	0,94	1,82	1,16	0,57
12.000	0,62	0,54	0,51	0,77
16.000	0,42	0,70	0,41	0,57
20.000	0,32	0,39	0,23	0,40

Tabela A.29 – Graus de acidificação medidos nos testes realizados com concentração de SVT de 5.000mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Grau de acidificação (gDQO _{AGV} . gDQO _{Al} ⁻¹)			
	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
1.000	0,73	0,25	0,28	1,16
2.000	0,96	0,94	0,65	0,97
4.000	0,33	0,68	1,16	0,97
8.000	0,83	0,19	0,80	0,57
12.000	0,55	0,81	0,69	0,73
16.000	0,94	0,33	0,93	0,51
20.000	0,16	0,40	0,95	0,32

Tabela A.30 – Graus de acidificação medidos nos testes realizados com concentração de SVT de 7.500mg.L⁻¹.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Grau de acidificação (gDQO _{AGV} . gDQO _{Al} ⁻¹)			
	pH _{inicial} = 5,0	pH _{inicial} = 5,5	pH _{inicial} = 6,0	pH _{inicial} = 6,5
1.000	0,50	0,21	0,17	0,36
2.000	0,61	0,22	0,10	1,20
4.000	0,70	0,49	1,16	1,01
8.000	0,53	0,78	0,40	0,96
12.000	0,49	0,60	0,51	0,49
16.000	0,17	0,43	0,58	0,63
20.000	0,43	0,14	1,01	0,44

ANEXO B - Determinação da atividade hidrogênica específica de diferentes substratos orgânicos

Tabela B.1 – Atividades hidrogênicas específicas dos efluentes estudados.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	AHE (mLH ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹)					
	Acetato de sódio	Acido propiônico	Acido butírico	Efluente Protéico	Glicerol 5%	Efluente fungicida
1.000	0,007	0,005	0,022	0,004	0,002	0,012
2.000	0,003	0,256	0,106	6,820	0,015	0,000
4.000	0,004	0,023	0,011	0,047	0,003	0,123
8.000	0,057	0,060	0,003	1,029	0,000	0,133
12.000	0,000	0,065	0,017	1,235	0,117	0,261
16.000	0,010	0,004	0,002	0,000	0,020	0,034
20.000	0,000	0,000	0,000	0,044	0,001	0,061

Tabela B.2 – Produção volumétrica de hidrogênio por grama de DQO adicionada para cada efluente estudado.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Produção de hidrogênio (mLH ₂ .gDQO ⁻¹)					
	Acetato de sódio	Acido propiônico	Acido butírico	Efluente Protéico	Glicerol 5%	Efluente fungicida
1.000	0,030	0,198	0,212	0,110	0,050	0,014
2.000	0,073	0,312	1,534	1,150	0,290	0,000
4.000	0,075	0,028	0,037	2,176	0,050	0,170
8.000	0,890	0,072	0,058	13,942	0,401	0,170
12.000	0,569	0,079	0,059	7,394	0,947	0,390
16.000	0,011	0,006	0,053	3,440	0,120	0,060
20.000	0,003	0,000	0,038	0,430	0,020	0,080

Tabela B.3 – Valor do pH final do *mixed liquor* de cada efluente testado.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH final					
	Acetato de sódio	Acido propiônico	Acido butírico	Efluente Protéico	Glicerol 5%	Efluente fungicida
1.000	6,08	6,04	6,15	5,66	5,68	6,25
2.000	6,15	6,21	6,27	5,56	5,42	5,78
4.000	5,98	6,20	6,78	5,27	5,27	5,93
8.000	6,14	6,24	6,55	5,07	5,15	6,26
12.000	6,15	6,40	6,35	4,60	5,11	6,01
16.000	6,17	6,12	6,63	4,49	5,15	6,24
20.000	6,14	6,14	6,43	4,37	5,00	6,09

Tabela B.4 – Porcentagens dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com acetato de sódio anidro e ácido propiônico.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Acetato de sódio anidro			Ácido Propiônico		
	Ac. acético (%)	Ác. propiônico (%)	Ac.butírico (%)	Ac. acético (%)	Ác. propiônico (%)	Ac.butírico (%)
1.000	90,5	4,7	4,8	83,5	10,0	6,5
2.000	75,4	14,5	10,0	77,8	14,8	7,4
4.000	86,9	8,1	5,0	80,5	11,7	7,8
8.000	96,8	1,9	1,4	79,5	12,5	8,0
12.000	98,1	1,2	0,7	69,3	21,2	9,5
16.000	97,8	1,4	0,8	73,4	17,2	9,4
20.000	99,3	0,1	0,7	74,1	17,7	8,3

Tabela B.5 – Porcentagens dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com ácido butírico e efluente protéico.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Ácido Butírico			Efluente protéico		
	Ac. acético (%)	Ác. propiônico (%)	Ac.butírico (%)	Ac. acético (%)	Ác. propiônico (%)	Ac.butírico (%)
1.000	55,4	8,4	36,2	89,3	5,1	5,6
2.000	40,7	7,8	51,5	78,8	3,9	17,4
4.000	31,0	5,9	63,0	68,6	7,9	23,5
8.000	21,8	1,4	76,9	58,5	7,6	33,8
12.000	10,9	2,0	87,1	78,2	10,0	11,9
16.000	10,2	3,0	86,8	83,6	8,1	8,3
20.000	3,7	1,5	94,8	87,8	8,3	3,9

Tabela B.6 – Porcentagens dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com glicerol 5% e efluente de fungicida.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Glicerol 5%			Efluente fungicida		
	Ac. acético (%)	Ac. propiônico (%)	Ac.butírico (%)	Ac. acético (%)	Ac. propiônico (%)	Ac.butírico (%)
1.000	79,2	7,9	12,9	92,9	2,4	4,7
2.000	55,7	12,4	32,0	87,6	5,4	6,9
4.000	60,6	11,4	28,0	87,7	6,5	5,8
8.000	55,2	14,4	30,4	94,5	3,2	2,3
12.000	71,7	3,6	24,7	96,1	1,6	2,3
16.000	46,8	18,2	35,0	97,4	1,6	1,0
20.000	51,7	21,8	26,5	98,7	0,5	0,8

Tabela B.7 – Graus de acidificação medidos nos testes realizados com os efluentes.

DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Grau de acidificação (gDQO _{AGV} . gDQO _{AH} ⁻¹)					
	<i>Acetato de sódio</i>	<i>Acido propiónico</i>	<i>Acido butírico</i>	<i>Efluente Protéico</i>	<i>Glicerol 5%</i>	<i>Efluente fungicida</i>
1.000	0,47	0,27	0,22	1,41	0,08	0,16
2.000	2,51	0,07	0,84	0,28	0,51	0,34
4.000	2,21	0,19	1,63	0,58	0,31	0,73
8.000	1,28	0,09	0,40	0,42	0,17	0,71
12.000	1,00	0,07	0,98	0,20	0,05	0,61
16.000	2,09	0,08	1,89	0,20	0,17	0,91
20.000	2,83	0,08	1,15	0,11	0,15	0,26

ANEXO C - *Influência do controle de pH na produção de hidrogênio a partir da glicose*

Tabela C.1 – Variação do valor do pH durante o teste realizado com o pH inicial ajustado para $5,0 \pm 0,1$.

Tempo (h)	pH
0	5,10
1	5,31
2	5,38
3	5,41
4,5	5,41
5,5	5,38
6,5	5,3
7,5	5,21
8,5	5,00
9,25	4,94
24,75	4,52
25,75	4,51
26,5	4,51
27,5	4,51
28,75	4,51

Tabela C.2 – Variação do valor do pH durante o teste realizado com o pH inicial ajustado para $5,5 \pm 0,1$.

Tempo (h)	pH
0	5,60
1	5,75
2	5,80
3	5,81
4,5	5,79
5,5	5,78
6,5	5,75
7,5	5,72
8,5	5,67
24,5	4,72
25,5	4,71
26,5	4,70
27,5	4,69
28,5	4,69
29,5	4,68

Tabela C.3 – Variação do valor do pH durante o teste realizado com o pH inicial ajustado para $6,0 \pm 0,1$.

Tempo (h)	pH
0	5,98
1	6,12
2	6,14
3	6,12
4	6,06
5	5,99
6	5,89
7	5,77
8	5,68
24	4,88
25	4,86
26	4,84
27	4,82

Tabela C.4 – Concentrações dos ácidos graxos voláteis obtidos nos testes com os fermentadores com e sem controle de pH.

pH	Fermentador	Ac. Acético (mg.L ⁻¹)	Ac. Propiônico (mg.L ⁻¹)	Ac. Butírico (mg.L ⁻¹)
5,0	Sem controle de pH	1.610,4	142,9	2.068,7
	Com controle de pH	1.931,8	290,2	2.097,6
5,5	Sem controle de pH	10.007,2	1.565,0	10.733,8
	Com controle de pH	4.372,1	587,2	5.935,6
6,0	Sem controle de pH	4.303,6	145,2	1.067,7
	Com controle de pH	2.059,2	248,1	1.524,3

Tabela C.5 – Valores das DQO solúveis medidas ao final dos testes com os fermentadores com e sem controle de pH

pH	Fermentador	DQO solúvel inicial (mgO ₂ .L ⁻¹)	DQO solúvel final (mgO ₂ .L ⁻¹)
5,0	Sem controle de pH	12.000	9.397,5
	Com controle de pH	12.000	10.612,7
5,5	Sem controle de pH	12.000	5.086,1
	Com controle de pH	12.000	10.172,2
6,0	Sem controle de pH	12.000	1.882,3
	Com controle de pH	12.000	6.901,9

ANEXO D - Efeito do pH e da temperatura na concentração de hidrogênio produzido a partir de efluentes da suinocultura

Tabela D. 1 – Caracterização do efluente bruto coletado na propriedade rural.

Parâmetro						
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Amônia (mgNH ₄ -N.L ⁻¹)	Nitrogênio total Kjeldahl (mgN.L ⁻¹)	Sólidos totais (mg.L ⁻¹)	Sólidos voláteis totais (mg.L ⁻¹)	DQO total (mgO ₂ .L ⁻¹)	pH
2.826,0	642,4	1.795,1	23.779,5	17.272,5	61.663,8	7,2
2.213,0	732,3	1.887,8	24.740,5	18.766,0	45.241,4	6,5
3.811,0	814,7	1.348,6	22.285,7	16.298,9	52.965,5	6,0
3.273,0	661,3	1.152,7	25.703,5	19.935,0	43.034,5	6,3
3.138,0	825,5	2.009,0	24.571,5	19.058,5	63.574,4	5,9
3.018,0	690,1	1.850,1	22.130,3	14.585,7	38.549,3	7,1

Tabela D.2 – Valores das alcalinidades medidas nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
2,5	2.132,5	996,7	2.293,2
	1.966,9	1.284,8	3.520,0
	2.235,2	1.126,4	3.405,6
	2.886,4	1.856,8	3.062,4
1,7	3.256,0	2.252,9	3.132,8
	2.795,9	2.504,9	3.297,2
	2.147,0	1.788,8	3.440,0
	1.995,2	989,0	3.250,8
1,4	2.253,2	808,4	1.823,2
	2.666,0	1.935,0	1.698,5
	2.597,2	1.874,8	2.064,0
	1.358,8	1.118,0	3.457,2

Tabela D.3 – Valores das médias e desvios padrão da medida de alcalinidade dos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		
	Amostra	Média	Desvio padrão
2,5	Afluente	2.305,5	402,9
	Efluente acidogênico	1.316,2	379,2
	Efluente metanogênico	3.070,3	553,3
1,7	Afluente	2.548,5	585,7
	Efluente acidogênico	1.883,9	666,3
	Efluente metanogênico	3.280,2	127,0
1,4	Afluente	2.218,8	601,1
	Efluente acidogênico	1.434,1	558,7
	Efluente metanogênico	2.260,7	811,9

Tabela D.4 – Valores das DQOs medidas nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
2,5	48.000,0	41.684,2	17.684,2
	55.578,9	29.052,6	20.210,5
	63.157,9	45.473,7	17.684,2
	44.210,5	36.631,6	17.364,2
1,7	54.315,8	41.684,2	25.263,2
	63.157,9	45.473,7	29.052,6
	40.421,0	27.789,5	18.947,4
	29.052,6	20.210,5	17.684,2
1,4	15.058,8	12.549,0	8.784,3
	27.607,8	8.400,0	6.000,0
	58.800,0	54.000,0	1.200,0
	45.600,0	40.615,4	30.769,2

Tabela D.5 – Valores das médias e desvios padrão da medida de DQO dos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)		
	Amostra	Média	Desvio padrão
2,5	<i>Afluente</i>	52.736,8	8.402,6
	<i>Efluente acidogênico</i>	38.210,5	7.098,8
	<i>Efluente metanogênico</i>	18.235,8	1.325,1
1,7	<i>Afluente</i>	46.736,8	13.035,7
	<i>Efluente acidogênico</i>	33.798,5	10.237,6
	<i>Efluente metanogênico</i>	22.736,8	4.641,1
1,4	<i>Afluente</i>	36.766,6	19.309,9
	<i>Efluente acidogênico</i>	28.891,1	22.021,7
	<i>Efluente metanogênico</i>	11.688,4	13.100,6

Tabela D.6 – Valores dos sólidos totais medidos nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	ST (mg.L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
2,5	31.520,0	25.560,0	10.440,0
	26.792,0	25.328,0	12.316,0
	25.664,0	22.448,0	13.196,0
	26.328,0	23.264,0	12.116,0
1,7	13.688,0	11.972,0	10.732,0
	21.204,0	14.020,0	11.676,0
	29.496,0	24.220,0	13.380,0
	32.504,0	26.360,0	11.152,0
1,4	8.504,0	9.736,0	8.284,0
	19.080,0	13.512,0	8.540,0
	28.184,0	29.292,0	9.668,0
	34.032,0	22.156,0	10.600,0

Tabela D.7 – Valores das médias e desvios padrão da medida de sólidos totais dos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	ST (mg.L ⁻¹)		
	Amostra	Média	Desvio padrão
2,5	<i>Afluente</i>	27.576,0	2.669,8
	<i>Efluente acidogênico</i>	24.150,0	1.533,8
	<i>Efluente metanogênico</i>	12.017,0	1.151,2
1,7	<i>Afluente</i>	24.233,0	8.494,7
	<i>Efluente acidogênico</i>	19.143,0	7.200,2
	<i>Efluente metanogênico</i>	11.735,0	1.162,6
1,4	<i>Afluente</i>	22.450,0	11.148,5
	<i>Efluente acidogênico</i>	18.674,0	8.782,6
	<i>Efluente metanogênico</i>	9.273,0	1.069,6

Tabela D.8 – Valores dos sólidos voláteis totais medidos nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	SVT (mg.L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
2,5	25.476,0	19.984,0	6.768,0
	21.160,0	19.588,0	8.116,0
	20.800,0	17.572,0	8.564,0
	19.400,0	16.764,0	8.512,0
1,7	22.340,0	17.544,0	8.208,0
	25.724,0	19.204,0	6.100,0
	15.816,0	9.128,0	6.312,0
	10.508,0	8.372,0	5.924,0
1,4	5.508,0	18.920,0	5.364,0
	14.236,0	13.080,0	5.452,0
	20.916,0	12.432,0	6.084,0
	28.144,0	16.200,0	5.496,0

Tabela D.9 – Valores das médias e desvios padrão da medida de sólidos voláteis totais dos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	SVT (mg.L ⁻¹)		
	Amostra	Média	Desvio padrão
2,5	<i>Afluente</i>	21.709,0	2.623,6
	<i>Efluente acidogênico</i>	18.477,0	1.555,5
	<i>Efluente metanogênico</i>	7.990,0	838,8
1,7	<i>Afluente</i>	18.597,0	6.781,6
	<i>Efluente acidogênico</i>	13.562,0	5.606,1
	<i>Efluente metanogênico</i>	6.636,0	1.059,9
1,4	<i>Afluente</i>	17.201,0	9.644,8
	<i>Efluente acidogênico</i>	15.158,0	2.999,3
	<i>Efluente metanogênico</i>	5.599,0	327,9

Tabela D.10 – Composição do biogás nos reatores acidogênico e metanogênico nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	Hidrogênio (%)	Metano reator acidogênico (%)	Metano reator metanogênico (%)
2,5	0,0	6,4	65,5
	0,0	3,6	54,2
	4,2	3,1	60,6
	4,4	5,1	53,9
1,7	16,0	2,5	63,5
	12,4	3,3	63,7
	5,4	4,8	53,1
	0,0	3,8	62,0
1,4	6,7	5,0	50,5
	21,0	2,4	44,0
	22,2	1,0	50,1
	0,0	3,3	32,2

Tabela D.11 – Valores das médias e desvios padrão da composição percentual do biogás nos testes de determinação do TDC.

TDC (dias)	Composição do biogás (%)		
	Amostra	Média	Desvio padrão
2,5	<i>Hidrogênio</i>	2,2	2,5
	<i>Metano</i> reator acidogênico	4,6	1,5
	<i>Metano</i> reator metanogênico	58,6	5,6
1,7	<i>Hidrogênio</i>	8,5	7,1
	<i>Metano</i> reator acidogênico	3,6	1,0
	<i>Metano</i> reator metanogênico	60,6	5,0
1,4	<i>Hidrogênio</i>	12,5	10,9
	<i>Metano</i> reator acidogênico	2,9	1,7
	<i>Metano</i> reator metanogênico	44,2	8,5

Tabela D.12 – Alcalinidades das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados.

pH	T (°C)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ ·L ⁻¹)		
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
5,0	Ambiente	2.820,8	1.298,6	1.883,4
		2.545,6	1.167,7	2.045,7
		3.301,3	1.492,6	1.957,9
		3.187,1	1.633,1	1.694,5
		2.844,7	974,6	1.878,9
		3.116,9	1.281,9	2.651,6
		2.563,7	1.132,6	1.703,3
		2.230,1	974,6	2.186,2
		2.072,6	860,0	2.150,0
		2.253,2	808,4	1.823,2
		2.666,0	1.935,0	1.698,5
		2.597,2	1.874,8	2.064,0
	35	1.358,8	1.118,0	3.457,2
		1.092,2	2.218,8	4.291,4
		3.087,4	731,0	2.494,0
		2.580,0	524,6	2.279,0
		3.161,3	1.589,5	3.232,3
		3.818,4	1.554,0	3.276,7
		3.862,8	1.456,3	1.580,6
		3.836,2	1.527,3	3.374,4
		3.552,0	1.021,2	3.241,2
		4.262,4	1.749,3	2.228,9
		4.884,0	2.237,7	2.770,5
		2.679,0	1.974,0	2.726,0
6,0	Ambiente	2.603,8	3.243,0	3.224,2
		3.769,4	4.380,4	3.299,4
		3.703,6	4.183,0	3.985,6
		3.045,6	4.634,2	4.681,2
		3.985,6	5.245,2	4.399,2
		5.207,6	4.521,4	4.972,6
		5.292,2	3.600,2	5.912,6
		3.573,4	3.599,8	3.134,4
		4.390,0	4.047,6	2.686,7
		4.152,9	3.478,0	4.681,2
		2.344,2	2.440,8	4.144,2
		2.838,8	3.055,0	3.271,2
	35	2.726,0	2.472,2	2.932,8
		2.820,0	2.218,4	3.036,2
		2.256,0	2.331,2	3.111,4
		5.683,2	4.440,0	3.862,8
		6.073,9	4.455,0	4.185,0
		5.364,0	5.130,0	5.157,0
		5.220,0	4.014,0	5.490,0
		3.960,0	2.655,0	4.905,0
		3.015,0	1.872,0	4.158,0
		2.313,0	1.350,0	3.474,0
		5.683,2	4.440,0	3.862,8
		55	2.679,0	1.974,0
2.603,8	3.243,0		3.224,2	
3.769,4	4.380,4		3.299,4	
3.703,6	4.183,0		3.985,6	
3.045,6	4.634,2		4.681,2	
3.985,6	5.245,2		4.399,2	
5.207,6	4.521,4		4.972,6	
5.292,2	3.600,2		5.912,6	
3.573,4	3.599,8		3.134,4	
4.390,0	4.047,6		2.686,7	
4.152,9	3.478,0		4.681,2	
2.344,2	2.440,8		4.144,2	

Tabela D.13 – Valores das médias e desvios padrão da alcalinidade das amostras de efluente da suinocultura em cada condição testada.

pH	T (°C)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)		
		Amostra	Média	Desvio padrão
5,0	Ambiente	Afluente	2.826,3	367,2
		Efluente acidogênico	1.244,5	233,3
		Efluente metanogênico	2.000,2	310,0
	35	Afluente	2.213,4	682,4
		Efluente acidogênico	1.258,8	650,0
		Efluente metanogênico	2.532,2	892,7
	55	Afluente	3.911,0	544,3
		Efluente acidogênico	1.590,8	363,2
		Efluente metanogênico	2.814,9	677,1
6,0	Ambiente	Afluente	3.785,8	1.035,6
		Efluente acidogênico	3.972,7	1.016,6
		Efluente metanogênico	4.150,1	1.053,1
	35	Afluente	3.137,7	806,7
		Efluente acidogênico	2.955,4	688,9
		Efluente metanogênico	3.374,8	678,2
	55	Afluente	4.664,0	1.394,2
		Efluente acidogênico	3.544,5	1.392,4
		Efluente metanogênico	4.386,8	712,6

Tabela D.14 – DQO total das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados.

pH	T (°C)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)		
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
5,0	Ambiente	62.693,9	35.310,3	33.103,4
		45.241,4	32.000,0	24.275,8
		52.965,5	44.137,9	24.225,2
		43.034,5	33.662,3	23.688,3
		63.584,4	44.883,1	37.402,6
		38.649,3	27.428,6	24.935,0
		33.662,3	32.810,1	27.949,4
		68.050,6	40.101,3	35.240,5
		20.078,4	17.568,6	15.058,8
	35	15.058,8	12.549,0	8.784,3
		27.607,8	8.400,0	6.000,0
		58.800,0	54.000,0	1.200,0
		45.600,0	40.615,4	30.769,2
		75.076,9	45.538,6	33.230,8
		62.769,2	50.938,8	30.040,8
		58.775,5	40.489,8	36.571,4
		65.333,3	64.000,0	26.666,7
		44.000,0	28.000,0	24.000,0
	55	53.333,3	49.333,3	24.350,0
		77.333,3	57.600,0	30.171,4
		19.200,0	13.714,3	9.600,0
		37.028,6	24.685,7	19.200,0
		41.142,8	53.960,8	37.647,0

Tabela D.14 – DQO total das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados (continuação).

pH	T (°C)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)		
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
6,0	Ambiente	29.729,0	26.012,9	13.625,8
		37.161,3	34.683,9	19.819,3
		43.354,8	43.267,6	27.042,2
		63.549,3	39.211,3	24.338,0
		45.971,8	31.098,6	9.464,8
		58.140,8	50.028,2	45.971,8
		49.678,3	48.335,6	34.909,1
		55.048,9	48.435,4	20.139,8
		54.683,5	50.140,1	35.465,0
		52.586,0	41.579,6	36.687,9
		45.248,4	41.579,6	22.012,7
		58.700,6	44.025,5	28.127,4
	35	45.333,3	36.000,0	34.666,7
		64.000,0	44.000,0	21.333,3
		54.666,6	42.666,7	34.666,7
		50.666,6	24.774,2	22.296,8
		57.725,5	52.705,9	20.078,4
		66.509,8	56.470,6	53.960,8
		66.529,9	36.821,9	24.986,3
		38.137,0	32.876,7	27.616,4
		48.657,5	45.078,2	33.391,3
		40.069,6	38.400,0	21.704,3
		36.730,4	15.026,1	13.356,5
		57.725,5	52.705,9	20.078,4

Tabela D.15 – Valores das médias e desvios padrão da DQO total das amostras de efluente da suinocultura em cada condição testada.

pH	T (°C)	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)		
		Amostra	Média	Desvio padrão
5,0	Ambiente	Afluente	50.958,2	12.758,4
		Efluente acidogênico	36.291,7	6.174,4
		Efluente metanogênico	28.852,5	5.569,9
	35	Afluente	45.470,8	22.101,1
		Efluente acidogênico	33.762,5	18.091,0
		Efluente metanogênico	20.206,9	13.968,1
	55	Afluente	48.195,9	19.156,8
		Efluente acidogênico	41.613,4	19.231,1
		Efluente metanogênico	24.519,3	8.756,6
6,0	Ambiente	Afluente	47.829,3	11.173,2
		Efluente acidogênico	40.134,2	8.908,2
		Efluente metanogênico	24.413,8	11.717,2
	35	Afluente	53.523,6	6.360,0
		Efluente acidogênico	40.595,7	7.484,4
		Efluente metanogênico	29.407,1	6.730,4
	55	Afluente	51.510,6	12.329,7
		Efluente acidogênico	41.260,7	13.598,0
		Efluente metanogênico	26.896,5	12.433,2

Tabela D.16 – Sólidos totais das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados.

pH	T (°C)	ST (mg.L ⁻¹)			
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico	
5,0	Ambiente	21.824	19.884	22.648	
		20.212	22.316	23.884	
		22.776	25.840	23.060	
		25.164	25.448	18.796	
		18.052	20.832	22.008	
		21.288	20.736	19.268	
		23.528	23.092	19.864	
		28.456	24.088	19.828	
	35	16.308	12.432	93.96	
		8.504	9.736	8.284	
		19.080	13.512	8.540	
		28.184	29.292	9.668	
		34.032	22.156	10.600	
		35.256	22.424	32.084	
		19.148	21.700	30.328	
		21.412	23.252	29.276	
		55	25.784	23.448	12.160
			19.464	15.484	12.544
			26.036	22.672	12.880
			19.804	16.936	10.048
			15.872	12.524	12.960
			22.644	16.756	11.288
			26.396	24.196	10.304
			22.904	19.216	11.776
6,0	Ambiente	20.480	22.272	12.936	
		25.488	26.052	13.884	
		29.280	28.540	15.948	
		23.376	20.020	14.328	
		29.536	25.724	14.772	
		27.528	25.176	14.612	
		27.036	25.332	13.672	
		29.000	25.836	20.160	
	35	30.452	27.908	19.736	
		25.288	22.080	21.992	
		23.520	19.268	19.492	
		23.348	18.832	14.732	
		27.356	28.092	13.468	
		16.940	20.584	15.604	
		20.668	19.888	17.592	
		55	25.052	27.456	11.668
			23.728	22.068	11.616
			22.128	18.680	13.032
			21.360	15.104	12.692
			27.412	21.504	12.992
			13.696	13.028	11.996
			7.536	8.836	10.128
			25.052	27.456	11.668

Tabela D.17 – Valores das médias e desvios padrão dos sólidos totais das amostras de efluente da suinocultura em cada condição testada.

pH	T (°C)	ST (mg.L ⁻¹)		
		Amostra	Média	Desvio padrão
5,0	Ambiente	Afluente	22.779,5	3.172,2
		Efluente acidogênico	22.662,5	2.231,7
		Efluente metanogênico	21.169,5	1.948,8
	35	Afluente	22.740,5	9.148,7
		Efluente acidogênico	19.313,0	6.668,4
		Efluente metanogênico	18.397,1	11.434,3
	55	Afluente	22.285,7	4.053,4
		Efluente acidogênico	18.859,4	4.541,0
		Efluente metanogênico	11.740,6	1.206,9
6,0	Ambiente	Afluente	25.703,5	3.233,1
		Efluente acidogênico	24.041,5	3.221,6
		Efluente metanogênico	13.991,0	1.257,6
	35	Afluente	24.571,5	4.448,7
		Efluente acidogênico	22.881,1	3.881,1
		Efluente metanogênico	17.847,0	2.994,8
	55	Afluente	20.745,5	6.728,5
		Efluente acidogênico	19.266,5	6.680,2
		Efluente metanogênico	11.974,0	955,8

Tabela D.18 – Sólidos voláteis totais das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados.

pH	T (°C)	SVT (mg.L ⁻¹)		
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico
5,0	Ambiente	16.460	14.928	16.744
		15.592	18.968	17.468
		16.504	19.756	17.240
		19.196	19.492	13.472
		12.956	15.684	16.360
		15.780	14.920	13.788
		17.156	16.664	14.404
		21.756	17.768	14.180
		13.020	9.276	5.804
	35	5.508	6.892	5.364
		14.236	9.308	5.452
		20.916	22.432	6.084
		28.144	16.200	5.496
		29.472	16.344	24.584
		14.316	16.544	22.628
		16.516	18.212	22.272
		20.864	18.836	8.104
		14.644	11.236	8.644
55	20.964	17.924	8.704	
	15.060	12.404	6.648	
	11.660	8.748	9.240	
	17.260	12.140	7.620	
	20.640	18.692	6.692	

Tabela D.18 – Sólidos voláteis totais das amostras de efluente da suinocultura em cada estágio do tratamento e valor de pH e temperatura testados (continuação)

pH	T (°C)	SVT (mg.L ⁻¹)			
		Afluente	Efluente acidogênico	Efluente metanogênico	
6,0	Ambiente	17.824	14.628	7.784	
		16.036	17.284	8.920	
		19.872	20.276	9.740	
		23.492	22.640	11.332	
		17.504	14.360	9.912	
		23.436	18.916	9.872	
		20.808	18.624	9.740	
		20.508	18.500	8.500	
	35	21.740	18.436	13.832	
		22.900	20.304	13.612	
		19.664	16.068	15.060	
		18.300	14.004	13.284	
		18.356	13.696	9.976	
		22.652	22.992	8.744	
		12.772	15.256	10.884	
		16.084	15.132	12.632	
		55	18.936	21.368	7.772
			17.408	16.096	7.372
			15.608	12.612	8.508
			15.172	9.128	7.544
			19.468	16.248	8.608
			9.868	8.960	7.700
			4.940	6.036	6.264
			18.936	21.368	7.772

Tabela D.19 – Valores das médias e desvios padrão dos sólidos voláteis totais das amostras de efluente da suinocultura em cada condição testada.

pH	T (°C)	SVT (mg.L ⁻¹)			
		Amostra	Média	Desvio padrão	
5,0	Ambiente	Afluente	17.272,5	2.612,7	
		Efluente acidogênico	16.925,0	2.004,9	
		Efluente metanogênico	15.457,0	1.654,4	
	35	Afluente	17.766,0	8.047,8	
		Efluente acidogênico	14.401,0	5.334,7	
		Efluente metanogênico	12.210,5	9.095,3	
	55	Afluente	17.298,9	3.678,0	
		Efluente acidogênico	14.282,9	4.112,4	
		Efluente metanogênico	7.950,3	1.010,3	
	6,0	Ambiente	Afluente	19.935,0	2.714,3
			Efluente acidogênico	18.153,5	2.755,1
			Efluente metanogênico	9.475,0	1.072,7
35		Afluente	19.058,5	3.477,8	
		Efluente acidogênico	16.986,0	3.298,8	
		Efluente metanogênico	12.253,0	2.164,6	
55		Afluente	15.042,0	5.136,3	
		Efluente acidogênico	13.977,0	5.763,3	
		Efluente metanogênico	7.692,5	725,2	

Tabela D.20 – Composição do biogás nos reatores acidogênico e metanogênico nos testes realizados com efluente da suinocultura, em cada condição estudada.

pH	T (°C)	Hidrogênio (%)	Metano reator acidogênico (%)	Metano reator metanogênico (%)
		2,9	3,3	37,6
		0,0	2,6	31,6
		3,5	2,7	34,9
	Ambiente	6,1	1,8	35,2
		5,8	5,4	39,6
		5,9	2,5	42,3
		7,2	2,8	41,7
		10,0	2,4	40,5
		0,0	4,9	52,1
		0,0	4,7	46,7
		19,7	2,3	46,8
5,0	35	22,3	1,3	50,5
		6,7	5,0	43,9
		20,9	2,4	50,1
		22,2	1,0	32,2
		0,0	3,3	34,9
		0,5	0,8	58,1
		3,7	2,3	37,4
		7,4	3,8	51,8
	55	6,6	0,9	50,4
		8,4	3,7	62,7
		8,6	0,8	52,2
		8,4	3,0	57,7
		16,1	0,4	57,6
		0,0	6,2	57,3
		0,0	5,8	49,7
		16,3	3,6	49,7
	Ambiente	21,1	4,3	49,5
		16,6	9,9	62,6
		19,1	8,8	56,5
		4,5	9,9	56,7
		2,3	8,5	55,0
		5,8	8,9	48,8
		3,0	11,8	48,3
		8,1	9,4	47,6
6,0	35	15,5	7,1	59,5
		8,4	10,5	62,0
		0,0	14,9	54,8
		0,0	14,8	58,7
		5,8	13,9	54,3
		22,8	3,0	61,7
		14,1	2,9	56,0
		14,0	0,2	52,1
	55	14,0	3,2	59,1
		15,4	0,7	56,0
		23,6	0,4	55,4
		16,8	0,7	58,2
		11,4	2,8	59,7

Tabela D.21 – Valores das médias e desvios padrão dos componentes do biogás produzido com efluente da suinocultura em cada condição testada.

pH	T (°C)	Composição do biogás (%)		
		Amostra	Média	Desvio padrão
5,0	Ambiente	Hidrogênio	5,9	3,0
		Metano reator acidogênico	2,9	1,1
		Metano reator metanogênico	37,9	3,8
	35	Hidrogênio	21,3	10,7
		Metano reator acidogênico	3,1	1,6
		Metano reator metanogênico	43,4	7,4
	55	Hidrogênio	7,9	3,0
		Metano reator acidogênico	1,9	1,4
		Metano reator metanogênico	52,2	8,1
6,0	Ambiente	Hidrogênio	6,2	9,1
		Metano reator acidogênico	7,1	2,5
		Metano reator metanogênico	54,7	4,7
	35	Hidrogênio	8,2	5,1
		Metano reator acidogênico	11,1	2,9
		Metano reator metanogênico	54,3	5,6
	55	Hidrogênio	14,3	4,4
		Metano reator acidogênico	1,6	1,3
		Metano reator metanogênico	56,7	3,0

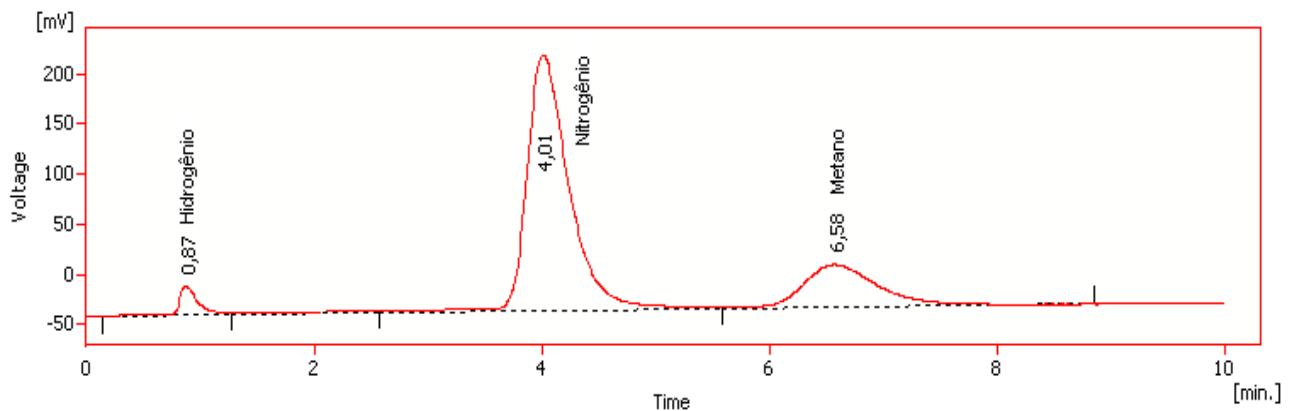


Figura D.1 – Cromatograma do biogás produzido no reator acidogênico na temperatura de 35°C e no valor de pH de 5,0.

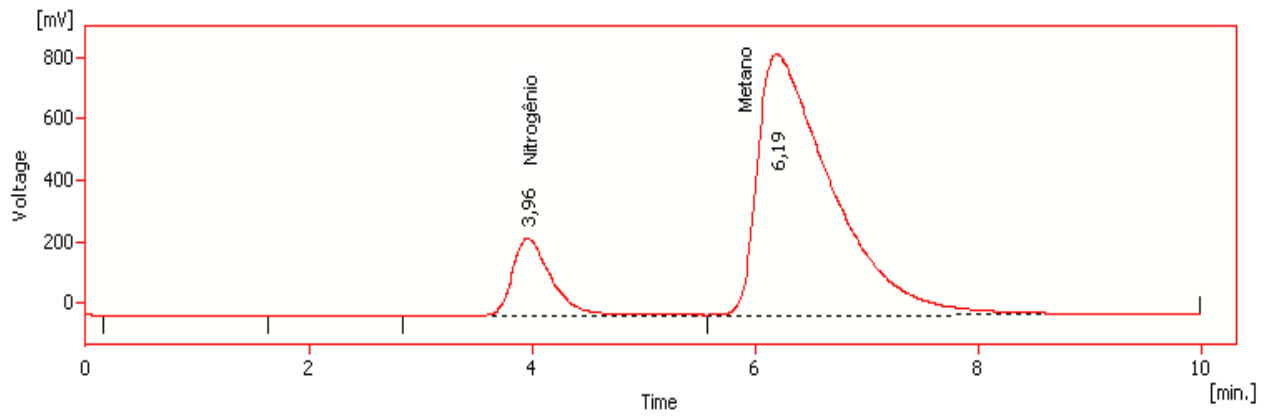


Figura D.2 – Cromatograma do biogás produzido no reator metanogênico na temperatura de 35°C e no valor de pH do afluente de 5,0.