

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

FRANCIELE DO CARMO LAMAISSON

**APLICAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO
DA MANDIOCA COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE
HIDROGÊNIO POR PROCESSO FERMENTATIVO**

**Florianópolis – SC
2009**

FRANCIELE DO CARMO LAMAISON

**APLICAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO
DA MANDIOCA COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE
HIDROGÊNIO POR PROCESSO FERMENTATIVO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração:

Desenvolvimento de Tecnologias Limpas.

Orientadora: Profa Dra. Regina Vasconcellos Antônio

Co-Orientador: Profa. Dra. Valéria Spiller

**Florianópolis – SC
2009**

FRANCIELE DO CARMO LAMAISON

**APLICAÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO
DA MANDIOCA COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE
HIDROGÊNIO POR PROCESSO FERMENTATIVO**

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de concentração de **Desenvolvimento de Tecnologias Limpas**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 26 de março de 2009.

Prof^ª. Dra. Regina Vasconcellos Antônio
Orientadora

Prof^ª. Dra. Valéria Reginatto Spiller
Co- orientadora

Prof^ª. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Coordenador do CPGEA

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dra. Edna Regina Amante

Prof. Dr. Agenor Furigo Junior

Prof. Dr. Willibaldo Schmidell Netto

*Aos meus pais Antônio Carlos e Maria Zilma,
pela vida, pelos maiores conhecimentos que já recebi,
por todo o apoio e incentivo para que meus objetivos sejam sempre
alcançados
e sonhos realizados.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, proteção e inspiração.

Aos meus pais e minhas irmãs pelo amor, dedicação, amizade e incentivo, por tudo!

A minha querida vó Geny por iluminar o meu caminho.

A Sandra, ao Jorge e a Tia Ivone pelo carinho, incentivo e pela torcida.

Ao Armston pelo amor e por estar ao meu lado incentivando.

A minha amiga Muriele pelos conselhos e incentivos tanto pessoais quanto profissionais.

A Tia Lourdes, Tio Miguel e ao Messalas pelo carinho e incentivo.

As minhas amigas Bruna Kaster e Bruna Klein pelo companheirismo, por deixarem os meus dias mais coloridos, pelo apoio nas horas difíceis e pelos momentos vividos juntas.

Aos amigos de Passo Fundo que mesmo distantes me apoiaram.

A professora Regina Vasconcellos Antônio pela oportunidade, orientação, paciência, conhecimentos transmitidos e por acreditar na realização dessa dissertação.

A professora Valéria Spiller pela indispensável co-orientação, amizade, incentivo, paciência, pela dedicação com que me ajudou a resolver os problemas, pelos conhecimentos transmitidos e pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

A professora Edna Amante pela atenção, disponibilizando-se sempre que fosse necessário.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Frutas e Hortaliças/CAL.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Tratamento de Efluentes/EQA.

A Sílvia Floriani pela dedicação com que me ajudou a fazer as análises de CG.

A Fabiane Picinin de Castro pelo companheirismo e pela amizade.

A Janaina Debon por me escutar nas horas difíceis e pela amizade.

Aos membros da banca examinadora pela participação e colaboração com sugestões de melhoria para o meu trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

O hidrogênio tem se apresentado como um combustível energético alternativo aos combustíveis fósseis, pois sua combustão produz principalmente H_2O . Este gás pode ser produzido biologicamente, através da fermentação de carboidratos (fonte renovável de carbono). A produção biológica de hidrogênio (biohidrogênio) somente se torna economicamente competitiva, se as fontes de carbono utilizadas forem de baixo custo, como os resíduos da agroindústria. Assim, este trabalho visou estabelecer condições para a produção de hidrogênio por fermentação em reator anaeróbico de batelada seqüencial (RABS), utilizando como substrato água residuária do processamento da mandioca. Foi utilizado um biorreator com volume útil de 2 litros, utilizando-se como inóculo, cultura mista (lodo) de tratamento anaeróbico de efluentes da suinocultura. As cargas de DQO aplicadas ao biorreator variaram de 2352 a 3202 mg/L., sendo o TRH mantido em 2 dias ao longo do período de operação. A temperatura do sistema foi mantida em 35°C. O experimento foi dividido em 4 etapas. Nas etapas 1 e 2 foi utilizada a maniveira como substrato, sem suplementação de nutrientes, nas etapas 3 e 4 foi feita suplementação de nutrientes à maniveira. A etapa 1, os primeiros 46 dias de funcionamento do sistema, foi o período de adaptação, pois o sistema apresentou oscilação no consumo de DQO. Entre os dias 47 e 65 o biorreator se estabilizou, caracterizando a etapa 2. Nesse período foi produzido um volume médio de biogás diário de 470 mL. A composição do biogás no reator foi determinada por cromatografia gasosa. Os resultados experimentais revelaram que 51,5 % do biogás era constituído por hidrogênio e 48,5 % por metano. Neste mesmo período, os cálculos teóricos de produção dos gases, resultaram em uma composição de 52 % de metano e 48 % de hidrogênio, demonstrando que os cálculos teóricos podem ser utilizados para estimar a composição do biogás. A partir do 71° até o 85° dia, estabeleceu-se a etapa 3, pela alimentação do reator com maniveira suplementada. Nesse período, foi produzido diariamente 480 mL de biogás, que, de acordo com os cálculos teóricos era composto por 81 % de metano e 19 % de hidrogênio. O rendimento teórico da produção de hidrogênio foi de 1,82 mol de H_2 /mol de glicose, na etapa 2 e 0,007 mol de H_2 /mol de glicose na etapa 3. Estes resultados demonstraram que a suplementação nutricional, nas condições utilizadas no experimento, favoreceram outras vias fermentativas. Na etapa 4, ao final da operação do reator foi observada uma redução na produção do biogás, que parece estar relacionada com a presença de bactérias lácticas. Os resultados obtidos revelaram que foi possível produzir hidrogênio por fermentação, utilizando a água residuária do processamento da mandioca como substrato.

Palavras-chave: hidrogênio; fermentação; resíduo; maniveira.

ABSTRACT

Hydrogen has been proposed as an alternative to fossil fuels, since the main product resulting from its combustion is water. This gas can be biologically produced by carbohydrate fermentation, but its production only becomes economically competitive if the carbon sources are of low cost. Thus, agro-industrial residues with a high amount of carbohydrates are a very promising alternative for use as a substrate. The goal of this study was to establish the conditions for the production of hydrogen by fermentation using cassava processing wastewater, called “manipueira”, as substrate. To this end, an anaerobic sequential batch reactor with a 2 liter volume was inoculated with sludge from a domestic wastewater treatment plant. The COD loading rate used during the experiment was 2352 a 3202 mg/L.d and a HRT of 2 days. The bioreactor temperature was maintained at 35° C. The experiment was divided in 4 phases. In the phase 1 and 2 was used manipueira as substrate without nutrient supplementation. In the phase 3 and 4 was used manipueira as substrate with nutrient supplementation. The phase occurred in the first 46 operation days the system was very unstable and this was considered as the adaptation period. Between the days 47 and 65 the reactor became stable being considered the second step. In this period was produced a biogas medium volume of 470 mL. The composition of the biogas produced was determined by gas chromatography. The experimental data revealed that 51,5 % was hydrogen and 48,5 was methane content. In the same period, the theoretical calculation for biogas production resulted in a composition of 52 % of methane and 48 % of hydrogen, demonstrating that the theoretical calculations could be used to estimate the biogas composition. The period between 71 and 85 days was considered the phase 3, using supplemented “manipueira” as substrate. In this period was produced daily 480 mL of biogas, that according theoretical calculations correspond to 81% of methane and 19 % of hydrogen. The hydrogen yield was 1.82 mol de H₂/mol glucose in the second phase and 0.007 mol H₂/mol glucose in third phase. In the last monitoring period, between 86 and 110 days (phase 4) was characterized by a reduction of biogas production. This inhibition seems to be related with the presence of lactic acid bacteria in the reactor, once at the end of this phase it was detected 1.25 g/L of lactic acid. The results showed that it was possible to produce hydrogen by fermentation using cassava processing wastewater as substrate.

Keywords: hydrogen; residue; cassava processing wastewater.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do processamento da mandioca a polvilho azedo e as diferentes águas residuárias geradas (LIMA, 2001)	24
Figura 2 - Fluxograma do processamento da fécula de mandioca (LIMA, 2001).....	25
Figura 3 - Processos na Digestão Anaeróbia de macromoléculas complexas	30
Figura 4 - Biorreator em batelada para a produção de hidrogênio por fermentação.....	46
Figura 5 - Gasômetro do tipo frasco invertido	51
Figura 6 - Acompanhamento da DQO de entrada e de saída do biorreator.....	59
Figura 7 - Valores de pH de entrada e saída do biorreator.....	59
Figura 8 - Acompanhamento da acidez de entrada e de saída do biorreator.....	60
Figura 9 - Valores de velocidade de consumo de DQO e o volume de gás produzido, durante a operação do biorreator	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios para a caracterização de resíduos líquidos da industrialização da mandioca.....	26
Tabela 2 - Poder calorífico de diferentes combustíveis	43
Tabela 3 - Composição do meio sintético	48
Tabela 4 - Composição da solução de oligoelementos	48
Tabela 5 - Médias e desvios padrões das grandezas avaliadas durante as diferentes etapas de operação do biorreator.....	57
Tabela 6 - Resultados de desempenho do biorreator, das etapas 1,2,3e 4.....	65
Tabela 7 - Médias das concentrações dos ácidos acético e lático nas diferentes etapas de operação do biorreator.....	66
Tabela 8 - Concentrações médias de cianeto, amônio e cloretos no biorreator, nas diferentes etapas de operação	68

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	20
2.2 <i>Objetivos específicos</i>	20
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 <i>Resíduos Agroindustriais</i>	21
3.2 <i>Mandioca</i>	21
3.2.1 <i>Processamento da Mandioca</i>	23
3.2.2 <i>Águas residuárias do processamento da mandioca</i>	25
3.3 <i>Digestão anaeróbia da matéria orgânica</i>	29
3.3.1 <i>Influência do pH sobre a digestão anaeróbia</i>	33
3.3.2 <i>Influência da temperatura sobre a digestão anaeróbia</i>	34
3.3.3 <i>Necessidades nutricionais</i>	34
3.3.4 <i>Influência de compostos tóxicos</i>	36
3.4 <i>O Hidrogênio</i>	37
3.4.1 <i>A produção fermentativa de hidrogênio</i>	39
Fonte: Santos e Santos (2007).....	43
3.4.2 <i>Fatores que influenciam na produção de hidrogênio</i>	43
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1 <i>Inóculo</i>	45
4.2 <i>Processamento da mandioca para obtenção de água residuária (manipueira) sob condições laboratoriais</i>	45
4.3 <i>Montagem e Operação dos Reatores</i>	45
4.4 <i>Métodos Analíticos</i>	48
4.4.1 <i>Determinação dos Sólidos Totais e Sólidos Totais Voláteis no Lodo</i>	48
4.4.2 <i>Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i>	49
4.4.3 <i>Determinação do pH</i>	50
4.4.4 <i>Determinação da Acidez Titulável</i>	50
4.4.5 <i>Determinação dos Ácidos Orgânicos</i>	50
4.4.6 <i>Determinação do volume de biogás</i>	51
4.4.7 <i>Concentração dos gases produzidos no biorreator</i>	52
4.4.7.1 <i>Cromatografia gasosa</i>	53
4.4.7.2 <i>Cálculos estequiométricos</i>	53
4.4.8 <i>Determinação de amônio</i>	55

4.4.9 Determinação de Cianeto	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 <i>Acompanhamento do biorreator anaeróbio</i>	57
5.1.1 Operação do biorreator sem suplementação de nutrientes	58
5.1.2 Operação com suplementação	62
6 CONCLUSÕES	70
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	71
REFERÊNCIAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

Os combustíveis vêm acompanhando o desenvolvimento do mundo moderno, sendo o petróleo a matéria-prima historicamente mais disponível e utilizada. Pelo ritmo atual de exploração, para as mais diferentes aplicações, esta fonte estará disponível, por aproximadamente mais 50 anos (WARWEL,S., et al.,2001). A demanda pelos combustíveis derivados do petróleo cresceu juntamente com os danos ambientais, sendo vasta a literatura sobre os efeitos dos gases da combustão dos derivados do petróleo sobre o meio ambiente (UDAETA et al, 2004).

Neste contexto, o hidrogênio é uma das fontes de energias alternativas com características muito interessantes, porque é uma fonte de energia limpa, cuja queima produz apenas água ao invés do monóxido e dióxido de carbono, um dos principais gases emitidos pela queima do petróleo e um dos responsáveis pelo efeito estufa. Além disso, o hidrogênio pode ser produzido a partir de matéria orgânica renovável (YAMIN et al., 2000).

Além da aplicação como combustível, o gás hidrogênio (H_2) tem sido empregado como reagente na hidrogenação de compostos de baixa massa molecular, sequestrador de oxigênio para prevenir oxidação e corrosão, como combustível de foguetes e outros.

O hidrogênio pode ser produzido quimicamente, eletroquimicamente e pelo processamento de petróleo ou do carvão ou ainda biologicamente através do uso de microrganismos. Dentre os processos citados para a produção de hidrogênio, as reações que utilizam o gás natural ou frações leves do petróleo compreendem 90% do processo de produção atual. Estes métodos industriais consomem combustíveis fósseis, como fonte de energia. Sendo assim, a produção de hidrogênio por processos térmicos e eletroquímicos não é ecologicamente sustentável. Por outro lado, os processos biológicos são operados, à temperatura e pressão ambiente, demandando menos energia. Esses processos não são apenas ecologicamente corretos, mas também podem abrir caminho para a obtenção de energia a partir de recursos renováveis. Além disso, podem ser utilizados, como substrato, vários materiais que são descartados no meio ambiente.

A mandioca é um produto agrícola produzido em todo território brasileiro, sendo que na Região Sul do Brasil encontram-se as principais indústrias de processamento, as quais produzem farinha e fécula de mandioca. Embora o processamento agregue valor a este produto, ele

traz como consequência a produção de resíduos de elevado impacto ambiental. O principal resíduo líquido gerado na produção de farinhas é a água de prensagem da massa da raiz moída, enquanto nas fecularias, o principal resíduo consiste na água de lavagem do amido (WOSIACKI e CEREDA, 2002).

A manipueira, a água de prensagem da raiz, contém todos os constituintes líquidos solúveis da raiz, além de 20 a 40 g.L⁻¹ de carboidratos. Usualmente, a manipueira é descartada em correntes de água ou utilizada para a fertilização de solos. Contudo, seu elevado teor de carboidratos causa o esgotamento do oxigênio necessário aos animais aquáticos, quando esta é descartada em correntes de água, sendo deste modo um fator de preocupação ambiental (WOSIACKI e CEREDA, 2002).

Embora a literatura sobre a produção de hidrogênio por fermentação seja ainda escassa, na maioria dos estudos e projetos em andamento têm-se utilizado a glicose e a sacarose como substratos. Apenas recentemente têm-se realizados estudos utilizando substratos alternativos, como aqueles presentes nos resíduos sólidos e líquidos, tais quais: o resíduo do processamento de feijão (MIZUNO et al., 2000), a água residual de produção de bebidas a partir de arroz (YU et al., 2002), a água residual de processamento do amido (ZHANG et al., 2003); os resíduos de alimentos (HAN e SHIN, 2004), água residuária de indústrias de refrigerantes (PEIXOTO, 2008), resíduos de fábrica de pão (SHIDA, 2008), resíduos de probióticos (SIVARAMAKRISHNA et al., 2009).

A aplicação de tais resíduos justifica-se, uma vez que a produção de hidrogênio por fermentação só será economicamente viável se o substrato for de baixo custo. Além deste fator, a utilização de resíduos permite retirar deste material uma parte significativa de energia que, se indevidamente tratada, produz prejuízos ao ambiente.

O processo de fermentação no tratamento de águas residuárias tem como principais produtos o ácido acético e butírico. Pouco se sabe sobre a conversão desses ácidos a hidrogênio por bactérias de cultura mista e se esta conversão seria vantajosa. Portanto, esse trabalho visa avaliar a utilização de água do processamento de mandioca (manipueira), que possui elevados teores de carboidratos, para através de processos fermentativos, aplicá-los para a produção do hidrogênio. Fazendo com que esta aplicação tenha como vantagem a agregação de valor aos resíduos, diminuição de seu poder poluente e a produção de uma fonte de energia limpa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estabelecer condições para a produção de hidrogênio por fermentação em reator em batelada, utilizando como substrato água resíduária do processamento da mandioca e como inóculo cultura mista de tratamento anaeróbio de efluentes.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a água resíduária do processamento da mandioca, visando adequá-la como substrato para produção de hidrogênio;
- Operar e acompanhar com métodos analíticos um biorreator anaeróbio em batelada visando à produção de hidrogênio por fermentação;
- Quantificar e qualificar o hidrogênio e outros gases por cromatografia gasosa, bem como verificar o consumo de substrato e a formação de produtos, através de relações estequiométricas;
- Quantificar os ácidos orgânicos produzidos como sub-produtos da produção de hidrogênio.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Resíduos Agroindustriais

O Estado de Santa Catarina tem tradição no setor mandioqueiro e conta com um parque industrial bem estruturado, considerado um dos maiores do País: 600 indústrias de Farinha (capacidade nominal de 25 ton/dia), 21 fecularias (capacidade nominal de 242 ton/dia) e 41 indústrias de polvilho (capacidade nominal de 19 ton/dia) (MARCON, 2004). Os resíduos do processamento da mandioca têm sido relacionados com graves problemas de contaminação ambiental (CEREDA, 2001).

Segundo Abarca (1999) citado por Israel (2005) a sociedade deve valorizar mais a contribuição da atividade agroindustrial na produção de alimentos. Já que para a maioria é desconhecida a complexidade dos processos tecnológicos existentes neste tipo de atividade, bem como o montante de subprodutos poluidores que são gerados e depositados no meio ambiente. A partir dessa problemática, justifica-se cada vez mais, a necessidade de considerar o meio ambiente a partir de novas formas de atuação no que se refere aos aspectos econômicos por meio de propostas do aproveitamento dos resíduos que resultem em novos produtos.

O aprofundamento na utilização dos recursos potencialmente aproveitáveis, mas que no momento, são tratados como resíduos em uma nítida indicação de desperdício, merece mais que uma simples reflexão, pois no setor agroindustrial não há o reconhecimento pela sociedade como sendo um setor que polui o meio ambiente (SENHORAS, 2004).

Segundo Pandey et al. (2000), houve um crescente interesse na biotransformação de resíduos, tendo em vista, ser um material de baixo custo e altamente renovável. Deste modo, a utilização de resíduos, além de diminuir o impacto sobre o meio ambiente, devido à disposição inadequada, pode ser um fator importante para a produção de subprodutos e diminuição nos custos de produção.

3.2 Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), também conhecida por aipim e macaxeira é uma cultura amplamente difundida por todo

território nacional, sendo um dos principais alimentos de milhões de pessoas de países tropicais, inclusive o Brasil. É cultivada em todo o território brasileiro, com exceção do sul do Rio Grande do Sul, região muito fria para o desenvolvimento desta cultura (KOLICHESKI, 1995).

A cultura da mandioca é explorada em mais de 90 países, devido a significativa função social exercida, principalmente, junto às famílias de menor poder aquisitivo, contribuindo para alimentação de aproximadamente meio bilhão de pessoas em todo o planeta. Sua utilização é feita em duas opções: uma direta, pelo consumo culinário ou de “mesa”; outra, o industrial pelo qual se processa a farinha de mandioca e a extração da fécula (CEREDA, 2001).

O Estado de Santa Catarina apresenta uma estrutura fundiária caracterizada pela predominância de um modelo de agricultura familiar de pequenas propriedades, sendo um dos seis principais estados produtores de alimentos. Nas lavouras e criações apresenta produtividade das mais altas do País. A cultura da mandioca apresenta grande importância social e econômica para Santa Catarina. Segundo dados do IBGE, o Estado conta com 69.490 produtores, 33,4% em propriedades inferiores a 10 hectares. Em termos de importância econômica, a mandiocultura é a 13^o atividade agropecuária do Estado e a 8^o atividade agrícola, com um valor bruto de R\$ 85,5 milhões, considerando-se somente as raízes “in natura”. Atualmente, existem em Santa Catarina cerca de 500 agroindústrias de farinha, 35 polvilheiras e 9 fecularias (PEREZ, 2005).

A fécula ou polvilho doce, o amido da mandioca, é um pó fino, branco, sem cheiro e sem sabor, que produz ligeira crepitação quando comprimido entre os dedos. É um carboidrato obtido da raiz da mandioca devidamente limpas, descascadas, trituradas, desintegradas, purificadas, peneiradas, centrifugadas, concentradas, desidratadas e secadas. É extremamente versátil, e alcança eficiência incomparável em todas as suas aplicações sendo, habitualmente, utilizado como componente nos mais variados segmentos domésticos e industriais, como segue: da indústria papelreira, tendo aplicações ainda na indústria química, têxtil, metalúrgica, plástica, lavanderias, etc (ABAM, 2009).

A importância do cultivo da mandioca no Brasil é indiscutível, tanto como fonte de energia na alimentação humana e animal, quanto como geradora de emprego e de renda. Na Industrialização da mandioca a farinha, a fécula e o polvilho azedo são os principais produtos (CEREDA, 2001). A partir da otimização dos processos produtivos e dos avanços tecnológicos propiciados pela pesquisa científica e

tecnológica, surgiram novas possibilidades de exploração deste produto. Exemplo de novos produtos é a extração de beta-caroteno da folha (ORTEGA, 2003), a utilização do polvilho em “chips” (GRIZZOTO e MENEZES, 2004), entre outros.

Entretanto, apesar de todos os avanços mencionados, ainda há questões extremamente importantes a serem resolvidas, principalmente no que tange ao uso sustentável da água durante o processamento desta raiz.

3.2.1 Processamento da Mandioca

No Brasil, as indústrias de mandioca são conhecidas pela obtenção de produtos amiláceos. Nas casas de farinha, a mandioca é transformada em farinha e, nas fecularias extraem da mandioca a fécula e o amido. A partir da fécula, pode-se obter ainda, por fermentação, o polvilho azedo.

O processo de produção do amido ou fécula, esquematizado na Figura 1, consiste no recebimento das raízes, sua lavagem, descascamento, picagem e/ou ralação, prensagem, tamização da massa sob água corrente. O bagaço é eliminado e a fécula é arrastada pela água e separada desta por decantação em tanques ou planos inclinados ou, nas indústrias mais equipadas, por centrifugação. A fécula obtida é secada em secadores de túnel, ou flash-dryer (LEONEL e CEREDA, 2000; BALAGOPALAN, 2002)

No diagrama da produção de fécula de mandioca, representado na Figura 1, pode-se verificar que dois tipos diferentes de águas são gerados durante o processamento da mandioca até fécula. A primeira água é proveniente da lavagem das raízes de mandioca, a segunda, que é a manipeira ou água vegetal, é a água utilizada na extração e prensagem da massa ralada da mandioca na confecção da fécula. No caso de utilização da fécula para a produção de polvilho azedo é adicionado o terceiro tipo de água, a água de fermentação, onde um volume de água adicional é utilizado para a fermentação da fécula até polvilho como mostrado na Figura 1.

Outro produto típico da mandioca é a farinha de mandioca. O esquema de sua produção encontra-se apresentado na Figura 2. Neste processamento a mandioca é apenas descascada, triturada, prensada e secada. A água de prensa das raízes de mandioca é considerada, neste caso, a manipeira de farinha.

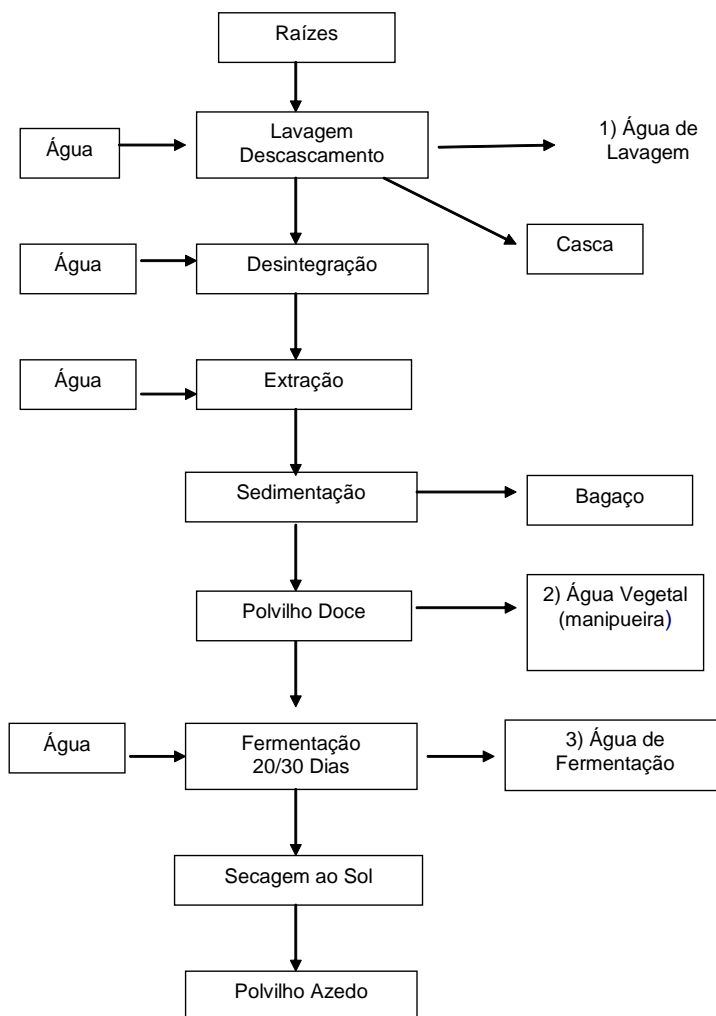


Figura 1 - Fluxograma do processamento da mandioca a polvilho azedo e as diferentes águas residuárias geradas (LIMA, 2001)

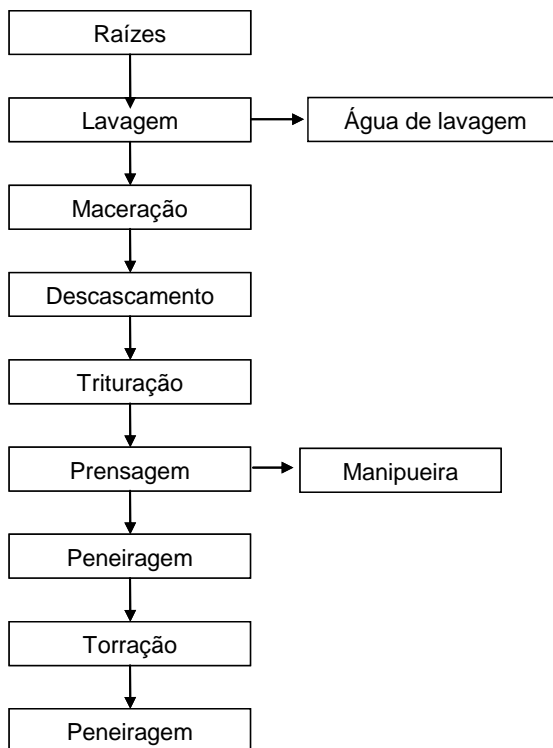


Figura 2 - Fluxograma do processamento da fécula de mandioca (LIMA, 2001)

3.2.2 Águas residuárias do processamento da mandioca

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

Na fabricação de fécula ou amido de mandioca, a quantidade total de água utilizada é cerca de $7 \text{ m}^3/\text{t}$ de raiz processada. A água proveniente da lavagem da mandioca contribui com cerca de $2,62 \text{ m}^3/\text{t}$, sendo o restante da água proveniente da prensagem e lavagem do amido, resultando na manipueira propriamente dita ou água vegetal, conforme a

Figura 1.

Em termos de concentração de matéria orgânica indicada pela concentração da demanda química de oxigênio (DQO), a concentração da manipueira de fecularia, levando-se em conta a água de lavagem e a água vegetal é em torno de 6000 a 8000 mg/L (CARDOSO, 2005).

Já na manipueira de farinha, obtida conforme a Figura 2, a concentração da manipueira em termos de DQO são maiores, em torno de 20000mg/L, três vezes maior do que a manipueira proveniente do processamento da mandioca a fécula.

A água de lavagem é proveniente dos lavadores e descascadores e carrega em suspensão a terra e as cascas que podem ser separados por decantação ou peneiramento. Esta água possui uma baixa carga orgânica, o que a qualifica para a sua re-utilização após tratamento relativamente simples, como por exemplo, a filtração, sem necessidade de tratamento biológico prévio. Já a manipueira, tanto da produção da fécula, quanto de farinha, possui na sua composição, basicamente a constituição da raiz da mandioca. A composição da manipueira, segundo Cereda (2001), está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores médios para a caracterização de resíduos líquidos da industrialização da mandioca

<i>Componentes</i>	<i>Manipueira de farinha</i>	<i>Manipueira de fecularia</i>
Água (% m/v)	92,77	91,53
Proteína	1,22	0,97
Amido (% m/v)	9,42	6,12
Mat. Graxa (% m/v)	0,50	0,11
Cinzas (% m/v)	0,54	0,08
Fibras (% m/v)	0,30	0,10
pH	4,10	4,10
Acidez*	3,27	2,70
HCN (mg/L)	463,76	80,00

* mL NaOH/100g

Fonte: CEREDA (2001)

Esta água residuária a manipueira, possui a maioria dos compostos solúveis, incluindo a linamarina, que é o β -glicosídeo de

acetonacianidrina, responsável pela liberação de cianeto nas águas residuárias. O teor de cianeto total no líquido é muito variável, dependendo da variedade da mandioca, mas fica em torno de 364 mg/L em manipueira de farinha, com 50 % de cianeto livre.

Os cianoglicosídeos distribuem-se por toda a planta, porém a concentração varia substancialmente entre as variedades e, em menor escala, em função das condições ambientais, do estado fisiológico das plantas e dos métodos de cultivo empregados (BOLHUIS, 1954; BRUIJN, 1971).

Existem no Brasil, mais de oitenta espécies de mandioca. Carvalho (1992) classifica as variedades de acordo com o teor cianogênico, e divide em duas grandes classes: a amarga ou brava (*muito tóxica*) com alto teor cianogênico (mais de 100 mg/kg de polpa crua) e a doce ou mansa (*atóxica, inócua*), também chamada de aipim ou macaxeira com baixa toxidez (menos de 50mg de HCN/kg, de polpa crua). Aquela com concentração de HCN de 50 a 100 mg/kg é classificada como *moderadamente tóxica*. Atualmente, a classificação das variedades de mandioca referem-se aos valores adotados na inalação do ácido cianídrico em estado gasoso ou na ingestão do íon cianeto na forma de sal, como por exemplo, o cianeto de potássio (KCN)(CAGNON et al., 2002).

A toxicidade da mandioca e de seus derivados é medida pela quantidade de ácido cianídrico total (livre e combinado) que determinada amostra é capaz de liberar. Vários fatores interferem na melhor compreensão dos dados da literatura sobre esse assunto. De um lado, a falta de padronização quanto à determinação da concentração do HCN (amostragem e métodos de análise, principalmente) e as variações em função da parte da planta analisada e do ambiente onde foi cultivada. De outro, as dificuldades de avaliar o HCN residual nos inúmeros derivados da mandioca e de determinar a extensão de sua ação direta ou indireta pelos organismos que ingerem essa substância (LORENZI et al., 1993). Os processos industriais mais complexos utilizados na produção de farinha, fécula, etc., eliminam maiores quantidades de HCN; esses produtos, portanto, oferecem menores riscos de intoxicação (LORENZI et al., 1993).

Conseqüentemente, a manipueira caracteriza-se por conter elevada carga orgânica solúvel (DQO) e alguns sólidos insolúveis ou em suspensão, além da presença de glicosídeo hidrolisável a cianeto que apesar da pequena quantidade levando-se em consideração a diluição, permanece nesta água na forma de ácido cianídrico aumentando o seu

potencial poluidor (CEREDA, 2001).

Todas as águas geradas durante o processamento da mandioca, nas pequenas indústrias, são normalmente descartadas para o meio ambiente, muitas vezes, sem o devido tratamento. Além do aspecto de agressão ao meio ambiente, deve ser considerado também que o despejo indevido dos sub-produtos de mandioca constitui em perda de rendimentos para o produtor, quando se consideram as quantidades e composição das águas geradas na produção (CEREDA, 2001).

Desta maneira, atualmente, a manipueira tem sido vista como um subproduto passível de ser aproveitado em outras atividades. No espectro de opções para o seu aproveitamento encontra-se a produção de biomassa lipídica, ácido cítrico e aromas pela utilização da manipueira como fonte de carbono em processos fermentativos (CEREDA, 2001).

A respeito dos tratamentos utilizados para esta água residuária, encontram-se trabalhos relatando a produção de biogás pelo seu tratamento anaeróbio (PATINO, 2001; SILLER e WINTER, 1998) e também a possibilidade de tratamento aeróbio em sistemas de lodos ativados (OLIVEIRA et al., 2001).

Barana e Cereda (2000) utilizaram um biodigestor anaeróbio de duas fases, obtendo-se uma eficiência de 80,9%, com carga orgânica de 0,33g DQO/L.d. Ribas e Barana (2003), também, utilizaram com sucesso para a remoção de 71% de DBO da manipueira, um reator anaeróbio, aplicando-se cargas de 0,86g DQO/L.d.

Máxima taxa de carregamento orgânico (OLR) aplicada foi de 11,8 g DQO / L .d sem diluição das águas residuais. Em estado estacionário o máximo OLR aplicada, 87% do DQO foi removida e produtividade de gás de 3,7 L / L d foi alcançada. O rendimento médio do biogás foi de 0,36 L / g DQO removida. Teor de metano no biogás foi na faixa de 69-81%. (COLIN et al., 2007).

Alguns trabalhos no Brasil já estudam a fertirrigação, entretanto, esta alternativa não gera lucro direto para o produtor, além de não haver controle sobre a possível contaminação de águas subterrâneas a médio e longo prazo (FIORETTO, 2001) Já em Santa Catarina, conforme Cardoso, (2005), a prática da fertirrigação, colocada como uma alternativa viável para a utilização das águas deste processamento em algumas regiões do país, é dificultada na região Sul do Estado, pela textura arenosa do solo e da proximidade do lençol freático sendo este facilmente contaminado.

Portanto, a elevada geração de águas residuárias no processamento da mandioca, especialmente na produção de fécula,

continua sem uma solução tecnológica e economicamente viável. Por este motivo o estudo de alternativas do seu uso e/ou efetivo tratamento ainda se justifica.

3.3 Digestão anaeróbia da matéria orgânica

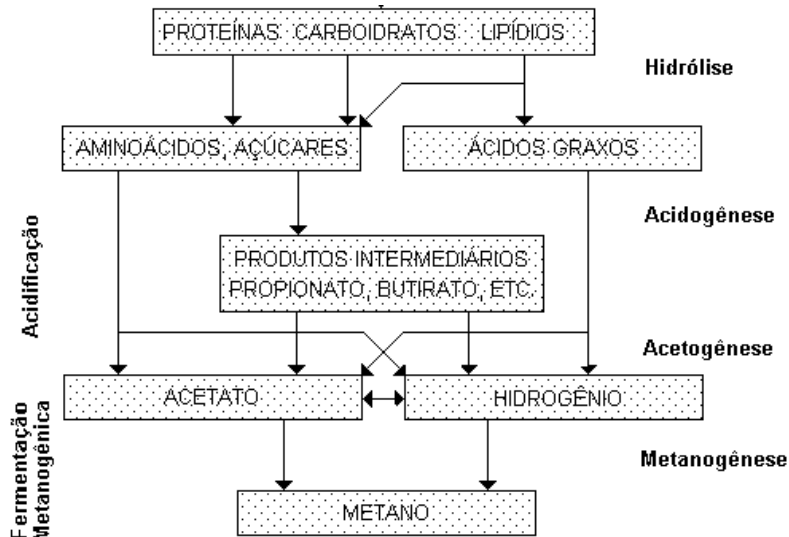
A digestão anaeróbia exige um controle rigoroso das condições ambientais, uma vez que o processo requer uma interação das bactérias fermentativas e metanogênicas. Dessa forma, o sucesso do processo depende de um equilíbrio delicado do sistema ecológico. Atenção especial deve ser dispensada às bactérias metanogênicas, consideradas as mais vulneráveis às mudanças das condições ambientais (CHERNICHARO, 1997).

O processo da degradação anaeróbia de material orgânico, também conhecido como digestão anaeróbia é desenvolvido por uma seqüência de reações realizadas por uma gama grande de bactérias, no qual pode-se distinguir quatro fases distintas e subsequentes: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme serão descritas mais adiante. Tem-se, então, uma cadeia sucessiva de reações bioquímicas, onde inicialmente acontece a hidrólise ou quebra das moléculas de proteínas, lipídios e carboidratos até a formação dos produtos finais, essencialmente gás metano e dióxido de carbono (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

A decomposição anaeróbia é um processo biológico envolvendo diversos tipos de microrganismos, na ausência do oxigênio molecular, com cada grupo realizando uma etapa específica, na transformação de compostos orgânicos complexos em produtos simples, como os já citados metano e gás carbônico. Um sistema de tratamento anaeróbio tenderá a desenvolver uma população bacteriana compatível com a natureza do material orgânico e das cargas orgânicas e hidráulica.

Na decomposição bioquímica da matéria orgânica presente no esgoto, uma larga variedade de bactérias saprófitas hidrolizam e convertem o material complexo em compostos de menor massa molecular. Entre os compostos de menor massa molecular formados os principais são os ácidos orgânicos de menor cadeia tais como o acético, o propiônico, o butírico, que aparecem misturados a outros componentes importantes. Ácidos voláteis são formados tão imediatamente como durante a degradação anaeróbia de carboidratos, proteínas e gorduras. A Figura 3 mostra uma representação esquemática das etapas que

compõem a digestão anaeróbia de material orgânico, presente em águas residuárias (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994):



Fonte: Gujer & Zehnder, (1983) citado por Van Haandel & Lettinga, (1994).

Figura 3 - Processos na Digestão Anaeróbia de macromoléculas complexas

Hidrólise

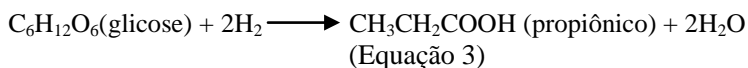
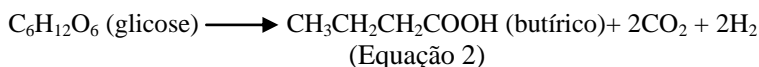
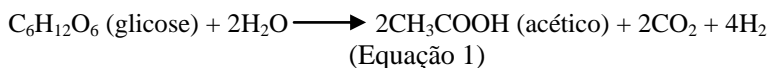
O processo de degradação da matéria orgânica inicia-se com a hidrólise do material presente no efluente a compostos mais simples, que possam ser assimilados pelos microrganismos. Normalmente os compostos orgânicos complexos (polímeros orgânicos) são transformados em monômeros, como açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, etc. Nesse processo também ocorre a transformação do material orgânico particulado em compostos dissolvidos de menor massa molecular. O processo requer a interferência das chamadas exoenzimas que são excretadas pelas bactérias. As proteínas são degradadas através de atividade de proteases e (poli)peptidases para formarem aminoácidos, os carboidratos (polissacarídios) são hidrolisados em monossacarídios; enquanto os lipídios se transformam em ácidos graxos de cadeia longa e glicerina.

De acordo com Lema (1997), na degradação de muitos compostos

poliméricos há possibilidades da etapa hidrolítica ser mais lenta que as demais etapas, sendo esta a limitante do processo.

Acidogênese

Os compostos solúveis gerados no processo de hidrólise são consumidos pelas bactérias fermentativas e, após a acidogênese, excretados como substâncias orgânicas simples como ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois, ácido láctico e compostos minerais como CO₂, H₂, NH₃, H₂S, etc. A fermentação acidogênica é realizada por um grupo diversificado de bactérias, das quais a maioria é anaeróbia obrigatória. Entretanto, algumas espécies são facultativas e podem metabolizar o material orgânico pela via oxidativa. Isto é importante nos sistemas de tratamento anaeróbio de resíduos, porque o oxigênio dissolvido eventualmente presente poderia se tornar uma substância tóxica, se não fosse removido pela acidogênese facultativa (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). A hidrólise do material orgânico, como glicose, realizada pelas bactérias acidogênicas, de mais rápido crescimento, geram os ácidos acético, butírico e propiônico, de acordo com as reações representadas nas Equações 1, 2 e 3.

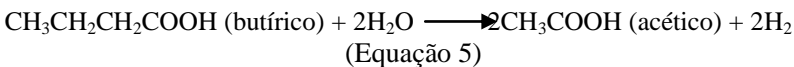
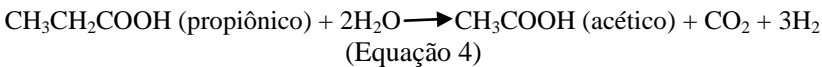


Segundo Vazoller (1999), as espécies microbianas envolvidas na hidrólise e acidificação de um determinado tipo de efluente são: *Clostrídios*, *Acetivibrio cellulolyticus*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyriovibrio fibrisolvens*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Bacillus sp.*, *Selenomonas sp.*, *Megasphaera sp.*, *Lachnospira multiparus*, *Peptococcus anerobicus*, *Bifidobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*

Acetogênese

A acetogênese é a conversão dos produtos da acidogênese em compostos que formam os substratos para a produção de metano: acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Dependendo do estado de oxidação do material orgânico a ser digerido, a formação de ácido acético pode ser acompanhada pelo surgimento de dióxido de carbono ou hidrogênio (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

De todos os produtos formados na etapa acidogênica somente o acetato, o CO_2 e o hidrogênio podem ser assimilados pelas bactérias metanogênicas. Os ácidos butíricos e propiônicos produzidos da etapa de acidogênese são convertidos em ácido acético, por meio das bactérias acetogênicas, de acordo com as Equações 4 e 5.



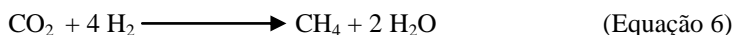
De acordo com as pesquisas realizadas por Breure (1984), a distribuição dos ácidos orgânicos voláteis dependerá principalmente da natureza do substrato e das condições a que os microrganismos estão sendo expostos, com isto a etapa de acetogênese pode ser mais ou menos intensa no processo de degradação do substrato.

Na degradação de efluentes complexos, como carboidratos, a maior fração do metano formado resulta do acetato como precursor direto. Cerca de 20% da produção do metano do sistema tem como precursor o propionato, que durante o metabolismo é convertido a acetato e hidrogênio (SPEECE, 1995).

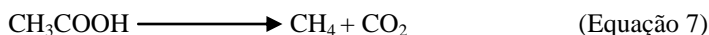
Metanogênese

O processo de degradação do substrato é finalizado por esta etapa, que consiste na transformação dos produtos formados anteriormente em metano e dióxido de carbono. A formação do metano é executada por dois mecanismos distintos. O primeiro consiste da formação do metano a partir do CO_2 e H_2 , pelo grupo de bactérias

hidrogenotróficas, também conhecida como metanogênese hidrogenotrófica, de acordo com a Equação 6.



O segundo mecanismo consiste da produção do metano a partir do acetato, realizada pelo grupo de bactérias acetoclásticas, também conhecida como metanogênese acetoclástica (SPEECE, 1995), de acordo com a Equação 7.



As bactérias que produzem metano a partir de hidrogênio crescem mais rapidamente que aquelas que usam ácido acético, de modo que as metanogênicas acetotróficas geralmente limitam a velocidade de transformação de material orgânico complexo (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

A metanogênese em geral é o passo que limita a velocidade do processo de digestão, embora a temperatura abaixo dos 20 °C a hidrólise possa se tornar limitante.

3.3.1 Influência do pH sobre a digestão anaeróbia

O efeito do pH se manifesta sob diferentes formas, podendo interferir na atividade enzimática dos microrganismos, alterando a estrutura molecular das enzimas, podendo também alterar o equilíbrio químico de certos compostos, aumentando ou diminuindo a sua toxicidade.

O pH ótimo depende do tipo de microrganismo envolvido no processo. Normalmente os microrganismos tem o seu pH ótimo perto da neutralidade como é o caso das bactérias metanogênicas, com uma faixa em torno de 6,5 a 8,2. Em condições acima ou abaixo desta faixa decresce a velocidade de produção de metano. As bactérias acidogênicas têm um crescimento ótimo na faixa de pH entre 5 e 6, tendo uma tolerância maior a valores mais baixos de pH do que as bactérias metanogênicas (LEMA, 1997).

Em relação as diferenças de pH, segundo Ince (1998) é difícil estabelecer uma única condição favorável para o crescimento simultâneo de metanogênicas e acidogênicas, propondo assim, que estas fiquem

expostas a condições diferentes para que se atinja uma maior eficiência no processo de degradação do substrato.

3.3.2 Influência da temperatura sobre a digestão anaeróbia

De acordo com Sanchez (2001), pesquisas têm registrado a aplicação do processo anaeróbio em diferentes faixas de temperatura. Segundo Lema (1997), estas faixas de temperatura associadas com crescimento microbiano podem ser classificadas como: Faixa psicrófila: entre 0 °C e aproximadamente 20 °C; Faixa mesófila: entre 20 °C e 45 °C; Faixa termófila: entre 45 °C e 70 °C.

Gavala et al. (2006), compararam o desempenho de dois reatores de agitação contínua um a 35°C e outro a 55°C quanto a produção de hidrogênio. O reator termofílico exibiu um maior rendimento do que o mesofílico. A velocidade de produção de hidrogênio específica foi 5 a 10 vezes maior no reator termofílico do que no mesofílico.

Yu et al. (2002), relataram que o rendimento do hidrogênio e a taxa de produção de hidrogênio aumentaram com a temperatura. Sugerindo que a maior temperatura foi benéfica para a produção de biohidrogênio em águas residuárias de vinícolas de arroz (saquê) e que a temperatura ótima para a produção de hidrogênio foi de 55 °C neste estudo.

Zhang e Shen (2005) observaram que a temperatura influencia na produção de hidrogênio. Na faixa de 25 °C a 40 °C ocorrem melhores eficiências do processo, devido a condições próximas do ideal (35 °C) para o funcionamento dos catalisadores bioquímicos. Sendo, a máxima porcentagem obtida de hidrogênio no biogás foi de 42,9% obtida a 40 °C em um reator em batelada de 120mL de volume útil.

3.3.3 Necessidades nutricionais

Dependendo das características do substrato, devem ser adicionados nutrientes aos resíduos para atender às necessidades de desenvolvimento dos microrganismos. O nitrogênio (N) e o fósforo (P) são nutrientes essenciais para o crescimento bacteriano (SPEECE, 1996).

Entre os macro-nutrientes, o nitrogênio desempenha um papel particularmente importante, pois todos os organismos vivos necessitam

dele para formar as suas proteínas; por outro lado, o excesso deste elemento pode provocar toxicidade do substrato pela produção de amoníaco. Para um desenvolvimento equilibrado do processo anaeróbio, a relação carbono/nitrogênio (razão C/N) deverá situar-se entre 15 e 30 (HANSEN et al., 1998).

O potássio (K), o cálcio (Ca), o magnésio (Mg) e o ferro (Fe) são elementos necessários para manter a atividade enzimática do processo e também como constituintes de complexos metálicos. O fósforo deverá estar presente, em uma proporção carbono/fósforo (C/P) de 15/1, onde o processo anaeróbio não seja prejudicado por concentrações elevadas de fósforo, nem sofra uma inibição pela ausência do mesmo. O enxofre é necessário para a síntese de aminoácidos e o fósforo é encontrado nos ácidos nucleicos, fosfolipídicos e ATP. No processo de digestão anaeróbia, o enxofre é ainda menos importante do que o fósforo. A quantidade presente no substrato deve por isso ser limitada, para evitar um desenvolvimento acentuado das bactérias redutoras de sulfato e consequente transformação do enxofre em sulfureto de hidrogênio (OLIVEIRA e NOGUEIRA, 1984).

Um outro fator a ter em conta é o teor de metais pesados e de produtos tóxicos que pode originar a morte de microrganismos metanogênicos. Quando são administrados aos animais doses terapêuticas de antibióticos ou de outros fármacos, os excrementos produzidos durante esse período não devem ser utilizados na digestão anaeróbia. Do mesmo modo, quando as instalações são desinfectadas com produtos químicos muito ativos (por exemplo com lixívia) a água de lavagem não deve ser introduzida. Quantidades excessivas de amoníaco dissolvidas nos excrementos líquidos também podem inibir a fermentação anaeróbia. Torna-se, por isso necessário efetuar uma diluição, principalmente dos produtos com elevado teor de nitrogênio (OLIVEIRA e NOGUEIRA, 1984).

Os nutrientes mais importantes nos efluentes são o nitrogênio e o fósforo. Esse nutrientes estão presentes sob forma de compostos orgânicos (material protéico) e como íons minerais: amônia (NH_4^+) e formas de fosfato (HPO_4^{2-} e H_2PO_4^-). No reator DAFA grande parte do material orgânico é mineralizado, permanecendo somente as formas minerais. Ocasionalmente também traços de compostos nitrogenados oxidados (nitrito, NO_2^- , e nitrato, NO_3^-) podem estar presentes. As concentrações de amônio, nitrato e nitrito, bem como fosfato, podem ser determinadas por métodos espectrofotométricos. A concentração desses nutrientes no efluente varia consideravelmente segundo a origem do

efluente (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

A necessidade nutricional está relacionada com o tipo de microrganismos, estrutura molecular, atuante na degradação do substrato. Em substratos acidificados, por exemplo, a necessidade nutricional será dependente do grupo metanogênio (LEMA, 1997).

3.3.4 Influência de compostos tóxicos

O acúmulo de ácidos voláteis pode ter um efeito desastroso sobre a digestão anaeróbia se a capacidade de tamponação for extrapolada e o pH descer para níveis desfavoráveis. A adição de nutrientes pode inibir o processo anaeróbio. O sistema anaeróbio também pode sofrer inibição por: sais, toxicidade associada ao cátion: Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{+2} . Metais pesados: Cr, Ni, Zn, Co, As, Cianetos, etc. Em particular Cr, Ni, Zn estão associados a problemas de toxicidade no tratamento anaeróbio. Amônia e sulfetos a partir de determinados limites de concentração: amônio livre níveis tóxicos acima de 150mg/L e íon amônia acima de 300mg/L, sulfetos são bastante tóxicos acima de 200mg/L. (RICHTER e AZEVEDO NETTO, 2003).

Gijzen et al. (1999) avaliaram o efeito do cianeto no tratamento anaeróbio de efluente sintético, contendo amido e ácidos graxos voláteis. Um reator UASB, operado com tempo de retenção hidráulica de 12 h, foi ambientado a níveis de CN elevados de 125 mg/L.d. Avaliação de cianeto no efluente demonstrou níveis de eficiência de remoção deste composto entre 91 e 93%. A adição de CN a 5 mg/L.d e posteriores súbitos aumentos no afluente, maiores níveis de CN durante o processo de aclimação resultou em deterioração temporária do reator em termos de produção de metano e conversão de DQO, enquanto níveis de CN no efluente foram temporariamente aumentados. A recuperação da inibição de CN foi observada dentro de 3 a 4 semanas, quando diminuiu novamente os níveis de CN no efluente a níveis inferiores a 10 mg/L. O efeito de inibição do CN sobre a atividade do reator foi mais pronunciada para acetogênicas que para metanogênicas hidrogenotróficas. O aumento das concentrações de CN no reator resultou na inibição da remoção de DQO e produção de gás.

3.4 O Hidrogênio

O hidrogênio é o mais simples e mais comum elemento do Universo. Ele compõe 75% da massa do Universo e 90% de suas moléculas, como a água (H₂O) e as proteínas nos seres vivos. No planeta Terra, compõe aproximadamente 70% da superfície terrestre. No seu estado natural e sob condições ambientes de temperatura e pressão, o hidrogênio é um gás incolor, inodoro, insípido e muito mais leve que o ar. O hidrogênio pode estar no estado líquido, ocupando um espaço 700 vezes menor do que se estivesse em forma de gás. O hidrogênio líquido tem que estar armazenado na temperatura de -253 °C. Acima desta temperatura, o hidrogênio não pode ser liquefeito, mas pode ser armazenado em forma de gás comprimido em cilindros de alta pressão (GOMES NETO, 2005).

O hidrogênio é o elemento químico mais simples que existe. Ele é formado por apenas um próton e um elétron. Seu número atômico é 1, sua massa molar é igual a 1,008 g e seu símbolo químico é H. Encontra-se frequentemente na forma gasosa compondo o gás H₂. O H₂ é incolor e inodoro, densidade (0 °C e 0,1013 MPa): 0,0899 kg/Nm³, ponto de Ebulição: -252,8 °C (na pressão de 0,1013 MPa), inflamável entre as concentrações 4,0% a 75% de H₂ por volume, coeficiente de Difusão: 0,61 cm²/s, 1 g de hidrogênio ocupa o espaço de aproximadamente 11 litros sob pressão atmosférica. A energia contida em 1 kg de hidrogênio equivale a 2,75 kg de gasolina (GOMES NETO, 2005).

Um exemplo do potencial energético do hidrogênio está na fonte de energia do Sol - H₂ compõe 30% da massa solar. É com a energia do hidrogênio que o Sol aquece a Terra, favorecendo a vida em nosso planeta. Como é quimicamente muito ativo, combina-se facilmente a outros elementos. Raramente permanece isolado como um único elemento (H₂), em suspensão ou à parte, estando associado ao petróleo, carvão, água, gás natural, proteínas, entre outros elementos (GOMES NETO, 2005).

As misturas dos gases hidrogênio e oxigênio são inflamáveis, até mesmo explosivos, dependendo da concentração. Quando queimado com oxigênio puro, os únicos sub-produtos são o calor e a água. Quando queimado com ar, constituído por cerca de 68% de nitrogênio e 21% de oxigênio, alguns óxidos de nitrogênio (NO_x) são formados. Assim, a queima de hidrogênio com ar produz menos poluentes atmosféricos que os combustíveis fósseis como o petróleo e o carvão (GOMES NETO, 2005).

A agência espacial dos EUA, a NASA, percebeu estas qualidades do hidrogênio e o utiliza nos seus projetos espaciais para a propulsão dos foguetes, pois estes requerem características não obtidas com outros combustíveis, tais como: o baixo peso, a compactação e a capacidade de grande armazenamento de energia. Quando utilizado em células a combustível, a água que resulta do processo é consumida pelos astronautas (GOMES NETO, 2005).

Atualmente, a maior parte do hidrogênio produzido no mundo é utilizado como matéria-prima na fabricação de produtos como os fertilizantes, na conversão de óleos em margarina, no processo de fabricação de plásticos e no resfriamento de geradores e motores. As pesquisas recentes sobre hidrogênio estão concentradas na geração de energia elétrica, térmica e de água pura através das células a combustível (GOMES NETO, 2005). O hidrogênio é considerado a energia limpa do futuro, pois gera somente água durante sua combustão, apresenta elevada conversão de energia por unidade de massa e pode ser convertido em energia elétrica, energia mecânica ou calor (KONDO et al., 2002).

O hidrogênio não ocorre naturalmente como gás na Terra, mas combinado com outros elementos, tais como oxigênio, carbono e nitrogênio. Para que o hidrogênio possa ser utilizado como fonte energética, ele deve ser separado destes outros elementos e extraído na sua forma molecular, ou seja, hidrogênio gasoso (H_2). Os vários processos de obtenção de hidrogênio incluem eletrólise da água, reforma termocatalítica de compostos orgânicos ricos em hidrogênio e processos biológicos. Entretanto, quase 95% do hidrogênio produzido provêm de reações do gás natural ou frações de óleo com vapor a elevadas temperaturas (reforma a vapor), ou seja, a tecnologia convencional de produção industrial de hidrogênio requer consumo imediato ou indireto de combustíveis fósseis, resultando em emissão de dióxido de carbono (CO_2) e exaustão de combustíveis (LEVIN et al., 2004)

Pesquisas têm sido conduzidas no desenvolvimento de tecnologia de produção limpa de hidrogênio, que dispensa a necessidade de combustíveis fósseis. Logo, o sistema de produção global de hidrogênio, inicialmente baseado em combustíveis fósseis, está mudando progressivamente em direção a fontes renováveis. Os pesquisadores exploram o uso de fontes como luz solar e biomassa para produzir hidrogênio economicamente (MOMIRLAN e VEZIROGLU, 2005).

Há diversos estudos sobre a aplicação de hidrogênio na indústria automobilística na forma de células combustíveis, dispositivos que

convertem diretamente hidrogênio em eletricidade, assim como gerar energia elétrica em residências e indústrias (MOMIRLAN e VEZIROGLU, 2005).

Uma das vantagens do hidrogênio é o fato de ter um coeficiente de difusão bem alto, ou seja, pode se dispersar rapidamente pelo ar e raramente ocorre a sua explosão ao ar livre. Por esta razão, a queima do hidrogênio ocorre mais rapidamente que a da gasolina ou a do metano. O hidrogênio não acumula como ocorre com a gasolina ou GLP (gás de cozinha) e por isso não fica queimando por horas. Alguns estudos experimentais, comparando o querosene (combustível de aviação) com o hidrogênio, sugerem que o fogo em um avião movido a hidrogênio duraria 10 vezes menos, produziria muito menos calor e se espalharia por uma área muito menor, se comparado à bola de fogo causada pelo querosene. Além disso, o hidrogênio não é tóxico e nem corrosivo, e o vazamento durante o seu transporte não causaria uma catástrofe ambiental, como podemos observar toda vez que há vazamento de óleo em navios petroleiros (GOMES NETO, 2005).

Quanto aos cilindros de armazenamento, eles são muito resistentes e projetados para suportarem até 3 vezes a pressão aconselhada, antes que sofram algum dano. Mesmo no caso de impactos, como no caso de acidente com um veículo, os cilindros utilizados são muito resistentes (GOMES NETO, 2005).

A contribuição do hidrogênio no consumo de energia global aumentará aproximadamente 50% ao final do século 21, devido ao desenvolvimento de eficientes tecnologias de uso final, tornando o hidrogênio o principal abastecedor de energia. Entretanto, para este fim, será necessário que o hidrogênio seja produzido de maneira renovável e em larga escala (HE et al., 2006).

3.4.1 A produção fermentativa de hidrogênio

Processos de produção biológica do hidrogênio são considerados ambientalmente corretos quando comparados aos processos termoquímicos e eletroquímicos. Processos biológicos são, geralmente, controlados por organismos fotossintetizantes ou fermentativos e operados a temperatura e pressão ambientes, requerendo menores quantidades de energia. Além disso, a produção biológica de hidrogênio não somente leva a novo caminho para utilização de recursos como também facilita o tratamento de águas residuárias, uma vez que pode

utilizar ampla variedade de resíduos como fonte de carbono e energia (DAS e VEZIROGLU, 2001).

Ao contrário da produção por organismos fotossintetizantes, a produção de biohidrogênio por fermentação tem recebido pouca atenção. No entanto, a produção de hidrogênio por fermentação tem várias vantagens sobre a fotobioquímica, como por exemplo, a fermentação tem elevada velocidade de produção de hidrogênio, pode-se produzir hidrogênio constantemente independentemente de luz, a partir de substratos orgânicos renováveis e os microrganismos envolvidos tem elevada velocidade de crescimento.

A produção de hidrogênio por fermentação ocorre porque alguns organismos heterotróficos, anaeróbios facultativos, quando crescendo em condições anaeróbias, são capazes de promover a oxidação de compostos orgânicos, dos quais retiram elétrons, transferindo-os para coenzimas oxidadas. Contudo, a medida que este processo metabólico ocorre, as coenzimas oxidadas, vão se esgotando. Sendo assim, estas células devem dar um destino a estes elétrons, sob pena de ter suas reações metabólicas de produção de energia cessadas. Muitos destes organismos são capazes de desviar o excesso de elétrons para a produção de hidrogênio molecular, através da atividade de hidrogenases (DAS e VEZIROGLU, 2001).

Microbiologia da produção de biohidrogênio

Embora se tenha observado a liberação de hidrogênio, a partir da degradação anaeróbia de compostos orgânicos contidos em águas residuais (Ueno et al., 1996) ou em resíduos sólidos (Mizuno et al., 2000) produzido por culturas mistas, a maioria dos estudos sobre a produção microbiana de hidrogênio tem utilizado culturas puras, nativas ou geneticamente modificadas (EVYERNIE et al., 2000, 2001; FABIANO e PEREGO, 2002).

Diferentes espécies microbianas podem participar na produção biológica de hidrogênio, tais como, cianobactérias, bactérias fotossintetizantes e bactérias fermentadoras. Dentre as bactérias fermentadoras destacam-se *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Magashaera elsdenii*, *Citrobacter intermedius*, *Escherichia coli* (HAWKES et al., 2002).

Alguns trabalhos tem mostrado que esporos de *Clostridia* podem

ser selecionados de ambientes naturais através do aquecimento. A pasteurização de lodo ativado e a fervura (a ebulição) de lodo de digestão anaeróbia têm mostrado bons resultados para a preparação do inóculo de partida (*start-up*) para reatores contínuos operados em escala laboratorial, na fermentação de glicose e amido, respectivamente (LAY, 2000). Van Ginkel et al. (2001), obtiveram inóculo para a produção de hidrogênio por fermentação de sacarose, através do tratamento de solo de campos de cultivo de soja e feijão. Nesse caso, uma fase lag de 50 horas precedeu o início de produção de hidrogênio. Assim lodos ativados termicamente tratados podem ser inóculos promissores para a produção de biohidrogênio. Van Ginkel et al. (2005) estudaram a produção de hidrogênio a partir de águas residuárias domésticas e de processamento de alimentos.

Kawagoshi et al. (2005) constataram que o inóculo é um dos fatores determinantes na produção de hidrogênio, pois no estudo realizado por esses autores demonstraram que um mesmo meio, de igual condição nutricional e concentração de substrato, houve variação na produção de hidrogênio de 0,15 mol de H₂/ mol de glicose (lodo ativado) a 1,35 mol de H₂/ mol de glicose (lodo anaeróbio digerido).

Substratos utilizados na produção de biohidrogênio

Para que se processe uma produção sustentável de hidrogênio, através de fermentação, o substrato empregado deve obedecer a alguns critérios. Este substrato deve conter principalmente carboidratos, ser produzido a partir de recursos renováveis, estar em concentração suficiente para que a fermentação e a recuperação da energia sejam energeticamente favoráveis e que, se algum tratamento prévio for necessário, este seja de baixo custo.

Os carboidratos são os substratos preferidos para a produção de hidrogênio por fermentação. A glicose (C₆H₁₂O₆), obtida de polissacarídeos como amido e celulose, rende 4 moles de gás hidrogênio por mol, quando o ácido acético (CH₃COOH) é o subproduto da fermentação, Equação 8.



Metade deste rendimento por mol de glicose é obtida quando o ácido butírico (CH₃CH₂CH₂COOH) é o subproduto formado, Equação 9.



Glicose e sacarose são os substratos mais estudados para a produção biológica de hidrogênio (ZOETEMEYER et al., 1982, CHEN et al., 2001). A partir da fermentação da água residual da indústria, utilizando culturas mistas, como inoculo. A operação contínua de um reator por 200 dias, utilizando água do processamento de indústria açucareira, obteve um rendimento de 2,5 mol de hidrogênio por mol de glicose, (UENO et al., 2001).

Lay (2000) obteve um rendimento de 2,14 mol de H₂ por mol de glicose, a partir de amido solúvel, também utilizando cultura mista. Desta forma, pode-se concluir que os resíduos agroindustriais ricos em carboidratos são extremamente interessantes para a produção de hidrogênio por fermentação.

Peixoto (2008) estudou a produção de hidrogênio a partir da água residuária de indústria de refrigerantes, tendo um bom potencial de produção de hidrogênio. Utilizou dois reatores um com suplemento nutricional e outro sem suplemento nutricional. O maior rendimento foi pelo reator sem a adição do meio contendo nutrientes que foi capaz de atingir 4,2 mol de H₂/mol de substrato em contraste com o reator com a adição do meio que produziu 2,5 mol de H₂/mol de substrato. Shida (2008) estudou a produção de hidrogênio e ácidos orgânicos em um reator anaeróbio de leito fluidificado contendo argila expandida como material suporte. Utilizou um lodo pré-tratado termicamente a 90 °C por 10 minutos para o enriquecimento do inóculo e alimentou o reator com água residual sintética contendo 2000mg/L de glicose. A maior produção de hidrogênio foi de 2,29 mol de H₂/mol de glicose sob um TRH de 2 horas. Chen e Lin (2004) operaram um reator processando sacarose, voltado para produção de hidrogênio sem adaptação do inoculo.

Abreu et al. (2009) estudou a produção de biohidrogênio a partir de arabinose analisando quatro diferentes lodos (inóculos) com diferentes pHs variando de 4,5 a 8,0. Foi utilizado como substrato para todos os experimentos arabinose (30 g/L). Relatando que os lodos podem ser utilizados para uma maior variação de pH sem reduzir a sua capacidade de consumir arabinose e alcançar um maior potencial de produção de hidrogênio.

Doi et al. (2009) realizaram um trabalho com fermentação anaeróbia contínua para produzir hidrogênio. Foi utilizado como substrato os resíduos de uma fábrica de pão fermentado pela microflora

do arroz. Os resultados mostram que a condição adequada para o reator foi temperatura de 35°C, com TRH 12-36 h, o volume de carga de 30-70 g DQO/L. d e produção máxima de hidrogênio de 1,30 mol H₂/mol hexose.

Santos e Santos (2007) relataram o poder calorífico de diferentes combustíveis. Como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Poder calorífico de diferentes combustíveis

Combustível	Valor do Poder Calorífico (a 25°C e 1 atm)
Hidrogênio	119,93 kJ/g a 141,86 kJ/g
Metano	50,02 kJ/g a 55,53 kJ/g
Propano	45,56 kJ/g a 50,36 kJ/g
Gasolina	44,5 kJ/g a 47,5 kJ/g
Gasóleo	42,5 kJ/g a 44,8 kJ/g
Etanol	27,9 kJ/g a 29,4 kJ/g

Fonte: Santos e Santos (2007)

3.4.2 Fatores que influenciam na produção de hidrogênio

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

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

Mu et al., (2006) exploraram o desempenho da produção de hidrogênio em um reator anaeróbio de manta de lodo, variando o pH de 3,4 para 6,3. Os autores verificaram que a pressão parcial do hidrogênio, a velocidade de produção de hidrogênio e o rendimento do hidrogênio foram todos dependentes do pH. Os autores verificaram que o pH ótimo ou mais favorável para a produção de biohidrogênio foi em torno de 4,2.

Cheong e Hansen (2006), investigaram a influência do pH na produção do hidrogênio, mostrando que a maior produção de hidrogênio foi a pH 5,7.

Chen e Lin (2004) operaram um reator processando sacarose para produzir hidrogênio, sem adaptação do inóculo, portanto com presença de bactérias consumidoras de hidrogênio. No entanto, com a diminuição do TRH de 20 para 2,5 d, chegando a 6h, os autores conseguiram selecionar uma cultura denominada *C. pasteurianum*, notadamente uma espécie produtora de hidrogênio.

Zhang e Shen (2005) observaram que a temperatura influencia na produção de hidrogênio. Na faixa de 25 a 40 °C ocorrem as melhores eficiências do processo, principalmente devido a condição próxima do ideal (35 °C) para o funcionamento dos catalisadores bioquímicos. A máxima porcentagem de hidrogênio obtida no biogás foi de 42,9%, obtida a 40 °C em um reator em batelada com 120mL de volume útil.

Lin et al. (2006) submeteram uma cultura acidogênica a um tratamento térmico com quatro temperaturas diferentes. O tratamento térmico a 50 e 60 °C não foi eficiente na restauração do desempenho das bactérias produtoras de hidrogênio. Porém, o tratamento térmico a 70 e 80°C aumentou significativamente o conteúdo de hidrogênio no biogás. Segundo os autores o tratamento térmico a 70 e 80 °C é efetivo na eliminação da competição das bactérias não produtoras de hidrogênio pelo substrato, e possibilitou um rápido reestabelecimento das populações acidogênicas.

Sano et al. (2006) trataram térmicamente um lodo convencional metanogênico variando a temperatura de 60 a 90°C, o tempo de aquecimento de 0 a 60 min e o pH durante o choque térmico, entre 3,3 e 9,6; para avaliar os efeitos dessas condições sobre a produção de hidrogênio. Os experimentos foram conduzidos em batelada a 35°C e alimentado com glicose. Considerando os resultados, foi encontrado um rendimento máximo de hidrogênio e maior seletividade a 70 °C, 30 min e pH 6, pois acima dessa condição de temperatura, as arqueias metanogênicas são destruídas e as acidogênicas são danificadas.

Van Ginkel et al. (2005) concluíram que a concentração de glicose apresenta maior efeito sobre o rendimento de produção de hidrogênio do que o TRH.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Inóculo

O lodo utilizado como inóculo foi proveniente de um reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA) do tratamento anaeróbio de efluentes da suinocultura proveniente da EMBRAPA Suínos e Aves, localizada em Concórdia/ SC. Para caracterização do inóculo foram feitas as análises de determinação dos sólidos totais e sólidos totais voláteis, conforme descrito do item 4.4.1. O biorreator foi inoculado com 2 litros de lodo, contendo 22,5 g/L de ST.

4.2 Processamento da mandioca para obtenção de água residuária (manipueira) sob condições laboratoriais.

Para a produção de água residuária do processamento da mandioca (manipueira) as raízes foram descascadas, lavadas e cortadas em pedaços pequenos. Foi liquidificado com água, na medida de 1Kg de mandioca cortada e 1L de água. Foi filtrado e sedimentado por aproximadamente 24 h. Após sedimentação o sobrenadante foi retirado, homogeneizado e armazenado em frascos de 500 mL, posteriormente armazenados em freezer a - 15 °C . No dia da utilização da manipueira, esta era descongelada, caracterizada quanto a concentração de DQO e diluída se necessário.

Para a caracterização da manipueira foram feitas análises diárias de DQO, pH e acidez, conforme descrito nos itens 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, respectivamente. As análises de sólidos totais e sólidos totais voláteis foram feitas periodicamente, conforme descrito no item 4.4.1. A análise de Cianeto foi feita algumas vezes durante os 110 dias do experimento, conforme descrito no item 4.4.10.

4.3 Montagem e Operação dos reatores

Foi utilizado um reator de vidro com um volume útil de 2L sendo externamente envolvido por um cilindro de acrílico com uma diferença de 4 cm no diâmetro em relação ao biorreator. A diferença entre os diâmetros dos cilindros externo e interno constituiu uma camisa de troca

térmica, permitindo a circulação da água de aquecimento, conforme representado na Figura 4 . A tampa do biorreator possuía perfurações onde foram acopladas 3 tubulações: entrada do meio de alimentação, saída de meio e saída de gás. A tubulação de saída de gás era acoplada a um sistema de medida de gás, constituído de frasco invertido, contendo solução de hidróxido de sódio a 5% (p/v), e proveta para medida do volume de soda a ser deslocado pelo gás produzido.

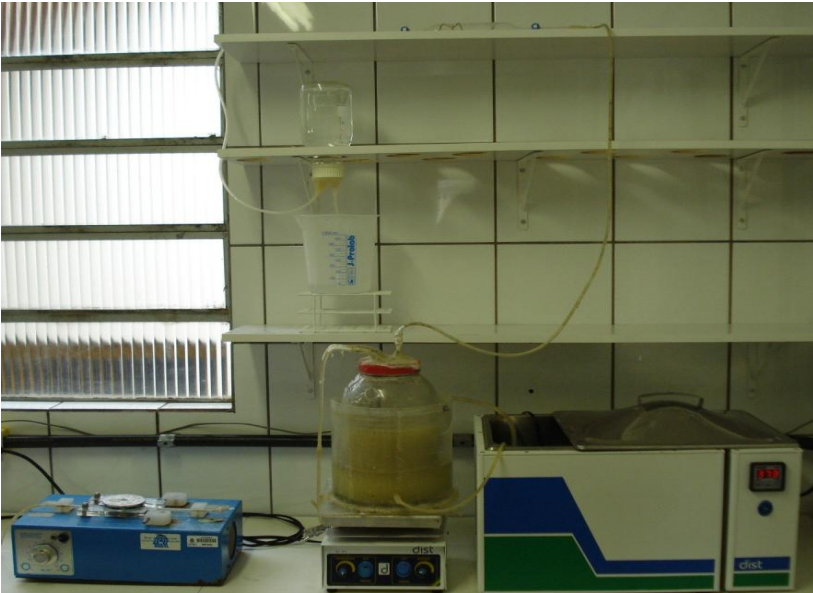


Figura 4 - Biorreator em batelada para a produção de hidrogênio por fermentação

O biorreator utilizado foi do tipo ASBR (“Anaerobic Sequential Batch Reactor”). Primeiramente era desligada a agitação e aguardado, aproximadamente 1 h, para ocorrer a sedimentação do lodo. A seguir, era retirado 1L do sobrenadante do reator conectando a mangueira de saída à bomba peristáltica (no sentido inverso ao de alimentação). Antes de iniciar a alimentação, a saída de gases era fechada. Após, dava-se início à alimentação de 1L de manípueira de forma ininterrupta, em um período de aproximadamente 40 minutos. Esse procedimento foi realizado uma vez ao dia. O tempo de retenção hidráulica do reator foi de 2 dias, considerando-se a Equação 10.

$$TRH = \frac{V_R}{Q} \quad (\text{Equação 10})$$

onde: TRH = tempo de retenção hidráulica (d)

V_R = volume útil do reator (2 L)

Q = volume retirado por dia (1 L.d⁻¹)

Através das concentrações de entrada de DQO no biorreator, foi possível calcular a carga aplicada de DQO (mg/L.d). Para o cálculo da carga foi considerada a Equação 11.

$$C \text{ arg } a = \frac{C}{TRH} \quad \text{ou} \quad C \text{ arg } a = C * D \quad (\text{Equação 11})$$

$$D = \frac{Q}{V_R}$$

onde: C = concentração de matéria orgânica na alimentação (mg/L)

D = vazão específica de alimentação (d⁻¹)

Q = vazão (L/d)

V_R = volume útil do reator (2 L)

Diariamente eram feitas as análises para acompanhamento do biorreator: DQO, pH e acidez da manipueira e do efluente do biorreator. Estas análises foram realizadas, conforme descrito nos itens 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, respectivamente.

O pH inicial da manipueira, utilizada para alimentar o reator, foi ajustado, quando necessário, para 7,0, pela adição de solução de NaOH 1%.

A temperatura do biorreator foi mantida em 35°C através da circulação de água aquecida na camisa do biorreator, sendo esta monitorada por leitura em termômetro.

A partir do 71º dia de operação do reator a manipueira foi enriquecida pela adição de macro e micronutrientes (Tabela 3) e 2 mL da solução de oligoelementos (Tabela 4), composição proposta por Chin et al. (2003) adaptado de Fang e Liu (2002),

Tabela 3 - Composição do meio sintético

Componentes	Quantidade para 1L	Quantidade adicionada no biorreator por dia
K_2HPO_4	1000mg	2000mg
KH_2PO_4	500mg	1000mg
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	100mg	200mg
Na_2HPO_4	600mg	1200mg
NH_4Cl	1750mg	3500mg

Fonte: Chin et al. (2003) adaptado NH_4Cl para Fang e Liu (2002)

Tabela 4 - Composição da solução de oligoelementos

Componentes	
$SO_4 \cdot 7H_2O$	10000mg
$iCl_2 \cdot 2H_2O$	2000mg
$SO_4 \cdot 7H_2O$	2200mg
$iSO_4 \cdot 4H_2O$	500mg
$SO_4 \cdot 5H_2O$	1000mg
$Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	100mg
$B_4O_7 \cdot 10H_2O$	20mg

Fonte: Fonseca (2003)

4.4 Métodos Analíticos

4.4.1 Determinação dos Sólidos Totais e Sólidos Totais Voláteis no Lodo

A metodologia utilizada para a determinação dos Sólidos Totais e Sólidos Totais Voláteis foi conforme procedimento do *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (1995). A análise

foi feita em triplicata. Antes de adicionar a amostra, os cadinhos foram calcinados na mufla a 550 °C por 15 min. e colocados no dessecador para resfriar, sendo em seguida pesados (P1). Após a adição de 10 mL de amostra aos cadinhos, estes foram colocados em estufa à temperatura de 105°C por 24h. Após este período foram colocados em dessecador e pesados novamente (P2). Em seguida, estes cadinhos foram colocados na mufla a temperatura de 600°C por 45min, sendo retirados e colocados em dessecador para resfriar. Os cadinhos foram pesados novamente após a calcinação (P3). A diferença entre os pesos 1 e 2, resultou nos sólidos totais (ST). A concentração de sólidos totais voláteis (STV) foi obtida pela diferença entre P2 e P3.

4.4.2 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A metodologia utilizada para determinação de DQO foi conforme procedimento descrito no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (1995). O procedimento é baseado no refluxo fechado por digestão ácida na presença de dicromato de potássio com 2,5 mL de amostra filtrada, realizada em um digestor a 150°C por duas horas. A quantificação foi alcançada por método colorimétrico em função do dicromato consumido pela oxidação da matéria orgânica. Foram colocados em tubos apropriados 2,5mL de amostra, 3,5mL de solução de H₂SO₄ e 1,5mL de solução digestora permanecendo por 2h a 150°C, sendo efetuada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Hitachi U-1800), a 600nm após resfriamento. A concentração de DQO foi determinada a partir de uma curva padrão obtida com solução de biftalato de potássio.

As soluções utilizadas foram:

- Ácido sulfúrico reagente: foi adicionado a um frasco de 1L de H₂SO₄ concentrado 10,12g gramas de AgSO₄, deixando em repouso por 1 a 2 dias para dissolver o AgSO₄.

- Solução Digestora: foram adicionados a 500mL de água destilada 10,216g de K₂Cr₂O₇ previamente seco a 103°C por 2h, colocou-se 167mL de H₂SO₄ concentrado e 33,3g de AgSO₄. Dissolveu-se, resfriou-se a temperatura ambiente, após diluiu-se para 1L.

4.4.3 Determinação do pH

A determinação do pH foi feita pelo pHmetro digital QUMIS Q-400A. O pHmetro foi calibrado diariamente com soluções tampão de pH 4,0 e de pH 7,0. Após calibrado o pHmetro fez-se a leitura do pH das amostras.

4.4.4 Determinação da Acidez Titulável

A determinação da acidez foi conforme procedimento de titulação do Instituto Adolfo Lutz (1985). Dez mililitros da amostra (10 mL) em erlemeyer de 125 ml adicionando-se 40 mL de água, 3 gotas do indicador fenolftaleína e titulou com solução de NaOH 0,1N até coloração rósea. A acidez foi determinada em mEq/100 mL de amostra, de acordo com a equação 12:

$$Acidez = \frac{V \cdot N \cdot f}{A} \quad (\text{Equação 12})$$

Onde: V = volume de NaOH gasto na titulação (mL)

N = normalidade da solução de NaOH

f = fator de correção da solução NaOH

A = volume da amostra (mL)

4.4.5 Determinação dos Ácidos Orgânicos

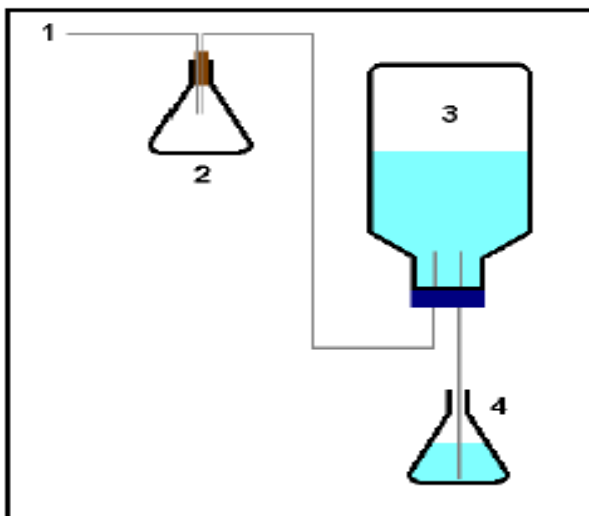
A determinação dos ácidos orgânicos, acético, láctico e propiônico foi feita através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com metodologia descrita por Zotou et al. (2004). As amostras foram filtradas em papel filtro qualitativo, procedendo-se a adição de 20 mL de ácido sulfúrico 4,5mmol/L a 10 mL da amostra. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 6000 RPM por 15 min., sendo o pH do sobrenadante ajustado para 8,0. Após esta etapa procedeu-se uma filtração a vácuo do sobrenadante em membrana de acetato-celulose 0,45 µm. O filtrado obtido foi aplicado a um cartucho de extração em estado sólido (SPE quaternary amino N+, de 500mg/6mL – marca Applied Separations), previamente condicionado com metanol (10 mL), seguido de lavagem com água ultra pura (10mL). Ao cartucho condicionado aplicou-se 1 mL da amostra, lavando-se a coluna com a

amostra, primeiramente com 10 mL de água ultra pura, seguida de eluição com 5mL de HCl 1N. Vinte microlitros (20 μ L) desta amostra foi injetada no cromatógrafo.

O equipamento utilizado foi um cromatógrafo de alta eficiência da marca Gilson modelo 712 com coluna C_{18} de fase reversa marca Hichrom (150 x 4.5 mm), com fluxo de fase móvel isocrático e detecção em UV a 230 nm com detector marca Gilson modelo 118. A fase móvel foi constituída por solução de KH_2PO_4 0,02 mol/L e 2% de metanol com pH 2,8 ajustado com ácido fosfórico. A vazão utilizada foi de 1mL/min. A identificação dos ácidos foi feita através dos tempos de detenção e espectros de absorção. A quantificação foi realizada por curva de padronização externa com 6 pontos para cada ácido orgânico.

4.4.6 Determinação do volume de biogás

Para quantificação do volume total de biogás produzido no biorreator foi utilizado o sistema de frasco invertido, o qual encontra-se representado na Figura 5.



1-Entrada do biogás, 2-Frasco de segurança, 3- Saída Frasco de Duran, 4- Frasco coletor de soda.

Figura 5 - Gasômetro do tipo frasco invertido

O biogás produzido no biorreator entra no sistema pelo ponto 1 (entrada de biogás), passando pelo ponto 2 (frasco de segurança), que tem o objetivo de proteger o reator de possíveis vazamentos de NaOH 5% do ponto 3 (frasco de Duran invertido). Após passar pelo frasco de segurança o biogás produzido borbulha no frasco de Duran, contendo NaOH 5%. Nesta etapa, o CO₂ presente no biogás reage com a solução de NaOH 5% formando carbonato de sódio e água. O volume dos outros gases gerados deslocam um volume de NaOH 5% para o ponto 4 (coletor de NaOH 5%). Assim, o volume de NaOH 5% deslocado é supostamente a quantidade de biogás produzido no sistema, descontando-se o CO₂ que reagiu com o NaOH 5%. A medida do volume de biogás gerado foi relacionada com o volume de NaOH 5% deslocado no ponto 4. A correção do volume de biogás gerado nas condições experimentais foi realizada, segundo a Equação 13.

$$V = \frac{(P_{atm} - \rho.H.g).V_{exp}.T}{P_{atm}.T_{exp}} \quad (\text{Equação 13})$$

Sendo:

V= volume de biogás seco na CNTP;

P_{atm}= pressão atmosférica;

ρ= densidade da soda cáustica 5%;

H= é a diferença entre os níveis do frasco de Duran até o frasco coletor;

g= aceleração da gravidade (m/s²);

V_{exp} = volume de NaOH 5 % deslocado (diferença diária entre o volume inicial e final do frasco coletor);

T= temperatura padrão CNTP (273 K);

T_{exp}= temperatura experimental.

4.4.7 Concentração dos gases produzidos no biorreator

A concentração dos gases produzidos no reator foi avaliada experimentalmente por cromatografia gasosa e calculada teoricamente por meio das reações estequiométricas que envolvem a digestão anaeróbia da glicose.

4.4.7.1 Cromatografia gasosa

A determinação dos gases através de cromatografia gasosa (CG) foi realizada de acordo com Han e Shin (2003), modificando-se a temperatura do detector para 100 °C. A concentração dos gases produzidos foi avaliada por meio da retirada de 1 mL de amostra do gás produzido na saída do reator, utilizando-se uma seringa. A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso CG 35 equipado com detector de condutividade térmica (TCD). A coluna utilizada foi a peneira molecular 5A 2m x 4,7mm, sendo o gás de arraste argônio sob vazão de 30mL/min. As temperaturas do injetor, da coluna e do detector foram 80°C, 50°C e 100°C, respectivamente.

4.4.7.2 Cálculos estequiométricos

As equações e os passos seguidos para o cálculo teórico dos gases produzidos no biorreator, nas etapas de operação consideradas como períodos pseudo-estacionários, sem considerar a DQO utilizada para o crescimento celular, foram:

a) Cálculo de massa de DQO consumida por dia

$$m_{DQO} = (ve.Ce) - (vs.Cs) \quad \text{(Equação 14)}$$

Onde:

m_{DQO} = massa de matéria orgânica consumida diariamente (DQO)

ve = volume de alimentação diária do reator (L)

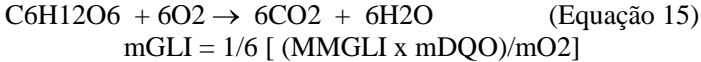
vs = volume de saída do reator (L)

Ce = concentração de matéria orgânica na alimentação (DQO)

Cs = concentração de matéria orgânica na saída do reator (DQO)

b) Conversão de massa de DQO em massa de glicose

Levando-se em consideração que o substrato utilizado no presente trabalho, a maniveira, é uma fonte de carbono essencialmente amilácea, admitiu-se ser a glicose o substrato das reações ocorridas no reator. Uma vez que a glicose não foi experimentalmente analisada, converteu-se a massa de DQO consumida em massa de glicose.



Onde:

mDQO = massa de DQO consumida (mg);

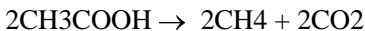
MMGLI = massa molar da glicose (mg);

MO₂ = massa de DQO teórica, para 1 mol de glicose, representada pela massa de oxigênio consumida na Equação 15 (mg);

mGLI = massa de glicose consumida (mg).

c) Conversão da massa de glicose consumida (mGLI) em massa de metano produzido (mCH₄).

Segundo Li e Fang (2007), a produção de hidrogênio a partir da digestão anaeróbia de resíduos agrícolas e efluentes, segue as vias representadas nas equações abaixo, resultando na Equação 16.



Logo

$$mCH_4 = (mGLI \cdot 2MMCH_4) / MMGLI$$

Onde:

mGLI = massa de glicose consumida (mg);

MMCH₄ = massa molar do metano (mg);

MMGLI = massa molar da glicose (mg);

mCH₄ = massa de produção de metano (mg).

d) Transformação da massa de metano em volume de gás pela equação dos gases ideais:

$$P \cdot V_{CH_4} = n \cdot R \cdot T \quad (\text{Equação 17})$$

Onde:

P = pressão (atm);
 V_{CH₄} = volume de metano (L);
 n = número de moles de metano;
 R = constante dos gases ideais (0,082 atm/ mol.K);
 T = temperatura absoluta (25 + 273 K).

e) Cálculo de hidrogênio produzido

Pela diferença entre o volume de gás produzido no estado pseudo-estacionário e o volume de metano calculado pelas equações acima, tem-se o volume de hidrogênio produzido.

$$V \text{ gás total} = V \text{ CH}_4 + V \text{ H}_2 \quad (\text{Equação 18})$$

Onde:

V gás total = volume de gás total gerado no biorreator (mL);
 V_{CH₄} = Volume de metano (mL);
 V_{H₂} = Volume de hidrogênio (mL).

f) Cálculo da composição dos gases gerados, considerando-se que apenas o metano e o hidrogênio compõe o biogás formado, uma vez que o CO₂ ficou retido na solução de NaOH 5 %.

$$\text{metano} = V_{\text{CH}_4} / V_{\text{gás total}} \quad (\text{Equação 19})$$

$$\text{Hidrogênio} = V_{\text{H}_2} / V_{\text{gás total}} \quad (\text{Equação 20})$$

4.4.8 Determinação de amônio

A determinação de amônio foi realizada segundo o método de Nessler, descrito por VOGEL (1981). Preparo do reagente de Nessler: dissolvendo 100g de iodeto de mercúrio (II) e 70g de iodeto de potássio em 100mL de água, adicionando a seguir uma solução fria de 160g de NaOH em 700mL de água destilada, completando o volume final da solução para 1L. O precipitado é deixado decantar por alguns dias antes de utilizar o reagente, o qual deve ser submetido a uma padronização, utilizando uma solução de cloreto de amônio.

Para determinação da concentração de amônio, foram adicionados 100µL do reagente de Nessler para 5mL de amostra e, após

aguardar 10 minutos de reação, foi efetuada a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Hitachi U-1800) a 525nm. Com o valor da absorvância, foi obtida a concentração de amônio a partir da curva padrão.

4.4.9 Determinação de Cianeto

A determinação do Cianeto foi obtida conforme procedimento do Manual da Hach (2000). Colocou-se 10mL da amostra em um tubo de ensaio e adicionou-se o cyaniver 3 agitando por 30 segundos e aguardando por mais 30 segundos. Depois adicionou-se o cyaniver 4 e agitou-se por 10 segundos e adicionou-se o cyaniver 5. Agitar e aguardar por 30 minutos. Após fez-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Hitachi U-1800) a 612nm. A concentração de cianeto foi determinada a partir de uma curva padrão obtida com solução de Cianeto de Potássio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Acompanhamento do biorreator anaeróbio

O biorreator foi operado por 110 dias sob duas condições. Inicialmente utilizou-se a manipeira sem suplementação e posteriormente adicionou-se macro e micronutrientes ao substrato, conforme descrito em material e métodos. Na primeira condição, foram analisadas duas etapas de operação, a etapa 1, entre os dias 1 e 46, e a etapa 2 entre os dias 47 e 65.

Tabela 5 - Médias e desvios padrões das grandezas avaliadas durante as diferentes etapas de operação do biorreator

Variáveis	Sem suplementação		Com suplementação	
	Etapa 1 (1° a 46°d)	Etapa 2 (47° a 65°d)	Etapa 3 (71° a 85°d)	Etapa 4 (86° a 110°d)
DQO entrada (mg/L)	5995 ± 827	4704 ± 776	6404 ± 401	5219 ± 390
DQO saída (mg/L)	4654 ± 982	3736 ± 695	4865 ± 322	3678 ± 746
Massa de DQO consumida (mg)	1341	968	1539	1541
Remoção de DQO (%)	22±14	21±7,5	24±4	30±10
Carga aplicada (mgDQO/L.d)	2997 ± 413	2352 ± 388	3202 ± 200	2609 ± 195
STV (mg/L)	nd	3810 ± 0	5480 ± 0	nd
Carga específica (mgDQO/gSTV.d)	nd	617	584	694
Acidez entrada (mEqNaOH/100mL)	0,26 ± 0,12	0,34 ± 0,15	0,53 ± 0,04	0,44 ± 0,09
Acidez saída (mEqNaOH/100mL)	1,17 ± 0,45	1,07 ± 0,15	4,14 ± 0,53	4,08 ± 0,48
pH entrada	6,96 ± 0,84	6,9 ± 0,26	7 ± 0	7 ± 0
pH saída	5,44 ± 0,55	5,27 ± 0,31	5,23 ± 0,36	5,1 ± 0,25

nd: não determinado

O período operado com a suplementação de nutrientes foi subdividido nas etapas 3 e 4, correspondendo aos períodos entre os dias 71 e 85 e entre 86 e 110 dias, respectivamente. O biorreator foi acompanhado pela determinação das variáveis: DQO, pH, acidez titulável e volume de gás produzido. A Tabela 5 apresenta um resumo das condições utilizadas nas diferentes fases e os principais resultados obtidos.

5.1.1 Operação do biorreator sem suplementação de nutrientes

Esta condição de operação compreendeu o período entre o 1° e o 65° dia. A etapa inicial de operação, entre os dias 1 e 46, foi denominada de etapa 1, considerada uma fase de adaptação do lodo, oriundo de um sistema de tratamento anaeróbio de dejetos de suínos ao novo substrato, a manípueira. Esta fase se caracterizou por uma oscilação acentuada nas concentrações de saída de DQO do biorreator.

Na fase de adaptação, a manípueira foi utilizada para alimentar o biorreator com uma carga média de DQO de 2997 ± 413 (mg/L.d). A remoção média de DQO neste período foi de 22 ± 14 %. Foi observada ainda uma acidificação do meio, sugerindo início de atividade metabólica, com produção de ácidos. A acidez de entrada média foi de $0,26 \pm 0,12$ (mEqNaOH/100mL) e a acidez de saída média foi de $1,17 \pm 0,45$ (mEqNaOH/100mL) (Tabela 5). O pH se estabilizou ao final da fase de adaptação, sendo o pH de entrada médio de $6,96 \pm 0,84$ e do pH de saída médio de $5,44 \pm 0,55$ (Tabela 5). A Figura 6 mostra as variações de DQO na alimentação (entrada) e no efluente (saída) do biorreator ao longo do período de 110 dias.

Após o 47° dia de operação observa-se uma estabilização do sistema, em termos de consumo de DQO, até aproximadamente cerca do 65° dia, correspondendo este período a etapa 2 de operação do biorreator.

Nesta fase (etapa 2 – Tabela 5) a carga média de matéria orgânica foi de 2352 ± 388 (mgDQO/L.d) e a remoção de DQO média foi de $21 \pm 7,5$ %. Remoções de DQO semelhantes foram obtidas por Shida (2008) em um reator anaeróbio para a produção de biohidrogênio utilizando como inóculo um lodo de atividade suinícola. Este mesmo autor estudou o efeito da variação do TRH na produção de biohidrogênio. Os TRHs utilizados foram sendo gradativamente reduzidos de 8h até 1h, sendo que as cargas de DQO aplicadas variaram entre 565 a 4341 mg/L.h.

Estas cargas são bastante superiores quando comparadas às aplicadas neste trabalho, que são da ordem de 98 mgDQO/L.h. Shida (2008) conclui que o conteúdo máximo de hidrogênio no biogás foi alcançado com TRH de 1 h.

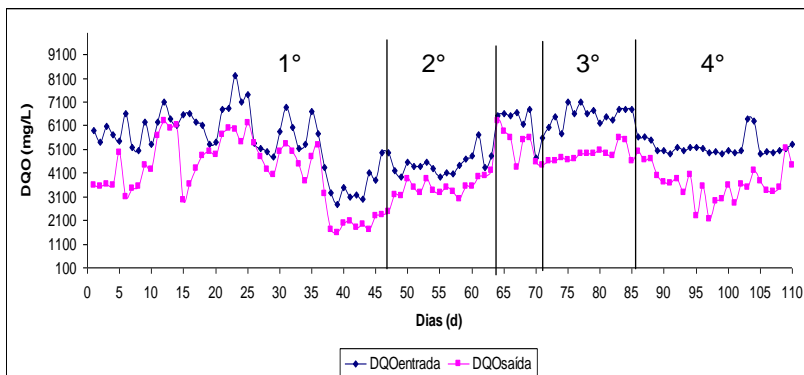


Figura 6 - Acompanhamento da DQO de entrada e de saída do biorreator

Na Figura 7 estão apresentados os resultados do pH de entrada e saída ao longo do período de operação do biorreator. Nesta segunda fase, o pH médio foi $6,9 \pm 0,26$, na alimentação do biorreator e de $5,27 \pm 0,31$ na saída. Observou-se uma diminuição do pH de saída, em relação à fase de adaptação. Diversos autores operaram seus sistemas para produção de biohidrogênio em condições de pH ácido, em torno de 5,5 para inibir a atividade metanogênica durante o experimento (FANG et al, 2003 ; LIU et al., 2002; Yu et al., 2003).

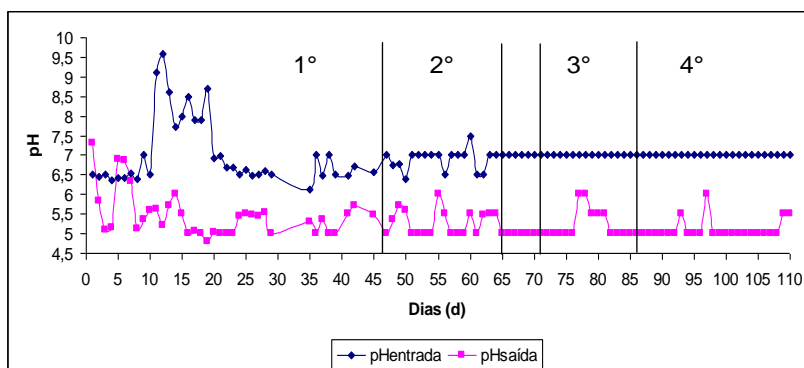


Figura 7 - Valores de pH de entrada e saída do biorreator

Cheong e Hansen (2006) investigaram a influência do pH na produção do hidrogênio, mostrando que a maior produção ocorreu a pH 5,7.

Mohan et al. (2007) verificaram que a produção de ácidos orgânicos gradualmente reduz a capacidade tamponante do sistema, resultando no declínio do pH. Os autores verificaram que a queda do pH de 6 para 4,5 foi ideal para a atividade das bactérias acidogênicas e ao mesmo tempo para a inibição da atividade das arqueas metanogênicas.

O pH ótimo de atividade metanogênica localiza-se entre 6,5 e 7,5, entretanto, esta faixa pode ser bem mais abrangente dependendo do tipo de substrato e do reator utilizado (Liu et al., 2006). Portanto, a faixa de pH mantida no biorreator, nesta fase (etapa 2) de operação (entre 6,9 e 5,3), favorece a atividade das bactérias acidogênicas, mas não necessariamente, inibe completamente a atividade das metanogênicas. Cabe ressaltar aqui que nesta fase do experimento não era adicionado nenhum composto que pudesse produzir um efeito tamponante no meio.

Uma vez que a formação de ácidos orgânicos está relacionado com a produção de biohidrogênio, conforme Equação 1 e 2, foi realizado o acompanhamento da acidez na manípueira (entrada) e no efluente do biorreator (saída). Os resultados do acompanhamento da acidez durante a operação do biorreator são apresentados na Figura 8. Observa-se pela figura que a diferença entre a acidez de entrada e a de saída é pequena e variou pouco até o 70º dia de operação do reator. Os valores médios de acidez da manípueira na entrada do biorreator durante todo o período de monitoramento foi 0,30 mEqNaOH/100mL. No intervalo entre o primeiro e o 65º dia (operação sem suplementação), a acidez de saída do biorreator foi em média 1,12 mEqNaOH/100mL, indicando um pequeno aumento na produção de compostos ácidos.

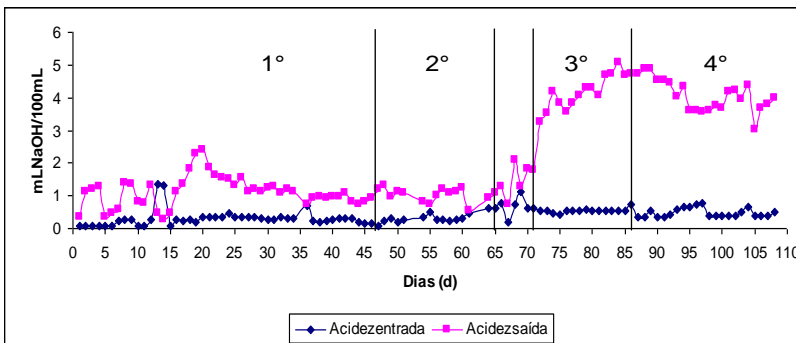


Figura 8 - Acompanhamento da acidez de entrada e de saída do biorreator

Na etapa 2 foram coletadas amostras no 48°, 54° e 60° dias de operação do reator, para a análise qualitativa de alguns ácidos orgânicos. O ácido acético e o láctico foram os principais ácidos observados, conforme apresentado na Tabela 7. A média da concentração de ácido acético foi de 0,31 g/L na etapa 2. O aparecimento deste ácido sugere o estabelecimento da fase acetogênica do processo, a qual favorece a produção de gás hidrogênio. O ácido propiônico não foi detectado nas amostras.

A concentração de ácido láctico determinada foi de 0,10 g/L, na etapa 2, conforme Tabela 7. Sugere-se que a presença deste ácido possa ser devida à atividade de bactérias lácticas no substrato, a manipueira, na qual se encontra naturalmente elevada concentração destas bactérias. Fernandes Junior (1995) estudando a cinética da fase acidogênica e utilizando manipueira como substrato, obteve concentrações elevadas de ácido láctico, acético e propiônico no efluente de um reator anaeróbio.

Na etapa 2, a produção média de gás foi de 470 mL/dia. No volume de gás medido são considerados apenas os gases hidrogênio e metano. O dióxido de carbono, que também é produzido durante a digestão anaeróbia, foi recolhido por borbulhamento na solução de hidróxido de sódio 5%, conforme o esquema de coleta de gases descrito em Material e Métodos no item 4.4.6.

Um cálculo teórico foi feito para estimar as concentrações dos gases hidrogênio e metano, através de relações estequiométricas entre o substrato consumido e o produto formado, conforme descrito no item 4.4.7.2 de Material e Métodos.

Na fase de operação, entre os dias 47 e 65, o consumo médio de DQO foi de 968 mg/d, desconsiderando-se a DQO consumida para o crescimento celular. A produção média de gás foi igual a 0,47L/d (Tabela 6). Convertendo-se a massa de DQO consumida em glicose, através da Equação 15, obtém-se um consumo de glicose igual a 907,5 mg/d. Considerando-se a estequiometria da reação de conversão de glicose em metano (Equação 16), obtém-se uma massa média de metano igual a 161,3 mg. De acordo com a Equação 17, equação dos gases ideais a temperatura de 25°C e 1 atm, esta massa corresponde a um volume de metano de 0,246 L. Considerando-se que no volume de gás medido estavam presentes apenas os gases metano e hidrogênio, pois o CO₂ foi seqüestrado na solução de hidróxido de sódio, na saída de gases do biorreator, teremos então que a produção de hidrogênio média, conforme a Equação 18, foi de 0,224 L. Assim, estima-se que nesta etapa, excluindo-se o CO₂ a composição do gás foi de 52 % de metano e

48 % de hidrogênio, conforme as Equações 19 e 20. Estes valores são comparáveis aos encontrados por método cromatográfico, cujos valores experimentais foram iguais a 48,5 % de metano e 51,5 % de hidrogênio. Sugere-se, portanto, que o balanço estequiométrico de conversão de substrato em metano, pode ser útil na estimativa da composição de gases, durante a operação do biorreator. De fato, com a impossibilidade de realizar análise cromatográfica das amostras gasosas, nas demais fases de operação do biorreator, aplicou-se esta aproximação para estimar a produção de hidrogênio.

Com base nos dados descritos, pode-se calcular o rendimento de hidrogênio gerado, nesta fase do trabalho, tem sido de 1,82 mol H₂/mol de glicose. Pode-se comparar o valor obtido com dados da literatura recente. Zhang et al. (2007) operando um reator anaeróbico de leito fluidizado verificaram um rendimento de produção de biohidrogênio de 1,19 mol de H₂/mol de glicose. Van Ginkel et al. (2005) encontraram um rendimento de hidrogênio máximo de 2,8 mol H₂/mol glicose.

Ainda nesta fase, a velocidade específica de produção de hidrogênio, com base em uma única determinação de STV foi de 0,05 LH₂/gSTV.d. Estes valores são inferiores comparados aos de Fan e Chen (2004) e de Liu e Shen (2004) que encontraram uma velocidade específica de 0,2 LH₂/gSSV.d.

5.1.2 Operação com suplementação

Com o objetivo de aumentar a produção de hidrogênio, a partir do 65º dia, modificou-se o meio de alimentação do biorreator pela adição de suplementos, reportados na literatura, como sendo adequados ao crescimento de bactérias produtoras do gás. Sendo assim, foram adicionados macro e micronutrientes à manipueira, conforme descrito em Materiais e Métodos, item 4.3.

Nesta nova condição, observou-se um breve período de adaptação, entre os dias 65º e 70º de operação do biorreator. Estabeleceu-se em seguida um estado estacionário, entre o 71º e o 85º dia, denominado de etapa 3, conforme apresentado na Figura 6.

Nesta fase, a carga média de DQO aplicada ao reator foi de 3202 ± 200 (mgDQO/L.d) sendo 26% superior ao da fase sem suplementação (conforme Tabela 5). Este aumento da carga não foi proposital, mas simplesmente decorreu do fato de que a partir dessa etapa um novo lote da manipueira foi preparado, para dar continuidade aos estudos. Porém,

a determinação da concentração de matéria orgânica, no lote, foi determinada posteriormente. Desta forma, diferentes concentrações de DQO foram utilizadas, sendo o TRH mantido em 48 h.

A carga de DQO utilizada neste trabalho (3202 mg/L.d) foi semelhante ao trabalho de Jung et al. (2000) que utilizaram cargas entre 1000 e 4000 mg/L.d em reator acidogênico para o tratamento de efluente da suinocultura. Demirer e Chen (2005) utilizaram cargas de 1190 mgDQO/L.d em reator acidogênico para tratar dejetos de gado.

Entretanto, estudos relacionados à produção de biohidrogênio utilizaram cargas superiores às utilizadas neste trabalho. Pode ser citado, por exemplo, o trabalho de Shida (2008) em que as cargas de DQO aplicadas variaram entre 565 e 4341 mg/L.h, utilizando glicose como substrato. Estas elevadas cargas foram obtidas por baixos TRHs, entre 1 e 8 h. Leite (2005) examinou o efeito da concentração de matéria-orgânica e do TRH na produção ácidos orgânicos, variando o TRH entre 2 e 0,5 h, sendo que a carga em glicose variou de 24000 e 96000 mg/L.h. Neste trabalho, o autor verificou que a diminuição progressiva do TRH, promoveu o aumento da concentração dos ácidos voláteis no reator.

Da mesma forma, Peixoto (2008) trabalhando com cargas de glicose de 2929,8 mg/L.h e de 3156 mg/L.h, com TRHs de 1 h e 0,5 h, respectivamente, observou a maior produção de hidrogênio (17,5 mL H₂/min) na segunda condição.

É sabido que a redução do TRH, mantendo-se a concentração da alimentação, resulta no aumento da carga orgânica, tendo um efeito positivo sobre o crescimento de bactérias acidogênicas, que apresentam uma velocidade de crescimento superior ao das bactérias metanogênicas.

No presente estudo, o TRH foi de 48 h. Este valor foi elevado quando comparado aos trabalhos citados. Embora não se tenha realizado um estudo a respeito do efeito do TRH sobre a produção de biohidrogênio, alguns autores que utilizaram substratos amiláceos sugerem que TRHs mais elevados favorecem a etapa de hidrólise destes substratos (LIN e FANG, 2007). Lay (2000) estudando a produção de hidrogênio a partir de amido de batata, avaliou o efeito do TRH entre 10 e 30 horas, tendo observado que o TRH ótimo foi de 17 horas. Similarmente Hussy et al. (2003) verificaram que o TRH ótimo para produção de biohidrogênio, a partir de amido de trigo, foi de 12 horas. Sendo assim, é provável que a diminuição do TRH utilizado neste estudo (48 horas) deva proporcionar aumento na produção de hidrogênio.

Nesta etapa do experimento (etapa 2) a média de DQO consumida passou de 968 mg (etapa 2) para 1539 mg (etapa 3). Contudo, o valor de STV aumentou de 3810 para 5480 mg/L, da etapa 2 para a etapa 3. Desta forma, a remoção específica de DQO permaneceu praticamente inalterada, considerando uma única determinação de STV, tendo sido igual a 0,25 e 0,28 mgDQO/mgSTV.d, nas etapas 2 e 3, respectivamente. Donde se conclui que o principal efeito da adição de nutrientes foi o aumento da biomassa, no biorreator. A Figura 9 mostra a DQO consumida e o volume de gás produzido ao longo do período de operação do biorreator.

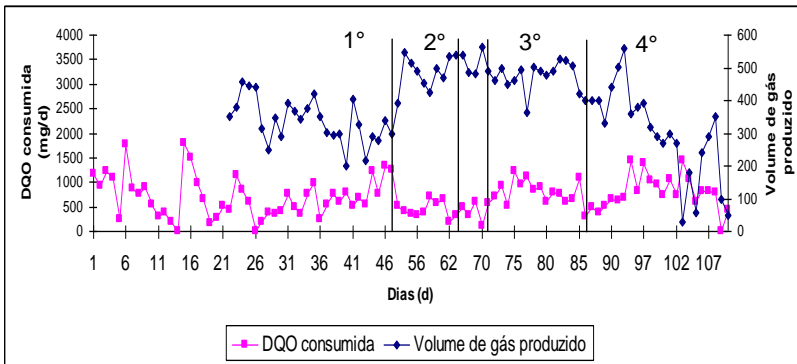


Figura 9 - Valores de velocidade de consumo de DQO e o volume de gás produzido, durante a operação do biorreator

Quanto à produção de gases, na etapa 3, com suplementação, a produção de gás média foi de 0,48L/d. Relembrando que no volume de gás medido são considerados apenas os gases hidrogênio e metano.

Conforme explanado anteriormente, não foi possível quantificar cromatograficamente os gases produzidos no biorreator. Por este motivo, a concentração dos gases hidrogênio e metano foi inferida através de relações estequiométricas entre o substrato consumido e o produto formado.

Entre os dias 71 e 85, o consumo diário médio de DQO foi de 1539 mg/d (desconsiderando-se o consumo para crescimento celular) e a produção de gás igual a 0,48 L/d (Tabela 6). Seguindo o mesmo procedimento utilizado na etapa anterior, sem suplementação, na conversão da DQO em glicose consumida, conforme equação 15, obteve-se um consumo de glicose igual a 1443 mg/d. Utilizando-se a relação estequiométrica (Equação 16) de conversão de glicose em

metano, obtém-se uma massa de metano média de 256,5 mg, a qual corresponde a um volume de 0,39 L de gás metano, conforme a Equação 17, a uma temperatura de 25 °C e 1 atm. Considerando-se que no volume de gás medido estavam presentes apenas os gases metano e hidrogênio, pois o CO₂ foi seqüestrado na solução de hidróxido de sódio, na saída de gases do biorreator, teremos então que a produção média de hidrogênio, conforme a Equação 18 foi de 0,09 L/d. Sendo assim, pela diferença entre os volumes de gás produzido, hidrogênio e metano, deduz-se que nesta etapa, excluindo-se o CO₂, a composição do gás foi de 81 % (v/v) de metano e 19 % (v/v) de hidrogênio, conforme equações 19 e 20. Com base nos dados descritos, pode-se calcular que o rendimento de hidrogênio gerado, na etapa 3 deste trabalho, foi de 0,007 mol H₂/mol de glicose. A menor produção de hidrogênio na etapa 3 pode ser, provavelmente, devido à parcela de DQO que foi consumida para o crescimento celular.

A Tabela 6 apresenta os resultados de desempenho do biorreator, das etapas 1, 2, 3, e 4.

Tabela 6 - Resultados de desempenho do biorreator, das etapas 1,2,3 e 4

Variáveis	Etapa 1 (1° a 46°d)	Etapa 2 (47° a 65°d)	Etapa 3 (71° a 85°d)	Etapa 4 (86° a 110°d)
Volume médio de biogás (mL/d)	nd	470 ± 74	480 ± 42	267 ± 145
Velocidade de consumo de DQO (mg/L.d)	-	484	769	770
*Velocidade específica de consumo de DQO (mgDQO/mgSTV.d)	-	0,25	0,28	-
Rendimento (molH ₂ /mol glicose)	-	1,82t 1,85e	0,007t	-
Produção de Hidrogênio (mL/d)	-	224t 242e	90	-
*Velocidade específica de produção de H ₂ (mL/gSVT.d)	-	58,8	16,42	-

nd: não determinado; *calculadas a partir de uma única determinação de STV; t: calculado a partir de dados estequiométricos; e: calculado a partir de determinação cromatográfica.

O pH médio no período em que o biorreator estava sendo alimentado com micro e macro nutrientes foi de $7,0 \pm 0,0$ na entrada e de $5,23 \pm 0,36$, na saída (etapa 3) e $7,0 \pm 0,0$ na entrada e de $5,1 \pm 0,25$, na saída (etapa 4). Para manter o pH de entrada substâncias tamponantes, que estão descritas no item 4.3 de Material e Métodos, foram adicionadas no biorreator para não existir oscilações no pH. Conforme Figura 7 mostra os pHs de entrada e saída no decorrer de todo o experimento.

Conforme apresentado na Tabela 5, nesta fase o pH de entrada e de saída foram similares aos observados na fase anterior. Desta forma, conclui-se que os nutrientes adicionados à manipueira não produziram um efeito tamponante no meio.

O pH não só atua sobre a inibição de atividades metanogênicas, mas também nos teores de produção de hidrogênio e ácidos orgânicos. De acordo com Fang e Liu (2002), o controle do pH é essencial para a produção de hidrogênio, uma vez que o pH exerce efeito sobre a atividade da hidrogenase e nas vias metabólicas de produção de ácidos.

Após o 71° dia de operação, pode-se observar um aumento substancial na acidez do efluente do reator, conforme Figura 8. A média da acidez de saída do reator da etapa 2 para a etapa 3 aumentou de 1,12 para $4,14 \pm 0,53$ mEqNaOH/100mL, na etapa 4 a acidez de saída média foi de $4,14 \pm 0,53$ mEqNaOH/100mL, próxima a da etapa anterior.

O aumento da acidez, na etapa 3 está diretamente relacionado ao aumento da produção de ácidos orgânicos, particularmente o ácido acético (Tabela 7). Na Tabela 7 encontram-se as médias das concentrações de ácidos orgânicos, lático e acético, determinados nas diferentes etapas do experimento.

Tabela 7 - Médias das concentrações dos ácidos acético e lático nas diferentes etapas de operação do biorreator

Etapas de operação	Acido Lático (g/L)	Ácido Acético (g/L)
1 (1° a 46°d)	nd	nd
2 (47° a 65°d)	0,10	0,31
3 (71° a 85°d)	0,061	0,38
4 (86° a 110°d)	1,25	0,22

nd: não determinado; * amostras analisadas no 108° dia.

Na etapa final de operação do biorreator, entre os dias 86 e 110, a velocidade de consumo de DQO (770 mg/L.d) permaneceu praticamente inalterado, quando comparado a etapa anterior (769,5 mg/L.d). Contudo, observou-se um decréscimo acentuado na produção do volume de gás. Estas observações sugerem que, especialmente no início da etapa 4, a DQO está sendo consumida mais acentuadamente por outras vias, que não a de produção de biogás. Sugere-se que este consumo esteja sendo levado para a produção de biomassa, embora não tenha sido realizada esta determinação. Esta suposição é reforçada pela observação visual do biorreator, que nesta etapa apresentava uma maior densidade celular, dificultando o processo da alimentação do biorreator sem a remoção de biomassa.

Conforme pode ser observado na Tabela 7 os resultados das análises de ácidos orgânicos por cromatografia líquida, mostrou que em todas as etapas foi verificada a presença de ácido láctico e ácido acético. Entretanto, na etapa 4 foi observada a maior quantidade de ácido láctico de 1,25 g/L, no 108º dia do experimento. Já nesse mesmo ponto a quantidade de ácido acético foi de 0,20 g/L.

Noike et al. (2002) estudaram a inibição da produção de biohidrogênio na presença de bactérias ácido-láticas. Os autores utilizaram cepa de *Clostridium*, sabidamente produtor de hidrogênio, cultivada em presença de duas bactérias ácido-láticas, *Lactobacillus paracasei* e *Enterococcus durans*. O resultado deste estudo foi o decréscimo ou a inibição total da produção de hidrogênio pelo *Clostridium* em presença destas bactérias. Tal inibição foi parcialmente revertida na presença de tripsina, uma protease capaz de inativar as bacteriocinas (antibióticos) produzidas pelas cepas de *Lactobacillus*. Estes resultados sugeriram que o efeito inibitório causado pelas bactérias ácido-láticas foi devido às bacteriocinas excretadas por estas bactérias. Os autores também revelaram que um pré-tratamento térmico a 50°C no resíduo utilizado como substrato, foi adequado para prevenir o crescimento das bactérias láticas. De acordo com este estudo, pode-se supor que a causa da inibição da produção de gás, observada na etapa 4 deste trabalho, possa ser devida ao crescimento excessivo das bactérias ácido-láticas no reator. Este efeito foi evidenciado pelo aumento da concentração de ácido láctico no biorreator nesta etapa (Tabela 7).

Visando investigar outros prováveis fatores que possam ter contribuído para a inibição da atividade do biorreator, especialmente a partir do 100º dia, foram realizadas determinações de cianeto. A Tabela 8 apresenta os valores de cianeto, encontrados no efluente do biorreator,

durante as diferentes etapas de seu monitoramento.

As concentrações de cianeto encontradas nas amostras do efluente variaram de 1,09 mg/L a 3,64 mg/L. As quantidades médias encontradas nas etapas 2 e 3, corresponderam a 2,07 e 2,45 mg/L de cianeto, respectivamente. Gijzen et al. (2000) verificaram que foi possível aclimatar um lodo anaeróbio a concentrações crescentes de cianeto até 125 mg/L. Os valores de cianeto aplicados ao lodo pelos autores foram superiores aos determinados neste trabalho, uma vez que eles já iniciaram a adaptação do lodo a partir de 5 mg/L de cianeto. Desta forma, o cianeto não parece ter sido um fator de inibição no reator.

As concentrações de amônio no efluente do biorreator também foram avaliadas, uma vez que na suplementação de nutrientes era adicionado cloreto de amônio. A Tabela 8 apresenta os valores de amônio, encontrados no efluente do biorreator, durante as diferentes etapas de seu monitoramento.

Quanto às concentrações de amônio, na etapa 2 do experimento foi encontrada a concentração de 130,4 mg/L, fase em que o biorreator ainda não estava sendo alimentado com micro e macro nutrientes. Ao final da etapa 3 foi verificada a concentração de 1209 mg/L, período de elevada produção de biogás. Na etapa 4 do experimento foram detectadas concentrações de amônio de 1101 mg/L, período em que o biorreator já encontrava-se com a sua atividade bastante reduzida.

Tabela 8 - Concentrações médias de cianeto, amônio e cloretos no biorreator, nas diferentes etapas de operação

Etapas de operação	Cianeto (mg/L)	Amônio(mg/L)
1 (1° a 46°d)	nd	nd
2 (47° a 65°d)	2,07	130,4
3 (71° a 85°d)	2,45	1209,6
4 (86° a 110°d)	1,38	1101,1

nd: não determinado

Segundo Speece (2001) quando 1000 mg/L de $N-NH_4^+$ foram adicionados a uma biomassa metanogênica em pH neutro, a taxa de produção de biogás gradativamente caiu a zero, indicando a morte da

biomassa. Entretanto, após 10 dias de produção insignificante de biogás, a atividade da biomassa retornou para 70% da atividade inicial nos primeiros 5 dias, demonstrando que a amônia não tem um efeito bactericida.

Sterling (2001) estudou o efeito da amônia na produção de hidrogênio e metano, utilizando diferentes concentrações de uréia como fonte de nitrogênio. O autor verificou que a concentração de H_2 aumentou nos digestores que continham 600 e 1500 mg N/L. A partir destas concentrações, a produção de biogás decaiu com o aumento da adição de uréia. A concentração de uréia no digestor de 3000mg N/L inibiu a produção de hidrogênio e a produção de metano decaiu.

Wang et al. (2009) estudaram o efeito da concentração de amônia, entre 0 e 10 g N / L, na produção de hidrogênio por culturas mistas utilizando glicose como substrato a 35 °C e pH inicial 7,0. Foram observados que os valores máximos de produção de hidrogênio (291,4 mL), rendimento de hidrogênio de 298,8 ml H_2 / mol de glicose e velocidade média de produção de 8,5 mL / h foram todos obtidos na concentração de amônia de 0,1 g N / L.

Devido as diferentes informações na literatura a respeito da inibição da biomassa metanogênica por amônio, não se pode concluir se estas concentrações encontravam-se em níveis inibitórios (Tabela 8).

6 CONCLUSÕES

- A caracterização da água residuária do processamento da mandioca, dado a elevada concentração de DQO e baixas concentrações de cianeto, mostrou que esta foi adequada para a produção de hidrogênio;

- Utilizando a manipueira como substrato foi possível manter em operação o biorreator por um período de 110 dias. A análise de consumo de substrato e formação de produtos permitiu acompanhar o desempenho do biorreator, bem como correlacioná-los.

- O biogás produzido foi analisado por cromatografia gasosa em uma das etapas de operação do biorreator, mostrando a presença de metano e de hidrogênio. A composição do biogás produzido calculada pelas relações estequiométricas mostrou-se comparável aos resultados obtidos experimentalmente.

- Dentre os ácidos pesquisados, observou-se a presença do ácido acético, como subproduto da produção de hidrogênio. A detecção do ácido láctico sugeriu a presença de bactérias lácticas no biorreator. A possível produção de bacteriocina por bactérias lácticas pode ter causado a inibição da produção de biogás ao final do período de operação.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Fazer um estudo de tratamentos de inóculos para selecionar microrganismos;

- Fazer um estudo utilizando diferentes TRHs para selecionar microrganismos;

- Fazer um estudo utilizando meio sintético, como fonte de carbono, para verificar e comparar com dados da literatura;

- Analisar mais detalhadamente a cinética de degradação de DQO e produção de biohidrogênio;

- Avaliar a microbiologia envolvida no processo identificando e quantificando populações de bactérias produtoras de hidrogênio presentes nos inóculos e reatores, através de técnicas moleculares como: hibridização fluorescente *in situ* (FISH);

REFERÊNCIAS

ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. Disponível em: www.abam.com.br. Acesso em: 15 jan 2009.

ABREU, A.A.; DANKO, A.S.; COSTA, J.C.; FERREIRA, E.C.; ALVES, M.M. Inoculum type response to different pHs on biohydrogen production from L-arabinose, a component of hemicellulosic biopolymers. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 34, p.1744–1751, 2009.

APHA, AWWA, WEF.. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th. edn. American Public Health Association. Washington, DC, 1995.

AROOJ, M.F.; HAN, S.H.; KIM, S.H.; KIM, D.H.; SHIN, H.S. Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 33, p. 6509-6514, 2008.

BALAGOPALAN, C. **Cassava utilization in food, feed an industry. Cassava: Biology, production and utilization**. v. 15, p. 301-318, 2002.

BARANA, A. C.; CEREDA, M. P. Cassava wastewater (manipueira) treatment using a twophase anaerobic biodigester. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 20, n. 2, 2000.

BOLHUIS.G.G. The toxicity of cassava roots. Netherlands **Journal of Agricultural Science, Wageningen**. v. 2, p. 176-185,1954.

BREURE, A.E., VAN ANDEL, J.G. Hydrolysis and acidogenic fermentation of a protein gelatin in anaerobic conditinous culture. **Apply Microbiology Biotechnology**. v 20, p. 40-45, 1984.

BRUIJN, G.H. de. Étude du caractère cyanogénétique du manioc (*Manihot esculenta* Crantz). Wageningen,. p. 140, 1971.

CAGNON, J.R.; CEREDA, M.P.; PANTAROTTO, S. Glicosídeos cianogênicos da mandioca: biossíntese, distribuição, destoxificação e

métodos de dosagem. **Agricultura: Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação CARGILL, v. 2, p.83-99, 2002.

CARDOSO, G.M. **Uso da Manipueira como Biofertilizante no Cultivo do Milho: Avaliação do efeito no solo, nas águas subterrâneas e na produtividade do milho**. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais, UNESC, 2005.

CARVALHO, F. C. **Disponibilidade de resíduos agro-industriais e do beneficiamento de produtos agrícolas. Informações Econômicas**. 1992.

CEREDA, M.P Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo : Fundação Cargill, v.4, cap.1, p. 13-37, 2001.

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

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

CHEONG, D.Y.; HANSEN, C.L. Acidogenesis characteristics of natural, mixed anaerobes converting carbohydrate-rich synthetic wastewater to hydrogen. **Process Biochemistry**. v. 41, p. 1736-1745, 2006.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores Anaeróbios - Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. UFMG, v. 5, 2^o edição, 1997.

CHIN H., L., CHEN Z., S., CHOU C., P., Fedbatch operation using *Clostridium acetobutylicum* suspension culture as biocatalyst for enhancing hydrogen production. **Journal Biotechnology Progress**. v. 19, p. 383-388, 2003.

COLIN, X.; FARINET J.-L.; ROJAS O.; ALAZARDD. Anaerobic treatment of cassava starch extraction wastewater using a horizontal flow filter with bamboo as support. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 1602-1607, 2007.

DALSENTER, F.D.H. **Efeito da Temperatura na Cinética de Crescimento de *Rhizopus oryzae* em Cultivo em Estado Sólido**. Tese de doutorado, UFPR, 2005.

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

DEMIRER, G.N; CHEN, S. Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. **Process Biochemistry**. v. 40. p. 3542-3549, 2005.

DOI, T.; MATSUMOTO, H.; ABE, J.; MORITA, S. Feasibility study on the application of rhizosphere microflora of rice for the biohydrogen production from wasted bread. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 34, p. 1735-1743, 2009.

EVVYERNIE, D., MORIMOTO, K., KARITA, S., KIMURA, T., SAKKA, K., OHMIYA, K., Conversion of chitinous wastes to hydrogen gas by *Clostridium paraputrificum* M-21. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 91, p. 339–343, 2001.

EVVYERNIE, D., YAMAZAK, S., MORIMOTO, K., KARITA, S., KIMURA, T., SAKKA, K., OHMIYA, K., Identification and characterization of *Clostridium paraputrificum* M-21, a chitinolytic, mesophilic and Hydrogen-producing bacterium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 89, p. 596–601, 2000.

FABIANO, B., PEREGO, P., Thermodynamic study and optimization of hydrogen production by *Enterobacter aerogenes*. **International Journal Hydrogen Energy**. v. 27, p. 149–156, 2002.

FAN, K.S. E CHEN, Y.Y. H₂ production through anaerobic mixed culture: effect of batch S_0/X_0 and shock loading in CSTR.

Chemosphere. v.57, p. 1059-1068, 2004.

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

FERNANDES JÚNIOR, A. **Digestão anaeróbia de manipueira com separação de fases : cinética da fase acidogênica.** São Paulo – UNESP- Botucatu. 1995.

FIORETTO, R.A. Uso direto da Manipueira em Fertiirrigação. In: Cereda et al. Manejo, **Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**, Fundação Cargill: São Paulo, cap.4, p. 67-79, 2001.

FONSECA, G.G. **Produção de polihidroxicarboxilatos por *Escherichia coli* recombinante.** Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos, UFSC, 2003.

GAVALA, H.N.; SKIADAS, I.O.; AHRING, B.K. Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor system. **International Journal of Hydrogen Energy.** v. 31, p. 1164-1175, 2006.

GIJZEN, H.J.; BERNAL, E.; FERRER, H. Cyanide toxicity and cyanide degradation in anaerobic wastewater treatment. *Water Research.* v. 24, p. 2447-2454, 2000.

GOMES NETO, E. H. **Hidrogênio, Evoluir sem poluir: a era do hidrogênio, das energias renováveis e das células a combustível.** BrasilH2 Fuel Cell Energy. Curitiba – PR, 2005.

GRIZZOTO, R.K. e MENEZES, H.C. Efeito da fermentação na qualidade de “chips” de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v.24, p. 170-177, 2004.

GUJER, W., ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion, **Water Science Technology.** v. 65, p. 127-167, 1983.

HAN, S.K., SHIN, H.S., Biohydrogen production by anaerobic

fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 29, p. 569-577, 2004.

HAN, S.K., SHIN, H.S., Enhanced acidogenic fermentation of food waste in a continuous-flow reactor. **Journal of the International Solid Wastes Association**. v. 20, p. 110-118, 2002.

HANSEN, K.; ANGELIDAKI, I.; AHRING, B.K. Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia. **Water Research**. v.32, p. 5-12, 1998.

HAWKES, F.R.; DINSDALE, R.; HAWKES, D.L.; HUSSY, I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 27, p. 1339-1347, 2002.

HE, D., BULTEL, Y., MAGNIN, J.P., WILLISON, J.C. Kinetic analysis of photosynthesis growth and photohydrogen production of two strains of *Rhodobacter capsulatus*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 38, p. 253-259, 2006.

HUSSY, I.; HAWKES, F.R.; DINSDALE, R.; HAWKES, D.I. Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora. **Biotechnology Bioengineering**. v. 84, p. 619-626, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3ª ed., São Paulo, 1985, vol.1, p. 245-250.

ISRAEL, C.M. **Utilização do resíduo do processamento do palmito para a produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero Polyporus**. Dissertação de mestrado, FURB, 2005.

JUNG, J. Y.; LEE, S.M.; SHIN, P.K.; CHUNG, Y. C. Effect of pH on phase separated anaerobic digestion. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**. v. 5, p. 456-459, 2000.

KAWAGOSHI, Y.; HINO, N.; FUJIMOTO, A.; NAKAO, M.; FUJITA, Y.; SUGIMURA, S.; FURUKAWA, K. Effect of inoculum conditioning

on hydrogen fermentation na pH effect on bacterial community relevant to hydrogen production. **Journal of Bioscience an Bioengineering**. v. 100, p. 524-530, 2005.

KONDO, T., ARAKAWA, M., HIRAI, T., WAKAYAMA, T., HARA, M., MIYAKE, J. Enhancement of hydrogen production by a photosynthetic bacterium mutant with reduced pigment. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v.93, n. 2, p 145-150, 2002.

LANARA Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos Físicos e Químicos**. Brasília, p 122, 1981.

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

LAY, J.J. Modelling and optimisation of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 68, p. 269–78, 2000.

LEITE, J.A.C. **Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação acidogênica em reator anaeróbio horizontal de leito fixo e extração em resina de troca iônica e com solvente orgânico**. Tese de doutorado, USP, 2005.

LEMA, J.M. Curso de digestão anaeróbia aplicada a resíduos sólidos e líquidos. Recife –CE. 1997.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula da mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 20, n. 1, 2000.

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

LI, C.; FANG, H. Fermentative hydrogen production from wastewater solid wastes by mixed cultures. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. v. 37, p. 1-39, 2007.

LIMA, J.W.C. **Análise Ambiental: processo produtivo de polvilho em indústrias do extremo sul de Santa Catarina**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de produção, UFSC. 2001.

LIN, C.N.; LEE, C.Y.; TSENG, I.C.; SHIAO, I.Z. Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora. **Process Biochemistry**. v. 41, p. 915-919, 2006.

LIU, X.G.; YANG, S.T. Kinetics of butyric acid fermentation of glucose and xylose by *Clostridium tyrobutyricum* wild type and mutant. **Process Biochemistry**. v. 24, p. 801-808, 2006.

LIU, W.T.; CHAN, O.N.; FANG, H.H.P. Microbial community dynamics during start up of acidogenic anaerobic reactors. **Water Research**. v. 36, p. 3203-3210, 2002.

MANUAL DA HACH. Method 8027 For water, wastewater, and seawater, p 277-285, 2000.

MARCON, M.J.A. **Avaliação do processo produtivo para a melhoria da qualidade do polvilho azedo**. Dissertação de Mestrado, UFSC, 2004.

MILLER, G. L. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959

MIZUNO, O., OHARA, T., SHINYA, M., NOIKE, T., Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora. **Water Science Technology**. v. 42, p. 338-345, 2000.

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

MOHAN, S.V.; BABU, V.L.; SARMA, P.N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor: effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 24, p. 506-515, 2008.

MOMIRLAN, M., VEZIROGLU, T.N. The properties of hydrogen as

fuel tomorrow in sustainable energy system for a cleaner planet.

International Journal of Hydrogen Energy. v. 30, p 795-802, 2005.

MU, Y.; YU, H.Q.; WANG, G. The role of pH in the fermentative H₂ production from an acidogenic granule-based reactor. **Chemosphere**. v. 64, p. 350-358, 2006.

NOIKE, T.; TAKABATAKE, H.; MIZUNO, O.; OHBA, M. Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. .

International Journal of Hydrogen Energy. v. 27, p. 1367-1371, 2002.

OLIVEIRA, M.E.; NOGUEIRA, M.H. Biogás. Uma energia de alternativa. Laboratório Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial. Departamento de energias renováveis. Lisboa. 1984.

OLIVEIRA, M.A., REIS, E.M., NOZAKI, J. Biological treatment of wastewater from the cassava meal industry. **Environmental Research**. v. 85, p.177-183, 2001.

ORTEGA, C. I.; COSTA, M.A.L. da; CEREDA, M.P.

Biodisponibilidade do B-catoteno da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.23, p.473-477, 2003.

PANDEY, A., SOCCOL, C.R., MITCHEL, D., New developments in solid state fermentation: I – bioprocess and products. **Journal Process Biochemistry**. v. 35, p. 1153-1169, 2000.

PATINO, M.T.O. (2001). Viabilidade Econômica do aproveitamento de biogás a partir da digestão anaeróbia da manipueira. In: Cereda et al. **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**, Fundação Cargill: São Paulo, cap.14 pp.202-210.

PEIXOTO, G. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente a partir de água residuária de indústria de refrigerantes**. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 2008.

PEREZ, P. **Epagri lança cultivar de mandioca adequada para todo o**

Estado. Disponível em <http://www.mandioca.agr.br/portal/>. Acesso em: 11 ago 2008.

RIBAS, M.M.F; BARANA, A.C. Start-up adjustment of a plug-flow digester for cassava wastewater (manipueira) treatment. **Scientia agrícola**. v. 60, n 2, p. 223-229, 2003.

RICHTER, C.A.; AZEVEDO NETTO, J.M. **Tratamento de Água – Tecnologia Atualizada**. São Paulo – SP. 5ª edição, 2003.

SANO, A.; YASUDA, K.; KATO, Y.; BANDO, Y.; NAKAMURA, M. Hydrogen fermentation by using heat-shocked granular sludge. **Journal Chemical Engineering of Japan**. v. 39, p. 580-582, 2006.

SANTOS, F., M., SANTOS, F., A., **O combustível “Hidrogênio”**, Educação Ciência e Tecnologia, p. 252-270, 2007.

SENHORAS, E.M. Oportunidades da cadeia agroindustrial do coco verde. Do coco verde nada se perde tudo se desfruta. **Revista Urutaguá** 2004. Disponível em : http://www.urutagua.uem.br/005/22eco_senhoras.htm Acesso: 15 nov de 2008.

SHIDA, G. M. **Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos por fermentação acidogênica em reator anaeróbio de leito fluidificado**. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 2008.

SHIN,H.S.; YOUN,J.H. Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis. **Biodegradation**. v. 16, p. 33-44, 2005.

SILLER, H. AND WINTER J. Treatment of cyanide-containing wastewater from the food industry in a laboratory-scale fixed bed methanogenic reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 49, p. 215-220, 1998.

SIVARAMAKRISHNA' D.; D. SREEKANTH' D.; HIMABINDU, V.; ANJANEYULU, Y. Biological hydrogen production from probiotic wastewater as substrate by selectively enriched anaerobic mixed microflora. **Renewable Energy**. v. 39, p. 937-940, 2009.

SPEECE, R.E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters. Vanderbilt University. United States of America. 1995.

SPEECE, R. E. Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters. Nashville, 1996.

STERLING, M.G; LACEY, R.E; ENGLER, C.R.; RICKE, S.C. Effects of ammonia nitrogen on H_2 na CH_4 production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. **Bioresource Technology**. v. 77, p. 9-18, 2001.

UDAETA, M.E.M. ; et al. Comparação da produção de energia com Diesel e Biodiesel analisando todos os custos envolvidos (2004). Disponível em: www.agr.unicamp.br/energia/agre2004. Acesso em 16 out 2008.

UENO, Y., OTAUKA, S., MORIMOTO, M.. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v. 82, p. 194-7, 1996.

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

VAN GINKEL, S. W.; SUNG, S.; LAY, J.J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environmental Science Technology**. v. 35, p. 4726-30, 2001.

VAN GINKEL, S.; LOGAN, B., E. Inhibition of Biohydrogen Production by Undissociated Acetic and Butyric Acids. **Environmental Science Technology**. v. 39, p. 9351-9356, 2005.

VAN HAANDEL, A. C., LETTINGA, G. Tratamento Anaeróbio de Esgotos: Um Manual para Regiões de Clima Quente. Campina Grande, p.240, 1994.

VOGEL, A. I. **Análise Inorgânica Quantitativa**. 4ª edição. Editora

Guanabara. Rio de Janeiro. 1981.

YAMIN, J.A.A., GUPTA, H.N., BANSAL, B.B., SRIVASTAVA, O.N., Effect of combustion duration on the performance and emission characteristics of a sparkignition engine using hydrogen as a fuel. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 25, p. 581–589, 2000.

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

YU, H.Q.; ZHENG, X.J.; HU, Z.H.; GU, G.W. High-rate anaerobic hydrolysis and acidogenesis of sewage sludge in a modified upflow reactor. **Water Science and Technology**. v. 48, p. 69-75, 2003.

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

ZHANG, T., LIU, H., FANG, H.H.P., Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic condition. **Journal of Environmental Management**. v. 69, p. 149–156, 2003.

ZHANG, Z.P.; TAY, J.H.; SHOW, K.Y; YAN, R.; LIANG, D.T.; LEE, D.J., JIANG, W.J. Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 32, p. 185-191, 2007.

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

ZOETEMEYER, R.J; ARNOLDY, P.; COHEN, A.; BOELHOUWER, C. Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of a two-stage digestion process. **Water Research**. v. 16, p. 313–21, 1982.

ZOTOU, A., LOUKOU,Z., KARAVA, O., Method Development for the Determination of Seven Organic Acids in Wines by Reversed-Phase

High Performance Liquid Chromatography. **Chromatographia**. v. 60, p. 39-44, 2004.

ZURAWSKI, D.; MEYER, M.; STEGMANN R. **Fermentative production of biohydrogen from biowaste using digested sewage sludge as inoculum**. v. 36, Tenth International Waste Management and Landfill Symposium. Environmental Sanitary Engineering Centre. S. Margherita di Pula, Cagliari, Italy, 2005.

WANG, B.; WAN, W., WANG, J. Effect of ammonia concentration on fermentative hydrogen production by mixed cultures. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 1211-1213, 2009.

WARWEL, S.; BRÜSE, F.; DEMES, C.; KUNZ, M.; KLASS, M.R.G. Polymers and surfactants on the basis of renewable resources. **Chemosphere**. v. 43, p.39-48, 2001

WOSIACKI,G.,E CEREDA,M. P.. Valorização de resíduo de processamento de mandioca. Publicações UEPG- Ciências Exatas e da terra- Centro de Ciências Agrários e Engenharia, v. 8. p. 27-43, 2002.