

# Produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar em reatores anaeróbios operados em batelada

*Hydrogen production vinasse from the cane sugar in anaerobic reactors operated in batch*

- **Data de entrada:**  
19/08/2016
- **Data de aprovação:**  
26/07/2017

Nadjane Leite dos Santos Telles/ Elvan Nascimento dos Santos Filho/ Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim\*

DOI: 10.4322/dae.2018.015

## Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar em diferentes concentrações, utilizando fermentação natural como inóculo. Os ensaios foram realizados em réplicas em reatores anaeróbios em batelada nas concentrações 10, 20, 35 e 43 g DQO. L<sup>-1</sup> de vinhaça, denominados como R1, R2, R3 e R4 respectivamente. Observou-se que a produção acumulada de H<sub>2</sub> foi maior para concentrações crescentes de vinhaça (0,015-0,022 mmol de H<sub>2</sub>), enquanto o rendimento de H<sub>2</sub> foi reduzido com o aumento da concentração de vinhaça (1,31-0,77 mmol H<sub>2</sub>. mmol<sup>-1</sup>carboidrato). Tal comportamento ocorreu com a eficiência de consumo de carboidratos, que reduziu de 75% a 65% e com a eficiência de remoção de DQO que variou de 33% a 22%. Destaca-se que o R1 obteve melhor rendimento de H<sub>2</sub>, melhor eficiência de remoção de matéria orgânica e melhor eficiência de conversão de carboidratos, presumindo que o aumento da concentração de substrato inibiu o processo de produção de H<sub>2</sub>.

**Palavras-chave:** Rendimento. Matéria Orgânica. Produção

## Abstract

The aim of this study was to evaluate the hydrogen production from sugarcane vinasse in different concentrations, using natural fermentation as inoculum. Assays were performed in replicas in anaerobic reactors in batch on concentrations of 10, 20, 35 and 43 g COD. L<sup>-1</sup> of vinasse, referred as R1, R2, R3 and R4 respectively. It was observed that H<sub>2</sub> accumulated production was higher at increasing concentrations of vinasse (0.015-0.022 mmol H<sub>2</sub>), while H<sub>2</sub> yield was reduced with increasing vinasse concentration (1.31-0.77 mmol H<sub>2</sub>. mmol<sup>-1</sup> carbohydrate). Such behavior occurred with the efficiency of carbohydrate consumption that reduced from 75 to 65% and with the efficiency of removal of COD that ranged from 33 to 22%. It is worth noting that R1 (10g COD. L<sup>-1</sup>) obtained better H<sub>2</sub> yield, better organic matter removal efficiency and better carbohydrate conversion efficiency, assuming that increased substrate concentration inhibited the H<sub>2</sub> production process.

**Keywords:** Yield. Organic matter. Production

**Nadjane Leite dos Santos Telles** – Química Licenciada. Mestre em Energia da Biomassa na área de Biogás pela Universidade Federal de Alagoas. Técnica Laboratório/Química da Universidade Federal de Alagoas.

**Elvan Nascimento dos Santos Filho** – Médico Veterinário. Mestre em Energia da Biomassa na área de Biogás pela Universidade Federal de Alagoas. Médico Veterinário da Universidade Federal de Alagoas.

**Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim** – Doutor em Hidráulica e Saneamento. Professor da Universidade Federal de Alagoas.

\***Endereço para correspondência:** Centro de Tecnologia – Universidade Federal de Alagoas. Av. Lourival Melo Mota, s/n – Cidade Universitária – CEP 57072-900 – Maceió/AL – Brazil. E-mail: eduardo.lucena@ctec.ufal.br

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda global por energia tem crescido vertiginosamente, e cerca de 88% dessa carência é atendida até o presente momento por combustíveis fósseis (WEILAND, 2010). O petróleo e seus derivados são as principais fontes de energia usadas atualmente. A combustão desses combustíveis fósseis produz dióxido de carbono e outros gases residuais que decorrentes de seu uso excessivo causam impactos ambientais, contribuindo não só para as alterações climáticas e o aquecimento global, mas também pode promover um rápido esgotamento das fontes de energia natural (GUO et al., 2010). Outras fontes de combustíveis, como a biomassa, têm sido estudadas e desenvolvidas em busca de energia limpa e renovável.

No contexto energético, a biomassa pode ser designada como qualquer matéria orgânica proveniente de organismos vivos que pode ser convertida em energia. É uma fonte de energia renovável e potencialmente sustentável, pois o dióxido de carbono gerado pela biomassa é absorvido no processo de fotossíntese das plantas, tornando-o menos ofensivo ao meio ambiente. Entre essas fontes de biomassa estão os resíduos sólidos urbanos (RSU), resíduos agroindustriais, biomassa florestal, entre outras. Exemplos de biomassa utilizados para conversão de energia são: casca de arroz, cana-de-açúcar, milho, algas, estrume e muitos outros resíduos. Apesar do carvão e do petróleo serem igualmente provenientes de seres vivos, não são considerados biomassa, já que resultam de processos geológicos.

Em virtude da diversidade de fontes de biomassa, a utilização desses resíduos como matéria-prima para geração de energia torna-se uma atraente alternativa, pois além de preservar águas subterrâneas e superficiais, podem utilizar o biogás gerado como fonte energética e ainda contribuir para diminuição do descarte inadequado desses resíduos no meio ambiente. Embora o uso de biogás no Brasil ainda esteja limitado, a avaliação do potencial de produção de biogás e geração de

energia a partir de grandes fontes de resíduos orgânicos é importante para subsidiar novas discussões e políticas públicas (SALOMON, 2009).

Um setor que vem ganhando importância no tratamento de seus resíduos e na cogeração de energia é o sucroalcooleiro. É um dos setores que mais crescem e se desenvolvem no Brasil, sendo responsável por 3,5% do PIB nacional (LAIME et al., 2011). De acordo com CONAB (2015), o volume de cana-de-açúcar processada totalizou aproximadamente 658,80 milhões de toneladas na safra de 2013/2014, volume superior a 10,70%, em relação à safra 2012/2013, que foi de 588,92 milhões de toneladas. Segundo a NOVA CANA (2015), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de álcool.

O principal efluente gerado do processamento da cana-de-açúcar é a vinhaça, resíduo final da fabricação de álcool etílico por via fermentativa. A vinhaça se apresenta como resíduo de baixo pH, coloração marrom, podendo conter material particulado e alta presença de matéria de compostos orgânicos e inorgânicos, além de possuir três importantes componentes: nitrogênio, fósforo e o potássio (CABELLO, 2009). É caracterizada pelo alto poder poluente, cerca de cem vezes maior que os esgotos domésticos e seu alto valor fertilizante (SEARMSIRIMONGKOL et al., 2011).

No Brasil, o destino mais comum da vinhaça é a aplicação direta no solo como fertilizante da própria cana-de-açúcar, o que representa uma solução mais barata e simples do ponto de vista econômico, porém para cada litro de etanol produzido cerca de 10 – 18L de vinhaça são gerados (SILVA, 2007). Em virtude do alto teor de matéria orgânica e nutrientes, o lançamento desse grande volume de efluente de forma contínua no ambiente destaca-se pela potencialidade de danos ambientais.

Diante da questão ambiental e da necessidade energética, fontes alternativas de energia, que sejam renováveis e menos poluentes, começaram a ganhar destaque. O hidrogênio (H<sub>2</sub>) surge como

possível substituto para os combustíveis derivados do petróleo, já que possui fonte renovável e é considerado um combustível limpo. A utilização de  $H_2$  é equivalente a 3% do consumo de energia e deverá crescer significativamente nos próximos anos, por conter maior conteúdo energético e gerar apenas água na sua combustão (VAN GINKEL, et. al., 2001).

Atualmente o  $H_2$  é produzido principalmente a partir de combustíveis fósseis, biomassa e água. Cerca de 90% de  $H_2$  é produzido pelas reações de gás natural ou frações de óleo leve com vapor a altas temperaturas. Esses métodos principalmente consomem combustíveis fósseis como fonte de energia e são considerados de energia intensiva e nem sempre favoráveis ao ambiente. A produção biológica de hidrogênio utilizando microrganismos está atraindo a atenção de defensores do ambiente e do processo de economia de energia (DAS; VERZIROGLU, 2001).

Os processos biológicos apresentam como vantagem o baixo custo e a utilização de recursos energéticos renováveis que são inesgotáveis. Além disso, eles também podem utilizar diversos resíduos industriais e domésticos ricos em carboidratos como substrato, minimizando os problemas causados decorrente do descarte inadequado desse material (DAS; VERZIROGLU, 2001).

O processo de digestão anaeróbia apresenta-se como uma interessante opção de tratamento de efluentes, tanto no controle da poluição como na possibilidade de recuperação de energia (SILES et al., 2010). Atualmente, pesquisadores de todo o mundo têm dado atenção especial aos processos anaeróbios, bem como ao desenvolvimento de reatores para o tratamento de resíduos e principalmente a conversão de orgânicos em biogás (hidrogênio e metano).

Alguns estudos utilizando a vinhaça como substrato já foram desenvolvidos, e seus resultados indicam a viabilidade desse resíduo na produção de hidrogênio. Estudos recentes, como os de LAZARO (2012) e FERRAZ (2009), avaliaram a influência da concentra-

ção e temperatura respectivamente na produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar.

Nesse contexto, a pesquisa pretende contribuir com o estudo da digestão anaeróbia da vinhaça, visando ao tratamento e à utilização desse efluente em condições ambientais favoráveis, ou seja, visando à sustentabilidade (econômica, ambiental e social) na produção de açúcar e álcool.

## 2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 2.1 Substrato

O substrato utilizado como fonte de carbono foi a vinhaça resultante do processamento da cana-de-açúcar na produção de etanol, coletada em uma indústria sucroalcooleira no estado de Alagoas-Brasil. A vinhaça foi coletada na saída da coluna de destilação em galões de 20L e levada ao laboratório; amostras foram homogeneizadas e transferidas para frascos de 1L para caracterização analítica, e posteriormente os galões foram armazenados em freezers e mantidos a  $-15\text{ }^\circ\text{C}$  até seu uso como substrato na montagem dos reatores.

A caracterização analítica da vinhaça foi realizada em amostras frescas por meio de análises físico-químicas, conforme Tabela 1.

**Tabela 1:** Caracterização de amostra de vinhaça (vinhaça usada na montagem dos reatores).

Parâmetros	Resultados
PH	4,36
Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	85
Ácidos Voláteis Totais ( $\text{g. L}^{-1}$ )	4,245
Alcalinidade ( $\text{g. L}^{-1}$ )	ND
DQO ( $\text{g. L}^{-1}$ )	43,341
Fósforo ( $\text{g. L}^{-1}$ )	0,078
Carboidratos ( $\text{g. L}^{-1}$ )	14,504
Nitrogênio (NTK) ( $\text{g. L}^{-1}$ )	0,235
Sólidos Totais ( $\text{g. L}^{-1}$ )	34,090
Sólidos Voláteis Totais ( $\text{g. L}^{-1}$ )	26,350
Sólidos Fixos ( $\text{g. L}^{-1}$ )	7,740
Sulfato ( $\text{g. L}^{-1}$ )	2,405

\*ND: Não detectado

Fonte: Autora (2015)

## 2.2 Inóculo

O inóculo foi obtido pelo processo de fermentação natural (autofermentação) da vinhaça, adaptado de acordo com PENTEADO (2012). A vinhaça foi colocada em recipiente aberto, tipo balde plástico de 5L, por um período de 72h em local ventilado. Após o período de repouso, o inóculo fermentado foi utilizado nos ensaios dos reatores anaeróbios em batelada.

## 2.3 Reator

Os ensaios foram realizados em tubos de vidro, tipo Duran com volume total de 2L, volume reacional correspondente a 1L e 1L de "headspace". O Volume reacional correspondeu a uma solução composta de 10% de inóculo e 90% de substrato na DQO desejada. Os frascos foram mantidos em caixa térmica na ausência de luz e sob temperatura controlada de  $22,4 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ , durante todo o período experimental.

**Figura 1:** Reatores anaeróbios em batelada utilizados nos ensaios de produção de hidrogênio.



Para garantir a anaerobiose, foi substituído todo o ar atmosférico dos frascos por meio do borbulhamento de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) no meio líquido e no headspace por 10 min. em cada reator. Todos os ensaios foram realizados em réplicas, inclusive o ensaio do branco, que tem a finalidade de mostrar a presença de interferentes que possivelmente possam existir no ensaio. Assim, foram montados um total de 10 reatores, sendo 2 deles contendo apenas o inóculo e água destilada, o que corresponde ao branco, e os demais contendo inóculo, substrato (vinhaça) e água destilada, correspondendo a 4 DQO distintas (aproximadamente 10, 20, 35 e  $43\text{g DQO. L}^{-1}$ ). Essas concentrações foram escolhidas de acordo com os resultados apresentados na caracterização

da amostra inicial em escala crescente de DQO.  $\text{L}^{-1}$  até a DQO da vinhaça in natura. Após a preparação do volume reacional, o pH foi ajustado para valores próximos de 5,5 com adição de  $\text{NaOH } 1\text{ mol. L}^{-1}$ , sendo este um valor adequado para a produção de hidrogênio (LIN e LAY, 2004). Esse ajuste de pH visa selecionar bactérias produtoras de hidrogênio por meio do controle de pH.

Para facilitar a identificação de cada ensaio, a Tabela 2 mostra como foi montado cada reator e as siglas adotadas para sua apresentação. Quando se observou, por meio da cromatografia gasosa, a estabilização da produção de hidrogênio, encerrou-se o ensaio.

**Tabela 2:** Sigla adotada para cada ensaio realizado.

Sigla adotada		DQO <sub>teórica</sub> (g. L <sup>-1</sup> )	DQO <sub>medida</sub> (g. L <sup>-1</sup> )	pH	T(°C)
Média <sup>1</sup>	Réplica <sup>2</sup>				
Bc	Bc 1	5	5,535	5,52	23,5
	Bc 2	5	5,343	5,50	22,8
R1	R 1.1	10	10,610	5,48	22,9
	R 1.2	10	10,533	5,48	23,0
R2	R 2.1	20	20,426	5,48	23,4
	R 2.2	20	23,571	5,49	23,3
R3	R 3.1	35	33,336	5,54	22,9
	R 3.2	35	33,330	5,40	21,9
R4	R 4.1	43	43,767	5,49	22,9
	R 4.2	43	43,435	5,49	21,2

<sup>1</sup>Quando se referir à média das réplicas.

<sup>2</sup>Quando se referir a cada reator individualmente.

Fonte: Autora (2015)

## 2.4 Análises Químicas

Para fins de monitoramento, as análises das variáveis operacionais, o método utilizado para cada parâmetro e a frequência são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Variáveis analisadas, frequência e metodologia de análise.

Variáveis	Parâmetros	Frequência	Metodologia
Físico-química	Carboidratos (g.L <sup>-1</sup> )	2 vezes por semana	Dubois et al (1956)
	DQO (g.L <sup>-1</sup> )	2 vezes por semana	
	pH	Inicial e final	
	Temperatura (°C)	3 vezes por semana	
	Ácidos Voláteis Totais (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	Standard Methods (1998)
	Alcalinidade (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
	Fósforo (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
	Nitrogênio (NTK)(g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
	Sólidos Totais (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
	Sólidos Voláteis Totais (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
	Sólidos Fixos (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização	
Sulfato (g.L <sup>-1</sup> )	Caracterização		
Cromatografia Gasosa	Composição do Biogás	3 vezes por semana	MAINTINGUER (2008)
	Ácidos Orgânicos Voláteis	Inicial e final	
	Álcoois	Inicial e final	

Fonte: Autora (2015)

## 2.5 Ajuste dos dados experimentais

Para resumir dados quantitativos aproximadamente simétricos, calculou-se a média aritmética das réplicas dos reatores como uma medida de locação. E para mostrar o quanto de variação ou dispersão existe em relação à média foram utilizados o desvio padrão ( $\sigma$ ) e o coeficiente de variação (CV) como critério para composição dessas médias. Geralmente, os pesquisado-

res utilizam o coeficiente de variação, definido como desvio padrão em porcentagem da média, como dado estatístico na avaliação da precisão dos experimentos.

Após a composição da média, os valores de produção de hidrogênio (H<sub>2</sub>) foram ajustados a dois modelos de regressão não linear, que neste estudo serão representados pelas funções sigmoidais de Gompertz e Logística, sendo estes os mais usuais

para produção de hidrogênio. Assim, a máxima produção de hidrogênio foi estimada por meio do ponto de inflexão – ponto no qual ocorre a taxa máxima de variação da função – dos modelos de regressão não linear ajustados aos dados observados. O software Origin 8.0 foi utilizado para ajustar os dados ao modelo.

De acordo com PASSOS (2010), a soma dos quadrados dos resíduos pode ser utilizada como critério na escolha do melhor ajuste. Portanto, a sigmoide que melhor se ajustou aos dados foi a de Gompertz, que segundo LAZARO (2012) é o modelo ideal para descrever a produção de biogás em ensaio em batelada.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Produção de Hidrogênio

A produção de hidrogênio foi acompanhada por 69 dias até atingir a estabilidade em reator anaeróbico em batelada com 4 diferentes concentrações de vinhaça da cana-de-açúcar. Os dados relativos a consumo do substrato, composição dos metabólitos solúveis produzidos (SMP) e produção de biogás serão apresentados a seguir.

Não houve controle do pH ao longo do experimento. O pH inicial de cada reator foi ajustado com adição de NaOH 1 mol. L<sup>-1</sup> para valores próximos a 5,5, sendo este um valor adequado para produção de hidrogênio (LIN e LAY, 2004). A Tabela 4 apresenta os valores da média das réplicas de pH inicial e final dos reatores.

**Tabela 4:** pH inicial e final da média das réplicas dos reatores

Reatores	pH inicial	pH final
R1	5,48	4,58
R2	5,49	4,50
R3	5,47	4,57
R4	5,49	4,44

Fonte: Autora (2015)

Foi observada uma redução no pH final de cada reator, como mostra a Tabela 4, o que indica a geração de ácidos orgânicos, como já era esperado. A produção de hidrogênio ocorre na etapa acidogênica do processo de digestão anaeróbia, assim a matéria orgânica é convertida em hidrogênio, ácidos graxos voláteis de cadeia curta e gás carbônico, ocasionando uma redução de pH. Os dados indicam que a variação do pH está dentro de uma faixa compatível com a produção de hidrogênio de acordo com a literatura (LAZARO, 2012; SANTOS, 2014).

#### 3.2 DQO e carboidrato do substrato

Neste estudo foi utilizado substrato que apresentou DQO de 43,767 g. L<sup>-1</sup> (in natura) e carboidratos totais de 14,504 g. L<sup>-1</sup>. A partir deste, foram adotadas 4 DQO distintas (aproximadamente 10g. L<sup>-1</sup>, 20g. L<sup>-1</sup>, 35g. L<sup>-1</sup> e 43g. L<sup>-1</sup>), com intervalo de cerca de 10 g. L<sup>-1</sup> entre cada um deles até a concentração da DQO in natura, e os reatores foram monitorados durante todo o experimento.

Por meio da determinação da DQO<sub>inicial</sub> e DQO<sub>final</sub>, verificou-se a eficiência de remoção da matéria orgânica em cada reator. A eficiência de remoção da DQO variou aproximadamente entre 22% a 33% (Tabela 5). LAZARO (2012) obteve em seu estudo utilizando a vinhaça como substrato uma remoção entre 6% e 11% para ensaios a 37 °C e entre 0% e 11% para os ensaios a 55 °C. Importante ressaltar que a remoção de DQO não é completamente reduzida no processo de produção de H<sub>2</sub>, sendo necessárias etapas posteriores da digestão anaeróbia para diminuição da matéria orgânica. Segundo SÁ (2013), estima-se que a redução de DQO nesse estágio seja inferior a 20%. A Tabela 5 apresenta as concentrações iniciais e finais de DQO e carboidratos, além da eficiência de remoção de DQO e eficiência de consumo de carboidratos totais; todos os resultados representam a média aritmética das réplicas dos reatores.

**Tabela 5:** Concentrações iniciais e finais de DQO e carboidratos totais, eficiência de remoção de DQO e eficiência de consumo de carboidratos totais da média das réplicas dos reatores.

Reatores		R1	R2	R3	R4
DQO	Inicial (g.L-1)	10,571	21,999	33,337	43,767
	Final (g.L-1)	7,017	16,980	23,888	32,161
	Eficiência remoção (%)	33,62	22,81	28,37	26,52
Carboidratos totais	Inicial (g.L-1)	5,316	9,593	12,143	14,421
	Final (g.L-1)	1,302	2,215	3,803	4,936
	Eficiência consumo (%)	75,15	76,91	68,68	65,77

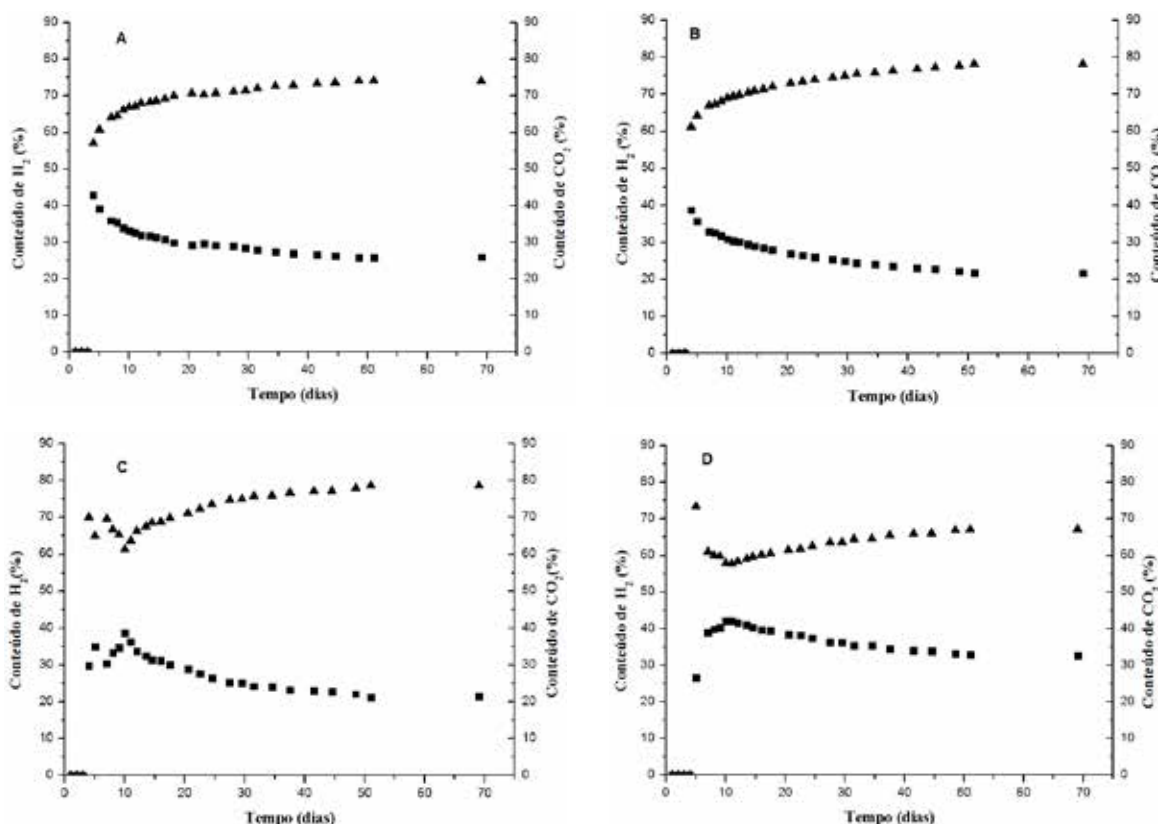
Fonte: Autora (2015).

Foi observado que o consumo dos carboidratos (Tabela 5) também se reduziu com o aumento da concentração do substrato (75% a 65%); possivelmente os microrganismos presentes não conseguiram degradar todo o carboidrato. Podemos prever que esse substrato ainda teria capacidade de produção de hidrogênio se o mesmo fosse transferido para outro reator. LAZARO (2012) obteve consumo de carboidratos de 79% a 87%.

### 3.3 Composição do Biogás

Foram observados conteúdos de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> no biogás, não sendo detectada a presença de metano em nenhum reator durante todo o experimento. A ausência de metano pode ser atribuída ao pH em condições acidogênicas, o que inibe a atividade metanogênica responsável pelo consumo de hidrogênio.

**Figura 2:** Variação temporal do conteúdo de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> no biogás. (A) R1, (B) R2, (C) R3 e (D) R4. (■) % H<sub>2</sub> e (▲) % CO<sub>2</sub>.



Observou-se que o conteúdo do biogás não variou muito no decorrer do experimento. O R1 foi o que apresentou maior conteúdo médio de  $H_2$ , em torno de 34%, R2 de 30%, R3 de 25% e R4 de 29% (Figura 2). Vale ressaltar que, de acordo com as rotas metabólicas envolvidas na degradação do substrato, a porcentagem máxima de  $H_2$  é de 66%, utilizando a rota do ácido acético.

### 3.4 Produção acumulada de hidrogênio ( $H_2$ )

De acordo com os resultados do desvio padrão ( $\sigma$ ) e do coeficiente de variação (CV) (Tabela 6),

observou-se que o R1 e R2 apresentaram menor variabilidade dos dados em relação à média. Considerando  $CV \leq 20\%$  para os dados apresentados, pode-se dizer que as médias representam de maneira significativa a produção acumulada de hidrogênio das réplicas dos reatores. Assim, para análise da produção acumulada de hidrogênio foi utilizada a média da produção de cada reator; porém para o R4 foi utilizado apenas o resultado de um reator, pois sua réplica não produziu hidrogênio em nenhum momento do experimento, supondo que houve uma contaminação no mesmo.

**Tabela 6:** Produção acumulada de  $H_2$ , média da produção acumulada, desvio padrão e coeficiente de variação dos reatores.

Reatores		Produção acumulada $H_2$ (mmol)	Média produção acumulada $H_2$ (mmol)	Desvio padrão ( $\sigma$ )	CV (%)
R1	R1.1	0,01525	0,01589	0,0009	5,66
	R1.2	0,01653			
R2	R2.1	0,02283	0,02148	0,00191	8,88
	R2.2	0,02013			
R3	R3.1	0,02350	0,02173	0,00251	11,56
	R3.2	0,01995			
R4	R4.1	0,02328	0,02328	-	-
	R4.2	0,00000			

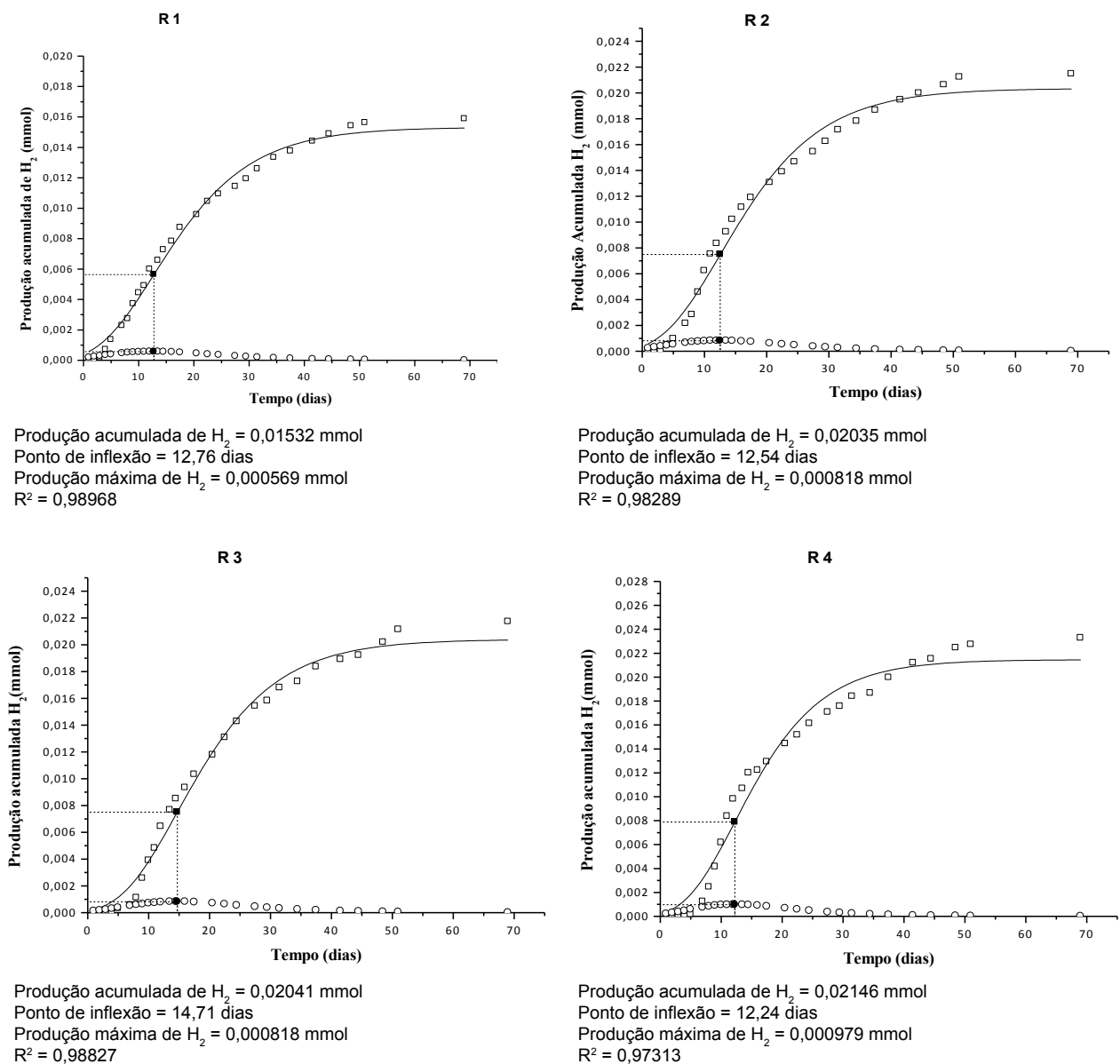
Fonte: Autora (2015)

Após análise estatística das réplicas, os dados de produção acumulada de hidrogênio foram ajustados ao modelo de Gompertz (Figura 3). Não foi observada a fase lag (tempo necessário para a co-

munidade microbiana se adaptar e iniciar a produção de hidrogênio) em nenhum reator, presumindo que houve uma adaptação rápida do consórcio microbiano para produção de hidrogênio.



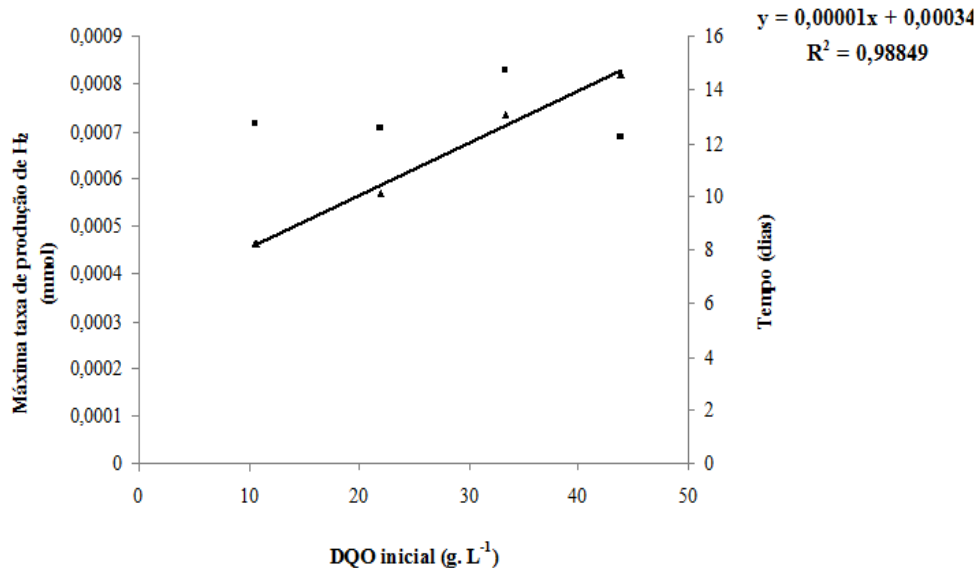
**Figura 3:** Produção temporal de hidrogênio por reator, ajustado ao modelo de Gompertz. (□) Produção acumulada de H<sub>2</sub>; (○) Produção máxima; (-) sigmóide ajustado ao modelo de Gompertz; (■) Ponto de inflexão e (●) Produção máxima de H<sub>2</sub>.



A produção de hidrogênio acumulada aumentou aproximadamente de 0,015 mmol para 0,022 mmol de H<sub>2</sub> com o aumento da concentração de substrato de 10 – 43 g DQO. L<sup>-1</sup> (Figura 4). Não existe um consenso de qual seria uma concentração ideal para aumentar a produção e o rendimento da produção biológica de hidrogênio, porém sabe-se que uma concentração

elevada de substrato pode inibir o processo, em virtude da alta quantidade de matéria orgânica, metais pesados, entre outros compostos. Além disso, o excesso da concentração do substrato pode ocasionar o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis, com isso diminuição do pH e consequentemente inibir o crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio.

**Figura 4:** Relação entre produção máxima de hidrogênio e o tempo. (■) Tempo da máxima produção de H<sub>2</sub>; (▲) Máxima produção de H<sub>2</sub> e (-) Reta da equação do tempo.

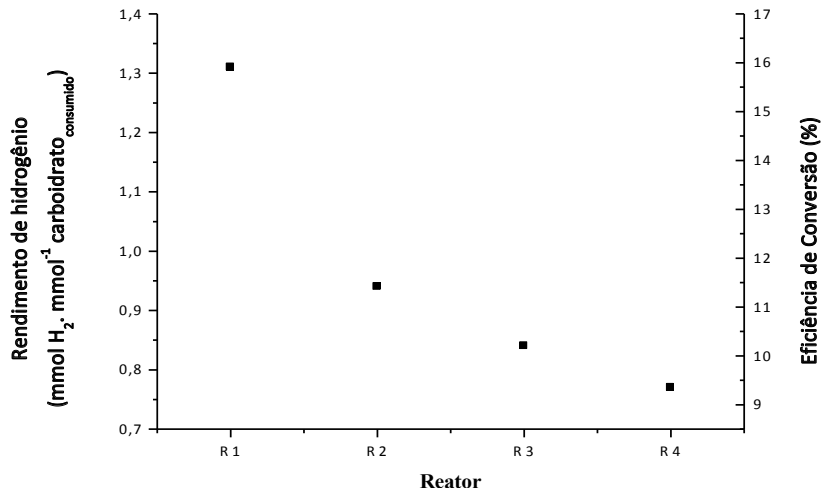


A Figura 4 também mostra que não houve variação significativa no tempo, representado pelo ponto de inflexão ( $12,65 \pm 1,1$ ), cujo coeficiente de variação foi de 8,7% entre os reatores, presumindo que independentemente da concentração do substrato a produção máxima de H<sub>2</sub> se dará no mesmo período. Para corroborar, a equação cujo  $R^2 = 0,98849$  mostra que realmente não há variação de tempo.

Já o rendimento de hidrogênio diminuiu com o aumento da concentração do substrato. O rendimento é um critério importante na avaliação do processo de produção biológica de hidrogênio. Esse critério consiste no número de mols de H<sub>2</sub> produzidos em função da quantidade de carboi-

dratos totais consumidos. Foram obtidos rendimentos menores ( $1,31$  a  $0,77$  mmol H<sub>2</sub>. mmol<sup>-1</sup> de carboidrato) com o aumento da concentração de carboidratos (Figura 5). Provavelmente, pode ter ocorrido inibição do substrato ou limitações cinéticas para que ocorresse essa redução no rendimento. Os autores VAN GINKEL (2010), CHEN (2010), também observaram que houve aumento na taxa de produção de hidrogênio para concentrações crescentes de substrato. Todavia, com relação ao rendimento houve uma diminuição para concentrações mais elevadas. Os autores justificaram o baixo rendimento pela sobrecarga da concentração de substrato, em que houve limitação na conversão de glicose.

**Figura 5:** Relação entre rendimento de hidrogênio, consumo de carboidratos totais e eficiência de conversão por reator.



### 3.5 Composição dos produtos solúveis

A Tabela (7) apresenta os metabólitos solúveis produzidos durante o experimento em cada reator. Em todos os ensaios foi observada a presença de ácido acético (HAc), ácido butírico (HBu), ácido

propiônico (HPr) e etanol (EtOH) no início do experimento. Enquanto na amostra final foi observada a presença dos mesmos ácidos, nenhuma amostra apresentou etanol em sua composição final, ou seja, todo o etanol foi consumido durante o ensaio.

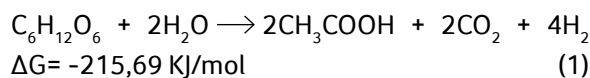
**Tabela 7:** Composição dos metabólitos solúveis produzidos em cada reator.

Reatores		HAc (mmol. L <sup>-1</sup> )	HBu (mmol. L <sup>-1</sup> )	HPr (mmol. L <sup>-1</sup> )	EtOH (mmol. L <sup>-1</sup> )
R1	Inicial	1,113	0,110	0,277	8,040
	Final	2,530	0,108	0,374	0
R2	Inicial	1,932	0,110	0,276	20,854
	Final	9,536	3,000	0,279	0
R3	Inicial	3,604	0,112	0,280	30,745
	Final	5,217	4,054	0,282	0
R4	Inicial	2,284	0,119	0,278	11,956
	Final	3,139	0,466	0,696	0

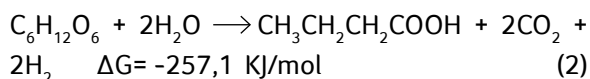
Fonte: Autora (2015)

A produção de hidrogênio a partir de carboidratos ocorre quando há a produção de acetato e butirato (Reações 1 e 2, respectivamente), enquanto a produção de etanol resulta na não produção de H<sub>2</sub> (KOSKINEN, 2007). Sendo que o rendimento de hidrogênio varia substancialmente de traços a pequenas quantidades dependendo dos microrganismos presentes.

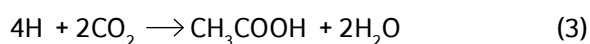
Produção de hidrogênio e ácido acético a partir da glicose



Produção de hidrogênio e ácido butírico a partir da glicose:

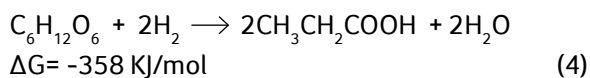


A produção de ácido acético e ácido butírico foi superior à do ácido propiônico em todos os ensaios. O ácido acético apresentou maior concentração no R2 (9,536 mmol. L<sup>-1</sup> HAc.). Embora o R2 tenha apresentado maior concentração de ácido acético, isso não culminou em um maior rendimento de hidrogênio. Isso porque o acúmulo desse metabólito não implica necessariamente em produção de hidrogênio, visto que algumas espécies microbianas, como *Clostridium aceticum*, podem converter dióxido de carbono e hidrogênio em ácido acético (Reação 3).



O ácido butírico apresentou concentração máxima de (4,054 mmol. L<sup>-1</sup> HBU.) no R3. A produção de ácido propiônico foi observada em maior quantidade no final do experimento, quando a produção de hidrogênio já se encontrava estabilizada. O ácido propiônico obteve uma maior produção no R4 (0,696 mmol. L<sup>-1</sup> HPr.), justificado pela diminuição dos ácidos acético e butírico e pelo menor rendimento de hidrogênio. Ressalta-se ainda que a produção de ácido propiônico é desfavorável onde não há produção de H<sub>2</sub>, mas sim consumo de 2 mols de H<sub>2</sub> (Reação 4).

Produção de ácido propiônico a partir da glicose:



Vale salientar que a produção de hidrogênio pela fermentação do ácido acético e butírico ocorre em pH 5 – 6 e observou-se que o pH dos reatores foi acidificando, provavelmente em virtude da geração dos ácidos orgânicos, sendo comprovado pela redução de pH apresentado na Tabela 5. ANTONOPOULOU et al., (2011), afirma que a seleção de pH apropriado é determinante para a produção de hidrogênio.

### 3.6 Balanço de Carbono

Para determinar o balanço de carbono, foram utilizadas as relações estequiométricas de oxidação da glicose, ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol para calcular a DQO<sub>teórica</sub>. A DQO<sub>teórica</sub> total é resultado do somatório da DQO<sub>teórica</sub> dos metabólitos solúveis produzidos e da DQO<sub>teórica</sub> do carboidrato total.

A DQO<sub>teórica</sub> foi menor que a DQO<sub>medida</sub> em todos os reatores (Tabela 8), tanto no início como no final do experimento, o que indica a presença de outros metabólitos solúveis não identificados na análise cromatográfica realizada, além da presença da biomassa que não foi quantificada e por isso não são considerados no cálculo da DQO<sub>teórica</sub>, mas estão presentes e são responsáveis pela DQO<sub>medida</sub>. De acordo com WILKIE et al. (2000), os compostos fenólicos (ácido tânico e ácido húmico), além de outros, podem estar presentes na vinhaça.

Por meio dos dados verificou-se a porcentagem de DQO<sub>teórica</sub> em relação à DQO<sub>medida</sub> no início do experimento, em que variou de 39 a 62% . Já no final do experimento essa variação foi de 21% a 34%. O R1 foi o que apresentou maior relação DQO<sub>teórica</sub> / DQO<sub>medida</sub> em porcentagem, ou seja, o resultado da DQO<sub>teórica</sub> foi mais próximo da DQO<sub>medida</sub>, isso porque proporcionalmente a quantidade de matéria orgânica foi menor neste reator.

**Tabela 8:** Balanço de carbono: DQO inicial e final dos metabólitos, dos carboidratos totais,  $DQO_{teórica}$  (DQOt) e  $DQO_{medida}$  ( $DQO_m$ ) inicial e final e a relação  $DQO_t/DQO_m$ .

	Reatores							
	R1		R2		R3		R4	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
$DQO_{HAC}$ (g. L <sup>-1</sup> )	0,071	0,162	0,124	0,611	0,231	0,334	0,661	0,935
$DQO_{HBU}$ (g. L <sup>-1</sup> )	0,018	0,017	0,018	0,480	0,018	0,649	0,019	0,304
$DQO_{HBU}$ (g. L <sup>-1</sup> )	0,031	0,042	0,031	0,169	0,031	0,032	0,031	0,078
$DQO_{EtOH}$ (g. L <sup>-1</sup> )	0,772	0,000	2,002	0,000	2,952	0,000	1,147	0,000
$DQO_{carboidratos}$ (g. L <sup>-1</sup> )	5,673	1,410	10,236	2,363	12,956	4,058	15,388	6,334
$DQO_t$ (g. L <sup>-1</sup> )	6,565	1,631	12,410	3,623	16,188	5,072	17,417	7,650
$DQO_m$ (g. L <sup>-1</sup> )	10,571	7,017	21,999	16,980	33,337	23,888	43,767	32,161
$DQO_t - DQO_m$ (g. L <sup>-1</sup> )	4,007	5,386	9,589	13,357	17,149	18,815	26,350	24,511
$DQO_t/DQO_m$ %	62,10	23,24	56,41	21,33	48,56	21,23	39,80	23,79

Fonte: Autora (2015)

#### 4 CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos e apresentados conclui-se que é possível produzir hidrogênio utilizando vinhaça de cana-de-açúcar como substrato em reatores anaeróbico em batelada.

A fermentação natural se mostrou adequada para a obtenção do consórcio microbiano. Além disso, não foi detectada produção de metano nos ensaios realizados, o que significa a não ocorrência do processo de metanogênese e reforça a seleção microbiana em prol da comunidade produtora de H<sub>2</sub>. Outro fato importante é que não foi observada a fase *lag* em nenhum ensaio, presumindo-se que houve uma rápida adaptação do consórcio microbiano para a produção de H<sub>2</sub>.

Observou-se que a concentração de substrato pode influenciar diretamente na produção de H<sub>2</sub> em reatores alimentados com vinhaça de cana-de-açúcar, pois apesar de a produção acumulada de H<sub>2</sub> ter sido crescente em todo o experimento, o rendimento de produção de H<sub>2</sub> foi reduzido

com o aumento da concentração de carboidratos. Destaca-se que o R1 (10g DQO. L<sup>-1</sup>) obteve melhor rendimento de H<sub>2</sub>, melhor eficiência de remoção de matéria orgânica e melhor eficiência de conversão de carboidratos, presumindo que o aumento da concentração de substrato inibiu o processo de produção de H<sub>2</sub>.

Em todos os ensaios foram obtidas concentrações superiores de ácido acético e ácido butírico e concentrações menores de ácido propiônico, e não foi detectada produção de etanol em nenhum ensaio. Esse fato demonstra que a produção de hidrogênio ocorreu pela rota metabólica que mais favorece a formação de H<sub>2</sub>.

Nesse sentido, salienta-se a importância de monitoramento de variáveis que possam influenciar diretamente o rendimento de H<sub>2</sub>, tais como pH, metabólitos solúveis, qualidade do inóculo (visando selecionar consórcios microbianos produtores de H<sub>2</sub> com altos rendimentos).

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, E.L.C. **Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leite fluidificado**. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica e saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- AMORIM, E.L.C.; BARROS, A.R.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SILVA, E.L. Anaerobic Fluidized Bed Reactor with Expanded Clay as Support for Hydrogen Production thorough Dark Fermentation of Glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p.783-790, 2009.
- ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H. N.; SKUADAS, I. V.; LYBERATOS, G. Effect of substrate concentration on hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 4843-4851, 2011.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th. edn. American Public Health Association**. Washington, DC: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environmental Federation; 1998.
- CABELLO, P. E.; SCOGNAMIGLIO, F. P.; TERÁN, F. J. C. Tratamento de vinhaça em reator anaeróbico de leite fluidizado. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n. 1, p. 321-338, jan./abr. 2009.
- CHEN, C. C., LIN, C. Y., CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 57, p. 56-64, 2001.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>>, Acesso em: 29 jul.2015.
- DAS, D.; VERZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **Int J Hydrogen Energy**, v. 26, p. 13-28, 2001.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- FERRAZ Jr., A. D. N. **Digestão anaeróbica da vinhaça da cana-de-açúcar em reator acidogênico de leite fixo seguido de reator metanogênico de manta de lodo**. 2013. 162 f. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica e saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.
- FERRAZ, F.M.; BRUNI, A.T.; BIANCHI, V.L.D. Performance of an anaerobic baffled reactor (ABR) in treatment of cassava wastewater. **Brazilian Journal of Microbiology**, v 40, p. 48-53, 2009.
- GUO, X.M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRÈRE, H.; STEYER, J. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **Science Direct. Journal of Hydrogen Energy**, p. 1-14. 2010.
- LAIME, E. M. O.; FERNANDES, P. D. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista Trópica-ciências Agrárias e Biológicas**. v. 5, n. 3, p. 16. 2011.
- LAZARO, C. Z. **Influência da concentração de substrato e da temperatura na produção de hidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar**. 2012. 157 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**. v.29, p.275-281, 2004.
- MAINTINGUER, S.I. **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio bacteriano utilizado em reator anaeróbico em batelada aplicado à produção de hidrogênio**. 2009. 167f. Tese (Doutorado em engenharia) - Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- NOVA CANA. Disponível em: <http://www.novacana.com/etanol/sobre-etanol/>>, Acesso em: 3 Ago.2015.
- PASSOS, J. R. S.; BISCARO, A. F. V.; FLORENTINO, H. O. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica. **AME. Rev. Bras. Biom.**, v.28, n.1, p. 141-150, 2010.
- PENTEADO, E. D. **Influência da origem e do pré-tratamento do inóculo na produção de hidrogênio a partir de águas residuárias em biorreator**. 2012. 143 f. Dissertação (Mestrado em engenharia hidráulica e saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
- SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; LEITÃO, V. S. F. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbica – aspectos gerais e possibilidades de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, vol. 37 n. 5 São Paulo, 2014.
- SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. **Bio-mass and Bioenergy**, v. 33, p.1101-1107, 2009.
- SANTOS, S. C. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leite fluidificado termofílico com vinhaça como substrato orgânico**. 2014. 163 f. Tese (Doutorado em engenharia hidráulica e saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- SEARMSIRIMONGKOL, P.; RANGSUNVIGT, P.; LEETHOCHAVALIT, M.; CHADEJ, S. Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using anaerobic sequencing batch reactor. **Int J Hydrogen Energy**, n. 36, p. 12810-12821. 2011.
- SILES, J. A.; BREKELMANS, M. A.; MARTÍN, M.A., CHICA, A. F.; MARTÍN, A. Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 9040-9048. 2010.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, C. L. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v.11, n.1, p.108-114, 2007.

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

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied Microbiology Biotechnology**, n. 85, p. 849-860. 2010.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, R. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v.19, p 63-102, 2000.