

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA NA PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO A PARTIR
DE RESÍDUO DE FECULARIA EM REATOR AnSBBR EM BATELADA ALIMENTADA**

TAMIRIS UANA TONELLO

CASCAVEL- Paraná- 2017

TAMIRIS UANA TONELLO

**INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA NA PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO A PARTIR
DE RESÍDUO DE FECULARIA EM REATOR AnSBBR EM BATELADA ALIMENTADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, Área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Simone Damasceno Gomes

Cascavel – Paraná – Brasil

Março –2017

1 Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

T626i
Tonello, Tamiris Uana
Influência da carga orgânica na produção de biohidrogênio a partir de resíduo de feccularia em reator AnSBBR em batelada alimentada./ Tamiris Uana Tonello. Cascavel, 2017.
44 f.

Orientadora: Profª. Drª. Simone Damasceno Gomes

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2017
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola

1. Águas residuais – Aspectos ambientais. 2. Resíduos como combustível. I. Gomes, Simone Damasceno. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 20.ed. 628
CIP-NBR 12899

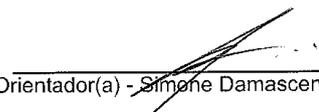
Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

Texto revisado: português, inglês e normas por José Carlos da Costa em 08/06/2017.

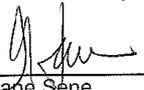
TAMIRIS UANA TONELLO

Influência da Carga Orgânica na Produção de Biohidrogênio a partir de Resíduo de Fecularia em Reator AnSBBR em Batelada Alimentada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, linha de pesquisa Saneamento Ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a) - Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


Luciane Sene

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


Cristiane Krütz

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Campo Mourão

Cascavel, 6 de março de 2017

BIOGRAFIA

Tamiris Uana Tonello nasceu em 8 de agosto de 1992, nascida em Tapira, estado do Paraná. Em fevereiro de 2010 ingressou no curso de Engenharia Agrícola na Universidade Estadual de Maringá UEM- *campus* do Arenito - PR, graduou-se em fevereiro de 2015. No mesmo ano, ingressou no mestrado em Engenharia Agrícola, Área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sob a orientação da Prof^a. Dra. Simone Damasceno Gomes, como bolsista pela CAPES.

Não tenha medo, nada pode atingir quem você realmente é, você é intocável pela imperfeição, sua luz é infinita e nada pode apagá-la ou diminuir sua intensidade, a única coisa que pode limitá-la é você mesmo, através de suas crenças de achar-se menos do que você é. E mesmo em situações de dificuldades intensas, onde parece não haver solução, lembre-se de que o perigo pode vir a ser real, mas ter medo é uma escolha

Desconhecido

Dedico esta dissertação a Deus, aos meus pais, Reginaldo Tonello e Maria de Fátima VariniTonello, à minha irmã Anna Paola Tonello, à minha avó Mafalda Mantovani Tonello e à toda minha família pelo apoio e motivação durante o mestrado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida e pela oportunidade de conhecer pessoas tão especiais nesta etapa importante da minha vida.

Aos meus pais Reginaldo Tonello e Maria de Fatima Varini Tonello, por todo apoio, o incentivo e a confiança nas minhas escolhas. Obrigada pelos ensinamentos preciosos, por me ensinarem que o bem sempre vence, que o amor e a humildade devem ser o elemento mais importante na caminhada da vida.

À minha irmã Anna Paola Tonello, por estar sempre do meu lado, me apoiando, torcendo e incentivando a cada obstáculo com um sorriso no rosto e um abraço apertado. Ao meu cunhado Helizeu, pelos momentos de descontração.

À professora Dra. Simone Damasceno Gomes, pela orientação, confiança, o incentivo e amizade. Apoiando minhas escolhas, mostrou o melhor caminho.

À UNIOESTE, *campus* de Cascavel, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, por me oportunizar a realização desta etapa da formação acadêmica;

Aos companheiros/amigos de pesquisa Cristiane Lurdes Andriani e Ângelo Gabriel Mari, o grupo do bio-hidrogênio, pelo exemplo de coragem e determinação, pela paciência, a persistência, a companhia, as descobertas conjuntas e o suporte nos assuntos científicos e pessoais. Meu carinho e respeito.

Aos estagiários Luana, José Roberto, Lucas e Aline por todo auxílio no experimento.

A todos os amigos do PGEAGRI, pelos momentos de compartilhamento e auxílio em alguma etapa do trabalho, em especial à Izabela, Mariana, Shaiane, Jianice, Plínio, Higor, Eduardo, Francieli, Mayara e Vanessa que, mesmo distantes, sempre me apoiaram.

Aos técnicos Edison e Euro, pela confiança, amizade e a constante disposição em colaborar.

À CENTUR USINAGEM e ao SENAI, pela ajuda na infraestrutura e material para realização da pesquisa.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Por mais que tente não conseguirei agradecer aqui a todos que os contribuíram de forma direta e indireta ao projeto e aos amigos que me deram suporte durante esses dois anos, mesmo longe, mas isso não diminuiu a importância nem a gratidão que sinto por vocês.

INFLUÊNCIA DA CARGA ORGÂNICA NA PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO A PARTIR DE RESÍDUO DE FECULARIA EM REATOR AnSBBR EM BATELADA ALIMENTADA

RESUMO

A demanda energética vem sendo atendida, em sua maior parte, por fontes de energia não renováveis advindas, principalmente, de combustíveis fósseis. Esses combustíveis tendem a se extinguir, de forma que se faz necessário, para garantir os avanços econômico, social e ecológico, buscar alternativas renováveis para a geração de energia. A produção de bio-hidrogênio, resultante do método biológico, se mostra de interesse pela possibilidade da sua obtenção a partir de resíduos. Diante disso, esse trabalho teve por objetivo avaliar a influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio, a partir de água residuária de fecularia de mandioca (ARF) em reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR). O AnSBBR utilizado nos ensaios apresenta sistema de agitação mecânica e volume total e útil de 6,0 e 4,3L, respectivamente. O reator foi mantido em câmara com temperatura controlada (30 °C). Foram realizadas quatro condições experimentais (I, II, III e IV) em batelada alimentada com cargas orgânicas volumétricas de 9,0; 13,5; 18,0 e 18,0 $\text{g}_{\text{-carboidratos totais}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), nos tempos de ciclo de 4; 4; 3 e 2 h, respectivamente. As condições I, II e IV foram inoculadas com lodo de um reator anaeróbio tratado termicamente, e a condição III com inóculo obtido por autofermentação da ARF. Concluiu-se que o inóculo proveniente do reator anaeróbio influenciou na produção de biogás em reatores AnSBBR. A condição II apresentou a conversão de açúcar total de 84%, a produtividade molar de hidrogênio de $35,8 \text{ molH}_2 \text{ m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ e o rendimento de hidrogênio em relação ao açúcar total aplicado e removido de 2,42 e $4,6 \text{ molH}_2 \text{ Kg}_{\text{-carboidratos totais}}^{-1}$, respectivamente. Na condição III ($18 \text{ g}_{\text{-carboidratos totais}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ e TDH de 3 h) com inóculo autofermentado não houve produção de hidrogênio; no entanto, houve conversão de açúcar total de 98,47% ao longo da operação. Quanto aos produtos intermediários, ocorreu aumento dos ácidos acético, butírico e propiônico no reator. Todavia, o ácido láctico não aumentou, provavelmente devido ao consumo pelos micro-organismos, exceto na condição IV.

Palavras-chave: biodigestão anaeróbia, inóculo, processo fermentativo.

INFLUENCE OF ORGANIC LOADS IN BIO-HYDROGEN PRODUCTION FROM CASSAVA RESIDUE IN AnSBBR REACTOR

ABSTRACT

Energy demand has been met, for the most part, by non-renewable sources of energy, mainly from fossil fuels. These fuels tend to become extinct, so that, in order to guarantee economic, social, and ecological progress, it is necessary to look for renewable alternatives for the generation of energy. Bio-hydrogen production resulting from the biological method stands out due to the possibility of its obtaining from residue. Therefore, this work has the objective of evaluating the efficiency of anaerobic sequential batch reactor with immobilized biomass (AnSBBR) for the production of bio-hydrogen from cassava starch wastewater (CSW). The AnSBBR used in the tests presents mechanical agitation system and total and useful volumes of 6.0 and 4.3 L, respectively. The reactor was kept in a controlled temperature chamber (30 °C). Four experimental conditions (I, II, III, and IV) were carried out in a fed batch with organic volumetric loads (9.0, 13.5, 18.0, and 18.0 $\text{g}_{\text{total sugars}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$) for cycle durations of 4; 4; 3; and 2 h, respectively. Conditions I, II, and IV were inoculated with sludge from an anaerobic reactor from CSW, and condition III was with auto-fermented inoculum. It was found that the inoculum from the anaerobic reactor of the cassava starch effluent influenced the production of biogas in AnSBBR reactors. Condition II showed total sugar conversion of 84%, hydrogen molar productivity of 35.8 $\text{mLH}_2 \text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$ and hydrogen yield related to total sugar applied and removed of 2.42 and 4.6 $\text{molH}_2 \text{Kg}_{\text{total sugars}}^{-1}$, respectively. In condition III (18 $\text{g}_{\text{total sugars}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ and TDH of 3 h) with auto-fermented inoculum, there was no hydrogen production; however, it presented 98.47% of total sugar conversion throughout the operation. As for the intermediate products, there was an increase of acetic, butyric, and propionic acids in the reactor. However, the lactic acid did not increase, probably due to consumption by microorganisms, except in condition IV.

Key-words: Anaerobic Biodigestion, Inoculum, fermentation process.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo geral	2
2.2 Objetivos específicos.....	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 Biodigestão anaeróbia.....	3
3.2 Produção biológica de hidrogênio no processo anaeróbio.....	4
3.3 Ácidos orgânicos voláteis	5
3.4 Reatores anaeróbios em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR)'	6
3.5 Parâmetros de operação em AnSBBR	7
3.5.1 Modo de alimentação	7
3.5.2 Carga orgânica aplicada e tempo de ciclo na produção do hidrogênio	8
3.5.3 Agitação mecânica	9
3.5.4 Imobilização da biomassa	9
3.5.5 Influência do inóculo.....	10
3.5.6 pH	11
3.5.7 Temperatura de operação	12
3.6 Efluente líquido do processamento de fécula de mandioca	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Procedimentos experimentais	14
4.2 Reator anaeróbio operado em batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR).....	14
4.3 Condições experimentais	16
4.4 Material suporte e inóculo.....	18
4.5 Água residuária de fecularia de mandioca (ARF)	19
4.6 Métodos analíticos.....	22
4.6.1 Quantificação da biomassa	23
4.6.2 Eficiência de remoção de matéria orgânica	24
4.6.3 Cargas orgânicas aplicadas e removidas	24

4.6.4	Produtividade molar.....	25
4.6.5	Rendimento molar	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	Desempenho do reator.....	27
5.2	Avaliação dos produtos intermediários	30
5.3	Produção de Hidrogênio	31
6	CONCLUSÕES	37
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
	REFERÊNCIAS	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização das condições experimentais, avaliadas em modo batelada alimentada.....	17
Tabela 2	Parâmetros de monitoramento e frequência da coleta de amostras	18
Tabela 3	Caracterização físico-química do afluente	21
Tabela 4	Concentração média dos compostos intermediários (mg L^{-1}) na entrada e saída do reator	30
Tabela 5	Composição do biogás em termos de H_2 e CO_2 (%).....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema do processo de digestão anaeróbia.	3
Figura 2	Representação esquemática do reator AnSBBR: 1. Reator em Plexiglass; 2. Cesto para imobilização da biomassa; 3. Sistema de agitação; 4. Entrada afluyente; 5. Bomba peristáltica dosadora entrada; 6. Saída efluente; 7. Bomba peristáltica dosadora de descarga; 8. Saída do biogás; 9. Sistema de medição do biogás; 10. Sistema de automação.	15
Figura 3	Cesto utilizado na imobilização da biomassa.	15
Figura 4	Material suporte: (a) polietileno; (b) material suporte com biomassa.	19
Figura 5	Inoculação: (a) - condições I, II e IV (lodo); (b); condição III (autofermentação).	19
Figura 6	Fluxograma simplificado da produção na indústria de fécula de mandioca e o ponto de coleta do efluente para os experimentos.	20
Figura 7	Afluente: (a) homogeneização; (b) envasamento.	21
Figura 8	Variação temporal do pH efluente nas condições I, II, III e IV.	27
Figura 9	Consumo de carboidrato total na forma bruta e filtrada.	28
Figura 10	Remoção de matéria orgânica para as condições I, II, III e IV no efluente, na forma bruta (EDQOt) e filtrada (EDQOf).	28
Figura 11	Concentração de ácidos voláteis totais para as condições I, II, III e IV no efluente.	29
Figura 12	Variação da produção volumétrica de biogás por ciclo nos dias de operação em relação às condições I, II, III e IV.	32
Figura 13	Composição do biogás (H_2 e CO_2) para os dias de monitoramento, nas condições I, II e IV.	33
Figura 14	Variação temporal: (a) vazão de hidrogênio (mL d^{-1}); (b) produtividade molar volumétrica – PrM ($\text{mol H}_2\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$); (c) produtividade molar específica – PrME ($\text{mol kgSVT}^{-1}\text{d}^{-1}$); (d) rendimento molar de hidrogênio em relação à CT aplicada ($\text{molH}_2 \text{ KgCT}^{-1}$); (e) rendimento molar de hidrogênio em relação à CT removida ($\text{molH}_2 \text{ KgCT}^{-1}$).	35

2 INTRODUÇÃO

A demanda energética vem sendo atendida, em sua maior parte, por fontes não renováveis, principalmente advindas de combustíveis fósseis. Esses combustíveis tendem a se extinguir, de forma que se faz necessário, para garantir o avanço econômico, social e ecológico, buscar alternativas renováveis para a geração de energia.

O hidrogênio é considerado um substituto promissor dos combustíveis fósseis, por sua elevada densidade energética, rápida produção e combustão, que gera apenas água. Porém, as técnicas empregadas na sua produção, como a reforma de combustíveis fósseis e eletrólise da água, requerem alto consumo de energia.

A produção biológica do hidrogênio, a partir da fermentação de resíduos orgânicos é considerada de interesse, pela abundância desses recursos. Os efluentes agroindustriais têm potencial para a produção de bio-hidrogênio em reator anaeróbio, por sua composição rica em carboidratos.

Dentre as formas para produção de bio-hidrogênio, encontram-se os reatores anaeróbios operados em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR), em que ocorre a formação de biofilme aderido à superfície, favorecendo a estabilidade das colônias. Além disso, a utilização do suporte inerte permite ciclos com períodos mais curtos, conferindo agilidade ao processo. Esse sistema apresenta muitas vantagens que tornam sua utilização viável, como baixo consumo de energia; baixo custo de implantação; possibilidade de preservação de biomassa sem alimentação do reator por períodos prolongados e tolerância a elevadas cargas orgânicas com poucos nutrientes (MANSSOURI, 2012).

Diversos trabalhos científicos vêm avaliando a utilização de água residuária da extração de fécula para a obtenção de hidrogênio, porém os experimentos utilizando os AnSBBR para a este fim têm sido conduzidos, na sua maioria, com substratos sintéticos, à base de carboidratos simples, como glicose e sacarose. Assim, o presente trabalho visa avaliar o desempenho do reator AnSBBR na produção de bio-hidrogênio, a partir da água residuária da extração de fécula de mandioca.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio, a partir de água residuária de fecularia de mandioca em reator anaeróbio em bateladassequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR), operado em batelada alimentada.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos estabelecidos são:

- Avaliar a produção volumétrica e o rendimento de bio-hidrogênio em função da carga orgânica volumétrica aplicada, da concentração afluenta e do tempo de ciclo;
- Avaliar a produção dos ácidos orgânicos durante a produção de bio-hidrogênio, em função da carga orgânica volumétrica aplicada.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Biodigestão anaeróbia

Os processos biológicos ou processos de biodigestão anaeróbios oferecem alternativas sustentáveis para a demanda de energia e têm sido empregados nos tratamentos de resíduos, promovendo à redução de carga orgânica lançada ao meio ambiente e despertando interesse quanto à produção biológica de energia limpa, como o bio-hidrogênio (MOHAN, 2009; HUNG; CHANG; CHANG, 2011; KAPARAJU; RINTALA, 2011).

A digestão anaeróbia é considerada um processo complexo que envolve diversos microrganismos e quatro fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 1).

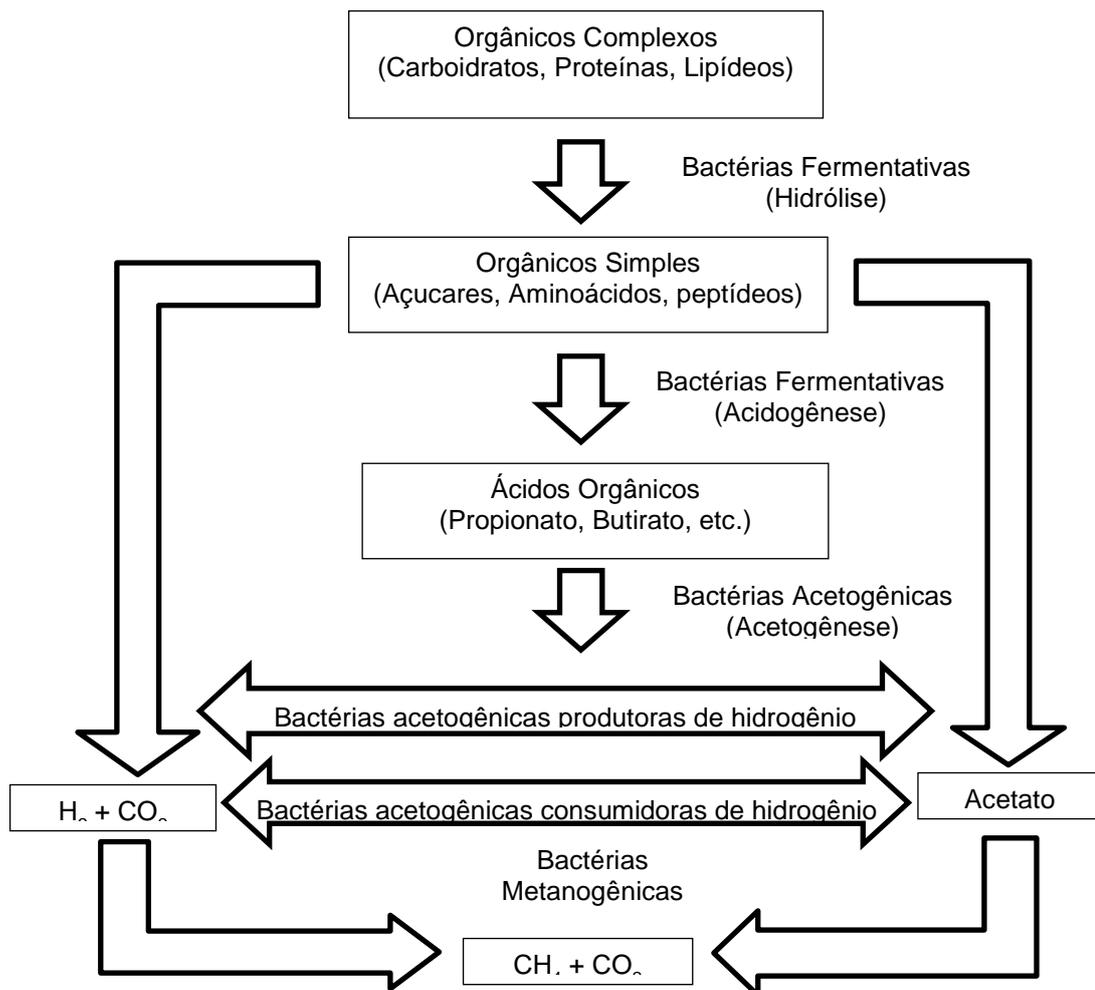


Figura 1 Esquema do processo de digestão anaeróbia.

Fonte: Chernicharo (2007).

A primeira fase do processo de degradação anaeróbia consiste na hidrólise da matéria orgânica em compostos mais simples, pois as bactérias não são capazes de assimilar esses compostos. Em seguida, as bactérias fermentativas da fase acidogênica convertem os compostos gerados na primeira fase em ácidos orgânicos e álcoois. Além disso, as bactérias acetogênicas são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica, na qual, os ácidos são convertidos em hidrogênio, gás carbônico e acetato (CHERNICHARO, 2007).

Segundo Leite et al. (2008), o desequilíbrio entre as bactérias produtoras e as consumidoras de hidrogênio é uma estratégia de controle operacional que deve ser aplicada aos reatores para a produção de hidrogênio que ocorre nas fases acidogênese e acetogênese.

Diante disso, o sistema de separação de fases na produção de hidrogênio apresenta vantagens no que diz respeito ao maior controle dos parâmetros operacionais, redução do tempo de processo, maior desempenho, quando comparado com a digestão realizada em um único reator e melhor estabilidade com alterações de carga orgânica volumétrica (TREVISAN; MONTEGGIA, 2009).

4.2 Produção biológica de hidrogênio no processo anaeróbio

A produção de hidrogênio se tornou um tema de interesse por sua ampla aplicação e aspectos ecológicos. Várias pesquisas estão sendo conduzidas a respeito dos métodos de obtenção de hidrogênio por meio de tecnologias acessíveis. Com isso, o aproveitamento de resíduos agroindustriais torna-se uma importante opção para reduzir custos com matéria prima e também agregar valor a estes produtos (BIČÁKOVÁ; STRAKA, 2012).

O hidrogênio apresenta uma elevada densidade energética (122 kJ g^{-1}), ou seja, 2,75 vezes superior aos combustíveis à base de hidrocarboneto (ARGUN et al., 2008). O hidrogênio é considerado energia limpa, pois é derivado de matéria prima renovável, além disso, sua combustão não é agressiva ao ambiente, liberando apenas energia e vapor d'água (CHENG; LIU, 2011).

A produção de hidrogênio só é possível se a biodigestão anaeróbia for interrompida, pois o hidrogênio caracteriza-se como um intermediário do processo (PENTEADO, 2012). Caso o processo de biodigestão anaeróbia não seja bem controlado e a interrupção fique prejudicada, os microrganismos utilizarão os produtos intermediários para produzir metano (LUCAS, 2015).

Pesquisadores demonstram que é possível produzir hidrogênio por via biológica com diversos tipos de configurações de reatores, sejam elas, batelada, bateladas sequenciais, contínuos e bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (REN et al., 2006; AROOJ et al., 2008; PIEMONTE et al., 2014)

Na produção de hidrogênio os reatores anaeróbios (contínuos e batelada, entre outros) são os mais utilizados para desenvolver projetos e aperfeiçoar parâmetros, buscando novas alternativas para estabelecer um sistema otimizado, principalmente, para desenvolver configurações que ofereçam máximo desempenho operacional, segurança e custos acessíveis (SARTI et al., 2007).

4.3 Ácidos orgânicos voláteis

Os ácidos orgânicos voláteis (AOVs) são conhecidos como ácidos carboxílicos com baixa massa molecular (C2-C5), que são importantes intermediários e metabólitos no processo da digestão anaeróbia, como os ácidos acético, propiônico, iso- e n-butírico; e iso e n-valérico. Os mais importantes para esse processo são os ácidos acético, propiônico e butírico (TANGERMAN; NAGENGAST, 1996; CRUWYS et al., 2002)

A eficiência do processo de digestão anaeróbia depende da via metabólica utilizada pelos microrganismos na conversão de glicose em hidrogênio. Portanto, teoricamente, 4 mols de hidrogênio são gerados quando o produto final da degradação de 1mol de glicose é o ácido acético, enquanto 2 mols são gerados quando ocorre a geração de ácido butírico e não ocorre a liberação de hidrogênio quando o produto final da digestão consiste no ácido propiônico (REN et al., 2006; PENTEADO et al., 2013). Cerqueira et al. (2011) avaliaram um método analítico simples, rápido e eficiente para monitorar as concentrações dos principais ácidos acético, propiônico e butírico (AOVs) em reatores anaeróbios de fluxo ascendente, a partir de água residuária industrial, com carga orgânica de 2,5 kg L⁻¹ de DQO. Os autores utilizaram para tanto a cromatografia líquida, com comprimento de onda de 220nm. O método apresenta boa linearidade ($r > 0,996$), com precisão adequada (89-102%) e desvio padrão inferior a 18%. Sendo assim, esse método pode ser considerado uma alternativa para determinação de AOVs em efluentes de reatores anaeróbios.

Andreani et al. (2015) analisaram AOVs para a produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de fluxo contínuo com água residuária de fecularia de mandioca, a partir da cromatografia líquida. Esses autores observaram também o predomínio de ácidos butírico e acético como produtos finais da fermentação para a produção de hidrogênio.

Gomes et al. (2015) quantificaram ácidos orgânicos em um reator de leito fixo a partir de água residuária à base de glicose. Os autores realizaram 3 ensaios com cargas orgânicas específicas (COE) diferentes. Os ensaios 1 e 2 com COE de 2 g L⁻¹ de DQO e o ensaio 3 com COE de 4 g L⁻¹ de DQO e verificaram que, nos ensaios 1 e 2, os valores observados para a relação butírico/acético foram superiores a 1,0 nos primeiros 10 dias, com um pico de 1,3 e 1,7 para 1 e 2, respectivamente.

4.4 Reatores anaeróbios em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR)'

A configuração do reator é um dos aspectos mais importantes que influenciam no bom desempenho da produção de hidrogênio (SARTI et al., 2007). Os reatores de biomassa imobilizada apresentam algumas vantagens em relação aos reatores que utilizam a biomassa suspensa, como obtenção de maiores concentrações celulares e maior tempo de retenção celular (ZAIAT, 2003).

No reator de biomassa imobilizada, o tempo de retenção celular não depende do tempo de detenção hidráulica (TDH), o que possibilita maiores produções volumétricas de gás, conseqüentemente melhor degradação do substrato (BABU; MOHAN; SARMA, 2009). No entanto, as principais desvantagens deste reator são o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis no material suporte e entupimento do leito (PEIXOTO et al., 2011).

Os reatores podem ser classificados como reatores de baixa e de alta taxa. Os reatores de baixa taxa operam com cargas orgânicas volumétricas baixas, não havendo controle da temperatura ou do tempo de detenção, portanto, são inadequados para a produção de energia. No entanto, os reatores de alta taxa são operados em condições controladas e com cargas orgânicas volumétricas da ordem de 5 a 30 kgDQOm⁻³d⁻¹, além de manterem altas concentrações de biomassa no seu interior (KUMAR, 2008).

No início da década de 1990, desenvolveu-se um reator anaeróbio em batelada sequencial (*Anaerobic Sequencing Batch Reactor*, AnSBR), de alta taxa, com biomassa em suspensão, configurado para operar em quatro etapas bem definidas: alimentação, reação, decantação e descarga (DAGUE; HABBEN; PIDAPARTI, 1992; BRAVO, 2014).

Essa configuração vem sendo estudada por pesquisadores e os seus avanços nos estudos oferecem novas perspectivas do uso desses reatores. Alguns parâmetros mostram duas operações dos reatores AnSBR: aquelas que utilizam biomassa auto imobilizada e as com biomassa imobilizada, crescendo em suporte inerte (ZAIAT et al., 2001).

Manssouri (2012) apresenta algumas vantagens sobre a configuração simples do reator AnSBBR, como: controle na qualidade do efluente; controle do processo; operação de sistema simples e estável; ausência de sistema de distribuição do afluente.

Segundo Novaes et al. (2010), para um bom desempenho de reatores anaeróbios de batelada, são utilizadas várias condições operacionais e, se essas operações forem executadas de forma inadequada, podem afetar a produção de bio-hidrogênio. Algumas práticas como a agitação mecânica, imobilização da biomassa, alimentação, temperatura e duração de ciclo podem ajudar a alcançar boa eficiência na produção do hidrogênio, além disso, a qualidade do inóculo e as características do substrato, tais como a carga orgânica e a concentração de açúcares também influenciam.

4.5 Parâmetros de operação em AnSBBR

4.5.1 Modo de alimentação

O modo de alimentação dos reatores envolve a adição de um volume pré-determinado de água residuária, sendo que o tempo de enchimento depende da sua operação. A alimentação pode ser realizada totalmente no início do ciclo ou ter enchimento contínuo (batelada alimentada), no qual, o período de enchimento atinge 50% do tempo de ciclo do reator (NOVAES, 2008).

O modo de alimentação com tempos de detenção hidráulica mais longos garante menores concentrações de substrato no reator. Além disso, assegura que as concentrações de ácidos voláteis não alcancem valores elevados, tornando o ambiente prejudicial à biomassa, pois as bactérias acidogênicas produzem ácidos voláteis com velocidade superior à velocidade de consumo dos microrganismos acetogênicos e metanogênicos (BAGLEY; BRODKORB, 1999; RODRIGUES et al., 2006).

O tempo de alimentação é diretamente proporcional à quantidade do substrato e dos microrganismos. Além do tempo de alimentação, o modo de alimentar também influencia no desempenho dos reatores, pois uma das maiores preocupações em relação à sua operação é o entupimento, o que pode acontecer entre o enchimento e os ciclos (NOVAES, 2008).

Rodrigues, Ratusznei e Zaiat (2003) avaliaram estratégias diferentes de alimentação em um reator anaeróbio de batelada sequencial com biomassa imobilizada granular, a partir

de água residuária sintética. Apresentaram três estratégias com um tempo de ciclo de 6 h, incluindo o tempo de sedimentação de 30min.

Foram adotadas: batelada com tempo de enchimento de 6 min; batelada alimentada seguida de batelada com tempo de enchimento de 60, 120 e 240 min; e batelada alimentada com tempo de enchimento de 320 min. O sistema atingiu eficiência de remoção orgânica não filtrada de 87 e 83 % para tempos de enchimento 6 e 60min, respectivamente e uma eficiência de 84% para os tempos de 120, 240 e 320 min, mostrando que, nos tempos de enchimento mais longos, não houve influência significativa no desempenho do sistema.

4.5.2 Carga orgânica aplicada e tempo de ciclo na produção do hidrogênio

A carga orgânica integra o tempo de permanência (tempo de ciclo e tempo de detenção hidráulica), o volume alimentado e a concentração do afluente tornando-se um fator importante para a produção de hidrogênio em reatores operados em bateladas sequenciais e para o projeto de sistemas de tratamento de águas residuárias (PRINHOLATO, 2008; LOVATO, 2014).

Diversas pesquisas avaliaram a produção de hidrogênio em função de parâmetros inerentes à carga orgânica, como o efeito das concentrações iniciais e dos volumes afluentes (BUITRÓN; CARVAJAL, 2010; BADIEI et al., 2011).

Rosa et al. (2014) avaliaram a produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leiteo fluidizado (AFBR) a partir do soro de queijo, verificaram efeitos resultantes do tempo de detenção hidráulica (4, 2 e 1 h) e de diferentes fontes de inóculo (lodo de suínos e lodo de aves). O maior rendimento de hidrogênio de $1,33 \text{ mol mol}^{-1}$ foi obtido como TDH de 4 h.

Lovato et al. (2015) avaliaram a produção de bio-hidrogênio com reator anaeróbico com batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR), com recirculação da fase líquida e estratégia de alimentação de batelada alimentada, tratando águas residuárias à base de glicerina pura. Esses pesquisadores utilizaram carga orgânica volumétrica aplicada (COVA) entre 7,7 e $17,1 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, com concentrações de efluente (3000, 4000 e $5000 \text{ mgDQO L}^{-1}$) e tempo de ciclo de 4 e 3 h. A maior produtividade ($100,8 \text{ molH}_2 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e o maior rendimento de hidrogênio por carga removida ($20 \text{ molH}_2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) foram obtidos quando o reator operou com carga orgânica de $17,1 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

Ainda segundo esses pesquisadores, o aumento da concentração de efluente e diminuição do tempo de ciclo melhorou o rendimento molar e a produtividade molar do hidrogênio.

Bravo et al. (2015) operando um reator idêntico, em condições semelhantes, avaliaram a influência da carga orgânica volumétrica aplicada sobre a produção de bio-

hidrogênio e não encontraram relação clara entre a COVA e a produção de hidrogênio. No entanto, a maior produção molar de hidrogênio ($67,5 \text{ mol H}_2 \text{ m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$) foi atingida quando o reator operou com um período de ciclo de 4 h com COVA de $2911 \text{ mgDQO L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

Souza et al. (2015) aplicaram água residuária sintética em um reator AnSBBR a fim de produzir bio-hidrogênio e avaliaram a influência da COVA, variando de 10,5 a 31,1 gDQO L^{-1} com o tempo de ciclo de 4, 3 e 2 h. O melhor desempenho foi com remoção orgânica (DQO) de 24% e de carboidratos (glicose) de 99%, com produtividade volumétrica e molar específica $60,9 \text{ mol H}_2 \text{ m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ e $5,8 \text{ mol H}_2 \text{ kgSVT}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, quando conduziram com uma COVA de $20,0 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ($5250 \text{ mgDQO L}^{-1}$ e 3 h). Os autores concluíram que a melhor produtividade ocorreu com cargas orgânicas mais elevadas e o tempo de ciclo mais longo.

4.5.3 Agitação mecânica

As formas de agitação mais empregadas em AnSBBR são: recirculação do efluente e agitação mecânica, cuja função é melhorar a transferência de massa dentro do reator (LIMA et al., 2016). Na agitação mecânica, os impelidores têm como papel principal movimentar a fase líquida, podendo provocar um escoamento tangencial, quando o fluido se desloca de maneira circular em torno do eixo radial; de maneira perpendicular ou longitudinal quando percorre um caminho paralelo ao eixo (MANSSOURI, 2012).

Para a agitação mecânica, normalmente são utilizadas pás de agitação que são impulsionadas por motores elétricos. Cubas et al. (2011) estudaram o efeito de quatro tipos de hélice e da frequência de agitação sobre o comportamento de um AnSBBR, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano, operado em 3 ciclos diários a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ no tratamento de efluente sintético. O experimento foi realizado com pá plana; pá curva e pá inclinada, com intensidades de agitação, que variaram de 100 a 1100 rpm. Os autores concluíram que, para todas as frequências de agitação, a hélice do tipo pá plana foi a que apresentou os melhores resultados.

4.5.4 Imobilização da biomassa

Em relação à produção de hidrogênio em baixa escala, a utilização da biomassa imobilizada traz muitas vantagens em relação à aplicação de células livres ou em suspensão, como a obtenção de concentrações celulares mais altas, além dos altos tempos de retenção celular (LYSIKOV, DEREVSCHIKOV; OKUNEV, 2015; ZAIAT et al., 2001).

Segundo Zaiat et al. (2001) a seleção do material suporte a ser utilizado é importante, pois a escolha correta contribui para fixação da biomassa e para minimizar possíveis efeitos, como resistência difusional à transferência de massa, mudanças morfológicas e fisiológicas das células. Além disso, a utilização de suportes inertes para a imobilização resulta em sistemas mais estáveis, o que facilita o controle operacional.

Garcia et al. (2008) afirmaram que o meio suporte é um fator determinante na eficiência de reatores AnSBBR. Vários meios suportes têm sido testados em reatores anaeróbios com imobilização de biomassa para a produção de hidrogênio, tais como bambu (ANDREANI et al., 2015), argila expandida (SHIDA et al., 2012), polietileno de baixa densidade (LIMA et al., 2013), poliestireno (ROSA et al., 2014), politereftalato de etileno (PET) e tiras de pneu (BARROS et al., 2011).

4.5.5 Influência do inóculo

Em reatores para a produção de bio-hidrogênio, via fermentação anaeróbia, a inoculação pode ser realizada com culturas microbianas mistas (consórcios microbianos), coculturas (combinação de culturas puras), microrganismos geneticamente modificados e culturas puras, sendo as mais pesquisadas, as culturas puras e mistas (WANG; WAN, 2011; NUNES, 2015).

De acordo com Ntaikou et al. (2010), a utilização de culturas puras possibilita manipular o metabolismo dos microrganismos, alterando as condições de crescimento e elevando o rendimento do hidrogênio. Nesse contexto, a maioria dos estudos desenvolvidos para aperfeiçoar parâmetros do processo fermentativo e incrementar os rendimentos da produção de H₂ têm de recorrer às culturas puras para esse efeito (ELSHARNOUBY, 2013).

A utilização de culturas mistas na produção de hidrogênio é mais frequente em processos de fermentação. Entre as bactérias fermentadoras produtoras de hidrogênio, a mais estudada e identificada no processo anaeróbio são as pertencentes ao gênero *Clostridium* (KRAMER; BAGLEY, 2007; HUNG; CHANG; CHANG, 2011).

No processo fermentativo, as culturas mistas apresentam vantagens do ponto de vista econômico e operacional, além de apresentar como vantagem a possibilidade de utilização de uma ampla variedade de substrato (WANG; WAN, 2009). A desvantagem destas culturas mistas está relacionada à presença de arqueias metanogênicas, bactérias que consomem o hidrogênio produzido pelas bactérias fermentativas acidogênicas (SHOW et al., 2012).

Uma estratégia de minimizar este efeito é o pré-tratamento do inóculo, que pode eliminar ou inibir os microrganismos consumidores de hidrogênio, ou seja, selecionando as

bactérias produtoras de hidrogênio. Alguns pré-tratamentos têm sido utilizados no enriquecimento de inóculos, dentre eles, o tratamento térmico (BAKONYI et al., 2014), aeração (REN et al., 2008), ácido e alcalinos (KAN, 2013).

4.5.6 pH

O pH é um dos principais parâmetros que influenciam na produção biológica de hidrogênio, afetando a atividade das bactérias, modificando o funcionamento da enzima hidrogenase e a via metabólica adotada ao longo do processo (WON; LAU, 2011).

Segundo Singh et al. (2010), o pH adequado para a produção biológica de hidrogênio varia entre 5,5 e 7,0. Vários estudos demonstram que o aumento do pH tem um efeito positivo nos microrganismos, estimulando a sua capacidade de produção de hidrogênio. Porém, o aumento excessivo pode provocar o efeito inverso, contribuindo para a inibição do processo fermentativo (WANG; WAN, 2009). Quando o valor for baixo, pode provocar acúmulo de ácidos orgânicos e a diminuição da capacidade tampão do sistema, causando inibição da produção de hidrogênio (SINGH et al., 2010).

Chen, Sung e Chen(2009) avaliaram os efeitos do pH sobre a produção de hidrogênio em um ASBR, operado com ciclo de 4 h e carga orgânica de 25 gDQO L⁻¹, utilizando sacarose como fonte de carbono. O pH foi mantido entre 4,9 e 6, 7. Os resultados mostraram que o rendimento máximo foi de 2,53 mol_{H₂}.mol_{sacarose} com pH 4,9. Porém, a eficiência de remoção de carboidratos diminuiu para 56%, em pH 4,9. Os autores concluíram que o pH influenciou na rota metabólica dos microrganismos nas condições estudadas.

Antonopoulou et al.(2010) estudaram a influência do pH sobre a produção fermentativa de hidrogênio a partir dos açúcares de extrato de sorgo, num reator mistura completa, com TDH de 12 h e pH entre 3,5 e 6,5. A produtividade máxima de hidrogênio foi de 1752 ± 54 mL H₂ d⁻¹ e o rendimento de 3,50 ± 0,07 L H₂ L⁻¹_{reator}, que foram obtidos no pH 5,3. De acordo com os autores, a produtividade máxima de hidrogênio e o rendimento ainda estavam em níveis elevados para o intervalo de pH entre 5,3 e 4,7. Portanto, do ponto de vista econômico, os autores sugerem que o pH de 4,7 seria ideal para a produção de hidrogênio.

Dareioti, Vavouraki e Kornaros(2014) avaliaram o impacto dos valores de pH (entre 4,5 e 7,5) sobre a produção biológica de hidrogênio e de produtos finais a partir da codigestão de águas residuárias da extração de azeite, soro de queijo e de esterco bovino. Os resultados obtidos demonstraram que o rendimento de bio-hidrogênio e a composição do efluente acidificado, principalmente com ácido acético e butírico foram similares nos valores

de pH 6,0 e 6,5, embora o aumento na concentração de ácido propiônico tenha sido observado em pH mais elevado.

4.5.7 Temperatura de operação

As reações de fermentação podem ser conduzidas em faixas de temperatura mesofílica (25-40 °C), termofílica (40-65 °C), termofílica extrema (65-80 °C) e hipertermofílica (> 80 °C) (LEVIN, et al. 2004). Alguns estudos de produção de bio-hidrogênio fermentativo têm utilizado a faixa de temperatura mesofílica (30 - 37 °C) (SÁ; CAMMAROTA; FERREIRA-LEITÃO, 2014).

Segundo Elsharnouby et al.(2013), maiores temperaturas podem aumentar a capacidade dos microrganismos em produzir bio-hidrogênio. Em reatores AnSBBR a temperatura exerce influência direta na concentração da biomassa dentro do sistema.

Shiet al. (2013) avaliaram o efeito da temperatura na produção fermentativa de hidrogênio. O processo foi conduzido nas temperaturas de 35 °C (mesofílica), 50 °C (termofílica) e 65 °C (hipertermofílica). O melhor rendimento na produção de hidrogênio foi verificado em condição mesofílica, carga orgânica volumétrica de 3,4 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e pH 5,5.

4.6 Efluente líquido do processamento de fécula de mandioca

Os subprodutos líquidos do processamento da mandioca podem ser classificados em: (i) água de lavagem das raízes; (ii) água vegetal ou manipueira, ou seja, água extraída da prensagem da massa ralada para a fabricação de farinha; (iii) água que é extraída da fécula, que corresponde à água de constituição da raiz, diluída com água de extração (CEREDA, 2001).

As águas residuárias de fecularia de mandioca são ricas em carboidratos, com cargas orgânicas (em termos de DQO e DBO), sólidos totais (ST) e altas concentrações de nutrientes, como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio entre outros. Nesse sentido, o processamento de 1 kg da raiz da mandioca gera, aproximadamente, 0,2 kg de fécula, 0,4 a 0,9 kg de bagaço e 5 a 7 L do líquido da água residuária (LEAÑO; BABEL, 2012). As moléculas de amido são facilmente degradadas em glicose e maltose em processo fermentativo na biodigestão anaeróbia, principalmente, devido às altas taxas de carboidratos (KAPDAN; KARGI, 2006).

Gomeset al. (2016) avaliaram o processo fermentativo em um reator anaeróbio contínuo, a partir de água residuária de mandioca, a fim de produzir hidrogênio. Utilizaram para a alimentação dos reatores água residuária de fecularia bruta e água sintética (tratamento térmico com ou sem suplemento). Esses pesquisadores observaram que a produção de hidrogênio não foi satisfatória em relação às alimentações (água residuária de fecularia bruta e água sintética) realizadas no reator, mesmo com a conversão de 90% de carboidratos.

Andreaniet al. (2015) avaliaram a produção de hidrogênio por meio de reator anaeróbio de leito fixo e contínuo a partir de água residuária de fecularia de mandioca, o sistema foi operado a 36°C e pH 6,0 sob variações de carga orgânica. Concluíram que a maior produção de hidrogênio foi de 1,1 L d⁻¹L⁻¹ com carga orgânica de 35 g L⁻¹d⁻¹ em termos de açúcares totais.

Sreethawonget al. (2010) avaliaram a produção de hidrogênio, a partir de água residuária de fecularia de mandioca, em reator de batelada sequencial (ASBR) e obtiveram taxas específicas de produção (524 mL H₂ g⁻¹ SSV. d⁻¹) e produção de hidrogênio (438 mL H₂ g⁻¹-DQO), na relação estequiométrica para C/N de 100:2,2.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Procedimentos experimentais

O experimento foi conduzido de janeiro de 2016 até janeiro de 2017, no Laboratório de Reatores Biológicos, no Laboratório de Saneamento Ambiental e no Laboratório de Análises Agroambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel.

5.2 Reator anaeróbio operado em batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR)

O reator utilizado no experimento foi um reator anaeróbio operado em batelada sequencial com biomassa imobilizada (RATUSZNEI et al., 2000) confeccionado em acrílico transparente, com as seguintes dimensões: 5 mm de espessura, 30 cm de altura, 20 cm de diâmetro, capacidade total de 6,0 L e capacidade útil de 4,3 L (MANSSOURI, 2012; INOUE, 2013). Na Figura 2 visualiza-se o esquema do reator que foi utilizado no experimento.

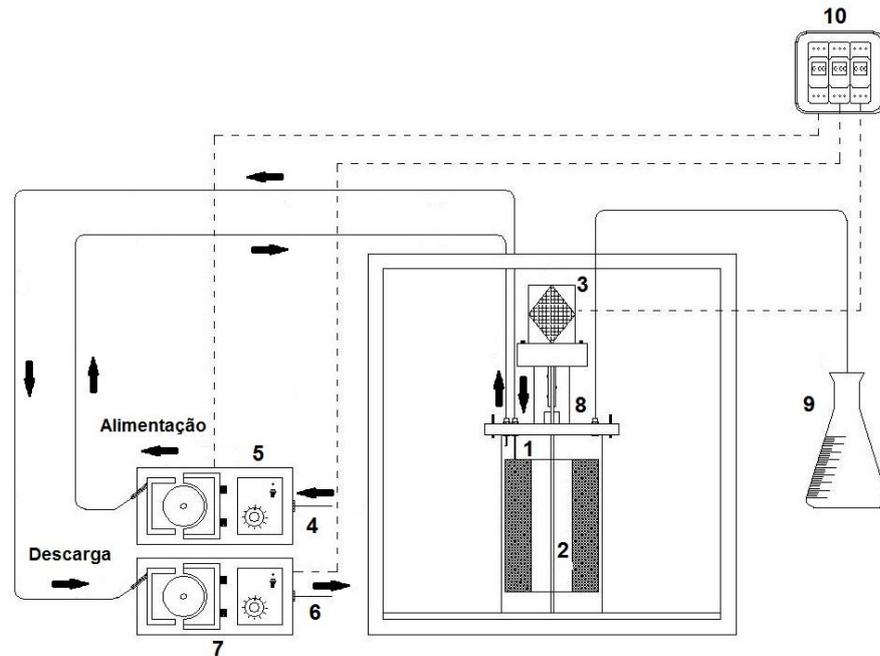


Figura 2 Representação esquemático do reator AnSBBR: 1. Reator em Plexiglass; 2. Cesto para imobilização da biomassa; 3. Sistema de agitação; 4. Entrada afluente; 5. Bomba peristáltica dosadora entrada; 6. Saída efluente; 7. Bomba peristáltica dosadora de descarga; 8. Saída do biogás; 9. Sistema de medição do biogás; 10. Sistema de automação.

O meio suporte (polietileno) ficou confinado em um cesto em aço inox perfurado, de 18 cm de altura, 7 cm de diâmetro interno e 17,5 cm de diâmetro externo. Para evitar a saída da biomassa, uma tampa do mesmo material foi fixada ao cesto (Figura 3).

O sistema de agitação mecânica foi constituído por impelidores do tipo turbina com 6 cm de diâmetro, com 4 lâminas planas instaladas a 8 e 16 cm do fundo do tanque, para melhorar a distribuição da água residual (MICHELAN et al., 2009).



Figura 3 Cesto utilizado na imobilização da biomassa.

Para a realização das etapas de operação em batelada sequencial (alimentação, agitação e descarga) foram utilizadas bombas peristálticas dosadoras. A autonomia do processo foi garantida pelo uso de temporizadores digitais (TH-857 Plus Kienzle®), responsáveis pelo acionamento/parada das bombas e do sistema de agitação.

O volume de biogás produzido diariamente foi mensurado por meio de um frasco Mariotte de 3 L (BUÍTRON; CARVAJAL, 2010; SCOMA; BERTIN; FAVA, 2013), que foi preenchido com H₂O. Nesse sistema, o volume de líquido deslocado, correspondia ao volume de gás gerado. O volume final foi obtido após a correção para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP) (Equação 1).

$$\frac{P_r \times V_r}{T_r + 273} = \frac{P_{CNTP} \times V_{CNTP}}{T_{CNTP}} \quad (1)$$

em que:

- P_r corresponde à pressão atmosférica (mmHg);
- V_r é o volume de gás nas condições do ensaio (mL);
- T_r é a temperatura a qual o reator foi submetido (°C);
- P_{CNTP} é a pressão atmosférica nas CNTP (760 mmHg);
- V_{CNTP} é o volume de gás nas CNTP (mL);
- T_{CNTP} representa a temperatura nas CNTP (273 K – 0 °C).

5.3 Condições experimentais

Com base no trabalho realizado por Manssouri (2012), que operou um reator AnSBBR alimentado com água residuária sintética, alterou-se a estratégia de alimentação para batelada alimentada. As condições experimentais e os métodos utilizados na quantificação dos indicadores de produtividade e rendimento foram padronizados de acordo com autor acima citado. A temperatura de operação foi mantida a 30 °C por uma câmara de aquecimento.

Na Tabela 1 são apresentadas as condições experimentais avaliadas, cuja estratégia de alimentação foi em batelada alimentada, em que o tempo de alimentação consistiu em 50% do tempo total de ciclo.

Tabela 1 Caracterização das condições experimentais, avaliadas em modo batelada alimentada

Condição	Concentração afluente (mgCT L ⁻¹)	Tempo de Ciclo (h)	Nº de ciclo d ⁻¹	Tempo de enchimento (h)	COV (gCT L ⁻¹ d ⁻¹)
I	3500	4,0	6	2,0	9,0
II	5300	4,0	6	2,0	13,5
III	5300	3,0	8	1,5	18,0
IV	3500	2,0	12	1,0	18,0

Nota CT = carboidratos totais.

A operação do sistema foi realizada de acordo com os ciclos típicos da batelada sequencial: (i) alimentação, em que o reator é carregado com o líquido a ser tratado; (ii) reação; (iii) descarga, etapa que ocorre ao término do ciclo de operação. A agitação foi iniciada durante a alimentação e persistiu até o final da etapa de reação.

As cargas aplicadas foram modificadas em função da concentração afluente e dos tempos de ciclos (4, 3 e 2h), configurando 6, 8 e 12 ciclos diários.

O pH inicial da água residuária de fecularia (ARF) foi corrigido para 6,0 com bicarbonato de sódio. Entre cada condição experimental avaliada, o reator foi higienizado, iniciando-se em seguida uma nova etapa de operação.

O experimento foi conduzido de forma que, além da carga orgânica volumétrica aplicada, fossem verificados ainda os efeitos da concentração afluente e do tempo de ciclo, variáveis inerentes à carga orgânica volumétrica aplicada. Essas variáveis foram avaliadas quanto à estabilidade, conversão de matéria orgânica, rendimento de hidrogênio e produtividade de hidrogênio.

Na condição II foi iniciada uma sequência de alimentação, devido à condição que não produziu hidrogênio (condição III), portanto, iniciou-se com alimentação 100% sintética (MANSSOURI, 2012), seguido de alimentação com 50% de água residuária sintética (ARS) e 50% de água residuária de fecularia de mandioca (ARF), 30% de ARS e 70% de ARF, até obter 100% de ARF.

Monitorou-se o reator por meio de coletas do afluente e efluente. Nessas amostras, foram avaliados os parâmetros apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 Parâmetros de monitoramento e frequência da coleta de amostras

Parâmetro	Amostra	Frequência
Alcalinidade/AVT	Afluente e efluente	4 vezes por semana ¹
Carboidratos Totais	Afluente e efluente	4 vezes por semana ²
DQO	Afluente e efluente	4 vezes por semana ³
pH	Efluente	4 vezes por semana
Série de sólidos	Afluente e efluente	2 vezes por semana ³
Ácidos e álcoois	Efluente	1 vez por semana ⁴
Volume de biogás	Saída de gás	4 vezes por semana
Composição do biogás	Saída de gás	4 vezes por semana ⁵

Notas: ¹Ripley, Boyle e Converse (1986); ²Dubois et al. (1956); ³Eaton, Clesceri e Greenberg(2005); ⁴Cromatografia Líquida de alta eficiência; ⁵Cromatografica gasosa. Acidez Volátil Total = AVT.

5.4 Material suporte e inóculo

Na imobilização da biomassa foram utilizados grânulos de polietileno de baixa densidade (LOVATO, 2014). Esse material é um produto intermediário do processo de reciclagem de plástico. A escolha baseia-se na capacidade do material em favorecer a colonização por bactérias hidrolíticas fermentativas(SILVA et al., 2006),alémde ser um material disponível e de baixo custo (Figura 4a e 4b).

O inóculoutilizado no AnSBBRnas condições I, II e IV foiproveniente de um reator anaeróbio em escala piloto, instalado para o tratamento do efluente da indústria de fécula de mandioca. Para a inoculação do reator nessas condições, o lodo foi submetido a um pré-tratamento térmico para eliminação dos microrganismos consumidores de hidrogênio. O tratamento térmico consistiu em elevar a temperatura a 95 °C por 15 minutos, conforme recomendado de Sreethawonget al. (2010). A suspensão de inóculo foi preparada com lodo pré-tratado, na proporção de 10% do volume útil do reator, e o restante completado com efluente de fecularia de mandioca (Figura 5a).

Na condição III, o inóculofoiobtido por meio daautofermentação da água residuária de fecularia de mandioca, que consiste na manutenção do meio à temperatura ambiente por um período de 72 horas (Figura 5b).



Figura 4 Material suporte:(a) polietileno;(b) material suporte com biomassa.



Figura 5 Inoculação: (a) - condições I, II e IV(lodo);(b); condição III (autofermentação).

5.5 Águas residuária de fecularia de mandioca (ARF)

Para a realização do experimento, a água residuária do processo de extração da fécula de mandioca foi coletada em indústria localizada no município de Toledo - PR. O fluxograma simplificado da produção de fécula e o ponto de coleta do substrato são apresentados na Figura 6. O efluente foi coletado na calha de alimentação do descascador de mandioca, gerado no processo de extração de fécula.

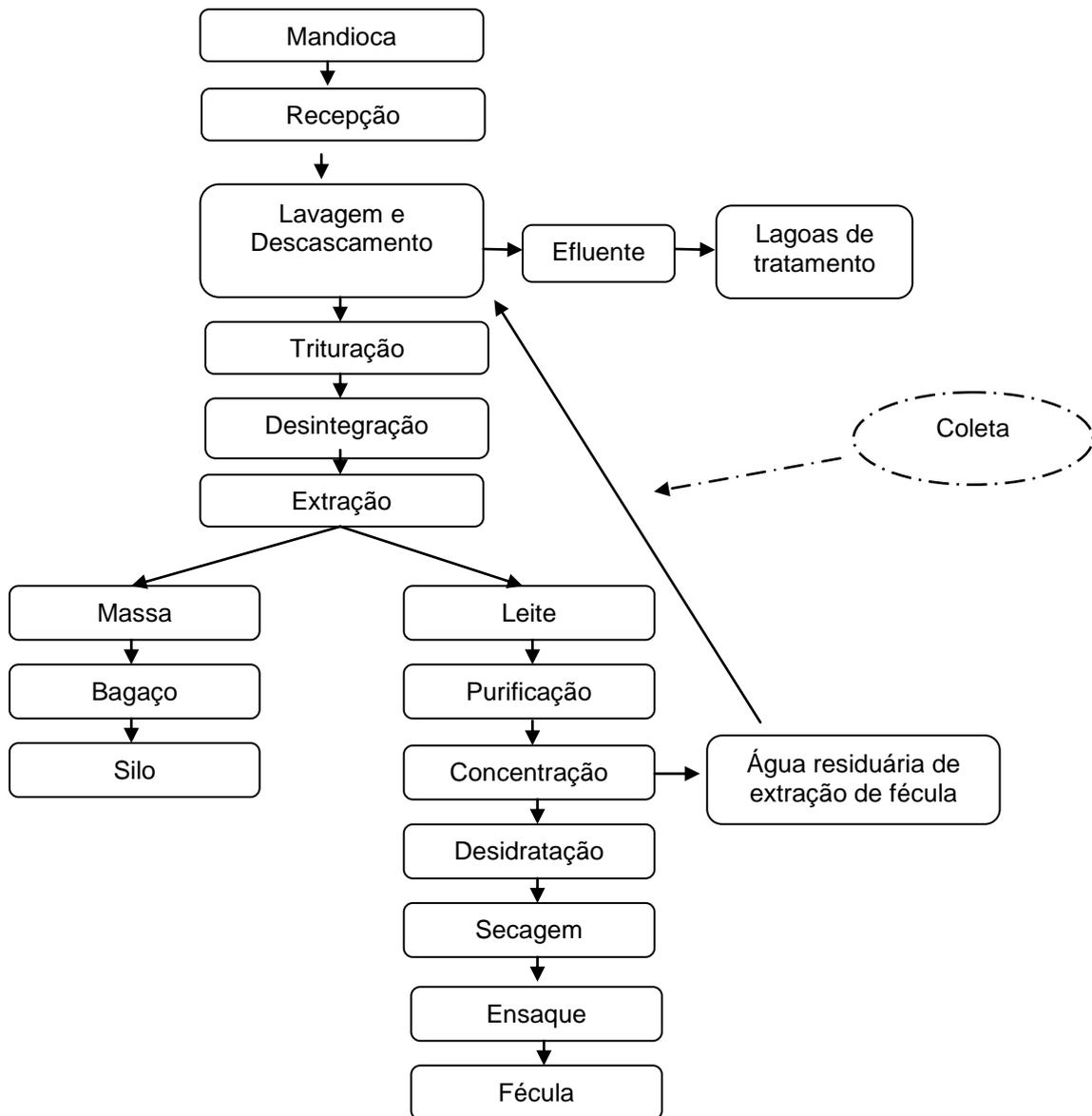


Figura 6 Fluxograma simplificado da produção na indústria de fécula de mandioca e o ponto de coleta do efluente para os experimentos.

Fonte: Modificado de LUCAS (2015).

Foram realizadas 4 coletas, próximas do início de cada operação. Coletaram-se cerca de 300 L de efluente que foi homogeneizado no Laboratório de Reatores Biológicos, envasado em garrafas de 2L e congelado em freezer a -12°C (Figura 7).



Figura 7 Afluente: (a)homogeneização; (b) envasamento.

A amostragem para caracterização físico-química do afluente ocorreu após a homogeneização de todo o volume coletado. Foram determinados os parâmetros pH, carboidratos totais (DUBOIS et al., 1956), DQO, sólidos suspensototais, sólidos suspensos voláteis, nitrogênio total Kjeldahl (NTK) (EATON; CLESCERI; GREENBERG, 2005), macro e micronutrientes, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 Caracterização físico-química do afluente

Condição	Carboidratos									
	pH	Totais	DQO	NTK	SST	SSV				
				mg L ⁻¹						
I	4,29	5950,31	8046,25	2,04	1000,00	936,36				
II	6,29	7092,27	19703,08	0,11	483,33	456,67				
III	6,33	3994,11	5805,99	1,40	688,33	571,67				
IV	4,12	4629,25	8019,53	1,07	282,67	249,33				
Condição	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn		
	mg L ⁻¹									
I	40,39	0,00	20,44	469,95	31,68	1,03	318,77	2,10		
II	63,32	0,00	25,47	469,33	25,85	2,97	318,29	2,53		
III	72,70	0,00	13,27	469,21	30,69	0,81	318,29	1,69		
IV	72,70	0,00	33,45	469,14	20,79	2,52	318,85	3,23		

Notas: SST: sólidos suspensos totais; SSV: sólidos suspensos voláteis; Ca: cálcio; Cu: cobre; Fe: ferro; K: potássio; Mg: magnésio; Mn: manganês; Na: sódio; Zn: Zinco.

5.6 Métodos analíticos

Para o monitoramento do reator foram realizadas coletas de afluente e efluente. As medidas de pH foram realizadas em pHmetro de bancada. A demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e nitrogênio total foram determinados pelos métodos preconizados pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (EATON; CLESCERI; GREENBERG, 2005).

A concentração de carboidratos totais (CT) foi quantificada de acordo com a metodologia de Dubois et al. (1956). A alcalinidade parcial (AP), alcalinidade intermediária (AI), alcalinidade total (AT) e os ácidos voláteis totais (AVT) foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Ripley, Boyle e Converse (1986).

A determinação dos ácidos graxos voláteis (acético, butírico, propiônico) e ácido láctico foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em sistema Shimadzu® equipado com Coluna Aminex® HP-87H (300 mm x 7,8 mm Bio-Rad), Forno CTO-20A à temperatura de 47 °C, Controlador CBM-20A, Detector UV com arranjo de diodos SPD-20A em comprimento de onda de 208 nm e Bomba LC-20AT. A fase móvel foi composta por água ultrapura Milli-Q (Millipore®) acidificada com 0,005% de H₂SO₄ em fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL (LAZARO et al., 2012; CERQUEIRA et al., 2011).

A coleta de alíquotas para análise qualitativa do biogás foi realizada diretamente na mangueira que liga o reator ao gasômetro. Os constituintes do biogás (hidrogênio, dióxido de carbono e metano) foram determinados por cromatografia gasosa em sistema Shimadzu® 2010 equipado com coluna capilar Carboxen® 1010 plot (30 m x 0,53 mm x 0,30 µm). A instrumentação foi realizada de acordo com a metodologia de Peixoto et al. (2011). Gás de arraste: argônio; temperatura do injetor: 200 °C; temperatura do detector: 230 °C; detector de condutividade térmica (TCD); volume de amostra: 500 µL; vazão do ar de make-up (AR): 8 mL.min⁻¹; programa de temperatura do forno: temperatura inicial de 40 °C (2 min); 1ª taxa de aquecimento: 5 °C.min⁻¹ até 60 °C; 2ª taxa de aquecimento: 25 °C.min⁻¹ até 200 °C; temperatura final: 200 °C (5 min).

A concentração molar de hidrogênio no biogás foi calculada através de curvas de calibração. O número de mols de H₂ na amostra foi determinado pela equação dos gases ideais (Equação 1). Em que P, corresponde à pressão atmosférica (atm); V é o volume de gás injetado (500 µL); n, o número de mols; R é a constante universal dos gases ideais (0,082 atm.L/mol.K) e T, a temperatura absoluta (K):

$$PV = nRT \quad (1)$$

O desempenho do reator foi avaliado com base nas seguintes variáveis respostas: volume acumulado de biogás, eficiência de remoção da matéria orgânica, produtividade molar e rendimento molar de hidrogênio.

5.6.1 Quantificação da biomassa

A quantificação da biomassa foi realizada conforme procedimento descrito por Manssouri (2012), sendo realizada após o término de cada condição experimental. Nessa ocasião, o reator foi drenado e posteriormente desmontado. Foi quantificado o volume de meio reacional (V_R), composto pela biomassa líquida; a mistura suporte inerte mais biomassa (M_{T-SI+B}) e a biomassa aderida ao suporte (M_{A-SI+B}).

Após a homogeneização da mistura suporte inerte mais biomassa (M_{T-SI+B}), foi coletada uma fração para determinação da quantidade de biomassa aderida ao suporte (M_{A-SI+B}). Essa amostra foi lavada com água destilada para remover todo material aderido e a partir das frações obtidas, foram determinados os sólidos totais (ST) da fase sólida, composta pelo material suporte (M_{A-ST}), os sólidos totais (ST) e os sólidos totais voláteis (SVT) da fase líquida, em que está contida a biomassa (M_{A-SVT}). A estimativa da quantidade de biomassa no reator foi realizada de três formas:

- i. Quantidade total de biomassa no reator (M_{SVT}), calculada pela Equação (2):

$$M_{SVT} = \frac{M_{A-SVT} \times M_{T-SI+B}}{M_{A-SI+B}} \quad (2)$$

- ii. Relação entre quantidade de biomassa e volume de meio líquido do reator (C_X), calculada pela Equação (3):

$$C_X = \frac{M_{SVT}}{V_R} \quad (3)$$

- iii. Relação entre a quantidade de biomassa e a quantidade de suporte inerte presente no reator (C_X), calculada pela Equação (4):

$$C_X = \frac{M_{A-SVT}}{M_{A-SI}} \quad (4)$$

A quantidade total de biomassa presente no reator (M_{SVT}) expressa a capacidade do sistema na retenção da biomassa, além de ser uma variável importante na determinação dos indicadores: carga orgânica específica aplicada (COEA), carga orgânica específica removida (COER) e produtividade molar específica (PrME).

5.6.2 Eficiência de remoção de matéria orgânica

A determinação da eficiência de remoção de matéria orgânica na forma de DQO ou de carboidratos em amostras não filtradas e filtradas (ε_B , ε_F) foram calculadas pela Equação 5 (MANSSOURI, 2012):

$$\varepsilon_R \% = \frac{C_{AFL} - C_{EFL}}{C_{AFL}} \times 100 \quad (5)$$

em que: C_{AFL} são as concentrações de DQO ou de carboidratos em amostras do afluente e C_{EFL} refere-se às concentrações de DQO ou de carboidratos em amostras do efluente não filtradas (B) e filtradas (F).

5.6.3 Cargas orgânicas aplicadas e removidas

A carga orgânica volumétrica aplicada (COVA), corresponde à quantidade de matéria orgânica aplicada em função do tempo e do volume de meio do reator, em termos de DQO ($\text{gDQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ou de carboidratos ($\text{gCT} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). O cálculo da carga orgânica volumétrica aplicada foi realizado de acordo com a Equação 6 (MANSSOURI, 2012):

$$\text{COVA} = \frac{(V_A \times N) \times C_{AFL}}{V_R} \quad (6)$$

em que: V_A corresponde ao volume de água residuária alimentada ao reator por ciclo; N é o número de ciclos por dia e V_R o volume total de água residuária contida no reator por ciclo.

A carga orgânica específica aplicada (COEA) corresponde à quantidade de matéria orgânica aplicada em função do tempo e da massa de sólidos totais voláteis no reator, em termos de DQO ($\text{gDQO} \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ou de carboidratos ($\text{gCT} \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), respectivamente.

Para o cálculo da carga orgânica específica aplicada foi utilizada a Equação7(MANSSOURI, 2012):

$$COEA = \frac{(V_A \times N) \times C_{AFL}}{M_{SVT}} \quad (7)$$

A carga orgânica volumétrica removida de amostras filtradas(COVR) corresponde à quantidade de matéria orgânica removida pelo reator por unidade de tempo e por volume de reator, em termos de DQO (gDQO.L⁻¹.d⁻¹) ou carboidratos (gCT.L⁻¹.d⁻¹). Para o cálculo da carga orgânica volumétrica removida foi utilizada a Equação8(MANSSOURI, 2012):

$$COVR = \frac{(V_A \times N) \times (C_{AFL} - C_{EFL})}{V_R} \quad (8)$$

A carga orgânica específica removida em amostras filtradas (COER) corresponde à quantidade de matéria orgânica removida pelo reator por unidade de tempo e por massa de sólidos voláteis no reator, em termos de DQO (gDQO.gSVT⁻¹.d⁻¹) ou carboidratos (gCT.gSVT⁻¹.d⁻¹), respectivamente. Para o cálculo da carga orgânica volumétrica removida foi utilizada a Equação 9(MANSSOURI, 2012):

$$COER = \frac{(V_A \times N) \times (C_{AFL} - C_{EFL})}{M_{SVT}} \quad (9)$$

5.6.4 Produtividade molar

A produtividade molar volumétrica (PrM) é definida como a quantidade de bio-hidrogênio (H₂) gerada em função da unidade de tempo e volume útil do reator (molH₂.m⁻³.d⁻¹).A produtividade molar volumétrica foi calculada de acordo com a Equação 10, na qual nH₂ é a quantidade molar de hidrogênio produzido por dia e V_R é o volume total de água residuária no reator por ciclo (MANSSOURI, 2012):

$$PrM = \frac{n_{H_2}}{V_R} \quad (10)$$

A produtividade molar específica (PrME) é definida como a quantidade de bio-hidrogênio (H₂) gerada em função da unidade de tempo e pela massa de sólidos voláteis

totais no reator ($\text{molH}_2 \cdot \text{KgSVT}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). O cálculo da produtividade molar específica foi realizado de acordo com a Equação 11 (MANSSOURI, 2012):

$$PrME = \frac{n_{H_2}}{M_{SVT}} \quad (11)$$

5.6.5 Rendimento molar

O rendimento entre hidrogênio produzido e matéria orgânica aplicada na forma de DQO ou de carboidratos (RMCA) é definido como a quantidade de hidrogênio produzido (mol H_2) em função da matéria orgânica aplicada em KgDQO ou de carboidratos totais (KgCT), expresso em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgDQO}^{-1}$ ou em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgCT}^{-1}$. O cálculo foi realizado de acordo com a Equação (12):

$$RMCA = \frac{n_{H_2}}{N \times V_A \times C_{AFL}} \quad (12)$$

O rendimento entre hidrogênio produzido e matéria orgânica removida na forma de DQO ou de carboidratos (RMCR) é definido pela quantidade de hidrogênio (H_2) produzido em função da matéria orgânica removida em KgDQO ou de KgCT , expresso em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgDQO}^{-1}$ ou em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgCT}^{-1}$, calculado conforme a Equação 13 (MANSSOURI, 2012):

$$RMCR = \frac{n_{H_2}}{N \times V_A \times (C_{AFL} - C_{EFL})} \quad (13)$$

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Desempenho do reator

Na avaliação do desempenho do reator foram utilizadas cargas orgânicas volumétricas (COV) de 9,0; 13,5; 18 e 18 gCT L⁻¹d⁻¹ e TDH de 4; 4; 3 e 2 h para as condições I; II; III e IV, respectivamente.

Na Figura 8 são apresentados os valores de pH no efluente do reator para as condições I, II, III e IV.

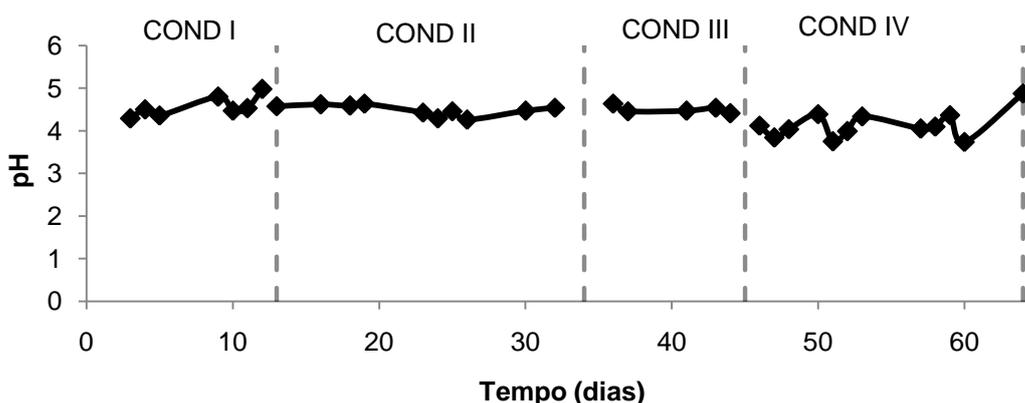


Figura 8 Variação temporal do pH efluente nas condições I, II, III e IV.

Os valores médios de pH do efluente diminuíram para 4,56; 4,63; 4,73 e 4,13, para as condições I, II, III e IV, respectivamente, em relação ao pH inicial de 6. Segundo Chen, Sung e Chen (2009), o pH e a duração dos ciclos influenciam as rotas metabólicas dos microrganismos, o que pode ter ocorrido para as condições estudadas. Antonopoulou et al. (2010) verificaram a produtividade máxima de hidrogênio ($1,752 \pm 54 \text{ mLH}_2 \text{ d}^{-1}$) e o rendimento ($3,50 \pm 0,07 \text{ LH}_2 \text{ L}_{\text{reator}}^{-1}$) na condição em que o pH efluente foi 5,3. No presente trabalho, observam-se resultados semelhantes aos dos autores citados acima, que sugerem que o pH efluente 4,7 seria ideal para a produção de hidrogênio nas condições estudadas.

O consumo de carboidrato total para as condições I, II, III e IV, na forma bruta (ϵ_{cb}) e filtrada (ϵ_{cf}), é apresentado na Figura 9.

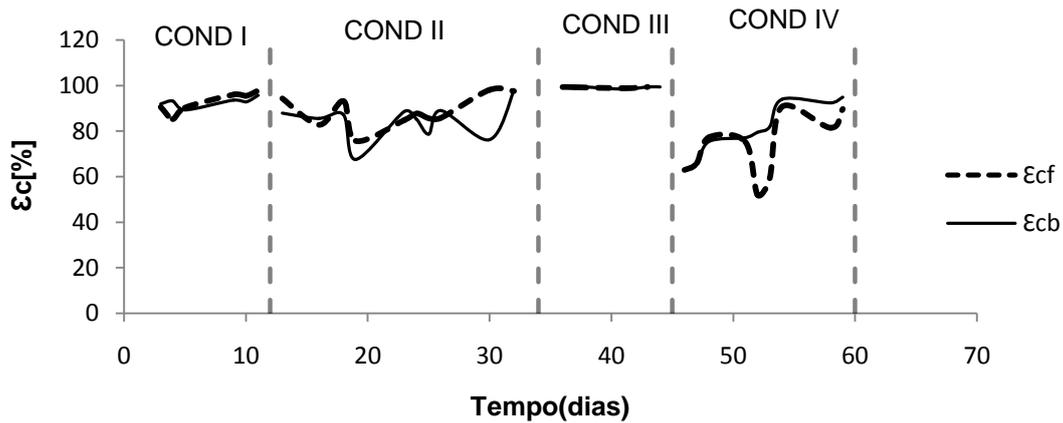


Figura 9 Consumo de carboidrato total na forma bruta e filtrada.

Os valores máximos de consumo de açúcar total na forma bruta foram de 97,79%, 98,06%, 99,89% e 94,93%; para a forma filtrada de 95,66%, 97,8 %, 99,7% e 94,24% nas condições I, II, III e IV, respectivamente. Observa-se que o consumo de açúcar total na forma bruta foi maior em relação à forma filtrada. Esse elevado consumo de açúcar total (>90%) demonstra que o efluente de fecularia de mandioca pode ser um bom substrato para microrganismos, que as empregam para a produção de hidrogênio.

Nas condições II e IV observa-se maior variação nos valores de eficiência de consumo de açúcar total devido à sua alimentação, tanto na forma bruta quanto filtrada, no entanto, as eficiências de conversão de açúcares continuaram com percentuais superiores a 90% (Figura 9).

Na Figura 10 é apresentada a eficiência de remoção de matéria orgânica para as condições I, II, III e IV, na forma bruta (ϵ_{DQOb}) e filtrada (ϵ_{DQOf}).

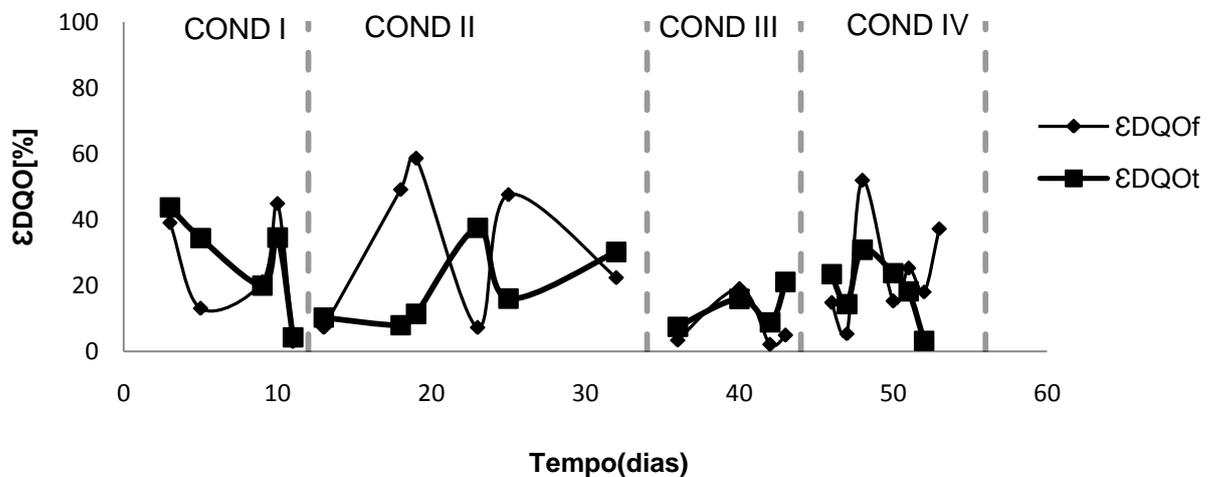


Figura 10 Remoção de matéria orgânica para as condições I, II, III e IV no efluente, na forma bruta (ϵ_{DQOt}) e filtrada (ϵ_{DQOf}).

A remoção de matéria orgânica na forma filtrada foi de 24,21%, 35,45%, 7,40% e 24,00%, e para a forma bruta de 27,39%, 27,39%, 13,35% e 16,33% nas condições I, II, III e IV, respectivamente. A condição II apresentou remoção de matéria orgânica na forma filtrada, relativamente alta em comparação com as demais condições, pois nessa etapa houve a mudança de alimentação do reator.

Resultados semelhantes foram verificados por Albanez et al. (2016), que avaliaram concentrações iniciais de substrato de 3, 6 e 9 gDQOL⁻¹ na produção de hidrogênio a partir de efluente de vinhaça/melaço em um reator AnSBBR. Observaram, também, redução de DQO que foi de, aproximadamente, de 17 % para todas as condições.

Thanwiset et al. (2012) avaliaram um reator anaeróbio compartimentado na produção de hidrogênio e na remoção de matéria orgânica na forma de DQO a partir de água residuária de fecularia de mandioca e observaram que a remoção de DQO aumentou com a redução do TDH. Para os tempos de 24, 6 e 3 h a remoção de DQO foi de 14,2; 29,03 e 21,90%, respectivamente.

Lima, Moreira e Zaiat (2013), utilizando meio sintético, à base de glicose e sacarose, em um reator de leito fixo e fluxo ascendente na produção de hidrogênio, obtiveram assimilação de carboidratos superiores a 84%, nas condições estudadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2016), ao avaliarem um reator anaeróbio em batelada sequencial com biomassa imobilizada e agitação mecânica na produção de hidrogênio a partir de água residuária de soro de leite. Os autores observaram valores médios de remoção de matéria orgânica entre 20% e 30% e de consumo de açúcares totais de 90%.

A alta concentração de matéria orgânica no afluente facilita a degradação de glicose, que na maior parte pode ser convertida em compostos intermediários como álcoois e ácidos voláteis (LUCAS, 2015). Na Figura 11 é apresentada a concentração de ácidos voláteis totais ao longo das condições I, II, III e IV.

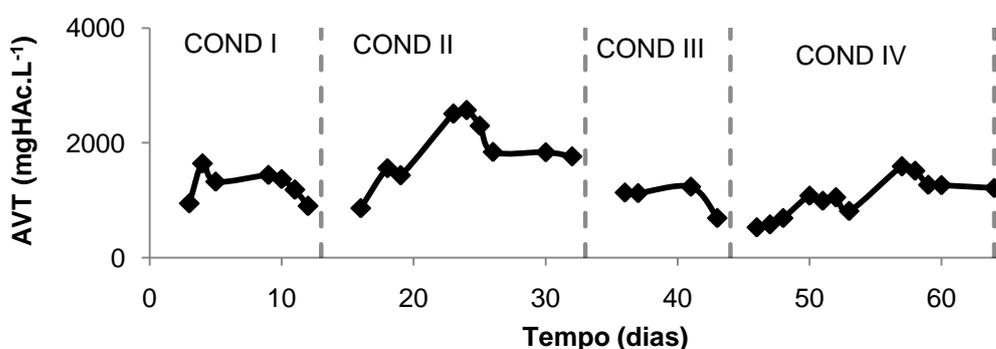


Figura 11 Concentração de ácidos voláteis totais para as condições I, II, III e IV no efluente.

Os valores médios de ácidos voláteis totais no efluente filtrado foram de 1259,61 mgHAc L⁻¹; 1745,03 mgHAc L⁻¹; 771,90 mgHAc L⁻¹ e 1049,67 mgHAc L⁻¹ para as condições I, II, III e IV, respectivamente. Observou-se que a AVT, para as condições com cargas volumétricas maiores (18gCT L⁻¹d⁻¹), apresentou valores menores (condição III e IV), em comparação com as condições de cargas volumétricas menores (9,0, 13,5 gCT L⁻¹d⁻¹), o que pode estar relacionado à concentração de ácido láctico na condição IV, pois o ácido láctico, neste caso, não é volátil. Por outro lado, nas condições que aplicaram cargas mais baixas (Condição I e II), apresentaram valores de AVT maiores.

Inoue (2013) obteve resultados semelhantes em avaliação da produção de bio-hidrogênio em AnSBBR, aplicando cargas orgânicas próximas às apresentadas neste estudo (9,0, 13,5, 18,0 e 18,0 gDQO L⁻¹d⁻¹) e com tempo de enchimento de 4, 3 e 2h, porém tratando água residuária sintética. Os resultados foram valores médios de 1057, 1465, 1566, 1054 mgHAc L⁻¹, nas condições estudadas.

6.2 Avaliação dos produtos intermediários

Durante o processo fermentativo foram identificados alguns produtos intermediários (PI), como ácido láctico, acético, propiônico e butírico, que são provenientes da conversão da matéria orgânica, expressa na forma de carboidratos totais.

Na Tabela 4 pode ser observada a concentração média desses produtos intermediários, para as condições I, II, III e IV, na entrada e saída do reator.

Tabela 4 Concentração média dos compostos intermediários (mg L⁻¹) na entrada e saída do reator

PI	Concentração Média (mg L ⁻¹)							
	Condição I		Condição II		Condição III		Condição IV	
	Entrada	Saída	Entrada	Saída	Entrada	Saída	Entrada	Saída
Lático	2522,73	2439,61	2599,65	1756,61	1696,55	1678,77	1110,77	1882,60
Acético	274,78	720,50	147,84	715,38	194,25	391,27	198,17	490,10
Propiônico	0,00	297,21	0,00	622,39	0,00	0,00	0,00	258,28
Butírico	0,00	738,70	0,00	856,07	0,00	0,00	0,00	429,56

A concentração média de produtos intermediários teve diferença entre as condições, o que pode ter ocorrido devido à concentração no afluente (lotes) que foi utilizado para a alimentação do reator. Observa-se também, na Tabela 4, que houve diferença em relação à entrada e saída para os ácidos láctico, acético, propiônico e butírico. A concentração do ácido

lático, nas condições I, II e III, teve diferença entre a entrada e saída de 83,12 mg L⁻¹, 843,04 mg L⁻¹ e 16,78mg L⁻¹, respectivamente. Na condição IV, pelo contrário, houve aumento do ácido lático no efluente do reator, provavelmente, os microrganismos utilizaram outra via metabólica que favoreceu a produção do ácido lático. Observou-se que a conversão de carboidrato foi menor na condição IV, comparada com a condição I (Figura 9) e, conseqüentemente, uma proporção maior do ácido lático ao invés de acético e butírico.

No processo de fermentação a produção de hidrogênio pode estar relacionada com a produção de ácido butírico e acético, que ocorre essencialmente em valores de pH entre 4,0 e 6,0 (KHANAL et al., 2004; CHEN et al., 2005). Concentrações mais elevadas de ácido acético seriam desejáveis, já que teoricamente são produzidos 4 mols de H₂ mol⁻¹ glicose, enquanto para a produção de ácido butírico são formados apenas 2 mols de H₂ mol⁻¹ glicose consumida (ANTONOPOULOU et al., 2008). De modo geral, a distribuição dos produtos intermediários observada foi consistente com outros estudos (SREETHAWONG et al., 2010; ANTONOPOULOU et al., 2011).

As concentrações de ácido acético e butírico foram consideradas elevadas em todas as condições, no entanto, na condição III não foi observada produção de ácido propiônico e butírico, o que pode estar relacionado com as vias metabólicas selecionadas pelos microrganismos, ou seja, há competição com microrganismos que utilizam outras vias metabólicas que convertem o substrato em produtos intermediários do hidrogênio.

Andreani et al. (2015) observaram que na condição de maior produção de hidrogênio (1,1 L d⁻¹L⁻¹) foram predominantes os ácidos butírico e acético nos produtos finais do processo fermentativo da água residuária de fecularia de mandioca, em reator anaeróbio contínuo de leito fixo. No presente trabalho, com água residuária de fecularia, em AnSBBR observaram-se maiores concentrações de ácido butírico (856,07 mg L⁻¹) e ácido acético (715,38 mg L⁻¹) na condição II.

6.3 Produção de Hidrogênio

Na Figura 12 pode-se observar a variação da produção volumétrica de biogás (V_g), nos dias de operação, em relação às condições I, II, III e IV.

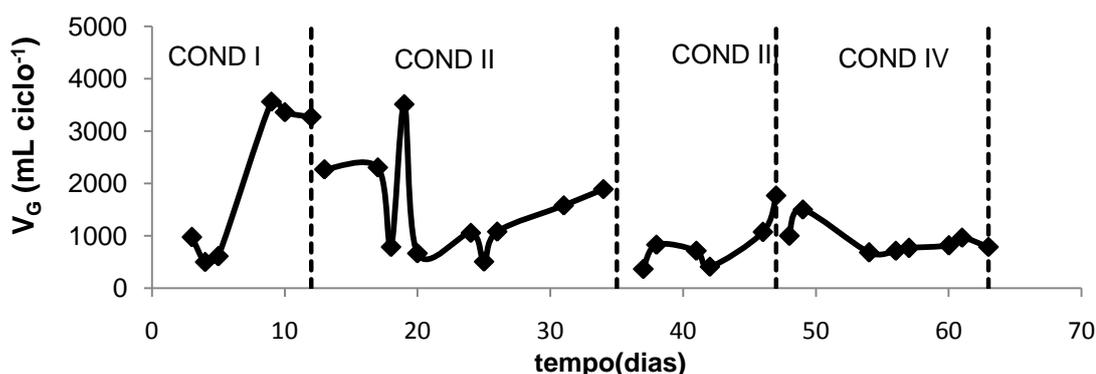


Figura 12 Variação da produção volumétrica de biogás por ciclo nos dias de operação em relação às condições I, II, III e IV.

O volume máximo produzido foi de 3556,7mL ciclo⁻¹ no 9º dia de monitoramento para a condição I; 3512,16L ciclo⁻¹ no 19º dia de monitoramento na condição II; 1769,57mL ciclo⁻¹, no 47º dia para a condição III e 1500,28mL ciclo⁻¹ no 49º dia na condição IV, com os valores médios de 2046,31, 1566,50, 862,16 e 904,62mL ciclo⁻¹, para as condições I, II, III e IV, respectivamente.

Na Tabela 5 é apresentada a composição do biogás em termos de H₂ e CO₂ para as respectivas condições analisadas.

Tabela 5 Composição do biogás em termos de H₂ e CO₂ (%)

Condição	Proporção (%)					
	H ₂			CO ₂		
	Média	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima
I	13,43	5,33	23,33	86,57	76,67	94,67
II	13,8	3,98	30,85	90,39	69,15	97,88
IV	12,16	3,35	25,39	87,84	74,61	96,65

Nas condições I e IV, a composição do biogás para a máxima proporção de hidrogênio foi 23,33% e 25,39 %, respectivamente. A condição II, em que foi iniciada uma sequência de alimentação de água sintética, apresentou maior produção de hidrogênio (30,85%).

Na condição III (pH 6,0, COV de 18 g L⁻¹.d⁻¹, concentração do efluente 5300mg L⁻¹ e TDH de 3 h), em que foi usado o inóculo obtido por autofermentação, não houve produção de hidrogênio, tendo influência na produção de hidrogênio, pois nas condições (I, II e IV) que utilizaram inóculo de lodo anaeróbico, foi registrada a produção de biogás. Embora, no presente estudo, não se tenha verificado produção de hidrogênio nessas condições, é possível produzir hidrogênio com inóculo autofermentado, conforme Lucas (2015) que avaliou a produção de hidrogênio em um reator de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária de fecularia de mandioca, obtendo percentual máximo de hidrogênio no

biogás de 69,23%, quando o reator foi inoculado a partir da autofermentação da água residuária.

Gomes et al. (2016) avaliaram a produção de hidrogênio em água residuária da produção de farinha de mandioca e verificaram inibição da produção de hidrogênio. Os autores atribuíram tal ocorrência às rotas metabólicas e à presença de bacteriocinas, especialmente, a Nisina, que é uma bacteriocina produzida por certas linhagens de *Lactococcus lactis* (SCHULZ et al., 2003). No presente trabalho, não foi estudada a presença de bacteriocinas, porém, conforme relatado por Gomes et al. (2016), a produção de hidrogênio a partir de água residuária de produtos ricos em amidos pode ser influenciada, devendo esse assunto ser investigado em trabalhos futuros.

No caso do CO₂, a proporção máxima no biogás para a condição I (94,67%) foi menor em relação às condições II (97,88%) e IV (96,65%). Nessas condições foram observadas maiores concentrações de hidrogênio no biogás.

Na Figura 13 é apresentada a composição do biogás (H₂ e CO₂) para o período de monitoramento, nas respectivas condições analisadas.

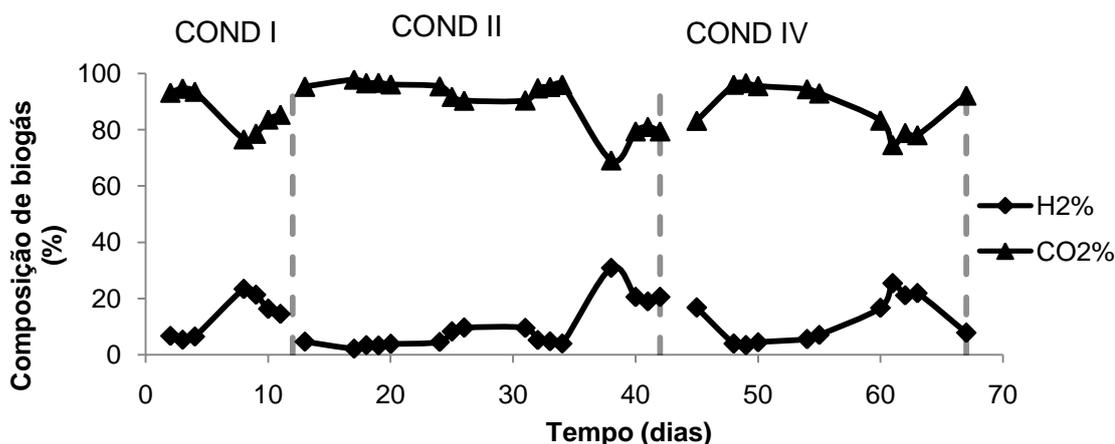


Figura 13 Composição do biogás (H₂ e CO₂) para os dias de monitoramento, nas condições I, II e IV.

Durante a condução dos ensaios, observou-se aumento na concentração de hidrogênio no biogás (condições I, II e IV), seguido de diminuição. A concentração de hidrogênio é inversamente proporcional ao CO₂, ou seja, quando o H₂ diminui, o CO₂ tende a aumentar (Figura 13).

Arooj et al. (2008) demonstraram que, quando se utiliza reator anaeróbio em batelada sequencial para a produção de hidrogênio, um decréscimo de TDH pode aumentar a taxa de produção de hidrogênio. No presente trabalho, o TDH e a produção de hidrogênio foram diretamente proporcionais, ou seja, com o TDH de 4 h na condição II houve a maior produção de hidrogênio (30,85%).

Na Figura 14 é apresentada a variação temporal da vazão de hidrogênio (mL d^{-1}), da produtividade molar volumétrica – PrM ($\text{mol H}_2 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), da produtividade molar específica – PrME ($\text{mol kgSVT}^{-1} \text{ d}^{-1}$), do rendimento molar de hidrogênio em relação ao AT aplicado ($\text{mol H}_2 \text{ KgCT}^{-1}$) e do rendimento molar de hidrogênio em relação ao CT removido ($\text{mol H}_2 \text{ KgCT}^{-1}$).

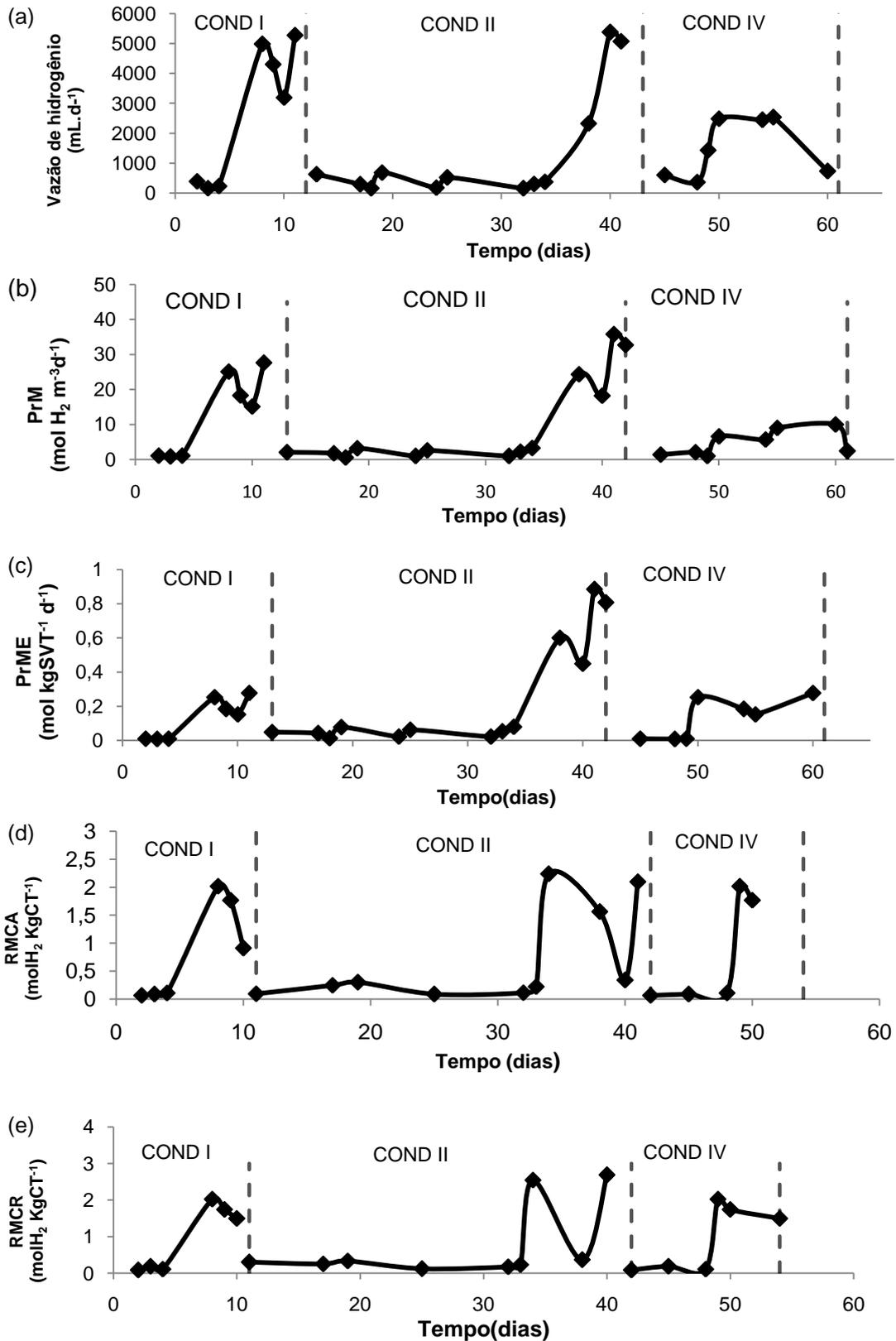


Figura 14 Variação temporal: (a) vazão de hidrogênio (mL d^{-1}); (b) produtividade molar volumétrica – PrM ($\text{mol H}_2\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$); (c) produtividade molar específica – PrME ($\text{mol kgSVT}^{-1}\text{d}^{-1}$); (d) rendimento molar de hidrogênio em relação à CT aplicada ($\text{molH}_2\text{ KgCT}^{-1}$); (e) rendimento molar de hidrogênio em relação à CT removida ($\text{molH}_2\text{ KgCT}^{-1}$).

Na condição I foram observados para avazão de hidrogênio e a PrM (produtividade molar volumétrica) valores máximos de 5276 mL d^{-1} e $27\text{ mol H}_2\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$, respectivamente. Na condição II, a vazão de hidrogênio atingiu 10494 mL d^{-1} e o valor máximo de PrM foi de $35,8\text{ mLH}_2\text{ m}^{-3}\text{d}^{-1}$. Observa-se que a produção de hidrogênio nessa condição de vazão de hidrogênio e PrM foram maiores a partir do 38º dia de operação. Contudo, a maior produção de biogás pode estar relacionada ao crescimento de biomassa. Na condição IV, foi obtida vazão de hidrogênio e a PrM, com valores máximos de 2536 mL d^{-1} e $9,9\text{ mL H}_2\text{ m}^{-3}\text{d}^{-1}$ no 50º dia de condução do reator (Figuras 14a e 14b).

Em relação à vazão e à produtividade molar volumétrica, a melhor condição operacional dentre as avaliadas para a produção de hidrogênio foi a condição II (carga orgânica aplicada: $13,5\text{ gCT L}^{-1}\text{d}^{-1}$; TDH: 4 h), que utilizou inóculo proveniente do reator anaeróbio de escala piloto que trata efluente de indústria de fécula de mandioca e foi alimentado com 100 % de ARF.

O máximo rendimento de hidrogênio em relação ao carboidrato total (CT) aplicado e o removido foram de $2,01$ e $2,02\text{ molH}_2\text{ KgCT}^{-1}$, para a condição I; $2,23$ e $2,60\text{ molH}_2\text{ KgCT}^{-1}$, para a condição II; $2,01$ e $2,02\text{ molH}_2\text{ KgCT}^{-1}$ para a condição IV, respectivamente (Figuras 14d e 14e).

Comparando-se as cargas aplicadas, nas condições testadas para a produção de hidrogênio, observa-se que a condição II e IV apresentaram resultados semelhantes de rendimento molar de hidrogênio em relação ao CT removido e ao aplicado e de faixas de pH. Khanalet al. (2004) verificaram que a produção de hidrogênio pode ocorrer gradualmente em taxas moderadas e por longos períodos em valores baixos de pH.

Resultados semelhantes foram apresentados por Manssouri (2012), que observou a maior concentração de bio-hidrogênio no biogás (24-25%) e maiores rendimentos de produção molar por carga aplicada e removida $2,83$ e $3,04\text{ molH}_2\text{ kgAT}^{-1}$, respectivamente, na condição com carga orgânica aplicada de $13,5\text{ KgDQOm}^{-3}\text{ d}^{-1}$, em um AnSBBR, a partir de água residuária sintética.

Lee et al. (2008) avaliaram a produção de hidrogênio, a partir de amido de mandioca como matéria prima, utilizando um reator em batelada com concentração de 24 g L^{-1} , suplementação nutricional e pH na faixa de 5,5 a 7,0. Os autores constataram que a faixa do pH 5,5 a 6,0 resultou nos melhores desempenhos de produção de hidrogênio à temperatura de 37°C , com rendimento de $9,19\text{ mmol H}_2\text{ g}^{-1}\text{ amido}$ e produção de 857 ml h^{-1} .

Bravo et al. (2015) observaram que a maior produção molar de hidrogênio ($67,5 \text{ mol H}_2 \text{ m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$) foi alcançada quando o reator foi operado com tempo de ciclo de 4 h e concentração afluente de $5000 \text{ mg DQO L}^{-1}$. Rosa et al. (2014) avaliaram a produção de hidrogênio em reatores anaeróbios de leito fluidizado e observaram que o maior rendimento de hidrogênio ($1,33 \text{ mol.mol}^{-1}$) foi obtido com o TDH de 4h.

A produção de hidrogênio também pode ser influenciada pela concentração de açúcares presentes no afluente. O afluente utilizado na condição III, apresentou uma quantidade menor de açúcares no afluente em comparação às outras condições, que apresentaram médias entre 4 a 7 g L^{-1} .

O mau desempenho da produção de hidrogênio (condição III) também pode ser atribuído à alta concentração de ácido láctico, conforme observado na Tabela 4. A presença de ácido láctico nesta condição indica que ocorreu desvio da via metabólica escolhida pelos microrganismos, prejudicando a produção de hidrogênio, uma vez que as vias metabólicas que resultam em maior produção são as vias do ácido butírico e acético.

Penteado et al. (2013), avaliando o desempenho de um reator de leito fixo e fluxo contínuo na produção de hidrogênio, em água residuária sintética, a partir de diferentes fontes de inóculo, dentre elas a autofermentação, obtiveram resultados satisfatórios. Já no presente trabalho, a produção de hidrogênio com inóculo obtido a partir de autofermentação de efluente real não foi promissora.

7 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, em relação à produção de hidrogênio em reator AnSBBR com a água residuária de fecularia de mandioca, pode-se concluir que:

- Ao avaliar a influência da carga orgânica, a melhor condição operacional para a produção de hidrogênio foi a condição II (carga orgânica aplicada: $13,5 \text{ gCT L}^{-1}\text{d}^{-1}$; TDH: 4 h), que utilizou inóculo proveniente do reator anaeróbio de escala piloto que trata efluente de indústria de fécula de mandioca e 100% de ARF. A produtividade molar de hidrogênio foi de $35,8 \text{ molH}_2 \text{ m}^{-3}\text{d}^{-1}$ e o rendimento de hidrogênio em relação ao CT aplicado e removido foi de 2,23 e $2,60 \text{ molH}_2 \text{ KgCT}^{-1}$, respectivamente. Já aplicando-se cargas menores ($9,0 \text{ gCT L}^{-1}\text{d}^{-1}$ TDH: 4 h) e maiores ($18 \text{ gCT L}^{-1}\text{d}^{-1}$ TDH: 2 h) os resultados foram menores.
- Na condição III ($18 \text{ g-carbohidratos totais L}^{-1}\text{d}^{-1}$ e TDH de 3 h) em que foi utilizado o inóculo autofermentado, não houve produção de hidrogênio, embora a conversão de açúcar total ao longo da operação tenha sido de 98,47%.
- Quanto aos produtos intermediários, houve aumento dos ácidos acético, butírico e propiônico nas condições I, II e IV. Além disso, os microrganismos consumiram o ácido láctico na maioria das condições, exceto na condição IV.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As condições avaliadas evidenciam potencial satisfatório para a produção de hidrogênio a partir de efluente real (ARF) em reator anaeróbio em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada e lodo ativado. No entanto, a utilização doinóculo autofermentado não foi satisfatória. Sendo assim, fica como sugestão para a produção de hidrogênio a partir de efluente real, com inóculo autofermentado, que sejam exploradas outras cargas orgânicas volumétricas e diferentes tempos de detenção hidráulica.

REFERÊNCIAS

- ALBANEZ, R.; LOVATO, G.; ZAIAT, M.; RATUSZNEI, S.M.; RODRIGUES, J.A.D. Optimization, metabolic pathways modeling and scale-up estimative of an AnSBBR applied to biohydrogen production by co-digestion of vinasse and molasses. **International Journal Of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 41. p. 20473 – 20484. 2016.
- ANDREANI, C. L.; TORRES, D. G.; SCHULTZ, L.; CARVALHO, K. Q. D.; GOMES, S. D.A produção de hidrogénio a partir de águas residuais de processamento de mandioca num reator de leito fixo anaeróbico com bambu como um material de suporte. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 35, n. 3. p. 578-587.2015.
- ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H. N.; SKIADAS, I. V.; ANGELOPOULOU, K.; LYBERATOS, G. Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 110-119, 2008.
- ANTONOPOULOU, G; GAVALAA, H.N.; SKIADAS, L.V.; LYBERATOS, G. Influence of pH on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 35, n. 5, p. 1921–1928, 2010.
- ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H. N.; SKIADAS, I. V.; YBERATOS, G. Effect of substrate concentration on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.36. p. 4843 – 4851. 2011.
- ARGUN, H.; KARGI, F.; KAPDAN, I.; K.; OZTEKIN, R. Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate. **International Journal of Hydrogen Energy**. Oxford, v. 33. p. 1813– 1819. 2008.
- AROOJ, M.F.; HAN, S. K.; KIM, S. H.; KIM, D. H.; SHIN, H. S. Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. **International journal of hydrogen energy**, Oxford, v. 33, p. 6509-6514, 2008.
- BABU, V. L.; MOHAN, S. V.; SARMA, P. N. Influence of reactor configuration on fermentative hydrogen production during wastewater treatment. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 34. p. 3305-3312. 2009.
- BADIEI, M.; JAHIM, J.M.; ANUAR, N.; ABDULLAH, S.R.S. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production from palm oil mill effluent in anaerobic sequencing batch reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 36, p. 5912–5919, 2011.
- BAGLEY, D. M.; BRODKORB, T. S. Modelling microbial kinetics in an anaerobic sequencing bath reactor – model development and experimental validation. **Water Environmental Research**, v. 31, p. 1320-1332. 1999.
- BAKONYI, P.; BORZA, B.; ORLOVITS, K.; SIMON, N.; NEMESTÓTHY, K.; BÉLAFI-BAKÓ, K. Fermentative hydrogen production by conventionally unconventionally heat pretreated seed cultures: a comparative assessment. **International journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 39, p. 5589-5596. 2014.

BARROS, A. R.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; MAINTINGUER, S. I.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Performance evaluation and phylogenetic characterization of anaerobic fluidized bed reactors using ground tire and pet as support materials for biohydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3840-3847, 2011.

BICÁCOVÁ, O.; STRAKA, P. Production of hydrogen from renewable resources and its effectiveness. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.37, p.11563-11578, 2012.

BRAVO, I. S. M. **Influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio em AnSBBR com recirculação da fase líquida tratando do efluente do processo de produção de biodiesel**. 2014. 199 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

BRAVO, I. S. M.; LOVATO, G.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Biohydrogen production in an ANSBBR treating glycerin-based wastewater: effects of organic loading, influent concentration, and cycle time. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 175, p. 1892-1914. 2015.

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

CEREDA, M. P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. *In*: Cereda, M.P.(Coord.) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001.(Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americano, v.4). Cap. 1, p. 13-37.

CERQUEIRA, M. B. R.; DIAS, A. N.; CALDAS, S. S.; SANTANA, F. B.; D'OCA, M. G. M.; PRIMEL, E. G. Validação de método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes de reatores anaeróbios empregando cromatografia líquida. **Química Nova**, São Paulo, v.34, p.156-159, 2011.

CHEN, W. H.; SUNG, S.; CHEN, S. Y. Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.34, n. 1, p. 227-234, 2009.

CHEN, W.M.; TSENG, Z.J.; LEE, K.S.; CHANG, J.S. Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1063-1070, 2005.

CHENG, X. Y.; LIU, C. Z. Hydrogen production via thermophilic fermentation of cornstalk by *Clostridium thermocellum*. **Energy Fuels**. v. 25. p. 1714–20.2011.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de água residuárias, Reatores anaeróbios**. 2. ed. [S.I.]:UFMG, 2007.

CUBAS, S. A.; FORESTI, E.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effect of impeller type and stirring frequency on the behaviour of an AnSBBR in the treatment of low-strength wastewater. **Bioresource Technology**, v. 102, p.889-893, 2011.

CRUWYS, J. A.; DINSDALE, R. M.; HAWKES, F. R.; HAWKES, D. L. Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. **J. Chromatogr. A.**, v. 945, n. 1/2, p. 195–209, 2002.

- DAGUE, R.R.; HABBEN, C.E.; PIDAPARTI, S.R. Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**, v. 26. p. 2429-2432. 1992.
- DAREIOTI, M.A.; VAVOURAKI, A.I.; KORNAROS, M. Effect of pH on the anaerobic acidogenesis of agroindustrial wastewaters for maximization of bio-hydrogen production: A lab-scale evaluation using batch tests. **Bioresource Technology**, v. 162, p. 218–227, 2014.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination sugars and related substance. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.
- EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E. Standard methods for examination of water and wastewater. 21 ed. American Public Health Association. 2005. 1600 p.
- ELSHARNOUBY, O.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G.; EL NAGGAR, M. H. A critical literature review on biohydrogen production by pure cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 38, n. 1/2, p. 4945–4966, 2013.
- GARCIA, M. L.; LAPA, K. R.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Effects of bed materials on the performance of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor treating domestic sewage. **Journal of Environmental Management**, v. 88, p. 1471–1477, 2008.
- GOMES, S.D.; FUESS, L.T.; PENTEADO, E.D.; LUCAS, S.D.M.; GOTARDO, J.T.; ZAIAT, M. The application of an innovative continuous multiple tube reactor as a strategy to control the specific organic loading rate for biohydrogen production by dark fermentation. **Bioresource Technology**, v. 197. p. 201–207. 2015.
- GOMES, S.D.; FUESS; L.T.; MANUNGA, T.; GOMES, P.C.F. L.; ZAIAT, M. Bacteriocins of lactic acid bacteria as a hindering factor for biohydrogen production from cassava flour wastewater in a continuous multiple tube reactor. **International Journal Of Hydrogen Energy**. Oxford, v.41. p. 8120 e8131. 2016.
- HUNG, C.H.; CHANG, Y. T.; CHANG, Y.J. Roles of microorganisms other than Clostridium and Enterobacter in anaerobic fermentative biohydrogen production systems – A review. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8437–8444. 2011.
- INOUE, R. K. **Influência da carga orgânica e do tempo de enchimento na produção de bio-hidrogênio em ANSBBR com agitação tratando água residuária sintética**. 2013. 221 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.
- KAN, E. Effects of pretreatments of anaerobic sludge and culture conditions on hydrogen productivity in dark anaerobic fermentation. **Renewable Energy**, v. 49, p. 227-231. 2013.
- KAPARAJU, P.; RINTALA, J. Mitigation of greenhouse gas emissions by adopting anaerobic digestion technology on dairy, sow and pigs in Finland. **Renewable Energy**, v. 36, p. 31-41. 2011.
- KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 569-582, 2006.
- KHANAL, S. K.; CHEN, W. H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 29, n.11. p. 1123-1131, 2004.
- KRAMER, J.T.; BAGLEY, D.M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnology Lett.**, v. 29, p.685, 2007.

KUMAR, G.; PARK, J. H.; KIM, M. S.; KIM, D. H.; KIM, S. H. Hydrogen fermentation of different galactose-glucose compositions during various hydraulic retention times (HRTs). **International journal of hydrogen energy**. Oxford, v.39, p. 20625 e20631. 2014.

KUMAR, S. **Anaerobic biotechnology for bioenergy production**. Principles and applications. 1. ed. New Delhi: Wiley, 2008.

LAZARO, C. Z.; VICH, D. V.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Hydrogen production and consumption of organic acids by a phototropic microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 37, p. 11691-11700, 2012.

LEAÑO, E. P.; BABEL, S. Effects of pretreatment methods on cassava wastewater for biohydrogen production optimization. **Renewable Energy**. v. 39, p. 339-346, 2012.

LEE, K. S.; HSU, Y. F.; LO, Y. C.; LIN, P. J.; CHANG, J. S. Exploring optimal environmental factors for fermentative hydrogen production from starch using mixed anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.33, p.1565-1572, 2008.

LEITE, J. A. C.; FERNANDES, B. S.; POZZI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. **International journal of hydrogen energy**, Oxford, n.33, p. 579-586. 2008.

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

LIMA, D. M. F.; MOREIRA, W. K.; ZAIAT, M. Comparison of the use of sucrose and glucose as a substrate for hydrogen production in an upflow anaerobic fixed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.38, p.15074-15083, 2013.

LIMA, D. M. F.; LAZARO, C. Z.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Optimization performance of an AnSBBR applied to biohydrogen production treating whey. **Journal of Environmental Management**. v.169. p. 191-201. 2016.

LOVATO, G.; BRAVO, I. S. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M. The effect of organic load and feed strategy on biohydrogen production in an AnSBBR treating glycerin-based wastewater. **Journal of Environmental Management**. v. 154, p.128 e 137. 2015.

LOVATO, G. **Produção de bio-hidrogênio em AnSBBR tratamento efluente do processo de produção de biodiesel – efeito da carga orgânica e do tempo de enchimento**. 2014. 202 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2014.

LUCAS, S. D. M. **Produção de hidrogênio e metano em reatores anaeróbios de leito fixo em série a partir de efluente de fecularia de mandioca**. 2015. 103 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Centro de Ciência Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR. 2015.

LYSIKOV, A.; DEREVSCHIKOV, V.; OKUNEV, A. Sorption-enhanced reforming of bioethanol in dual fixed bed reactor for continuous hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v.40, p. 14436-14444, 2015.

MANSSOURI, E. M. **Influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio em ASBBR com agitação tratando água residuária sintética**. 2012. 209 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

MICHELAN,R.; ZIMMER,T.R.; RODRIGUES, J. A.D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and mechanical agitation on the mass transfer and power consumption aspects of ASBR operation treating synthetic wastewater. **Journal of environmental management**, v.90, n.3, p. 1357-1364, 2009.

MOHAN, S.V. Harnessing of biohydrogen from wastewater treatment using mixed fermentative consortia: Process evaluation towards optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v, 34, p. 7460–7474. 2009.

NOVAES, L.F. **Estudo da influência da agitação e da estratégia de alimentação sobre o desempenho de um ASBR em estala piloto aplicado ao tratamento de esgoto sanitária**.2008. 143 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

NOVAES, L.F.; SARATT, B.L.; RODRIGUES, J.A.D.; RATUSZNEI, S.M.; MORAES, D.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and agitation on the performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91. p.1647e 1656, 2010.

NTAIKOU, I.; ANTONOPOULOU, G.; LYBERATOS, G. Biohydrogen Production from Biomass and Wastes via Dark Fermentation: A Review. **Waste Biomass Valorization**, v1, p. 21,2010.

NUNES, M.A.F. **Produção biológica integrada de Hidrogênio e Metano a partir de resíduos da Indústria do Biodiesel**. 2015. 65 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia da Energia e do Ambiente) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.

PEIXOTO, G.; SAAVEDRA, N. K.; VARESCHE, M. B. A.; ZAIAT, M. Hydrogen production from soft-drink wastewater in an upflow anaerobic packed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 36, p. 8953 – 8966,2011.

PENTEADO, E.D. **Influência da origem e pré-tratamento do inóculo na produção de hidrogênio a partir de águas residuárias em biorreatores anaeróbicos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

PENTEADO, E. D.; LAZARO, C. Z.; SAKAMOTO, I. K.; ZAIAT, M. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Hydrogen**, Miami, p. 6137 – 6145, 2013.

PIEMONTE. V.; PAOLA, L.D.; CHAKRABORTY, S.; BASILE, A. Sequencing batch reactors (SBRs) for BioH₂ production: Reactor operation criteria. **International journal of hydrogen energy**, Oxford, v. 39, p. 4863 e4869. 2014.

PRINHOLATO, A. C. **Efeito da carga orgânica e do tempo de enchimento na estabilidade e eficiência de ASBBR, tratando água residuária de indústria de produtos de higiene pessoal**.2008. 219.Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Bioquímicos)- Engenharia do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2008.

RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; CAMARGO, E. F. M.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 75, p. 127-132, 2000.

REN N. Q.; LI, J.; LI, B.; WANG, Y.; LIU, S. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. **International Journal of Hydrogen Energy**. Oxford, v. 31. p. 2147e 2157. 2006.

REN, N.Q.; GUO, W. Q.; WANG, X.J.; XIANG, W.S.; LIU, B.F.; WANG, X.Z.; DING, J.; CHEN, Z.B. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production. **International journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 33, p. 4318-4324. 2008.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digester of High-Strength Wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 58, p. 406-411, 1986.

RODRIGUES J. A. D.;RATUSZNEI S. M.;ZAIAT, M. Fed-batch and batch operating mode analysis of a stirred anaerobic sequencing reactor with self-immobilized biomass treating low-strength wastewater. **Journal of Environmental Management**, v.69. p.193–200. 2003.

RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. New Configurations and Operation Strategies of Anaerobic Biofilm Bioreactors Applied to Wastewater Treatment (Chapter 1). *In*: HEARNS, E.C. (Ed.)**Focus on Biotechnology Research**. New York: Nova Science Publishers, 2006.p. 1-58.

ROSA, P.R.F; SANTOS, S.C; SAKAMOTO, I.K.; VARESCHE, M.B.A; SILVA, E.L. Hydrogen production from cheese whey with ethanol-type fermentation: Effect of hydraulic retention time on the microbial community composition. **Bioresource Technology**,v.161, p. 10–19, 2014.

SÁ, L.R. V.; CAMMAROTA, M.C.; FERREIRA-LEITÃO, V.S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia – aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 857-867, 2014.

SARTI, A.; GARCIA, M.L.; ZAIAT, M.; FORESTI, E.Domestic sewage treatment in a pilot-scale anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR).**Resources, Conservation and Recycling**. v. 51. p.237–247. 2007.

SCHULZ, D.; PEREIRA, M.A.; BONELLI, R.R.; NUNES, M.M.; BATISTA, C.R.V. Bacteriocinas: mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentação Nutricional**, Araraquara, v.14, n.2, p. 229-235, 2003.

SCOMA, A.; BERTIN, L.; FAVA, F. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen and volatile fatty acids production during acidogenic digestion of dephenolized olive mill wastewaters. **Biomass and Bioenergy**, v. 28, p. 51-58, 2013.

SHI, X.; KIM, D. H.; SHIN, H. S.; JUNG, K. W.Effect of temperature on continuous fermentative hydrogen production from *Laminaria japonica* by anaerobic mixed cultures.**Bioresource Technology**, v. 144, p. 225–231, 2013.

SHIDA, G. M.; SADER, L. T.; AMORIM, E. L. C.; SAKAMOTO, I. K.; MAINTINGUER, S. I.; SAAVEDRA, N. K.; VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Performance and composition of bacterial communities in anaerobic fluidized bed reactors for hydrogen production: Effects of organic loading rate and alkalinity. **International Journal of Hydrogen Energy**,Oxford, v.37, p. 16925-16934, 2012.

SHOW, K.Y.; LEE,D.J.; TAY, J.H.; LIN, C.Y.; CHANG, J.S. Biohydrogen production: Current perspectives and the way forward. **International journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 37, p. 15616-15631, 2012.

SILVA, A. J.; HIRASAWA, M. B.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea.**Anaerobe**, v.12, p.93-98, 2006.

SINGH, S.; SUDHAKARAN, A. K.; SARMA, P. M.; SUBUDHI, S.; MANDAL, A. K.; GANDHAM, G.; LAL, B. Dark fermentative biohydrogen production by mesophilic bacterial consortia isolated from riverbed sediments. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 35, n. 19, p. 10645–10652, 2010.

SOUZA, L. P.; LULLIO, T. G.; RATUSZNEI S. M.; RODRIGUES J. A. D.; ZAIAT, M. Influence of Organic Load on Biohydrogen Production in an AnSBBR Treating Glucose-Based Wastewater. **Appl. Biochem. Biotechnology**, v. 176, p. 796–816. 2015.

SREETHAWONG, T.; CHATSIRIWATANA, S.; RANGSUNVIGIT, P.; CHAVADEJ, S. Hydrogen production from cassava wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor: Effects of operational parameters, COD:N ratio, and organic acid composition. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 35, p.4092–4102. 2010.

TANGERMAN, A.; NAGENGAST, F. M. A gas chromatographic analysis of fecal short-chain fatty acids, using the direct injection method. **Anal. Biochem.** v. 8, p. 1–8, 1996.

THANWISED, P.; WIROJANAGUD, W.; REUNGSANG, A. Effect of hydraulic retention time on hydrogen production and chemical oxygen demand removal from tapioca wastewater using anaerobic mixed cultures in anaerobic baffled reactor (ABR). **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 37, p. 15503-15510, 2012.

TREVISAN, V.; MONTEGGIA, L. O. Produção de biogás a partir de efluente da suinocultura utilizando digestão anaeróbia em dois estágios. *In*: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS, 1, 2009, Florianópolis. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2009. p. 264-268.

WANG, J.; WAN, W. Combined effects of temperature and pH on biohydrogen production by anaerobic digested sludge. **Biomass and Bioenergy**.v.35, n. 9, p. 3896–3901. 2011.

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

WON, S. G.; LAU, A. K. Effects of key operational parameters on biohydrogen production via anaerobic fermentation in a sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 13, p. 6876–6883, 2011.

ZAIAT, M. **Desenvolvimento e análise de biorreatores anaeróbios contendo células imobilizada para tratamento de água residuária: reator anaeróbio horizontal de leito fixo/reator anaeróbio operado em batelada sequenciais.** 2003. 135 f. Tese (Livre Docência em Hidráulica e Saneamento)- Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M.; BORZANI, W. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater: a developing technology. **Applied Microbial Biotechnology**, v.55, p.29-35, 2001.