

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

LILIANE FOLLI TRINDADE

ESTUDOS CINÉTICOS DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE
LICOR DE PENTOSE GERADO NO PRÉ-TRATAMENTO
HIDROTÉRMICO DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR

São Carlos

2017

LILIANE FOLLI TRINDADE

ESTUDOS CINÉTICOS DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE
LICOR DE PENTOSE GERADO NO PRÉ-TRATAMENTO
HIDROTÉRMICO DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Monografia apresentada ao Curso de
Engenharia Ambiental, da Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Engenheiro Ambiental

Orientador: Prof^a. MSc. Ana Flávia Vieira
Pontes de Moraes

São Carlos

2017

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

T 832e Trindade, Liliane Folli

Estudos cinéticos da produção de hidrogênio a partir de licor de pentoses gerado no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço da cana-de-açúcar / Liliane Folli Trindade; orientadora Ana Flávia Vieira Pontes de Moraes. São Carlos, 2017.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2017.

1. Etanol de segunda geração. 2. Licor de pentoses. 3. Tratamento anaeróbio. 4. Ensaio em batelada. 5. Produção de hidrogênio. 6. Biogás. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Liliane Folli Trindade**

Data da Defesa: 20/11/2017

Comissão Julgadora:

Resultado:

Ana Flávia Vieira Pontes de Moraes (Orientador(a))

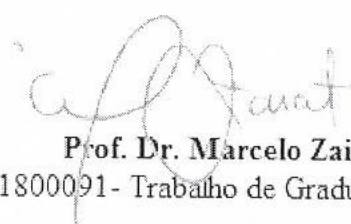
Aprovada

Lucas Tadeu Fues

Aprovado

Moacir Messias de Araújo Júnior

APROVADO



Prof. Dr. Marcelo Zaiat
Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus que sempre esteve junto de mim orientando as minhas escolhas, e aos meus pais e avós, por todo carinho, atenção e suporte durante toda a minha existência. Se cheguei até aqui, foi por ter vocês ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças para seguir em busca dos meus sonhos mesmo quando tudo parecia indicar o caminho contrário.

Aos meus pais, que acreditaram em mim mesmo quando nem eu mesmo mais acreditava. Mãe, obrigada por todo esforço para que eu conseguisse alcançar aquilo que tanto sonhei. Ao meu Tio, por ter me mostrado desde pequena que não existem limites para aqueles que tem um objetivo claro e de quem a saudade é constante. Aos meus avós maternos, que pela simples existência me fazem querer ser melhor a cada dia. Aos meus avós paternos que por meio de sua simplicidade me fizeram persistir. Aos meus irmãos que ao dizerem que a próxima série seria muito mais difícil me fizeram estudar cada vez mais.

Aos meus Professores que me mostraram as portas que o conhecimento pode abrir: Tia Cláudia, Silvana, Prof.^a Ângela, Cida, Vera, Fábio, Schenk, Janete, Evaldo, Valéria, Luiz Daniel, Wiclef, Bernadete, Vitor, Reali, Schalch e Zaiat, o meu muito obrigada!

À minha orientadora, Ana Flávia, pelo carinho, paciência, dedicação, doçura, sabedoria, organização e comprometimento. Obrigada por ter me aceito como aluna de IC e ao meu convite para me guiar neste trabalho, jamais cansarei de dizer que eu dificilmente poderia ter feito melhor escolha.

Ao meu eterno orientador, Professor Marcelo Zaiat que ultrapassou os limites da sala de aula e me passou ensinamentos para a vida. Obrigada por, junto com a Ana Flávia, ter me aceito e me mostrar que existe muito mais no mundo do que podemos imaginar.

Aos amigos que conquistei no laboratório. Guilherme, obrigada pelas conversas, paciência em discutir os resultados e conselhos. Inês, obrigada pela doçura e ensinamentos sobre como obter as melhores curvas de hidrogênio. Rachel, obrigada pelas discussões de livros entre bateladas. Carol Gil, Carolzinha, obrigada pelas conversas durante a alimentação dos reatores. Rodrigo, obrigada pela paciência comigo e principalmente com o “Frank” e seus vazamentos. Lucas, não agradeço aos sustos, mas obrigada pelas dúvidas que foram resolvidas. Janja, obrigada por todas explicações e suporte nas análises cromatográficas. Carol, obrigada pelas explicações nas análises químicas assim como pelas várias trocas de bomba e paciência. Enfim, a todos do LPB, por terem contribuído de alguma maneira com o meu aprendizado e convívio no laboratório.

À ambiental pela receptividade, em especial, aos lindinhos da AMB010 que me adotaram e fizeram dos meus dias cada vez melhores: Aline, Ava, Gabi, Jaque, Jé, Laurinha, Mimi, Plets, Santos e TPM, o meu muito obrigada!

À Amb011, por ter mostrado que misturar mais de 40 pessoas totalmente diferentes pode dar algo muito bom. Obrigada pela companhia seja nas aulas de cálculo, nas noites de estudo, nas festas, nos churrascos, nos TUSCAS ou simplesmente no dia-a-dia.

Aos amigos que a faculdade transformou em família. Blockinha, obrigada pela eficiência e praticidade. Carolinda, obrigada pelas conversas, resumos, explicações, festas, risadas, favores, mas, principalmente pela amizade durante esses anos e com certeza pelos próximos. Japa, obrigada pelas noites de estudo e pela companhia no dia-a-dia, que sua vida seja maravilhosa no Japão, mas que você não esqueça dos brasileiros malucos daqui. Jovem, obrigada por ser minha referência em apresentações, pelos conselhos e noites de projeto. Kimy, minha Bru preferida, não sei nem por onde começar, muito menos por onde terminar, apenas saiba que nunca imaginei que a companheira de trote se tornaria uma das amigas que eu mais valorizaria na vida, te amo. Mariê, obrigada por me ouvir, pelas noites não dormidas e dias no laboratório e sobretudo, por ser quem és: única, te amo. Paulito, apesar de ter nos mandado trancar cálculo e não ter nos dado a honra devida em seu TCC, eu agradeço pela sua amizade, pelo seu jeito perdido e diferente de nos mostrar carinho, mas que fazem de você uma pessoa essencial na nossa família São Carlense.

Aos funcionários da ambiental: Fernando, Juliana, Silvana, os guardinhas e as moças da limpeza por fazerem dos nossos dia-a-dia mais fáceis.

À São Carlos, pelos pores do sol mais lindos que já vi e por ter me presenteado com pessoas maravilhosas que levarei para a vida toda: Renatinha, Neyma, Simone, Ju e Guedes, com certeza toda a minha experiência aqui não teria sido a mesma sem vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

Enfim, a todos que, de alguma maneira, contribuíram para minha formação e para o resultado dela aqui apresentado, o meu muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Seja a mudança que gostaria de ver no mundo”

Mahatma Gandhi (1869 – 1948)

RESUMO

TRINDADE, L.F. Estudos cinéticos da produção de hidrogênio a partir de licor de pentoses gerado no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço da cana-de-açúcar. 2017. 95 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

O presente trabalho buscou avaliar, por meio de estudos cinéticos, a melhor condição para produção de hidrogênio a partir de licor de pentoses gerado no pré-tratamento hidrotérmico da cana-de-açúcar. Os estudos foram conduzidos em reatores em batelada e divididos em duas etapas. Estas eram precedidas por uma etapa de preparação com geração de biomassa por meio de processo de fermentação natural seguido de recirculação e operação de reator anaeróbio de fluxo ascendente. A primeira etapa constituía da avaliação da produção de hidrogênio, das concentrações de carboidratos totais inicial e final e a variação apresentada pelo pH em triplicatas de reatores em batelada com concentrações de licor de pentoses em volume de 10%, 20%, 30%, 40% e 50% valores de pH de 4,5, 5,5 e 6,5. A segunda etapa constituiu-se da reprodução da melhor e pior condição dentro do mesmo pH obtida na primeira fase para análise dos fatores que influenciaram a produção de biogás obtida como pH, carboidratos totais, ácidos e DQO.

A melhor condição foi determinada como sendo a de pH 5,5 com concentração de carboidratos totais no licor de pentoses de $7,11 \text{ g.L}^{-1}$ em que se obteve uma produção de hidrogênio acumulada de $980,48 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator. A pior condição dentro deste mesmo pH, 5,5, foi a com concentração de carboidratos totais de $11,85 \text{ g.L}^{-1}$ reator e produção de hidrogênio acumulada de $1,43 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator. Em relação à segunda etapa, não foi possível reproduzir os mesmos resultados encontrados na primeira etapa uma vez que a variação natural da qualidade do licor de pentoses apresentou diferenças. Assim, a produção de hidrogênio para a concentração de carboidratos de $8,82 \text{ g.L}^{-1}$ reator foi de aproximadamente $100 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator e para concentração de carboidratos de $14,7 \text{ g.L}^{-1}$ reator foi de $1 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator. Nesta segunda etapa, verificou-se a influência dos ácidos produzidos, em especial o láctico nos resultados da produção de hidrogênio.

Palavras-chave: 1. Etanol de segunda geração 2. Licor de pentoses 3. Processo anaeróbico 4. Reator em Bateladas 5. Produção de hidrogênio 6. Biogás.

ABSTRACT

TRINDADE, L.F. Chemical kinetics studies of hydrogen production using pentoses liquor generated from hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse. 2017. 95 p. Dissertation (Final Year Project Dissertation) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

This research aims to evaluate through chemical kinetics analysis the best condition to produce hydrogen using pentoses liquor generated from sugarcane bagasse's hydrothermal pretreatment. The experiment was conducted in two stages preceded by a preliminary phase in order to produce biomass to inoculate the batch reactors. The first stage aimed to indicate the best pH and volume concentration to produce hydrogen. It was analyzed the pH of 4,5, 5,5 e 6,5 and the volume concentration of 10%, 20%, 30%, 40% e 50% among these pHs. The second stage aimed to reproduce the best condition reached in the first stage and the worst condition inside the same pH and evaluate what influenced hydrogen production such as pH, carbohydrate, acids and COD.

The optimum condition to produce hydrogen using pentoses liquor was determined as pH 5,5, carbohydrate concentration of 7,11 g.L⁻¹ where an accumulated production of 980,48 mL H₂.L⁻¹ reactor was achieved. The unfavorable condition among this same pH and pentoses liquor concentration was pointed out as that with carbohydrate concentration of 11,85 g.L⁻¹. In this condition an accumulated production of 1,43 mL H₂.L⁻¹ reactor was achieved. In the second stage, the reproduction of the same conditions of the first one was not able to be achieved. This happened because of the differences such as carbohydrate concentration of pentoses liquor. Therefore, in the second stage the carbohydrate concentration of pentoses liquor was higher than that liquor used in the first phase. The carbohydrate concentration of 8,82 g.L⁻¹ had an accumulated production of 100 mL H₂.L⁻¹ reactor and the carbohydrate concentration of 14,7 g.L⁻¹ had an accumulated production of 1 mL H₂.L⁻¹ reactor. Among this second stage was possible to notice the influence of acids in hydrogen production, specially the influence of latic acid.

Keywords: 1. Second generation ethanol 2. Pentoses liquor 3. Anaerobic process 4. Batch reactor, 5. Hydrogen production 6. Biogas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1– Esquema da produção de etanol de segunda geração na Usina BioFlex1.....	25
Figura 2 – Pontos de geração e consumo de hidrogênio na produção fermentativa	29
Figura 3 – Fases do crescimento microbiano	31
Figura 4 Curva típica de crescimento celular	32
Figura 5 – Exemplos de crescimento diáuxico	33
Figura 6 – Esquema do reator anaeróbico Fonte: Adaptado de Ferraz Júnior, 2013.	35
Figura 7 – Meio de alimentação sendo inoculado por meio do processo de fermentação natural dentro da câmara de reatores.	37
Figura 8 – Reator anaeróbico alimentado com solução de sacarose a 10% de licor de pentoses.	39
Figura 9 – Sistema em batelada armazenado em câmara aquecida.....	41
Figura 10 – Sistema em batelada disposto em câmara aquecida para armazenamento.....	42
Figura 11 – Reatores em batelada recebendo gás nitrogênio (N ₂).....	46
Figura 12 – Amostras líquidas antes e depois do pré-tratamento para evitar a obstrução da coluna do HPLC. Fonte: Própria	49
Figura 13 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 6,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – Primeira Etapa.....	52
Figura 14 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%.	53
Figura 15 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%.	53

Figura 16 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 30%	54
Figura 17 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 40%	54
Figura 18 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 5,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – E1	56
Figura 19 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%	58
Figura 20 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%	58
Figura 21 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 30%	59
Figura 22 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 40%	59
Figura 23 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 4,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – E1	61
Figura 24 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 4,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%	62
Figura 25 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 4,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%	62
Figura 26 – Resumo dos resultados referentes à produção máxima de hidrogênio e as concentrações em volume de licor de pentoses	70
Figura 27 – Volume de hidrogênio produzido nas melhores condições de concentração volumétrica de licor para cada pH da etapa 1	72

Figura 28 – Volume de hidrogênio produzido para a melhor e pior condição de produção de hidrogênio identificadas na E1: pH de 5,5 sob temperatura de 37°C e concentração de licor de pentoses no substrato de 30% e 50% em volume de substrato – E2.	74
Figura 29 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio obtida na segunda etapa para pH 5,5, temperatura de 37°C e concentração de licor de pentoses no substrato em volume de 30%.	75
Figura 30 - Perfil da concentração de ácido lático, propiônico e acético nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 30% de licor de pentoses da etapa 2 – E2.....	79
Figura 31 - Perfil da concentração de ácido lático, fórmico e acético nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 50% de licor de pentoses da etapa 2 – E2.....	80
Figura 32 - Perfil da concentração de HMF e furfural nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 30% de licor de pentoses da etapa 2 – E2.....	81
Figura 33 - Perfil da concentração de HMF e furfural nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 50% de licor de pentoses da etapa 2 – E2.....	82
Figura 34 – Resultados das análises de DQO da segunda etapa	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Métodos de Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos para hidrólise enzimática	26
Tabela 2 – Concentração dos micronutrientes adicionados ao meio sintético de sacarose	36
Tabela 3 – Composição média do licor de pentoses proveniente de tratamento hidrotérmico produzido na PPDP – CTBE/CNPEM	37
Tabela 4 – Resumo da montagem dos reatores em batelada	41
Tabela 5 – Resumo da montagem dos reatores em batelada da segunda etapa.....	47
Tabela 6 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 6,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.	55
Tabela 7 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 5,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.	60
Tabela 8 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 4,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.	63
Tabela 9 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 6,5.....	64
Tabela 10 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 5,5.....	64
Tabela 11 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 4,5.....	65
Tabela 12 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 6,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.....	66
Tabela 13 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 5,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.....	66

Tabela 14 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 4,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.....	67
Tabela 15 - Resumo dos dados da primeira etapa	68
Tabela 16 - Resumo dos dados das condições de concentração volumétrica de licor com melhor resultado dentro de cada pH da primeira etapa.....	72
Tabela 17 – Parâmetros cinéticos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada utilizando substrato com concentração de licor de pentoses de 30% e pH 5,5 da primeira e da segunda etapas do projeto.....	76
Tabela 18 Valores de pH final e suas variações para pH inicial de 5,5 e concentrações de licor de 30% e 50% da etapa 1 e 2.....	77
Tabela 19 – Conversão de carboidratos totais para pH 5,5 e concentrações de licor de pentoses no substrato de 30% e 50%.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C/N	–	Relação Carbono/Nitrogênio
CNTP	–	Condições normais de temperatura e pressão
CTBE	–	Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol
DQO	–	Demanda química de oxigênio
E1	–	Primeira Etapa
E2	–	Segunda Etapa
HPLC	–	Cromatografia líquida
PPDP	–	Planta Piloto para Desenvolvimento de Processos
RPM	–	Rotações por minuto
SSV	–	Sólidos Suspensos Voláteis
TCD	–	Detector de condutividade
TDH	–	Tempo de detenção hidráulica

LISTA DE SÍMBOLOS

P	–	Potencial de produção de hidrogênio
P(t)	–	Produção cumulativa de hidrogênio
pH	–	Potencial Hidrogeniônico
R _m	–	Velocidade de produção de hidrogênio
R _s	–	Velocidade específica de produção de hidrogênio
λ	–	Tempo de fase lag

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS.....	23
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
3.1. A indústria sucroalcooleira brasileira e a produção de etanol.....	24
3.2. A produção de etanol de segunda geração.....	24
3.3. Produção de hidrogênio.....	27
3.3.1. Influência do pH na produção biológica de hidrogênio.....	29
3.3.2. Influência da temperatura na produção biológica de hidrogênio.....	30
3.4. Estudo cinético para avaliação da produção de hidrogênio.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1. Fase de preparação – Produção de biomassa.....	34
4.1.1. Reator Anaeróbio de leito ordenado com fluxo ascendente.....	34
4.1.2. Meio de alimentação.....	35
4.1.3. Inoculação do reator anaeróbio de leito ordenado.....	36
4.1.4. Caracterização do licor de pentoses.....	37
4.1.5. Operação do reator anaeróbio – alimentação e acompanhamento.....	38
4.1.6. Acompanhamento de desempenho dos micro-organismos.....	39
4.1.7. Desmontagem do reator.....	40

4.2.	Primeira etapa – Reatores em batelada	40
4.2.1.	Montagem dos reatores em batelada	40
4.2.2.	Coletas e análise da fase gasosa	42
4.2.3.	Finalização das bateladas.....	43
4.2.4.	Análise de carboidratos	43
4.3.	Primeira etapa – Análise dos resultados obtidos	43
4.3.1.	Estudos cinéticos da produção de biogás	43
4.3.2.	Análise da variação de pH	44
4.3.3.	Análise da conversão de carboidratos	45
4.3.4.	Identificação da melhor condição para produção de hidrogênio.....	45
4.4.	Segunda etapa – Reatores em batelada	45
4.4.1.	Montagem dos reatores em batelada	45
4.4.2.	Coleta e análise da fase gasosa.....	47
4.4.3.	Coleta da fase líquida	47
4.4.4.	Finalização das bateladas.....	48
4.4.5.	Análise de carboidratos totais.....	48
4.4.6.	Análise das amostragens líquidas	48
4.5.	Segunda etapa – Análise dos resultados	49
4.5.1.	Estudos cinéticos da produção de biogás	49
4.5.2.	Análise de pH	49

4.5.3.	Análise da conversão de carboidratos	50
4.5.4.	Análise das amostragens líquidas	50
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
5.1.	Primeira etapa (E1)	51
5.1.1.	Estudos cinéticos da produção de hidrogênio.....	51
5.1.2.	Análise da variação de pH	63
5.1.3.	Análise da conversão de carboidratos	65
5.1.4.	Considerações sobre a primeira etapa	68
5.2.	Segunda etapa (E2)	73
5.2.1.	Estudos cinéticos da produção de hidrogênio.....	73
5.2.2.	Análise da variação de pH	77
5.2.3.	Carboidratos	78
5.2.4.	Análise das amostragens líquidas	79
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
7.	SUGESTÕES	86
8.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	87

1. INTRODUÇÃO

O uso intensivo de combustíveis fósseis e a crescente emissão de gases de efeito estufa na atmosfera contribuíram para a busca de combustíveis menos poluentes e processos de produção que permitiam o melhor aproveitamento de resíduos industriais. Além disso, a crise do petróleo na década de 1970, contribuiu para que fosse criado no Brasil o Programa Proálcool, que reduziu significativamente a dependência do país por combustíveis fósseis a partir da adição de até 25% de álcool à composição da gasolina (SOCCOL *et al.*, 2010).

O uso do etanol como combustível representa grande potencial de expansão para a agricultura e indústria brasileiras, uma vez que apenas 0,9% das áreas agriculturáveis são ocupadas pela cana-de-açúcar (SOCCOL *et al.*, 2010). É válido ressaltar ainda, que a expansão das áreas de plantio não é a única opção para o aumento da produção de etanol. Segundo Cortez *et al.* (2008), um terço da biomassa da cana-de-açúcar é bagaço, destinado à combustão para a produção de energia, e outro terço é deixado no campo para decomposição e que, portanto, um aumento significativo da produção de etanol pode ser alcançado a partir do aproveitamento do bagaço, das folhas e talos.

Dentro desse contexto, estudos para utilização mais eficiente de resíduos agroindustriais, incluindo o bagaço da cana, foram desenvolvidos nos últimos 15 anos (PANDEY *et al.*, 2000; BAUDEL *et al.*, 2005). De acordo com Macedo (2005), aproximadamente 92% do bagaço é utilizado para geração de calor. Se a porcentagem restante, equivalente a 8%, for convertida a etanol, seriam gerados mais 2200 L de etanol por hectare, alcançando uma produção de 8200 L de etanol por hectare, o que resultaria em uma redução do uso do solo de 29%. Do mesmo modo, se 50% do bagaço fosse utilizado para produção de etanol, seriam gerados entre 3700 a 4000 L.ha⁻¹ adicionais, reduzindo o uso do solo entre 33% e 38%.

Assim, foram desenvolvidos vários processos para a conversão de material lignocelulósico a etanol, que diferem basicamente quanto ao sistema de hidrólise e fermentação utilizado (LYND *et al.*, 1991). Para tornar o bagaço mais acessível aos agentes hidrolíticos enzimáticos ou ácidos é necessário um pré-tratamento do material lignocelulósico. Em relação a sua natureza, estes podem ser classificados em três grupos principais: físicos, químicos e biológicos, além de uma possível combinação entre eles (MOSIER *et al.*, 2005, SUN E CHENG, 2002).

De modo geral, o pré-tratamento deve ser muito eficiente em termos de rendimento, seletividade, funcionalidade (garantindo acessibilidade da celulose aos agentes hidrolíticos), simplicidade operacional, segurança, higiene industrial e atributos ambientais, enquanto consiste em reduzido consumo de insumos químicos, energia e utilidades (BAUDEL *et al.*, 2006).

Durante o pré-tratamento do bagaço, realizado para a produção do etanol de segunda geração, são originados subprodutos, dentre os quais está o licor de pré-tratamento, rico em pentoses. Um dos grandes desafios da produção de etanol de segunda geração é a utilização dos resíduos do processo para melhor aproveitamento energético e da biomassa. Uma opção para o aproveitamento desses resíduos é por meio da produção de biogás como hidrogênio que posteriormente pode ser utilizado como fonte geradora de energia na própria biorrefinaria uma vez que o poder calorífico do hidrogênio é cerca de 2,75 vezes superior ao poder calorífico dos hidrocarbonetos.

Assim, torna-se importante a realização de estudos que busquem otimizar o aproveitamento dos subprodutos gerados no pré-tratamento do bagaço. Entretanto, uma vez que poucos estudos já foram realizados a cerca do tema, tem-se como ação primordial a determinação da condição mais adequada para o tratamento do licor de pentoses. Desse modo, o presente projeto verificou por meio de estudos cinéticos em batelada a condição mais favorável para a utilização do licor de pentoses, gerado no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço da cana-de-açúcar, para produção de hidrogênio.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo o estudo cinético da produção de hidrogênio a partir de licor de pentoses, produzido no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço da cana-de-açúcar, por meio de ensaios em batelada sob diferentes condições de pH e concentração de substrato a fim de se determinar a condição mais favorável à produção de biogás.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A indústria sucroalcooleira brasileira e a produção de etanol

A plantação de cana no Brasil teve seu início durante o período do Brasil-colônia com a finalidade de iniciar a exploração das terras brasileiras, que até então não tinham grande valor econômico para a Coroa. O aumento do interesse europeu pelo açúcar e a abundância dos solos brasileiros resultaram no primeiro ciclo econômico brasileiro: o ciclo da cana de açúcar. Em 2008, a atividade canavieira correspondia a 35% do PIB brasileiro e gerava cerca de 14% dos empregos totais do país (BRAGATO *et al*, 2008)

Embora a produção de açúcar no Brasil por meio da cana tenha estado presente desde a época do Brasil Colônia, a produção de etanol a partir da cana só ocorreu anos mais tarde. O grande consumo de combustíveis derivados do petróleo e os problemas ambientais derivados de sua combustão contribuíram para a procura de fontes de energia menos poluentes e processos que poderiam aproveitar de maneira mais eficiente os resíduos industriais. Na década de 70, a crise do petróleo contribuiu ainda mais para estas pesquisas com a criação do Programa Proálcool em 1975 que favoreceu a produção do etanol utilizando a cana-de-açúcar como matéria-prima (SOCCOL *et al.*, 2010).

O uso do etanol como combustível é considerado como uma boa alternativa para a agricultura e indústria brasileiras, pois, apenas 0,9% das áreas agriculturáveis são ocupadas pela cana-de-açúcar (SOCCOL *et al.*, 2010). Além disso, do ponto de vista ambiental, tem-se que a produção de etanol brasileira é feita de maneira sustentável sendo considerada uma das opções de produção mais avançadas do mundo (MONTEIRO E FERREIRA, 2010).

3.2. A produção de etanol de segunda geração

A produção de etanol de segunda geração surgiu no Brasil como uma consequência da busca por metodologias capazes de aumentar a produção de etanol por área de cana-de-açúcar plantada (MORAES, ZAIAT e BONOMI, 2015).

Segundo Demirbas (2009) os biocombustíveis de segunda geração são produzidos a partir de materiais lignocelulósicos e tem como vantagem custos mais baixos de produção em relação aos apresentados pela geração de combustíveis de primeira geração. No caso do etanol de segunda geração, sua produção ocorre a partir do pré-tratamento do material, hidrólise

enzimática, fermentação das hexoses, separação do material e tratamento do efluente gerado (OJEDA E KAFAROV, 2009). A Figura 1 apresenta um esquema da produção de etanol de segunda geração efetuado na Usina Bioflex 1, situada no município de São Miguel dos Campos – AL, que utiliza o processo de hidrólise enzimática da biomassa e realiza a fermentação pela ação de leveduras geneticamente modificadas.



Figura 1– Esquema da produção de etanol de segunda geração na Usina BioFlex1.

Fonte: Retirado de Granbio, 2016.

A produção do etanol de segunda geração é feita a partir de pré-tratamento que possibilita a conversão da hemicelulose em pentoses, ao mesmo tempo em que a celulose se torna suscetível às hidrólises enzimáticas (MARTÍN *et al*, 2002). O pré-tratamento deve ser realizado de maneira eficiente em termos de rendimento, seletividade, funcionalidade, simplicidade da operação, segurança, higiene industrial e atributos ambientais além de utilizar baixos insumos químicos e energéticos em sua operação (BAUDEL, 2006).

Atualmente, inúmeros pré-tratamentos podem ser utilizados de maneira eficiente para preparação dos materiais lignocelulósicos para a hidrólise enzimática. A Tabela 1 apresenta algum deles:

Tabela 1– Métodos de Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos para hidrólise enzimática

Métodos	Operações (fatores) que ocasionam mudança na estrutura do substrato	Tipo de mudança	Referências
Físico	Moagem e trituração (bola, energia vibratória, rolo duplo, pressão, martelo); radiação (raios de elétrons, raios γ , micro-ondas); altas temperaturas (pirólises, explosão a vapor).	Aumento da área superficial e tamanho dos poros da partícula, diminuição do grau de polimerização.	AZUMA <i>et al.</i> (1985), KOULLAS <i>et al.</i> (1992), RAMOS <i>et al.</i> (1993b).
Químico	Bases, ácidos, gases, agentes oxidantes e redutores, solventes orgânicos.	Deslignificação, diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose associada com o inchaço da amostra, aumento da porosidade.	FARID <i>et al.</i> (1983), SZCZODRAK <i>et al.</i> (1986), BES <i>et al.</i> (1989).
Biológico	Bolor branco (<i>Pleurotus</i> , <i>Pycnoporus</i> , <i>Ischnoderma</i> , <i>Phlebia</i> , etc.).	Deslignificação e redução do grau de polimerização da celulose e hemicelulose.	ROLZ <i>et al.</i> (1986), MES-HARTREE <i>et al.</i> (1987)
Combinado	Tratamento alcalino associado com explosão a vapor, moagem acompanhada com tratamento alcalino ou tratamento ácido.	Degradação da hemicelulose, deslignificação, aumento da área superficial e tamanho dos poros.	PURI e PEARCE (1989).

Fonte: Szczodrak e Fiedurek, 1996.

Entretanto, durante pré-tratamentos com agentes ácidos e sob altas temperaturas alguns compostos como o furfural podem ser liberados e prejudicar as etapas subsequentes como a de fermentação (MUSSATO e ROBERTO, 2004). Assim, tem-se o pré-tratamento hidrotérmico como uma alternativa interessante para a produção de etanol de segunda geração uma vez que esses compostos são produzidos em quantidades menores.

O pré-tratamento hidrotérmico consiste na utilização de água submetida a altas temperaturas e pressão como solvente para preparar o material lignocelulósico para as etapas de hidrólise enzimática e fermentação (YUAN *et al.*, 2011). Desse modo, não há utilização de reagentes químicos, além disso, o tratamento hidrotérmico tem como aspecto positivo o fato de hidrolisar uma grande parte da hemicelulose (GARROTE *et al.*, 1999). Entretanto, durante o pré-tratamento hidrotérmico alguns subprodutos ainda são gerados, como o licor de pentoses.

O licor de pentoses é um subproduto do pré-tratamento hidrotérmico que tem em sua composição altas concentrações de açúcares, pentoses e hexoses, liberadas do material lignocelulósico. Além desses elementos, ainda é possível encontrar no licor de pentoses compostos como o furfural, o hidroximetilfurfural e alguns ácidos. Estes compostos são conhecidos como inibidores do metabolismo celular, entretanto, estudos já demonstram que em certas quantidades estes compostos pouco interferem na atividade microbiana (CAI *et al.*, 2013; AKOBI, HAFEZ e NAKHLA, 2016).

Assim, uma opção para o reaproveitamento desses subprodutos é a geração de biogás, mais especificamente hidrogênio e metano, que podem ser utilizados como fonte de energia dentro da própria biorrefinaria.

3.3. Produção de hidrogênio

O uso intensivo de formas não renováveis de energia, como os combustíveis fósseis, tem contribuído para uma alta dependência dessas fontes de energia, de tal modo que em 2001 verificou-se que cerca de 80% da demanda energética global era suprida por meio da utilização de combustíveis fósseis (DAS e VEZIROGLU, 2001). Como resultado, tem-se a diminuição da oferta dessas fontes de energia e o aumento da preocupação sobre os impactos ambientais gerados pelo uso e exploração dessas fontes energéticas. Assim, a busca para o desenvolvimento de fontes de energia renováveis e limpas tem se tornado cada vez mais comum. Entre as alternativas existentes, a produção de hidrogênio aparece como uma das mais promissoras.

O hidrogênio tem se mostrado como uma fonte viável de geração de energia uma vez que seu valor energético é 2,75 vezes superior ao encontrado nos hidrocarbonetos o que justifica sua utilização para geração de energia (CHEN, LIN e CHANG, 2001). Além disso, a combustão de hidrogênio tem como único produto gerado a água, o que o caracteriza como uma fonte de energia limpa.

O hidrogênio é um dos elementos mais abundantes no universo, podendo ser encontrado na composição ou de maneira combinada com diversos compostos, principalmente com a água (DAS e VEZIROGLU, 2001). Entretanto, a disponibilidade de hidrogênio em sua forma livre ainda é bem baixa (ROJAS, 2010) sendo necessário o emprego de processos que produzam hidrogênio.

A geração de hidrogênio pode ser feita de diversas maneiras como a partir de combustíveis fósseis (SHOW, LEE e CHANG, 2011; MIZUNO *et al.*, 2000; DAS e VEZIROGLU, 2001), de biomassa, de água ou processos biológicos (DAS e VEZIROGLU, 2001). Atualmente um dos processos mais utilizados é o de reforma catalítica que tem por consequência a alta geração de poluição atmosférica e um balanço energético desfavorável (MADDY *et al.*, 2003 *apud* NATH e DAS, 2011). Assim, entre os diversos processos de produção de hidrogênio, os biológicos se mostram como um dos mais interessantes uma vez que podem ocorrer em condições de pressão atmosférica e temperatura ambiente (WANG e WAN, 2009; MIZUNO *et al.*, 2000).

Entre as formas biológicas de produção de hidrogênio tem-se o processo fotoquímico e o fermentativo (MIZUNO *et al.*, 2000; FERRAZ JUNIOR, 2013). Segundo Wang e Wan (2009), apesar de perfeita na teoria, a produção de hidrogênio por meio da fotossíntese é pouco aplicável na prática devido à baixa eficiência do processo, necessidade de luz e a dificuldade na construção de reatores que possam ser utilizados na prática. Assim, os processos fermentativos se mostram mais aplicáveis principalmente devido às taxas mais altas de produção de hidrogênio e o manejo mais simples (WANG e WAN, 2009; HALLENBEK e GOSH, 2009).

Segundo Speece (1996), os carboidratos comumente presentes em águas residuária são quebrados por meio da hidrólise em compostos orgânicos mais simples que podem ser utilizados pelas bactérias acetogênicas para a produção de hidrogênio, ácidos voláteis e álcoois como ilustrado na Figura 2.

Bioprocessos utilizados para produção de hidrogênio, operados sob condições moderadas de temperatura e pressão (30 a 35°C, 1 atm), produzem compostos específicos com satisfatórias velocidades de reação, ainda que menores do que as observadas nos processos químicos (ARGUN *et al.*, 2008; OZTEKIN *et al.*, 2008).

Entretanto, a produção de hidrogênio por meio de processo fermentativo apresenta baixos custos operacionais e, em alguns casos, tem-se que os microrganismos já estão condicionados à produção de hidrogênio (LIN e LAY, 2004; ALZATE-GAVIRIA, 2007; FERNANDES, 2008; GAVALA, *et al.*, 2008).

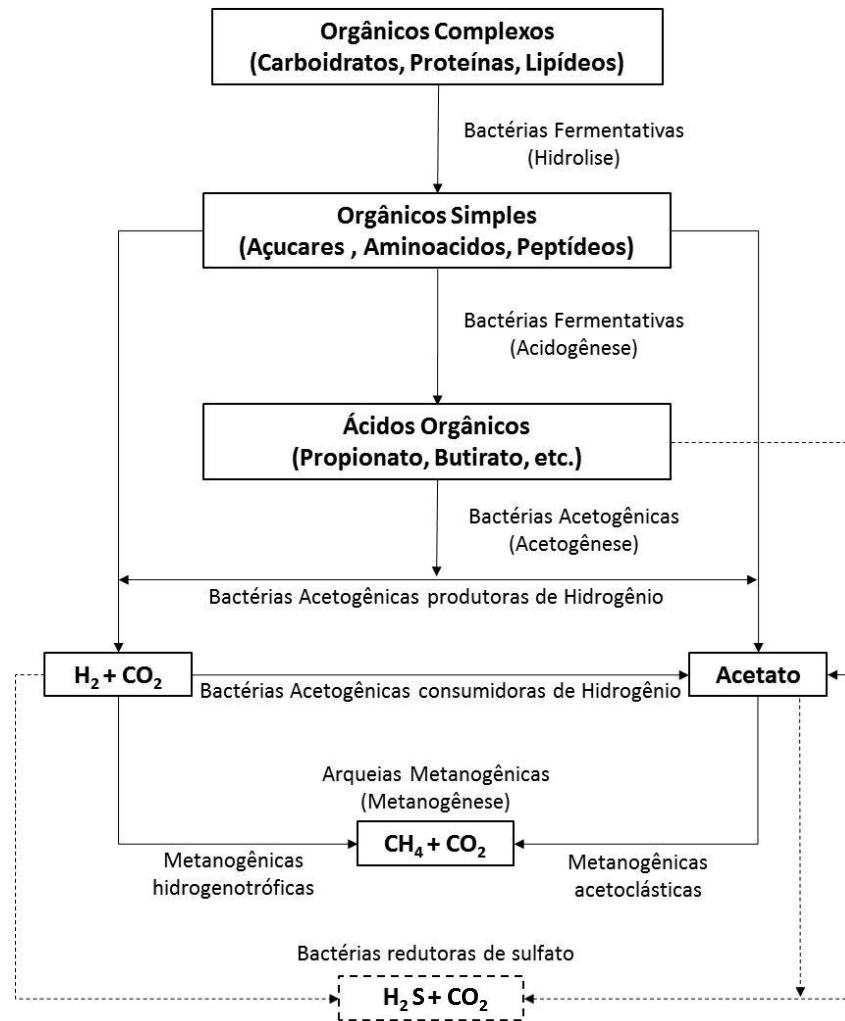


Figura 2 – Pontos de geração e consumo de hidrogênio na produção fermentativa

Fonte: CHERNICHARO, 1997; SPEECE, 1996.

Ademais, diversos fatores influenciam a produção de hidrogênio em biorreatores, como o tempo de detenção hidráulica, a temperatura, as características do substrato, pH e os inóculos. Nesse sentido, é importante que seja avaliada a ação desses fatores para a verificação de suas influências na produção de hidrogênio.

3.3.1. Influência do pH na produção biológica de hidrogênio

Uma vez que a eficácia de todo processo biológico está sujeita a diversos fatores como pH, temperatura, qualidade do substrato, entre outros, a estabilidade do processo depende do controle eficaz dessas condições (ESPINOZA-ESCALANTE *et al*, 2009).

No processo fermentativo, o pH afeta a taxa de crescimento das bactérias e pode gerar mudanças significativas nas características da biomassa presentes no reator uma vez que alterações no pH afetam a hidrogenase e o metabolismo bacteriano (MU, WANG e YU, 2006;

WANG e WAN, 2009). Além disso, alterações no pH são capazes de influenciar a velocidade de produção de hidrogênio e inibir a ação de microrganismos metanogênicos e redutores de sulfato denominados hidrogenotróficos (FERNANDES, 2008)

Wang e Wan (2009) descrevem que um aumento no pH pode provocar aumento da produção de hidrogênio por processos fermentativos, entretanto, grandes alterações em seu valor podem gerar o efeito contrário e reduzir a produção.

Estudos demonstram que o pH ideal para a produção de hidrogênio varia com o tipo de substrato e o inóculo (KHANAL, CHEN e SUNG, 2004; LIN *et al*, 2006; LIN e HUNG, 2008; WANG e WAN, 2009).

3.3.2. Influência da temperatura na produção biológica de hidrogênio

A temperatura apresenta uma importância muito grande na produção de hidrogênio uma vez que esta influencia diretamente a atividade enzimática da biomassa (WANG e WAN, 2009). Além disso, a temperatura é capaz de influenciar a solubilidade do hidrogênio já que temperaturas mais elevadas reduzem a solubilidade do gás e desfavorecem seu consumo pelos microrganismos presentes (FERNANDES, 2008).

Assim como para o pH, estudos realizados demonstraram que aumentos na temperatura podem gerar resultados positivos na produção de hidrogênio, entretanto, aumentos muito elevados podem na verdade resultar negativamente na produção de hidrogênio, reduzindo-a (LEE, LIN e CHANG, 2006; MU, ZENG e ZHU, 2006; WANG e WAN, 2009; LUO *et al*, 2010).

Similarmente ao pH, não é possível definir uma temperatura ótima para a produção de hidrogênio, pois, estes valores dependem diretamente do inóculo que será utilizado e o substrato a ser degradado. O tipo de substrato influenciará nas enzimas a serem utilizadas pelo inóculo para degradá-lo. Assim, é importante que se façam verificações na literatura ou estudos iniciais sobre a temperatura ótima para cada situação.

Em geral, os estudos conduzidos para a produção de hidrogênio podem ocorrer em temperatura ambiente (15°C-30°C), temperatura mesofílica (32°C-39°C) ou sob temperatura termofílica (50°C-64°C) (LI e FANG, 2007). Entretanto, pesquisas indicam que as temperaturas

mais apropriadas tendem a ser aquelas próximas de 37°C (MIZUNO *et al.*, 2000, FAN; LIU; ZHANG, 2002).

3.4. Estudo cinético para avaliação da produção de hidrogênio

O crescimento microbiano é dividido por Monod (1949) em seis fases conforme apresentado na Figura 3.

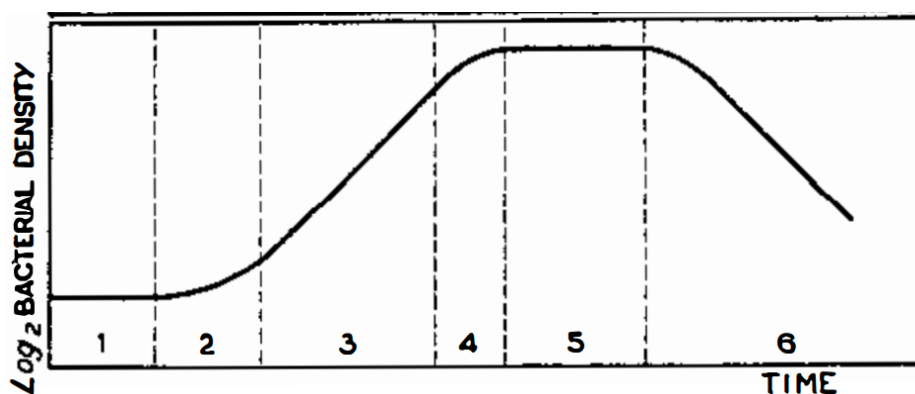


Figura 3 – Fases do crescimento microbiano

Fonte: MONOD, 1949.

A primeira fase é chamada de fase *lag* e corresponde a uma fase de adaptação microbiana, na qual a taxa de crescimento é praticamente nula. A segunda fase, fase de aceleração, apresenta o início do crescimento microbiano. A terceira fase, denominada fase exponencial possui uma taxa de crescimento constante. Na fase de desaceleração, a taxa de crescimento começa a ser reduzida até que na quinta fase, fase estacionária, a taxa de crescimento se torna nula, e o crescimento microbiano é estabilizado. A última fase do crescimento microbiano é denominada fase de declínio em que a taxa de crescimento se torna negativa e ocorre uma queda no crescimento microbiano. Entretanto, de maneira geral, considera-se apenas quatro fases principais no crescimento microbiano, apresentadas na Figura 4 em que (A) é a fase *lag* ou de adaptação, (B) é fase exponencial, (C) é a fase estacionária e (D) é a fase de declínio ou morte celular.

O crescimento microbiano ocorre juntamente com a produção de compostos e consumo de substratos, dessa forma, seu acompanhamento pode ser feito de maneira direta pela quantificação de microrganismos ou através de estudos que avaliem a variação de compostos produzidos ou utilizados pelos microrganismos ao longo do tempo. O crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio, por exemplo, pode ser avaliado a partir do acompanhamento da variação de hidrogênio no meio, já que o crescimento microbiano e a produção de biogás

ocorrem simultaneamente (WANG E WAN, 2009). Desse modo, além de verificarem o crescimento microbiano, estes estudos permitem avaliar o comportamento dos microrganismos sob diferentes condições, de forma que se torna possível identificar pontos críticos na rota de produção de compostos a fim de minimizá-los e assim otimizar os processos produtivos (ZWIETERING *et al*, 1990).

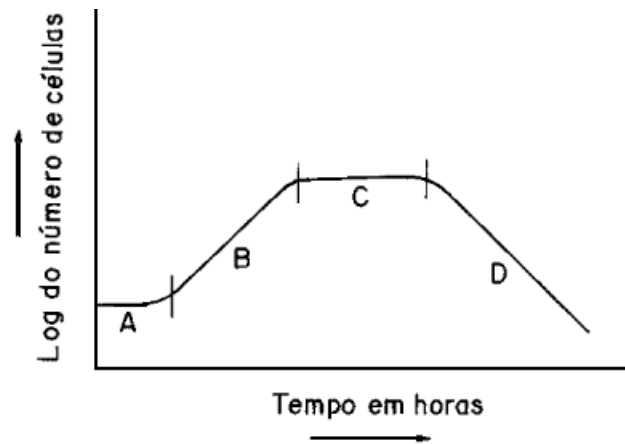


Figura 4 Curva típica de crescimento celular

Fonte: PELCZAR *et al*, 1980 *apud* RETTORI E VOLPE, 2000.

A otimização dos processos, no entanto, só pode ser conquistada a partir do emprego adequado de parâmetros capazes de transformar a grande quantidade de dados disponíveis em informação relevantes. A literatura apresenta uma vasta quantidade de modelos capazes de analisar o crescimento microbiano como Gompertz, curva logística, Schnute, Richards, regressão linear, entre outros. Entretanto, estes modelos são construídos a partir de parâmetros matemáticos o que dificulta a interpretação dos resultados (ZWIETERING *et al*, 1990). Assim, Zwietering *et al* (1990) propõe uma adaptação ao modelo de Gompertz de modo a se obter parâmetros de significado biológico como a velocidade máxima de crescimento dos microrganismos ($\mu_{\text{máx}}$), tempo de fase lag (λ) e o número máximo de microrganismos (A). O modelo de Gompertz adaptado encontra-se apresentado na Equação 1:

$$y = A \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_{\text{máx}} \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

Onde y corresponde à relação entre o número de microrganismos no tempo (t) e o número de microrganismos presentes no início, 'e' refere-se ao número de Euler.

A equação de Gompertz modificada por Zwietering *et al* (1990) é amplamente utilizada para estudos cinéticos da produção de gases como o hidrogênio (LAY e LEE, 1999; LEE *et al*, 2001; LIN e LAY, 2004; CHEN *et al*, 2006; PEIXOTO, 2011).

Entretanto, Monod (1966) notou que microrganismos expostos a meios com mais de uma fonte de substrato poderiam apresentar fases de crescimento exponencial distintas, separadas por uma fase de adaptação (*lag*). Este fenômeno ocorre, pois, os microrganismos não são capazes de assimilar diferentes compostos simultaneamente. Assim, eles consomem primeiramente o substrato de mais fácil degradação e então necessitam de uma pequena fase de adaptação para que seu sistema enzimático seja capaz de assimilar a outra fonte, retomando assim seu crescimento (THATTAI E SHRAIMAN, 2003).

A Figura 5 apresenta exemplos de curva de crescimento microbiano de microrganismos presentes em meios com substratos consumidos em momentos diferentes.

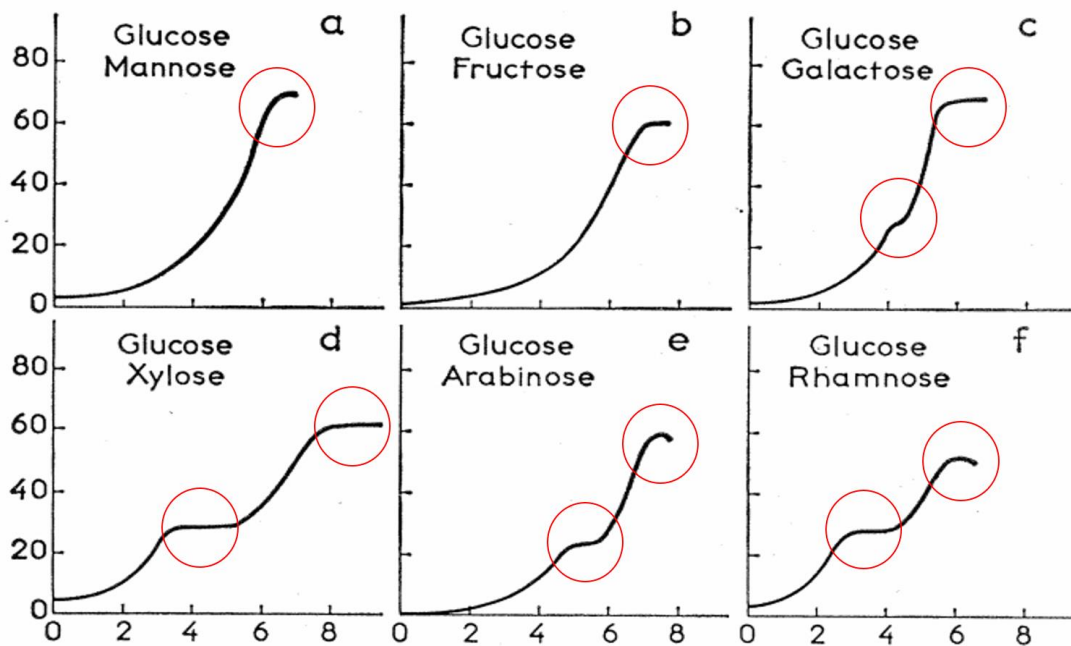


Figura 5 – Exemplos de crescimento diáuxico

Fonte: Adaptado de MONOD, 1966

Em casos em que se verifica diferentes fases de crescimento exponencial, o ajuste cinético da curva para determinação dos parâmetros é feito para cada segmento da curva, de modo que um mesmo experimento pode apresentar mais de um valor para cada parâmetro sob análise.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Fase de preparação – Produção de biomassa

Anteriormente à primeira e segunda fase desta pesquisa, houve uma fase preparatória para geração da biomassa para a inoculação dos reatores em bateladas utilizados nas fases posteriores.

4.1.1. Reator Anaeróbio de leito ordenado com fluxo ascendente

A biomassa utilizada para inoculação dos reatores em batelada foi gerada por meio da operação de um reator anaeróbio de leito ordenado com fluxo ascendente por cerca de 22 dias. O reator anaeróbio foi construído em tubo acrílico com diâmetro interno de 80 mm, diâmetro externo de 88 mm e comprimento total de 750 mm com volume total de 3,5 L, dividido em três compartimentos: entrada da alimentação, leito, e saída de gases e efluente.

Adotou-se leito estruturado e ordenado com cilindros de polietileno de alta densidade com aproximadamente 30 mm de comprimento e 20 mm de diâmetro. A escolha desse tipo de leito ocorreu em virtude da necessidade da aderência da biomassa ao suporte durante a operação do reator, para que não houvesse perda do inóculo, mas também à facilidade que este permitia em remover a biomassa após finalização da operação do reator.

Os cilindros de polietileno foram dispostos de maneira alternada dentro do reator a fim de evitar caminhos preferenciais ou curto circuitos. Estes foram fixados por meio de hastes passadas por dentro do meio do suporte e presas às telas de aço inoxidável colocadas entre os compartimentos do reator. Uma vez que a colocação do leito ordenado ocupou certo volume, ocorreu uma redução do volume útil total do reator. Assim, após colocação do leito e pressurização do reator, este apresentou volume útil total de aproximadamente 3 L.

A saída de gases do reator foi vedada a fim de evitar as trocas gasosas por meio da inserção de um selo hídrico. Um esquema ilustrativo do sistema é apresentado na Figura 6.

Saída de gás para o selo hídrico

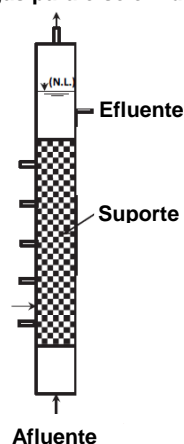


Figura 6 – Esquema do reator anaeróbico

Fonte: Adaptado de Ferraz Júnior, 2013.

4.1.2. Meio de alimentação

O meio de alimentação para inoculação e alimentação do reator anaeróbico era constituído por uma solução sintética a base de sacarose produzida com água de abastecimento. A preparação deste meio era feita com adição de sacarose com concentração de 2 g.L^{-1} . Entretanto, a fim de complementar a quantidade em massa de nitrogênio de modo a se obter uma relação carbono/nitrogênio (C/N) de 140 (ROJAS, 2014), adicionava-se ureia com concentração de $12,9 \text{ mg.L}^{-1}$. A variação do pH do meio efluente em relação ao afluente foi controlada com a adição de bicarbonato de sódio na concentração de 500 mg.L^{-1} (Fernandes, 2008) ao meio. Por fim, verificou-se a necessidade da adição de uma solução de nutrientes para geração e crescimento da biomassa. Assim, adicionou-se micronutrientes para cada 1 g DQO.L^{-1} da solução. A solução de micronutrientes foi feita por meio de metodologia adaptada de Del Nery (1987) conforme Tabela 2.

Portanto, o meio sintético produzido para inoculação do reator e geração de biomassa era constituído por água de abastecimento, sacarose a uma concentração de 2 g.L^{-1} , ureia a concentração de $12,9 \text{ mg.L}^{-1}$, bicarbonato de sódio com concentração de 500 mg.L^{-1} e solução de micronutrientes (Del Nery, 1987).

Tabela 2 – Concentração dos micronutrientes adicionados ao meio sintético de sacarose

Solução	Componente	Concentração (mg.L ⁻¹)	
A	Sulfato de níquel	NiSO ₄ .H ₂ O	0,81
	Sulfato ferroso	FeSO ₄ .7H ₂ O	4,09
	Cloreto férrico	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,41
	Cloreto de cobalto	CoCl ₂ .2H ₂ O	0,06
B	Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	3,37
C	Dióxido de selênio	SeO ₂	0,06
D	Fosfato de potássio monobásico	KH ₂ PO ₄	8,76
	Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄	2,12
	Fosfato de sódio dibásico	NaHPO ₄ .2H ₂ O	4,41

Fonte: Del Nery, 1987.

4.1.3. Inoculação do reator anaeróbio de leito ordenado

Os microrganismos anaeróbios para inoculação dos reatores (anaeróbio de leito fixo e batelada) foram gerados por meio do processo de fermentação natural do meio de alimentação. A fermentação natural constituía-se em deixar o meio em repouso, exposto para a atmosfera por três dias dentro da câmara de reatores com temperatura controlada à 30°C (Figura 7). Segundo Leite *et al* (2008) este procedimento de geração de biomassa por fermentação natural ou auto fermentação é favorecido pelos micro-organismos presentes na própria água de abastecimento e na atmosfera.



Figura 7 – Meio de alimentação sendo inoculado por meio do processo de fermentação natural dentro da câmara de reatores.

Fonte: Própria

Após este período, a solução era recirculada no reator anaeróbico por sete dias conforme metodologia descrita por Leite *et al* (2008).

4.1.4. Caracterização do licor de pentoses

As amostras de licor de pentoses proveniente de pré-tratamento hidrotérmico utilizadas na primeira e segunda fase da pesquisa foram fornecidas pelo Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE). A composição média do licores de pentoses produzidos na Planta Piloto para Desenvolvimento de Processos (PPDP) do CTBE foi determinada segundo metodologia desenvolvida por Sluiter *et al* (2008) e encontra-se apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição média do licor de pentoses proveniente de tratamento hidrotérmico produzido na PPDP – CTBE/CNPEM

Fração	Arabinose (g/L)	Glicose (g/L)	Xilose (g/L)	Celobiose (g/L)	Ácido fórmico (g/L)	Ácido acético (g/L)	HMF (g/L)	Furfura 1 (g/L)
¹	0,70	0,06	3,01	0,00	0,22	1,89	0,06	0,43
²	1,04	3,89	15,59	0,00	0,77	3,21	0,04	1,05

¹ Monômeros ² Monômeros+Oligossacarídeos

Fonte: CTBE.

Devido às limitações de produção, transporte e armazenamento de licor, não foi possível utilizar licor de pentoses proveniente da mesma safra na primeira e na segunda parte da pesquisa. Assim, por se tratar de um efluente real, verificou-se que a concentração de algumas substâncias variou em relação ao licor utilizado na primeira fase. Além disso, foi possível observar durante o manejo do licor de pentoses que ocorria variação em suas características entre os galões em que estavam armazenados ou ainda no próprio galão, ou seja, verificava-se que os volumes retirados no início do galão tendiam a apresentar uma concentração de ácidos e carboidratos inferior aos volumes retirados no final dos galões uma vez que muitos compostos sedimentavam e se prendiam à base do vasilhame. Ainda que se buscasse efetuar a homogeneização do licor nos galões para sua retirada, era possível notar que uma grande parte de sólidos permanecia aderida às paredes ou no seu fundo provocando assim uma variação nas características do licor. No entanto, entende-se que estas variações nas características do licor entre os galões ou entre as safras sejam uma limitação intrínseca aos trabalhos desenvolvidos utilizando efluentes reais.

4.1.5. Operação do reator anaeróbio – alimentação e acompanhamento

Após os sete dias de recirculação do meio de alimentação, iniciava-se a operação propriamente dita do reator anaeróbio dentro da câmara com temperatura controlada à 30°C.

O reator era alimentado por 7 dias com o meio sintético de sacarose e nutrientes com vazão de 750 mL.h⁻¹ resultando em um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 4 horas. Após estes 7 dias, era adicionado ao meio de alimentação o licor de pentoses a uma concentração de 10% em volume, a fim de promover a adaptação dos microrganismos ao composto sob estudo. Entretanto, uma vez que o pH natural do licor de pentoses é muito baixo, em torno de 3,8, efetuava-se a correção do seu pH até 7,0 adicionando-se hidróxido de sódio (NaOH) 50% (massa/volume). O reator então era alimentado por mais 15 dias com a solução formada por 90% em volume de solução sintética composta de sacarose, ureia, bicarbonato de sódio e solução de micronutrientes, e 10% em volume por licor de pentoses (Figura 8).

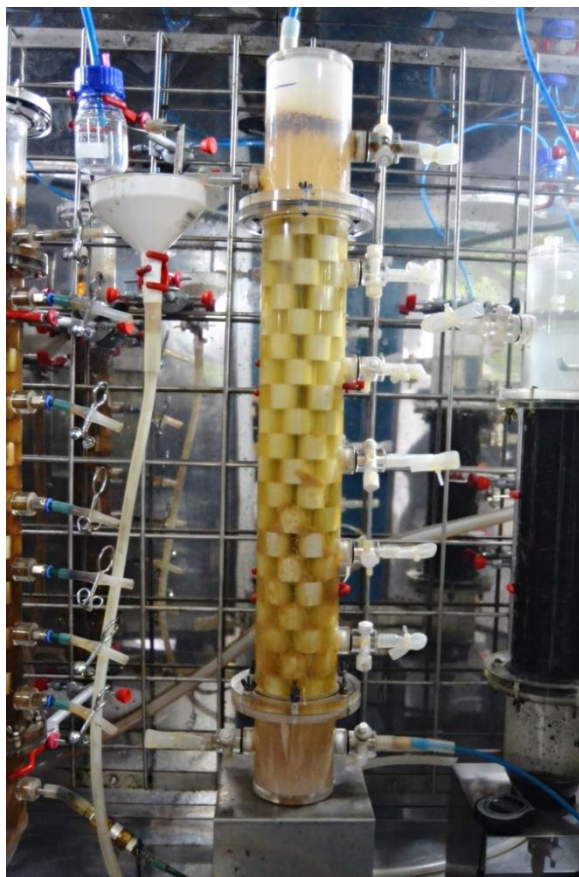


Figura 8 – Reator anaeróbio alimentado com solução de sacarose a 10% de licor de pentoses.

Fonte: Própria

4.1.6. Acompanhamento de desempenho dos micro-organismos

Ao fim de 20 dias de operação do reator efetuava-se uma análise da composição gasosa do biogás presente no *headspace* do reator para verificação da produção de hidrogênio. A composição dos gases gerados no reator era verificada analisando-se 500 μL de amostra do *headspace* do reator em cromatógrafo GC-2010 (Shimadzu Scientific Instruments ®) com coluna capilar Carboxen 1010 PLOT ® (30 m x 0,53 mm x 0,30 μm) equipado com detector de condutividade (TCD) utilizando argônio como gás de arraste. As temperaturas apresentadas pelo injetor e detector eram de 220°C e 230°C, respectivamente. A rampa de aquecimento da coluna foi de 130°C a 135°C ficando 5,5 minutos em 135°C a 45°C/min.

Além da análise cromatográfica, foi feita uma análise líquida segundo método fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al*, 1956) para verificação do consumo de carboidratos por meio da concentração de carboidratos totais no início e fim do processo. Esta análise tinha como objetivo avaliar a degradação do licor de pentoses pelos micro-organismos, sendo considerada satisfatória quando a degradação desse fosse igual ou superior a 60% dos carboidratos presentes

no meio de alimentação. No entanto, é importante salientar que as amostragens para análise de carboidratos eram feitas após um intervalo de 4 a 6 horas da troca da alimentação, a fim de se garantir que as comparações eram feitas em relação ao mesmo meio de alimentação.

4.1.7. Desmontagem do reator

Após o tempo de operação estabelecido, efetuou-se a parada da alimentação e desmontagem do reator com retirada da biomassa. A biomassa foi drenada de dentro do reator e o suporte levemente lavado com água destilada a fim de se retirar a biomassa aderida. Toda a biomassa removida foi colocada em frasco de vidro do tipo Duran[®] de 5 L onde repousou por cerca de 24 h em câmara com temperatura de 30°C. Após este período, retirou-se parte do volume líquido sobrenadante e efetuou-se análise de sólidos conforme metodologia desenvolvida por (APHA, 2005).

4.2. Primeira etapa – reatores em batelada

4.2.1. Montagem dos reatores em batelada

A primeira etapa do projeto foi desenvolvida utilizando-se reatores em batelada montados em frascos de vidro do tipo Duran[®] com capacidade nominal de 500 mL. Os reatores foram preparados com base na capacidade nominal dos frascos, sendo que 40% do volume nominal foi ocupado pelo substrato, 10% pela biomassa e 50% deixados como *headspace*.

A montagem dos reatores ocorreu com a preparação de 700 mL de solução de licor de pentoses em diferentes concentrações 10%, 20%, 30%, 40% e 50%. a serem mantidos em câmara com temperatura controlada à 37°C, conforme dados da literatura (3.3.2 Influência da temperatura na produção biológica de hidrogênio). Desse volume foram retirados 25 mL para futuras análises. Ao meio de alimentação restante, ou seja, 675 mL, adicionou-se 75 mL de inóculo com concentração de sólidos voláteis (SV) controlada (APHA, 2005). As soluções formadas pelo meio de alimentação juntamente com o inóculo tiveram seu pH corrigido por meio da adição de solução de hidróxido de sódio (NaOH) com relação massa/volume de 50% para os valores sob estudo (4,5; 5,5 e 6,5). Ao final, dividiu-se os 750 mL de solução em três frascos Duran[®], ficando cada um com 250 mL de solução dos quais 225 mL correspondia ao meio reacional e os demais 25 mL ao inóculo. O volume excedente representava o *headspace*. A Tabela 4 apresenta um resumo desse procedimento de montagem da triplicata dos reatores em batelada.

Tabela 4 – Resumo da montagem dos reatores em batelada

Concentração de licor de pentoses no substrato	Volume final de substrato adicionado	Volume final de biomassa adicionada	pH inicial		
			4,5	5,5	6,5
10%	225mL	25mL	4,5; 10	5,5; 10	6,5; 10
20%			4,5; 20	5,5; 20	6,5; 20
30%			4,5; 30	5,5; 30	6,5; 30
40%			4,5; 40	5,5; 40	6,5; 40
50%			4,5; 50	5,5; 50	6,5; 50

Com os frascos corretamente identificados, fluxionou-se gás nitrogênio puro (N_2) por aproximadamente 10 minutos em cada um dos frascos para expulsar o gás oxigênio (O_2) dissolvido no meio líquido e garantir assim ambiente anaeróbico. Por fim, fechou-se os frascos com septo de borracha a fim de garantir completa vedação do reator, e guardou-os em câmara aquecida com temperatura controlada (Figura 9 e Figura 10).



Figura 9 – Sistema em batelada armazenado em câmara aquecida

Fonte: Própria



Figura 10 – Sistema em batelada disposto em câmara aquecida para armazenamento

Fonte: Própria

4.2.2. Coletas e análise da fase gasosa

A análise cromatográfica para quantificação do biogás, em especial o hidrogênio (H_2), foi realizada por meio da retirada de 700 μ L de amostra do *headspace* dos reatores em batelada para análise no cromatógrafo GC-2010 (Shimadzu Scientific Instruments[®]). Previamente a cada análise cromatográfica, verificou-se a pressão interna dos reatores em batelada. Além de sinalizar indiretamente a produção de biogás nos reatores, a verificação da pressão também permitia o monitoramento da pressão interna dos frascos para segurança do experimento, uma vez que frascos com pressões internas muito altas podem estourar. Assim, nos casos em que a pressão interna se encontrava muito elevada foi feita a análise da composição de biogás no *headspace* do reator, a despressurização dos frascos e o retorno desses à câmara aquecida. Quando não havia necessidade em aliviar a pressão interna dos reatores, os reatores eram simplesmente guardados novamente na câmara após a coleta da amostra gasosa.

Inicialmente as coletas foram feitas a cada 3 horas nos dois primeiros dias de operação das bateladas, entretanto ao longo do experimento este período foi ajustado devido às diferentes cinéticas apresentadas por cada condição. Após este período inicial, os tempos de coleta se tornaram mais espaçados. Em média, as bateladas apresentaram uma duração de 180 horas,

sendo que o período de coletas se estendeu até que se obtivesse certa estabilidade entre as amostragens, ou seja, os valores referentes ao volume de biogás presente no *headspace* se mantivessem constantes, ou começassem a declinar sucessivamente sinalizando o fim do experimento.

4.2.3. Finalização das bateladas

Após finalização do período pré-estipulado como limite para o experimento, encerrou-se as bateladas abrindo os reatores e aferindo o pH final (APHA, 2005) assim como retirando amostras do meio e congelando-as para análise de carboidratos totais.

4.2.4. Análise de carboidratos

As amostras do meio referentes ao fim da operação dos reatores em batelada foram descongeladas, diluídas e filtradas em filtros de porosidade de 0,2 µm. As amostras foram então submetidas à análise líquida segundo método fenol-sulfúrico desenvolvido por Dubois *et al* (1956).

4.3. Primeira etapa – Análise dos resultados obtidos

4.3.1. Estudos cinéticos da produção de biogás

A medição da pressão interna dos reatores por meio de um manômetro digital permitiu o cálculo do número de mols totais presentes no *headspace* do reator através da lei geral dos gases perfeitos. Calculou-se a fração molar de hidrogênio e por meio da Equação 2 determinou-se o volume de hidrogênio produzido, expresso nas CNTP:

$$V_{CNTP} = \left(\frac{P \cdot Vol_H}{T} \cdot \frac{T_{CNTP}}{P_{CNTP}} \right) \cdot x_{H_2} \quad (2)$$

Na Equação 2, V_{CNTP} é o volume total de gás hidrogênio produzido nas condições da CNTP (L); P é a pressão absoluta do *headspace* (mBar); Vol_H é o volume do *headspace* do reator (L); T é a temperatura em que o sistema foi operado (K); T_{CNTP} é a temperatura na CNTP (K); P_{CNTP} é a pressão na CNTP (mBar) e x_{H_2} é a fração molar de hidrogênio.

Os valores de hidrogênio gerado foram convertidos para volume de H_2 na CNTP para comparação com outros trabalhos apresentados na literatura.

Por meio do Microsoft Excel[®] efetuou-se análise estatística a fim de se identificar os *outliers* e construiu-se as curvas de volume de hidrogênio produzido pelo tempo de operação do reator a fim de se determinar as fases lag e de crescimento exponencial, uma vez que o licor de pentoses possui em sua composição diferentes substâncias que podem ou não necessitar de uma maior adaptação da população de microrganismos para sua degradação.

As curvas foram ajustadas de acordo com o modelo de Gompertz modificado, adaptado para a análise da produção de hidrogênio conforme Equação 3:

$$P(t) = P \exp\left\{-\exp\left[\frac{R_m \cdot e}{P}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (3)$$

Na qual P(t) corresponde à produção cumulativa de hidrogênio (mL); λ é o tempo de fase lag (h); P: é o potencial de produção de hidrogênio (mL); R_m é a velocidade de produção de hidrogênio (mL h^{-1}); t é o tempo de incubação (h) e e é o número de Euler definido como sendo 2,71828.

A velocidade específica da produção de hidrogênio, chamada por Peixoto (2011) de R_s ($\text{mL H}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ SSV}$) foi determinada por meio da divisão de R_m pelo valor de sólidos suspensos voláteis (SSV) adicionados ao reator.

O ajuste das curvas e obtenção dos parâmetros cinéticos de produção de hidrogênio foram elaborados por meio do software de análise de dados científicos OriginLab Pro[®] por meio do algoritmo de interações de Levenberg-Marquadt (ZWITERING *et al*, 1990). Uma vez que a fase de declínio não é contemplada no modelo de Gompertz modificado, os valores de hidrogênio correspondentes à fase de declínio não foram utilizados no ajuste das curvas.

4.3.2. Análise da variação de pH

Os dados referentes à variação de pH de cada reator em batelada foram dispostos em tabelas do Microsoft Excel[®] para melhor visualização dos dados. Os valores de pH inicial e final foram comparados por meio de tabelas pelas quais pode-se verificar a variação dos valores de p.

4.3.3. Análise da conversão de carboidratos

Os dados relativos à quantidade de carboidrato inicial e final em cada reator foram dispostos em tabelas do Microsoft Excel® e passaram por análise estatística para determinação do *outliers*, as quantidades de carboidrato consumido foram determinadas e então transformadas em porcentagens para melhor compreensão da eficiência de conversão.

4.3.4. Identificação da melhor condição para produção de hidrogênio

A partir das análises feitas, definiu-se a melhor condição para a produção de hidrogênio por meio da avaliação das condições segundo os seguintes critérios:

1. Maior produção de hidrogênio em mols ou volume: Dado que o principal objetivo desta pesquisa é o estudo cinético da produção de hidrogênio, definiu-se como principal critério para definição da melhor condição aquela capaz de produzir maior volume líquido de hidrogênio possível.
2. Redução da carga orgânica do licor de pentoses: Além da produção de hidrogênio, deseja-se reduzir os passivos ambientais, assim, busca-se condições em que ocorra também conversão dos compostos presentes sejam eles carboidratos ou ácidos de modo que os riscos ambientais sejam reduzidos.
3. Estabilidade na produção de hidrogênio.

4.4. Segunda etapa – reatores em batelada

4.4.1. Montagem dos reatores em batelada

A segunda etapa foi elaborada a partir da reprodução da condição, em termos de pH e concentração em volume de licor de pentoses que apresentou melhor desempenho, e da condição de pior desempenho dentro do mesmo pH, para efeito de comparação, identificadas na primeira etapa do projeto. Deste modo, após análise dos resultados da primeira fase foram identificadas a melhor e a pior condição a fim de reproduzi-las. Uma vez que nessa fase seriam retiradas amostragens líquidas ao longo do experimento, fez-se necessário a utilização de reatores com maior capacidade volumétrica a fim de se evitar que a retirada de amostragem

líquida total superasse 10% do volume líquido do reator. Assim, foram utilizados frascos de vidro do tipo Duran[®] com capacidade nominal de 2 L.

Preparou-se 6 L de licor de pentoses, sendo 3 L da concentração em volume da melhor condição observada na primeira fase e os demais 3 L em concentração relativa à pior condição dentro do mesmo pH. Adicionou-se aos frascos Duran[®] 900 mL de solução de licor de pentoses e 100 mL de biomassa e corrigiu-se o pH do conjunto para o pH de melhor desempenho conforme obtido na primeira fase da pesquisa. Identificou-se os frascos corretamente e fluxionou-se gás nitrogênio puro (N₂) por aproximadamente 15 minutos em cada um dos frascos (Figura 11).



Figura 11 – Reatores em batelada recebendo gás nitrogênio (N₂)

Fonte: Própria

A Tabela 5 apresenta um resumo do procedimento de montagem da triplicata dos reatores em batelada da segunda etapa.

Tabela 5 – Resumo da montagem dos reatores em batelada da segunda etapa

Concentração de licor de pentoses no substrato	Volume final de licor de pentoses adicionado	Volume final de biomassa adicionada	pH inicial 5,5
10%	225 mL	25 mL	5,5; 10
50%			5,5; 50

Por fim, os frascos foram fechados com tampa de butila para garantir a vedação do reator. Os frascos foram guardados em câmara aquecida com temperatura controlada à 37°C.

4.4.2. Coleta e análise da fase gasosa

A coleta de gases foi feita de maneira semelhante à da primeira fase com retiradas de 700 µL de amostra de gás do *headspace* dos reatores em batelada para análise no cromatógrafo GC-2010 (Shimadzu Scientific Instruments ®). Analogamente à primeira fase, foi também efetuada a leitura da pressão interna dos frascos a fim de se realizar a verificação indireta da produção e consumo de gases assim como garantir a segurança do experimento. Entretanto, nesta etapa, diferentemente da primeira fase, foi efetuada a leitura da pressão interna também após a retirada da amostragem gasosa.

Uma vez que já se possuía informações sobre a cinética nessas condições, foi possível efetuar as amostragens gasosas a cada 6 horas, e não mais a cada 3 horas como na primeira fase do experimento. Assim, como na primeira fase, o período de coletas se estendeu até que se obtivesse certa estabilidade entre as amostragens, ou seja, os valores referentes ao volume de biogás presente no *headspace* se mantivessem constantes, ou começassem a declinar sinalizando o fim do experimento.

4.4.3. Coleta da fase líquida

As amostragens das fases líquidas foram feitas de modo a acompanhar o desenvolvimento da curva de gás, mas sem prejudicar o sistema. Assim, buscou-se não exceder a retirada de líquidos em 10% do volume líquido total. A coleta da fase líquida era feita após retirada das amostras gasosas em ambiente estéril. O volume retirado era colocado em frascos de antibiótico devidamente identificados, e as amostras congeladas para análises posteriores.

4.4.4. Finalização das bateladas

Assim como na primeira fase, após finalização do experimento, encerrou-se as bateladas abrindo os reatores e aferindo o pH final (APHA, 2005). Foram também retiradas amostras líquidas para análise de DQO e cromatografia líquida as quais foram congeladas.

4.4.5. Análise de carboidratos totais

As amostras de licor de pentoses utilizado na montagem dos reatores e parte das amostragens líquidas do final da operação das bateladas foram descongeladas, diluídas e filtradas em filtros com porosidade de $0,2\mu\text{m}$. Submeteu-se, então, estas amostras à análise líquida segundo método fenol-sulfúrico desenvolvido por Dubois *et al* (1956) para determinação dos carboidratos totais antes e após operação das bateladas.

4.4.6. Análise das amostragens líquidas

4.4.6.1. Análise de DQO

As amostras de licor de pentoses utilizado na montagem dos reatores e parte das amostragens líquidas retirada das bateladas durante a operação do reator foram descongeladas. Submeteu-se, então, estas amostras à análise líquida segundo método fenol-sulfúrico desenvolvido por Dubois *et al* (1956) para determinação dos carboidratos totais antes e após operação das bateladas.

4.4.6.2. Análise de ácidos

As análises das amostras líquidas foram feitas por meio de cromatografia líquida (HPLC) no Sistema Shimadzu[®] para cromatografia líquida de alta eficiência com detectores de UV/DAD e índice de refração. Utilizou-se coluna Aminex HPX-87H, de 300mm x 7,8 mm. O efluente empregado no método era ácido sulfúrico 0,005 molar com fluxo de 0,5 mL/min e temperatura de forno de 43°C. Injetou-se volumes de 100 μL .

As amostras foram descongeladas e sofreram um pré-tratamento para evitar a obstrução da coluna do HPLC segundo metodologia descrita por Sydney (2013). O pré-tratamento constituiu-se da retirada de 2 mL de amostra ao qual foram adicionados 0,25 mL de solução de hidróxido de bário 0,3 molar e 0,25 mL de solução de sulfato de zinco 5%. A solução formada

foi centrifugada por cerca de 10 minutos em rotação de 4000 rpm, sendo possível perceber de maneira nítida a diferença das amostras antes e depois do pré-tratamento (Figura 12).

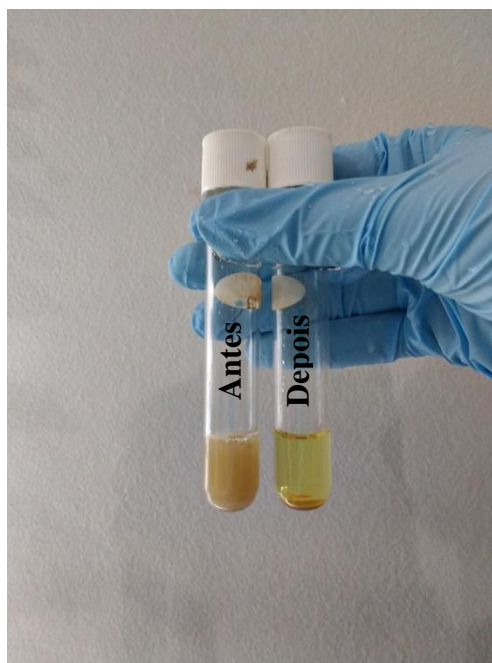


Figura 12 – Amostras líquidas antes e depois do pré-tratamento para evitar a obstrução da coluna do HPLC.

Fonte: Própria

Após o pré-tratamento, a fase líquida foi removida e filtrada em filtros de 0,2 μm . A amostra foi diluída na proporção de 1:2 e foi adicionado 0,4 μL de ácido sulfúrico 2 molares. As amostras foram então analisadas para a determinação da composição de ácidos.

4.5. Segunda etapa – Análise dos resultados

4.5.1. Estudos cinéticos da produção de biogás

Os estudos cinéticos da segunda etapa foram executados assim como os cálculos descritos no item 4.3.1.

4.5.2. Análise de pH

Os dados referentes à variação de pH dos reatores foram organizados em tabelas do Microsoft Excel®, efetuaram-se cálculos para determinação da variação do pH.

Os resultados obtidos foram comparados com aqueles encontrados para a mesma condição na primeira etapa.

4.5.3. Análise da conversão de carboidratos

Os dados relativos à quantidade de carboidrato inicial e final em cada reator foram organizados por meio do programa Microsoft Excel® e analisados estatisticamente a fim de eliminar os *outliers* das triplicatas. Os dados foram usados para avaliação da quantidade de carboidrato consumido.

4.5.4. Análise das amostragens líquidas

4.5.4.1. Ácidos

Os dados referentes às concentrações de ácidos foram dispostos em tabelas por meio do Microsoft Excel® onde os dados foram analisados e os *outliers* removidos por meio de análises estatísticas, os valores foram corrigidos de acordo com os respectivos fatores de diluição e gráficos relativos à variação de ácidos ao longo do experimento foram montados e avaliados.

4.5.4.2. DQO

Os valores de DQO lidos através espectrofotômetro foram corrigidos a partir do fator de diluição e organizados em tabelas do Microsoft Excel®. Estas foram utilizadas para geração de gráficos do tipo colunas para melhor análise das variações.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados nesta monografia se referem às duas etapas propostas no projeto a fim de se obter a identificação da melhor condição para produção de hidrogênio a partir de efluente real produzido no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço da cana-de-açúcar assim como realizar os estudos cinéticos. Esta seção contém os resultados obtidos ao longo do projeto assim como discussões relativas à comparação destes com a literatura disponível e estudada.

5.1. Primeira etapa (E1)

5.1.1. Estudos cinéticos da produção de hidrogênio

Os estudos cinéticos da produção de hidrogênio foram feitos por meio do ajuste das curvas de produção de hidrogênio ao modelo de Gompertz modificado (ZWIETERING *et al*, 1990). Os parâmetros cinéticos foram obtidos considerando-se que o comportamento da curva de produção de biogás é semelhante ao apresentado pelo crescimento microbiano (PEIXOTO, 2011).

5.1.1.1. pH 6,5

A Figura 13 apresenta o perfil de produção de hidrogênio encontrado para a condição de pH 6,5, à temperatura de 37°C.

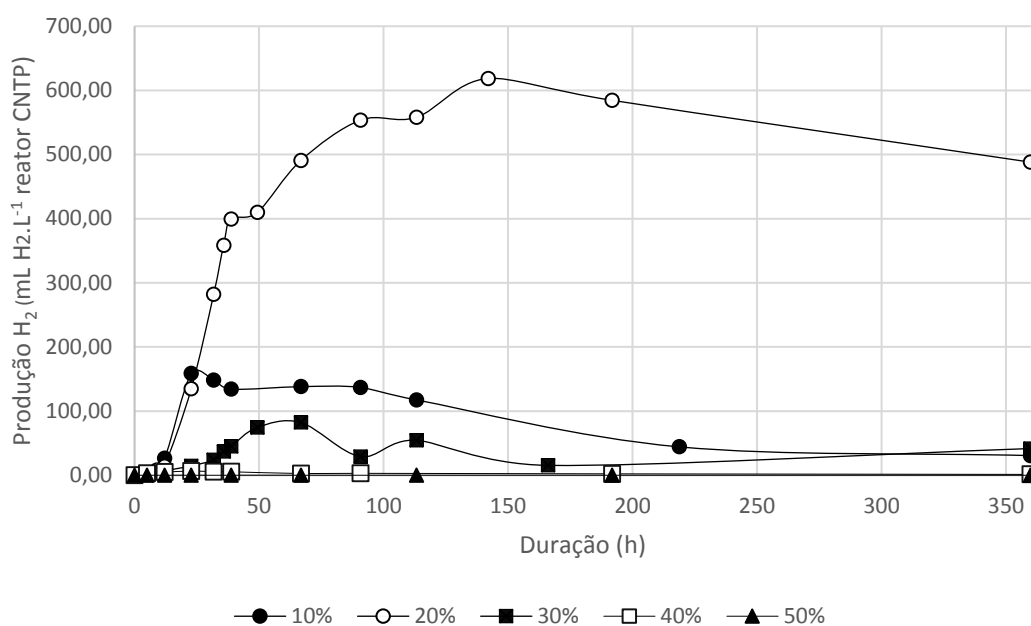


Figura 13 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 6,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – Primeira Etapa

A análise da Figura 13 permite verificar que a produção de hidrogênio para as condições de concentração de licor de pentoses de 10%, 20% e 30% não ocorreram de forma contínua, de modo que houve algumas oscilações nos valores encontrados ao longo do tempo. As análises das primeiras horas de operação dos reatores demonstraram que os reatores com concentração em volume de 10% foram, ainda que sutilmente, um dos primeiros a apresentar produção de hidrogênio. Entretanto, a condição não foi mantida, sendo a produção de 10% superada pelo volume de hidrogênio produzido nos frascos de 20% após cerca de 20 horas de operação. A condição de 20% foi a que apresentou melhor desempenho, com a maior produção em volume e a maior estabilidade na produção, uma vez que o volume de hidrogênio produzido só passou a apresentar queda após 150 horas. A produção de hidrogênio nos reatores de 10% e 30% sofreram algumas quedas ao longo do tempo avaliado, ainda que com recuperações, o volume produzido por estas condições se mostrou inferior ao encontrado nos frascos de 20%. Os reatores com concentração líquida de substrato de 40% apresentaram produção de hidrogênio extremamente baixa, já nos frascos de 50% não se verificou nenhuma presença de hidrogênio durante todo o processo, assim, considerou-se nula a produção nesta condição.

Para melhor análise das produções obtidas foram feitos ajustes para as curvas de volume de hidrogênio produzido nas condições da CNTP para as concentrações de licor de pentoses em

volume de 10%, 20%, 30% e 40% conforme modelo modificado de Gompertz. Os ajustes encontram-se apresentados na Figura 14, Figura 15, Figura 16 e Figura 17.

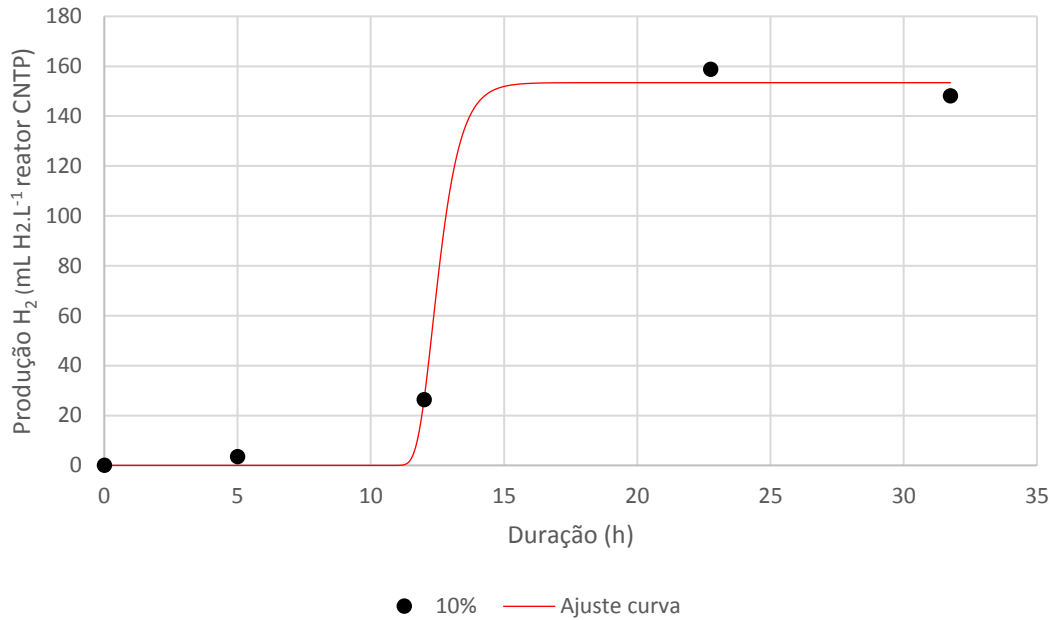


Figura 14 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%.

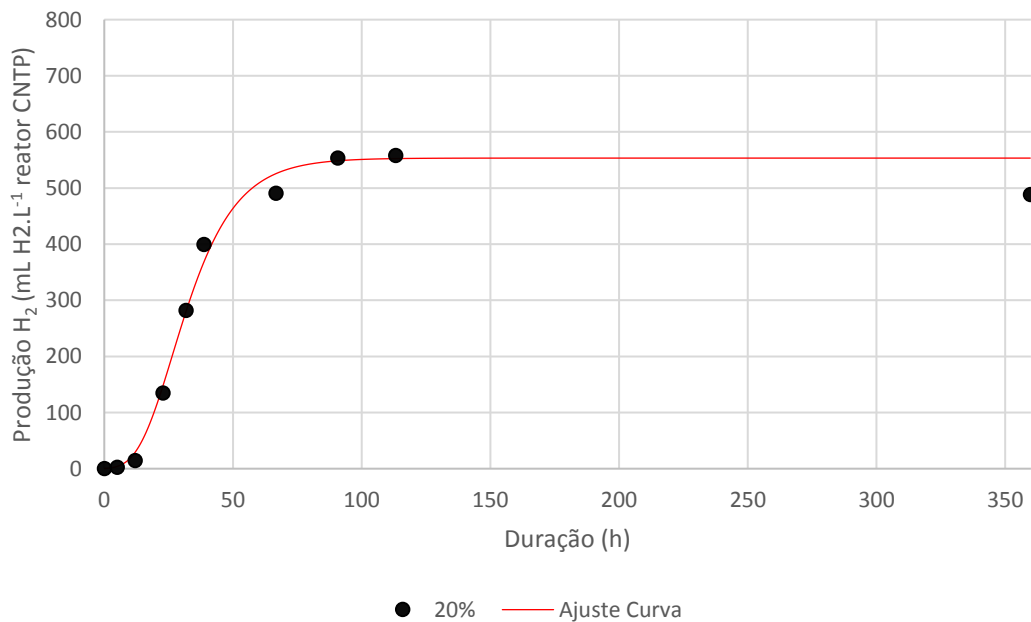


Figura 15 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%.

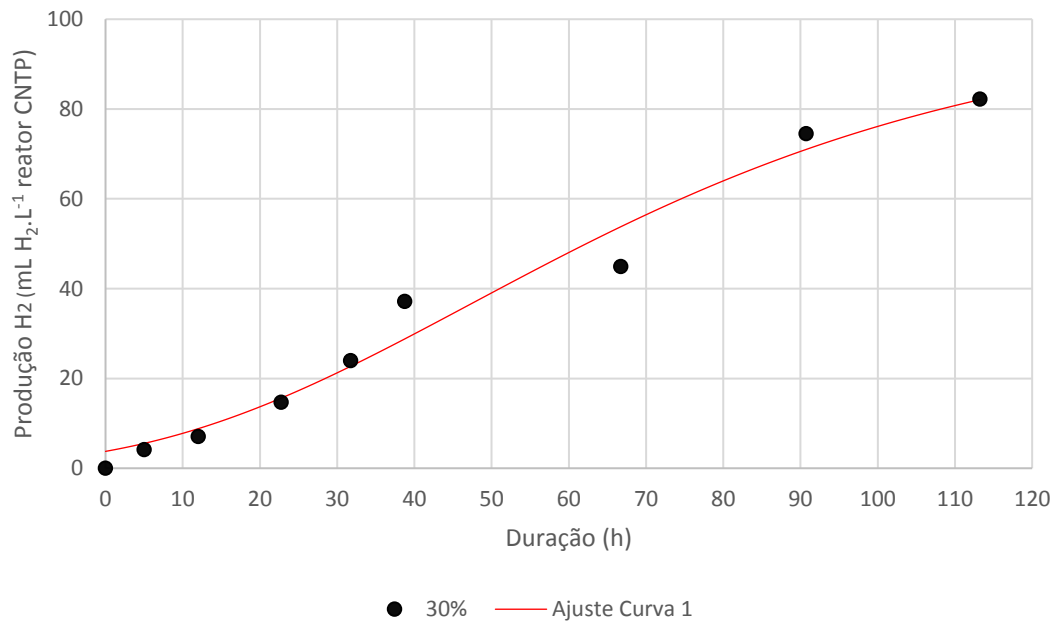


Figura 16 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 30%.

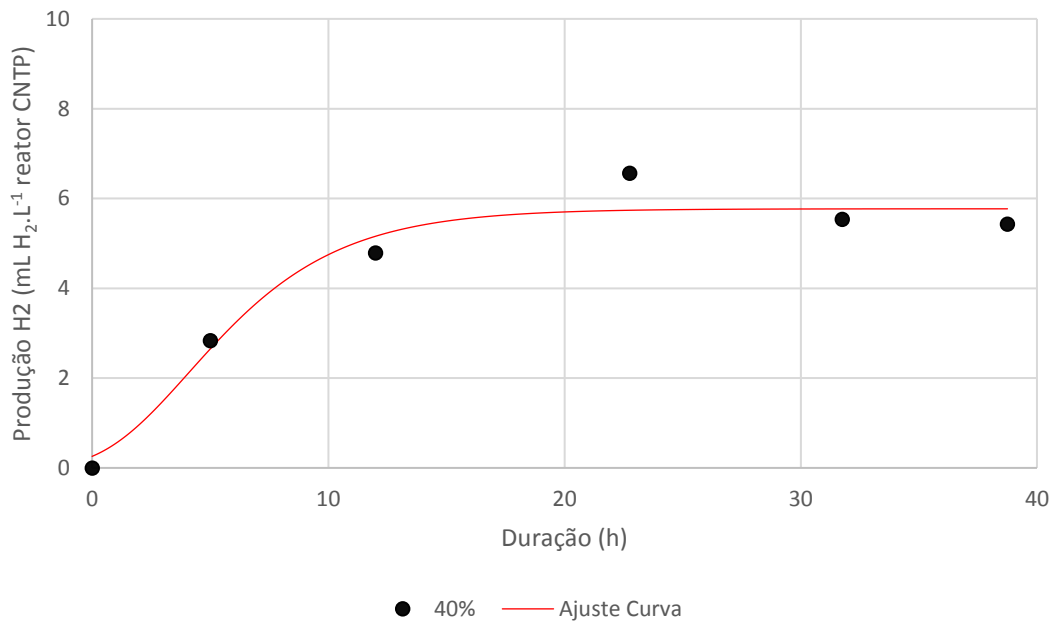


Figura 17 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 6,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 40%

Os parâmetros cinéticos da equação de Gompertz modificada identificados para as curvas da Figura 14, Figura 15, Figura 16 e Figura 17 estão apresentados na Tabela 6:

Tabela 6 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 6,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	λ (h)	R_s (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	P (mL H ₂ .L ⁻¹)	R ²
10	11,75	27,79	153,41	0,99
20	13,04	4,30	553,36	0,98
30	7,41	0,26	99,37	0,97
40	0,49	0,17	5,77	0,94

Inicialmente, verifica-se que os ajustes feitos foram satisfatórios uma vez que o valor do coeficiente de determinação (R²) está próximo de 1. Como identificado pela análise da Figura 13, entre aquelas com a produção de hidrogênio mais considerável, a condição de concentração de licor de pentoses de 10% foi a que apresentou o menor período de fase lag (λ) de 11,75 horas, enquanto que a maior fase de adaptação foi apresentada pelos reatores com concentração de 30% com aproximadamente 47 horas de adaptação. A condição de 20% teve uma fase lag próxima de 13 horas. Este resultado era esperado uma vez que em concentrações mais altas de licor também se aumenta as concentrações de compostos de difícil degradação os quais podem interferir no metabolismo da biomassa, necessitando assim de um maior tempo para adaptação à nova condição. Entretanto, é possível verificar que mesmo para concentrações de substrato em que a biomassa já estava adaptada (10%) houve fase lag. Este resultado era esperado uma vez que para a montagem dos reatores a biomassa foi submetida a condições diversas como exposição a oxigênio, além de supressão de alimentação a base de sacarose, solução de micronutrientes e amônia.

O maior potencial de produção de hidrogênio (P) foi apresentado pela condição de 20% com aproximadamente 550 mL H₂.L⁻¹ reator de hidrogênio para as condições da CNTP. Já as condições de 10% e 20% apresentaram um potencial de produção de hidrogênio de 153,41 mL H₂.L⁻¹ reator e 99,37 mL H₂.L⁻¹ reator, respectivamente. Interessantemente, a maior velocidade

de produção (R_s) foi apresentada pela condição de 10% e não pela condição com maior produção observada.

5.1.1.2. pH 5,5

A Figura 18 apresenta o perfil de produção de hidrogênio observado nos reatores em batelada com pH inicial de 5,5.

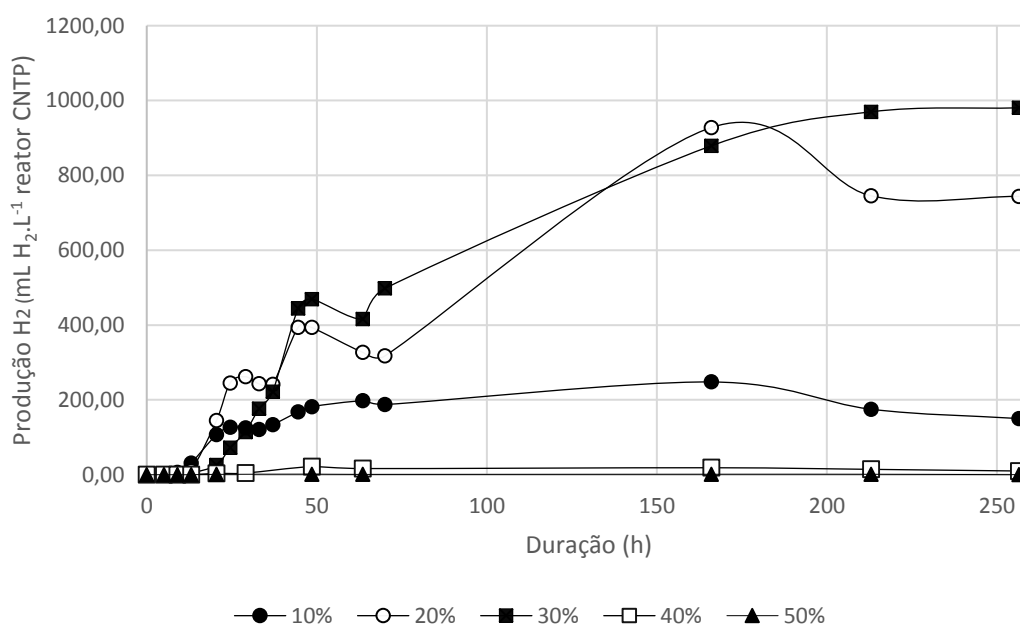


Figura 18 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 5,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – E1

Na Figura 18 observa-se que para a condição de pH inicial de 5,5 houve produção de hidrogênio para as mesmas condições de concentração de licor de pentoses em volume que as de pH inicial 4,5. As concentrações de licor de pentoses de 10% e 20% foram as primeiras a apresentar produção de hidrogênio, antes de aproximadamente 25 horas de operação. Algumas horas depois, a condição de concentração de 30% apresentou também valores de hidrogênio em sua composição gasosa. A condição de 40% foi a última a apresentar produção de hidrogênio. Já nos frascos de 50%, a produção de hidrogênio foi extremamente ínfima, principalmente quando se analisa visualmente o gráfico apresentado na Figura 18, desse modo, considerou-se a produção nula.

Nos momentos iniciais de operação dos reatores foi possível notar que o volume produzido pelos reatores com condições de 10%, 20% e 30% se mantiveram praticamente

iguais, até que a produção no reator de 10% começou a apresentar declínio após cerca de 20 horas do início das bateladas. Entre 30 e 40 horas de experimento verificou-se o aumento substancial da produção de hidrogênio nos frascos de 30% em relação aos demais. Após este período é possível observar que a curva de produção apresentada pelos reatores de 20% e 30% tem comportamento semelhante. Com 50 horas de experimento, ocorreu diminuição da produção observada nos frascos de 40%, a partir desse momento, as produções observadas nestes reatores tenderam a zero. Após cerca de 160 horas de experimento as produções de hidrogênio dos frascos com concentração de licor em volume de 10%, 20% e 40% passaram a decair. Os frascos com 30% de licor continuaram a ter sua produção em crescimento com estabilização próxima das 250h, enquanto que os frascos de 50% não sofreram alterações significativas ao longo do processo.

Entretanto, comparando-se os perfis obtidos para pH 5,5 (Figura 18) com aqueles apresentados para o pH de 4,5 (Figura 13), verifica-se que para a condição de pH 5,5, dentro do intervalo de tempo estudado, houve variação na produção de biogás hidrogênio com decréscimos da produção e recuperações posteriormente. Assim, para melhor análise do comportamento da produção de hidrogênio nesta condição de pH e definição dos parâmetros cinéticos, foi feito o ajuste das curvas de produção com o modelo modificado de Gompertz.

O ajuste foi feito para as concentrações de licor de pentoses no substrato em volume de 10%, 20%, 30% e 40%. Para a condição de 50% não foi possível efetuar o ajuste de maneira satisfatória já que a produção foi praticamente nula. A Figura 19, Figura 20, Figura 21 e Figura 22 ilustram o ajuste obtido, no entanto, é válido ressaltar que devido às variações na produção os ajustes em muitos casos ocorreram com mais de uma curva.

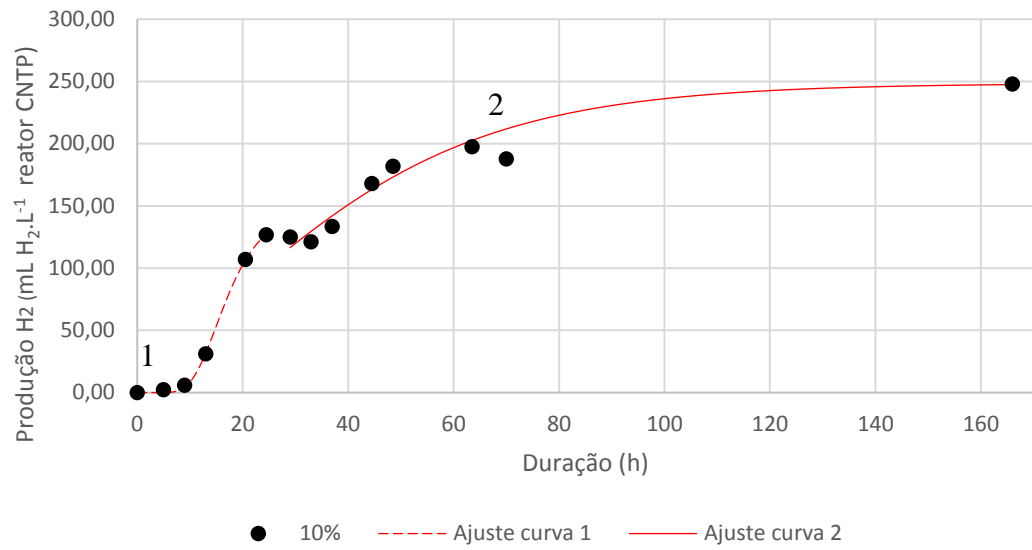


Figura 19 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%.

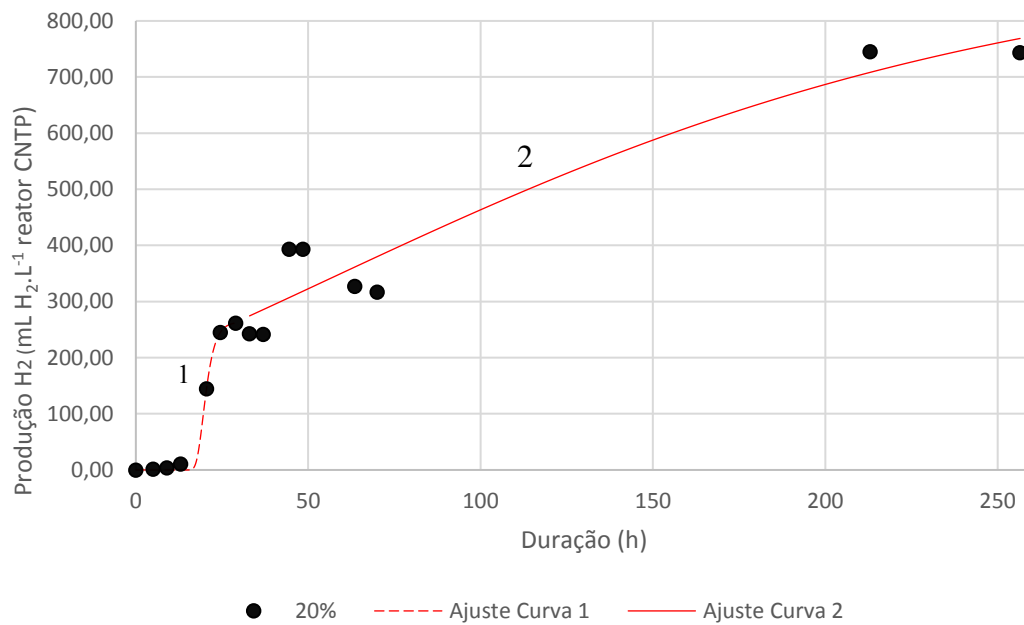


Figura 20 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%.

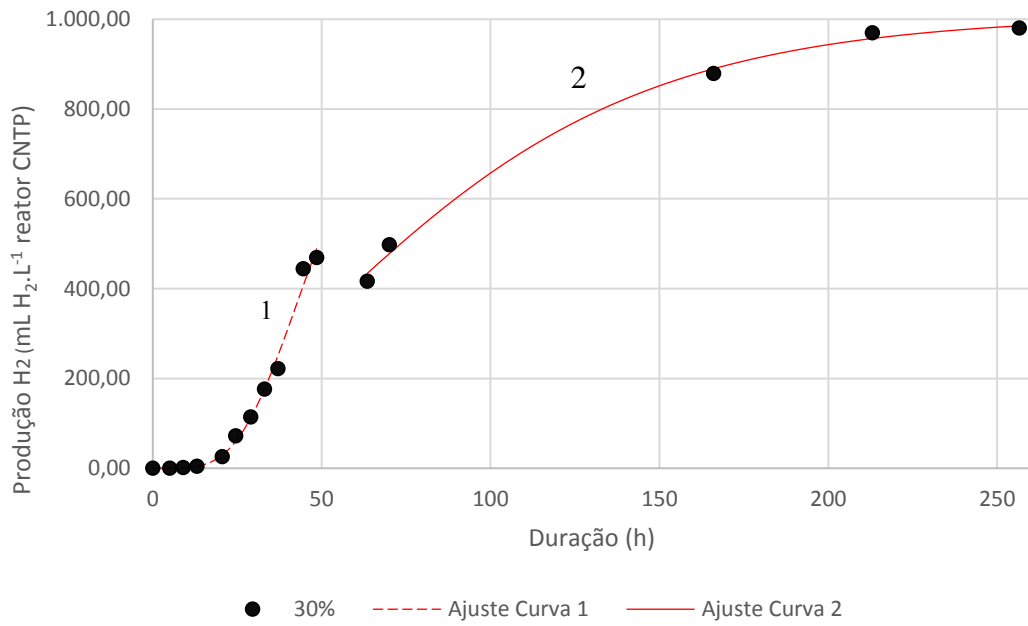


Figura 21 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 30%.

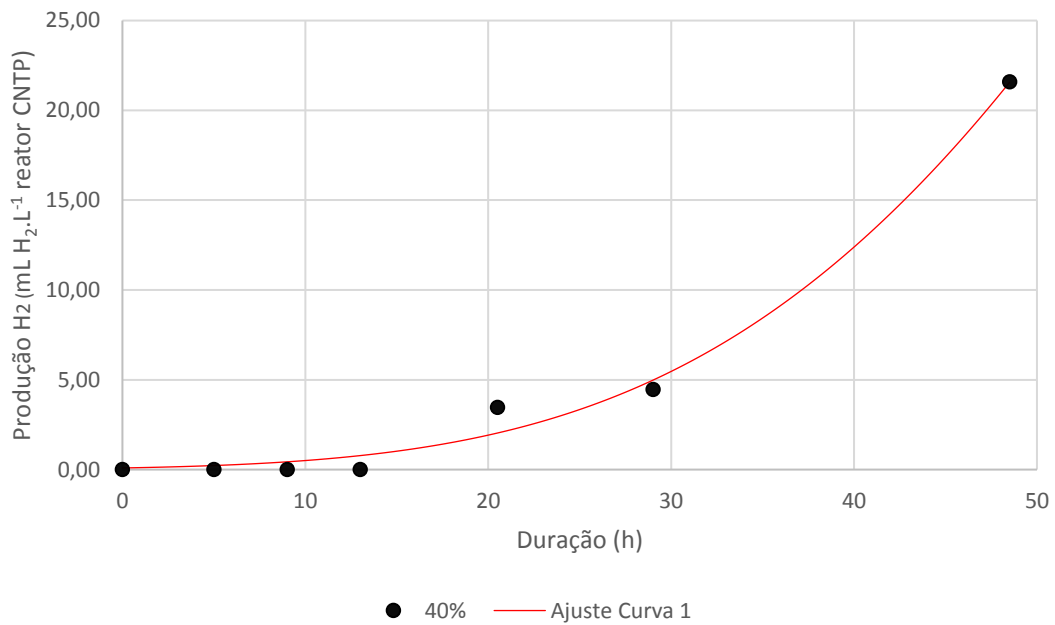


Figura 22 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 5,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 40%.

Os parâmetros cinéticos dos ajustes efetuados na Figura 19, Figura 20, Figura 21 e Figura 22 encontram-se dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 5,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	λ (h)	R_s (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	P (mL H ₂ .L ⁻¹)	R ²
10 – Curva 1	10,22	4,77	146,23	1,00
10 – Curva 2	Nd ¹	1,48	248,33	0,96
20 – Curva 1	17,62	21,64	263,74	1,00
20 – Curva 2	Nd ¹	1,22	925,07	0,89
30 – Curva 1	25,29	8,99	1.019,22	0,99
30 – Curva 2	Nd ¹	2,93	1.008,50	0,99
40	43,16	0,90	233,92	0,99

¹ Nd: Não foi detectado

Assim como observado na Tabela 6, verifica-se que os ajustes das curvas foram eficazes dado que o coeficiente de determinação apresentou valores próximos de 1 para a maioria dos casos. A partir dos valores encontrados para o tempo de fase lag (λ) do ajuste das primeiras curvas é possível verificar que um aumento na concentração em volume de licor de pentoses no substrato também gerou um maior tempo de fase lag, ou seja, a biomassa necessitou de mais tempo para se adaptar a ele.

Em termos de velocidade específica de produção (R_s), verificou-se que a condição com concentração volumétrica de 20% de licor de pentoses na primeira curva de ajuste foi a que apresentou o maior valor, 21,64 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹.g⁻¹ SSV, mesmo que a maior produção de hidrogênio não tenha sido obtida para esta condição. Quando a comparação de velocidade específica de produção foi feita entre as segundas curvas de ajuste, foi possível verificar que a condição de 30% teve o maior valor, entretanto, este valor, 2,93 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹.g⁻¹ SSV, se mostrou próximo aqueles apresentados pelas curvas de 10% e 20% cujos valores foram 1,48 e 1,22 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹.g⁻¹ SSV, respectivamente.

A maior potencial produção de hidrogênio (P) foi apresentada pelos reatores com concentração volumétrica de 30% de licor de pentoses, tanto no ajuste realizado pela primeira quanto pela segunda curva. A somatória desses valores indica uma potencial produção total de 2.027,72 mL H₂.L⁻¹ reator enquanto que a produção acumulada para a condição de 20% foi de 1.188,81 mL H₂.L⁻¹, a de 10% foi de 394,56 mL H₂.L⁻¹ reator e a condição com 10% de licor apresentou uma produção de 233,92 mL H₂.L⁻¹.

5.1.1.3. pH 4,5

O perfil de produção observado nos reatores em batelada operados à 37°C e pH 4,5 estão apresentados na Figura 23.

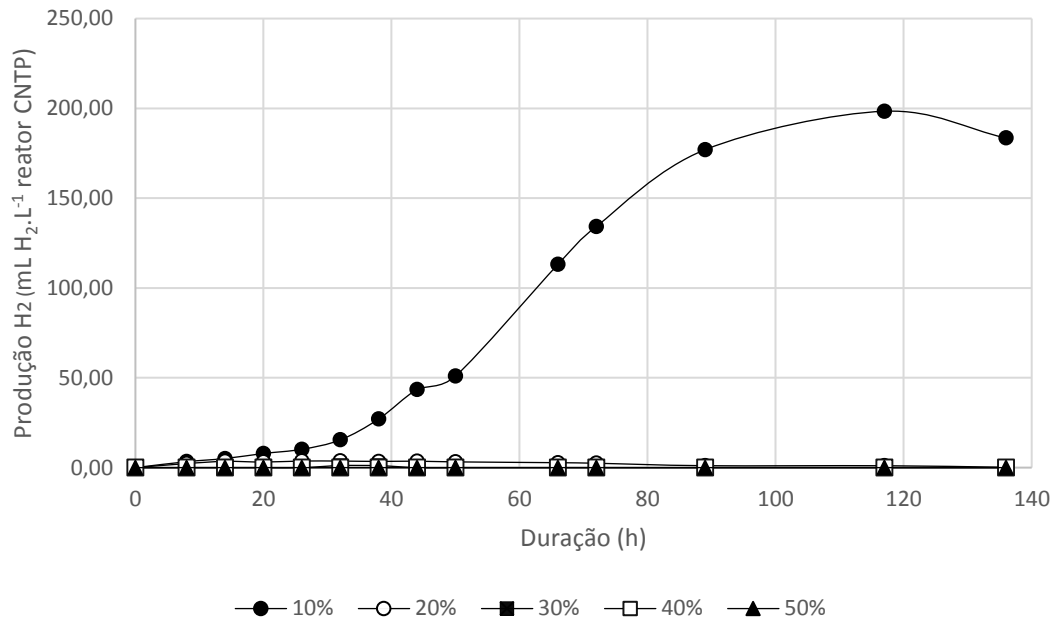


Figura 23 – Volume de biogás produzido na CNTP para pH inicial de 4,5 e temperatura de 37°C para diferentes concentrações de licor de pentoses no substrato – E1

A partir da Figura 12 é possível observar que a condição de 10% em concentração de licor de pentoses foi a que mais se destacou em termos de produção de hidrogênio. Ainda que seja possível verificar uma pequena redução no volume de hidrogênio presente próximo de 45 horas de operação, observa-se que a produção foi logo retomada e o volume total continuou a aumentar até atingir seu pico próximo das 120 horas de operação. Após este período a produção apresenta queda, entrando assim na fase de declínio. A partir das análises feitas não é possível concluir se as quedas observadas após um certo período de tempo correspondem de fato a uma fase de declínio da produção de biogás, ou a uma fase de estabilização do processo de geração de biohidrogênio perturbado pelos procedimentos de amostragem de gás.

Embora imperceptível na Figura 23, verificou-se também produção de hidrogênio na condição com concentração volumétrica de licor de 20%. Assim, os ajustes cinéticos para esta produção e para a produção de 10% estão apresentados na Figura 24 e Figura 25.

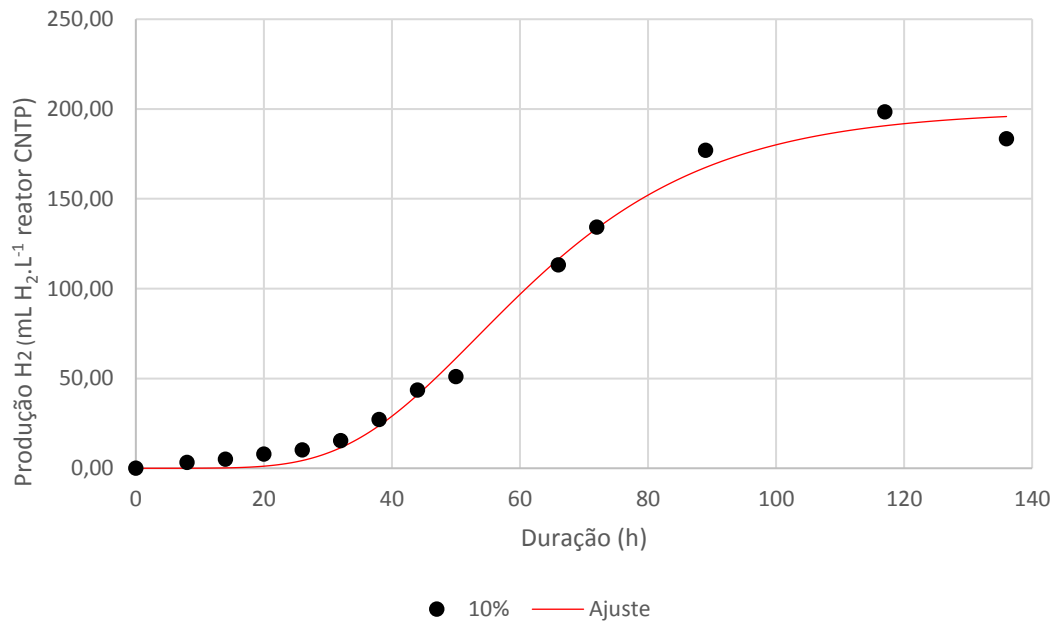


Figura 24 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 4,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 10%.

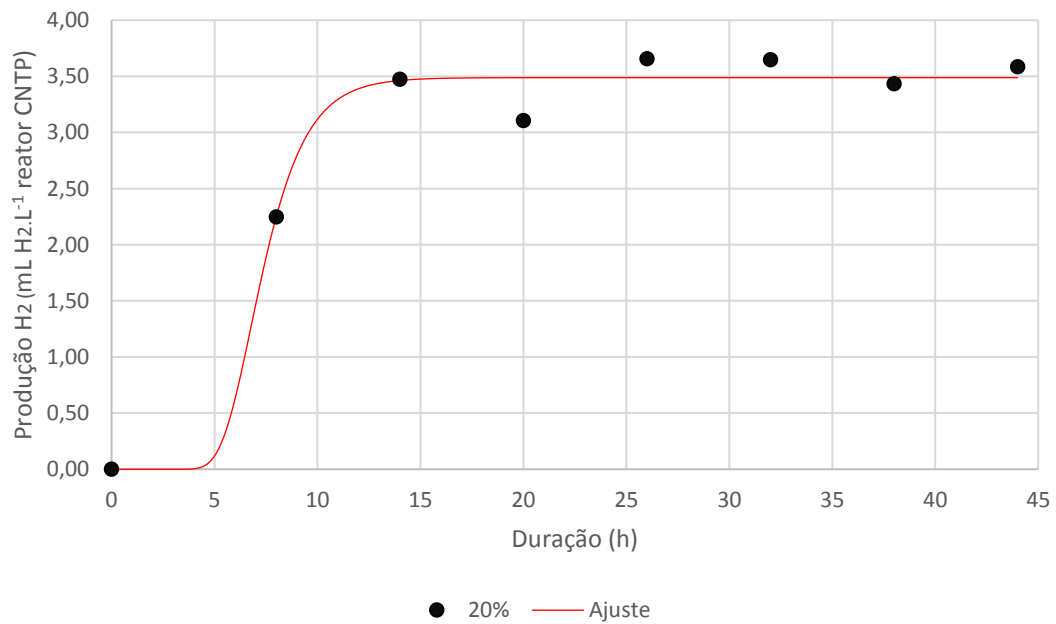


Figura 25 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio para pH inicial de 4,5 e substrato com concentração de licor de pentoses em volume de 20%.

Os parâmetros cinéticos dos ajustes efetuados na Figura 24 e Figura 25 estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 – Parâmetros cinéticos obtidos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada para a condição operacional de pH 4,5 e temperatura de 37°C utilizando diferentes concentrações de Licor de Pentoses como substrato.

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	λ (h)	R_s (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	P (mL H ₂ .L ⁻¹)	R ²
10	33,01	1,05	199,24	0,99
20	5,32	0,26	3,49	0,97

A Tabela 8 demonstra uma diferença considerável entre a fase lag (λ) obtida para a curva ajustada para a concentração de 10% e 20%, resultado diferente do obtido nos outros casos em que a menor concentração de licor de pentoses em volume foi a que apresentou menor tempo de adaptação da biomassa ao substrato em termos de produção de biohidrogênio.

Em termos de velocidade específica (R_s), a concentração de 10% apresentou maior velocidade com 1,05 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹.g⁻¹ SSV enquanto a concentração de 20% foi 0,26 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹.g⁻¹ SSV.

A potencial produção de hidrogênio foi de 199,24 mL H₂.L⁻¹ reator para a concentração de 10% e pouco menor que 3,5 mL H₂.L⁻¹ reator quando analisado os frascos de 20%.

5.1.2. Análise da variação de pH

O pH possui influência direta na operação do reator sendo relevante o monitoramento do pH inicial dado que influencia as reações químicas e a taxa de crescimento de microorganismos assim como o pH final que influi diretamente na disposição do efluente, seu uso e interação com o meio (SANTOS, 2008).

A Tabela 9 apresenta os valores de pH final apresentado pelos reatores de pH inicial 6,5.

Tabela 9 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 6,5

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	pH final	Δ pH
10	4,25	2,25
20	4,15	2,35
30	3,79	2,71
40	3,77	2,73
50	3,89	2,61

A análise da Tabela 9 permite observar uma tendência de pH final próximo de 4,0. Além disso, verificou-se que as maiores variações ocorreram nos reatores com concentrações de 30%, 40% e 50%, ou seja, nos reatores com maior volume de licor. Em relação à produção de hidrogênio, obteve-se maior volume de hidrogênio nos frascos de 20%, os quais não foram aqueles que apresentaram os extremos de valor de pH final.

Os dados referentes à variação do pH para a condição de pH inicial de 5,5 estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 5,5

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	pH final	Δ pH
10	4,11	1,39
20	3,93	1,57
30	3,84	1,66
40	3,78	1,72
50	3,92	1,58

Os dados presentes na Tabela 10 permitem observar que a maior variação em relação ao pH inicial ocorreu para uma concentração em volume de 40% de licor, enquanto que as menores variações ocorreram nos frascos com 10%, assim como para pH inicial 6,5. Ademais, como na condição de pH inicial de 6,5, verificou-se que para esta condição o pH final também tendeu a valores próximos de 4,0. Assim como para o pH inicial de 6,5, não se notou relação entre a produção de hidrogênio e o valor de pH final uma vez que a maior e menor variação não ocorreram para a condição com maior produção de biohidrogênio.

Por fim, a Tabela 11 apresenta os dados relativos à variação de pH para a condição de pH inicial de 4,5 e temperatura de 37°C.

Tabela 11 – Resultado das análises de pH final para pH inicial de 4,5

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	pH final	Δ pH
10	3,62	0,88
20	3,51	0,99
30	3,63	0,87
40	3,97	0,53
50	4,12	0,38

A Tabela 11 permite verificar uma variação pequena de pH em relação ao pH inicial de 4,5, sendo a condição de 20% a que mais apresentou variação em relação ao pH inicial. Novamente verificou-se uma tendência do pH final a se estabilizar em valores próximos de 4,0 ao mesmo tempo em que não se observou relação entre a produção de hidrogênio e o valor de pH final.

A análise e comparação de todos os resultados permitiu observar que as maiores variações ocorreram para os maiores valores de pH inicial uma vez que foi verificada uma tendência do pH final em se estabilizar próximo de 4,0. Além disso, é interessante observar ainda que mesmo com as variações nos tempos de operação dos reatores, ao final do processo, o pH final ainda se mantinha a valores próximos de 4 o que provavelmente se deve ao efeito tampão dos ácidos orgânicos produzidos. Por fim, pode-se verificar que não houve uma correlação direta entre as condições com maior variação de pH e maior produção de hidrogênio.

5.1.3. Análise da conversão de carboidratos

A Tabela 12 apresenta os dados referentes à conversão de carboidratos da primeira etapa em reatores em batelada para pH inicial de 6,5.

Observou-se que para este pH inicial a maior conversão de carboidratos ocorreu para concentrações de licor de pentoses de 10% e 20%, sendo estas também as condições com maior produção de hidrogênio. A pior conversão ocorreu para concentração de 50%. Entretanto, é interessante observar que mesmo nos frascos em que não foram observadas produção de hidrogênio, obteve-se conversão de carboidratos demonstrando que houve reações de transformação ainda que não aquelas cujo resultado era o biogás. Além disso, observou-se que a maior conversão ocorreu nos frascos cuja produção de hidrogênio foi maior.

Tabela 12 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 6,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.

Concentração de Licor de Pentoses em volume no substrato (%)	Concentração de carboidratos totais no licor inicialmente (g.L ⁻¹)	Concentração de carboidratos totais no licor final (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
10	2,38	0,60	75%
20	4,76	0,86	82%
30	7,14	4,14	42%
40	9,52	7,43	22%
50	11,9	10,12	15%

A conversão de carboidratos relativa ao pH inicial de 5,5 é apresentada na Tabela 13:

Tabela 13 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 5,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.

Concentração de Licor de Pentoses em volume no substrato (%)	Concentração de carboidratos totais no licor inicialmente (g.L ⁻¹)	Concentração de carboidratos totais no licor final (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
10	2,37	0,19	92%
20	4,74	0,24	95%
30	7,11	2,42	66%
40	9,48	5,02	47%
50	11,85	7,23	39%

Observou-se que para o pH de 5,5 a conversão de carboidratos não ocorreu de maneira similar à produção de hidrogênio, ou seja, os frascos que apresentaram o melhor resultado em termos de conversão de carboidratos não foram necessariamente os frascos que obtiveram maior produção de hidrogênio. Em relação à concentração de licor de 50% verificou-se que a conversão de carboidratos foi maior neste pH do que no pH de 6,5. De modo geral, as condições com pH inicial de 5,5 apresentaram conversões maiores do que aquelas apresentadas para o pH de 6,5.

Por fim, a Tabela 14 apresenta os valores referentes à conversão de carboidratos para pH 4,5.

Tabela 14 – Conversão de carboidratos para pH inicial de 4,5 e temperatura de 37°C, utilizando como substrato licor de pentoses em diferentes concentrações.

Concentração de Licor de Pentoses em volume no substrato (%)	Concentração de carboidratos totais no licor inicialmente (g.L ⁻¹)	Concentração de carboidratos totais no licor final (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
10	2,93	1,32	55%
20	5,86	3,57	39%
30	8,79	5,98	32%
40	11,72	9,26	21%
50	4,65	4,14	11%

A primeira diferença que se nota na análise de carboidratos dos frascos com pH inicial de 4,5 em relação aos demais reatores é o valor da concentração de carboidratos presente neste licor. Em relação ao licor puro, a concentração de carboidratos no licor de pentoses era de 23,8 g.L⁻¹, 23,7 g.L⁻¹ e 29,3 g.L⁻¹ para os pHs de 6,5, 5,5 e 4,5, respectivamente. Esta diferença deve-se ao fato de que para a batelada de 4,5, utilizou-se o licor remanescente do galão, corroborando com as informações de que muitos compostos tendiam a sedimentar e ficar no fundo do galão ainda que se buscasse efetuar a homogeneização do substrato antes da coleta. Para este pH a maior porcentagem de conversão foi apresentada nos frascos de 10% os quais também foram os frascos em que se observou maior produção de hidrogênio, assim como observado para a condição de pH inicial 6,5.

Em resumo, verificou-se que de modo geral houve decréscimo da porcentagem de conversão de carboidratos à medida que se aumentava a concentração em volume do licor no substrato. Este fato pode ser decorrente do aumento da concentração de compostos de difícil degradação como o furfural e o HMF os quais podem inibir ou reduzir a atividade microbiana (MUSSATO E ROBERTO, 2004), afetando assim a atividade metabólica da biomassa em termos de consumo e conversão de carboidratos.

Além disso, é importante observar que a concentração de carboidratos totais no licor variou entre as condições analisadas. Pois, como dito anteriormente, esta é uma limitação que se possui ao se trabalhar com água residuária real cujas características não podem ser fixadas. Ademais, como mencionado, verificou-se que as características do licor variavam entre os galões de armazenamento e muitas vezes dentro do próprio galão, o que pode influenciar nos resultados obtidos. Assim, o ideal é que se busque controlar o máximo de variáveis possíveis, entretanto, sabe-se que nem sempre isso é possível quando se utiliza substratos reais.

5.1.4. Considerações sobre a primeira etapa

A partir da Tabela 15 é possível se ter uma melhor comparação dos resultados obtidos para a etapa 1.

Tabela 15 - Resumo dos dados da primeira etapa

pH inicial	Concentração de substrato	Produção máxima obtida (mL H ₂ .L ⁻¹ reator)	Velocidade específica média (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	pH final	Concentração de carboidratos totais no licor final (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
6,5	10	158,73	27,79	4,25	0,60	75%
	20	618,60	4,30	4,15	0,86	82%
	30	82,23	0,26	3,79	4,14	42%
	40	6,57	0,17	3,77	7,43	22%
	50	0,00	Nd ¹	3,89	10,12	15%
5,5	10	247,91	3,12	4,11	0,19	92%
	20	927,79	11,43	3,93	0,24	95%
	30	980,48	5,96	3,84	2,42	66%
	40	21,59	0,90	3,78	5,02	47%
	50	1,43	Nd ¹	3,92	7,23	39%
4,5	10	198,41	1,05	3,62	1,32	55%
	20	3,66	0,26	3,51	3,57	39%
	30	1,12	Nd ¹	3,63	5,98	32%
	40	0,00	Nd ¹	3,97	9,26	21%
	50	0,00	Nd ¹	4,12	4,14	11%

Nd¹: Não detectado.

A condição de pH inicial de 6,5 apresentou produção satisfatória de biogás para as concentrações volumétricas de substrato de 20% enquanto que com pH inicial de 5,5 a melhor condição de produção foi aquela de 30% e de pH inicial 4,5 a melhor condição foi aquela com concentração de 10%. Observou-se que para condição de 10% de licor de pentoses a produção com pH inicial de 4,5 foi maior do que aquela apresentada nesta mesma concentração com pH inicial 6,5. Entretanto, ainda assim, essas produções não superaram a apresentada pelo pH inicial de 5,5 que foi a condição com o melhor resultado para todas as concentrações. Neste pH foi possível detectar hidrogênio em todas as concentrações volumétricas de licor estudadas.

Comparando-se os valores de produção máxima obtida a partir do licor de pentoses como substrato com valores apresentados por Peixoto (2011) para diferentes substratos como arroz, vinhaça e sacarose é possível verificar que o licor de pentoses teve uma boa performance

uma vez que os casos estudados por Peixoto não atingiram valores superiores a $9,5 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator para a produção de hidrogênio conforme parâmetros da equação modificada de Gompertz. Em estudos em batelada com água residuária agroindustrial, verificou-se que a produção de hidrogênio a partir do licor de pentoses mostrou-se mais eficiente (melhor produção acumulada de $980 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator) do que aquela apresentada na melhor condição desse estudo ($600 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ reator) (DARIEOTI, VAVOURAKI, e KORNAROS, 2014).

Em termos de valores de pH final verificou-se que os valores tenderam a 4,0 sendo que quanto maior a diferença entre o pH inicial de 4,0 maior foi a variação de pH apresentada pelo experimento. A tendência de todos os pH finais ficarem próximos de 4,0 indica que o licor de pentoses tende a funcionar como uma solução tampão.

Em relação à variação do carboidrato, observou-se que em todas condições houve conversão de carboidratos, mesmo naquelas em que a produção de hidrogênio não foi passível de identificação via cromatografia gasosa. Estes resultados indicam que o substrato sofreu transformação dentro do tempo de operação do reator, ainda que o resultado obtido não tenha sido a produção de hidrogênio.

A análise conjunta do pH com as concentrações em volume do licor de pentoses em cada batelada e a produção de hidrogênio máxima obtida apresenta um resultado interessante o conforme representação na Figura 26. O gráfico permite verificar que considerando a concentração de carboidratos totais no licor próxima de $23,7$ ou $23,8 \text{ g.L}^{-1}$, independentemente do pH, a melhor produção de hidrogênio poderá ser adquirida com concentrações em volume de licor de pentoses entre 20% e 30%. Agora, avaliando-se também o pH, verifica-se que para pH de 5,5 é possível obter maiores produções de hidrogênio do que quando se tem uma operação sob pH 6,5 ou ainda pH 4,5.

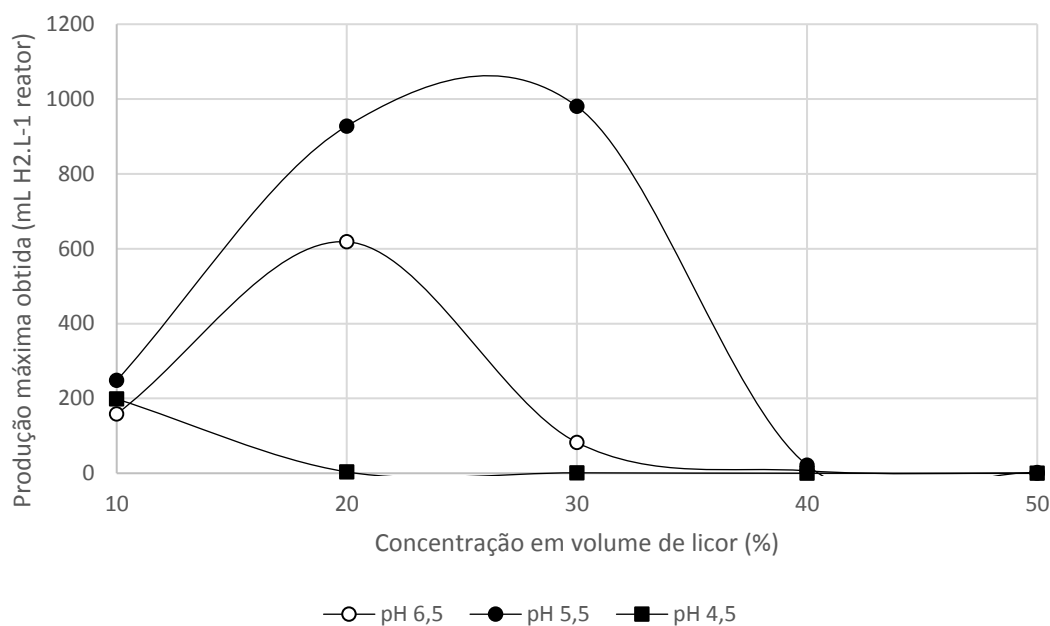


Figura 26 – Resumo dos resultados referentes à produção máxima de hidrogênio e as concentrações em volume de licor de pentoses.

Ademais, não foi observada nenhuma relação direta entre a porcentagem de conversão de carboidratos e a variação sofrida pelo pH por meio das análises efetuadas nessa primeira fase já que valores de pH finais mais baixos não foram observadas nos mesmos frascos que as maiores conversões de carboidrato, mas sim, nas menores. Entretanto, verificou-se que as condições de maior concentração de licor de pentoses em volume foram as condições em que se observou a menor conversão de carboidratos assim como menor produção de hidrogênio. Analisando o conjunto dos resultados, notou-se que geralmente a porcentagem de conversão apresentava declínio à medida que a concentração de licor aumentava. Este resultado era esperado uma vez que maiores concentrações de substrato implicam em concentrações mais altas de compostos de difícil degradação os quais podem interferir nas reações de tal modo que as atividades microbianas são inibidas.

Assim, de maneira geral, analisando os resultados obtidos é possível concluir que:

- O pH possui grande influência sobre a produção de hidrogênio como descrito por Fernandes (2008) além de que o pH ideal para a produção de hidrogênio varia conforme o substrato e o inóculo (KHANAL, CHEN e SUNG, 2004; LIN e CHENG, 2006; LIN e HUNG, 2008; WANG e WAN, 2009).

- Independentemente do pH inicial e suas variações ao longo do experimento, o pH final tendia a valores próximos de 4,0, provavelmente devido ao efeito tampão dos ácidos orgânicos produzidos. Assim, a fim de verificar esse comportamento o perfil dos ácidos será incluído nas amostragens da segunda etapa.
- Por meio das análises feitas nessa primeira etapa, não foi possível verificar uma relação direta entre a produção de hidrogênio e a variação de pH apresentada nas bateladas;
- Por meio dos estudos de conversão de carboidratos, verificou-se que ocorreram reações com consumo do substrato ainda que o resultado não tenha sido a produção de hidrogênio;
- Observou-se que a condição com mais carboidrato disponíveis, ou seja, maiores concentrações de licor, não foi necessariamente a condição em que se obteve a maior produção de hidrogênio ou conversão de carboidratos dado que as reações não são apenas resultado da disponibilidade de substrato para consumo.

Assim, a fim de selecionar a melhor condição conforme os critérios pré-estabelecidos no item 4.3.4, definiu-se inicialmente as melhores condições em termos de concentração volumétrica de licor de pentoses dentro de cada pH estudado nesta etapa também conforme esses critérios e comparou-se os resultados obtidos.

Para melhor visualização o gráfico da Figura 27 apresenta os volumes de hidrogênio que foram produzidos nas melhores condições dentro de cada pH estudado desta etapa.

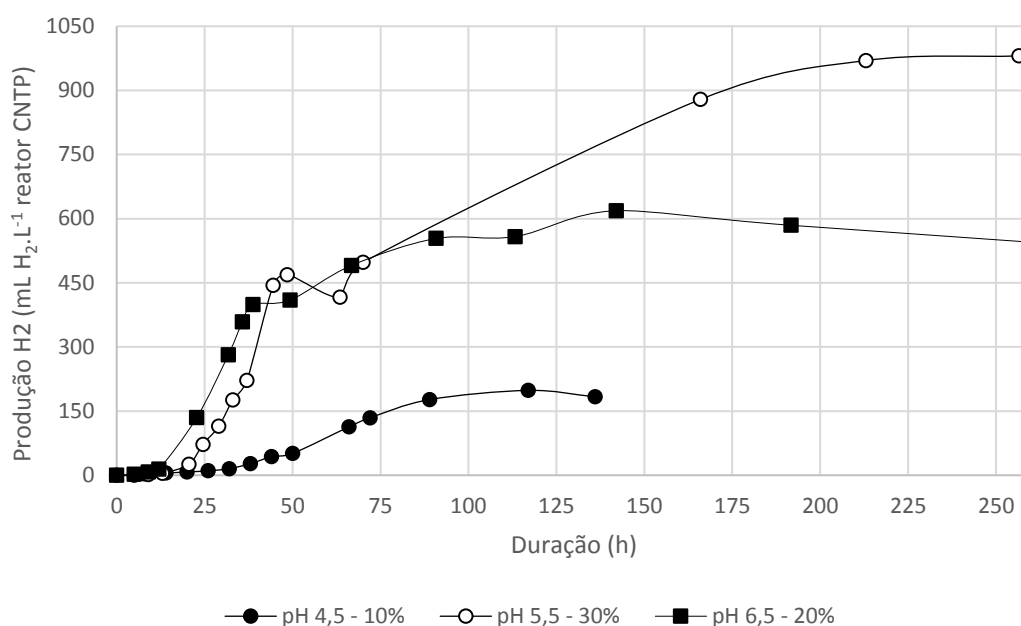


Figura 27 – Volume de hidrogênio produzido nas melhores condições de concentração volumétrica de licor para cada pH da etapa 1

A Tabela 16 apresenta um resumo dos dados analisados assim como de alguns parâmetros da curva ajustada ao modelo modificado de Gompertz para as condições de concentração em volume de licor de pentoses que apresentaram a melhor performance dentro de cada pH estudado.

Tabela 16 - Resumo dos dados das condições de concentração volumétrica de licor com melhor resultado dentro de cada pH da primeira etapa

pH inicial	Concentração de substrato	Produção máxima obtida (mL H ₂ .L ⁻¹)	Velocidade específica média (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	pH final	Concentração de carboidratos totais no licor (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
6,5	20	618,60	4,30	4,15	23,8	82%
5,5	30	980,48	5,96	3,84	23,7	66%
4,5	10	198,41	2,05	3,62	29,3	55%

Por fim, analisando estes resultados foi possível concluir que a maior produção de hidrogênio foi obtida para pH de 5,5 com 30% de concentração de licor de pentoses em volume no substrato em reatores em batelada uma vez que esta foi a condição em que se obteve a maior produção de hidrogênio assim como conversão de carboidratos em relação ao inicial ainda que a concentração de carboidratos inicial não tenha sido a maior dentre as estudadas nem a menor.

5.2. Segunda etapa (E2)

A partir dos estudos elaborados na primeira etapa e dos dados obtidos, concluiu-se por meio dos critérios descritos no item 4.3.4 que o pH mais favorável à produção de hidrogênio a partir do licor de pentoses foi o 5,5, e a melhor concentração de licor a de 30%. Assim, dentro deste pH tem-se que a condição menos favorável é aquela cuja concentração em volume de licor de pentoses é de 50%. Portanto, decidiu-se que as análises da segunda etapa seriam feitas utilizando pH 5,5 e concentração de licor de pentoses de 30% e 50%.

Por limitações técnicas, o licor de pentoses utilizado na segunda etapa do projeto foi proveniente de uma safra diferente de cana-de-açúcar do que aquele utilizado na primeira etapa. Assim, foi possível notar algumas diferenças em relação às características apresentadas pelo licor nessa segunda etapa como a concentração de carboidratos totais superior ao encontrado em grande parte do licor da primeira etapa. Embora, esta situação provocasse alteração nas condições da pesquisa assim como possivelmente nos resultados encontrados, decidiu-se elaborar o experimento seguindo a mesma metodologia adotada para a primeira etapa, ou seja, considerando a concentração volumétrica e não a concentração de carboidratos totais ou outro possível parâmetro. Esta decisão foi tomada considerando-se que por se tratar de efluente real, é importante que se obtenha resultados sobre o comportamento das tecnologias em desenvolvimento frente às variações intrínsecas ao processo.

5.2.1. Estudos cinéticos da produção de hidrogênio

Assim como na primeira fase do projeto, efetuou-se o estudo cinético para ajuste das curvas de produção de hidrogênio. A Figura 28 apresenta a curva de produção de hidrogênio obtida para as condições sob estudo da segunda etapa.

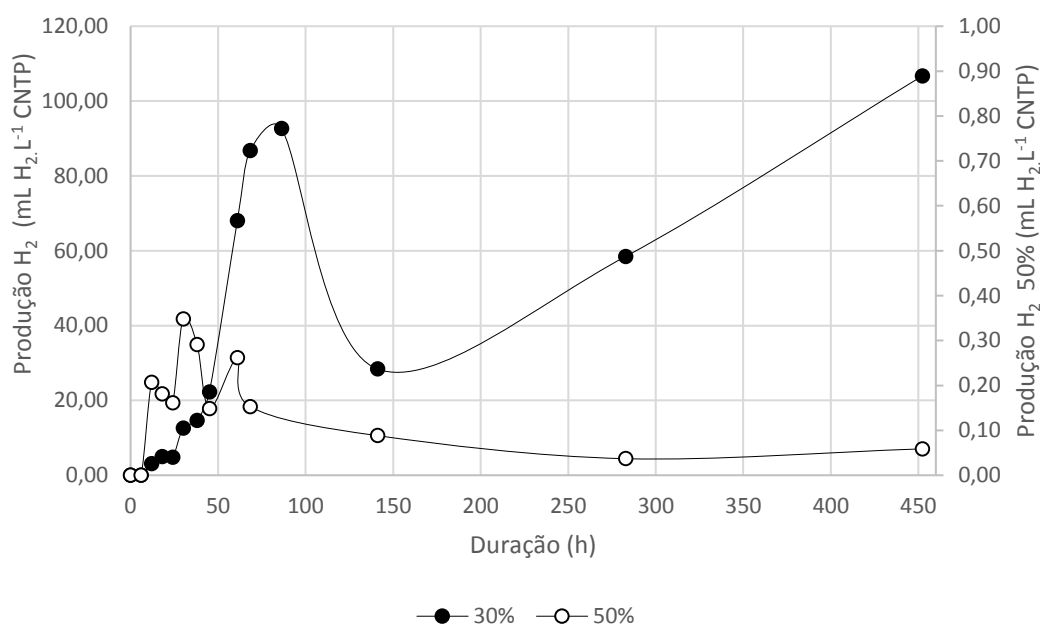


Figura 28 – Volume de hidrogênio produzido para a melhor e pior condição de produção de hidrogênio identificadas na E1: pH de 5,5 sob temperatura de 37°C e concentração de licor de pentoses no substrato de 30% e 50% em volume de substrato – E2.

A análise da Figura 28 demonstra que houve dois momentos com fase de crescimento exponencial para a condição de 30%, separados por um pequeno período de estabilização da produção. Verifica-se que o auge da produção foi obtido próximo das 100 horas de operação, ocorrendo um leve declínio nos valores de hidrogênio produzido após este momento. Em relação à condição de 50%, observa-se que esta não foi capaz de produzir uma quantidade significativa de hidrogênio para este pH, sendo a produção máxima próxima de 1 mL H₂.L⁻¹ reator CNTP

A comparação dos resultados apresentados na Figura 28 com os apresentados na Figura 18 permite verificar uma grande diferença entre as produções observadas nestes dois momentos do experimento. Em termos de tempo de operação, tem-se que a duração do experimento foi significativamente maior na segunda etapa do experimento em relação aquilo observado na primeira etapa. Os resultados apresentados na primeira fase demonstram valores máximos de produção de hidrogênio próximos de 1.000 mL H₂. L⁻¹ CNTP, enquanto que para a situação da segunda etapa, os valores máximos foram de aproximadamente 100 mL H₂. L⁻¹ CNTP, ou seja, praticamente 10 vezes inferior. Além disso, no caso da produção de hidrogênio para a condição de concentração de 30% da primeira etapa, é possível observar que esta teve início após 20-30 horas de experimento, enquanto que para a segunda etapa, este início ocorreu após cerca de 10 horas de experimento, caracterizando uma fase lag mais curta. Estes resultados são provenientes

das diferenças de característica do licor utilizado nesta etapa em relação aquele utilizado na etapa 1.

A Figura 29 apresenta o ajuste das curvas para a produção de biogás para a condição de concentração volumétrica de 30%.

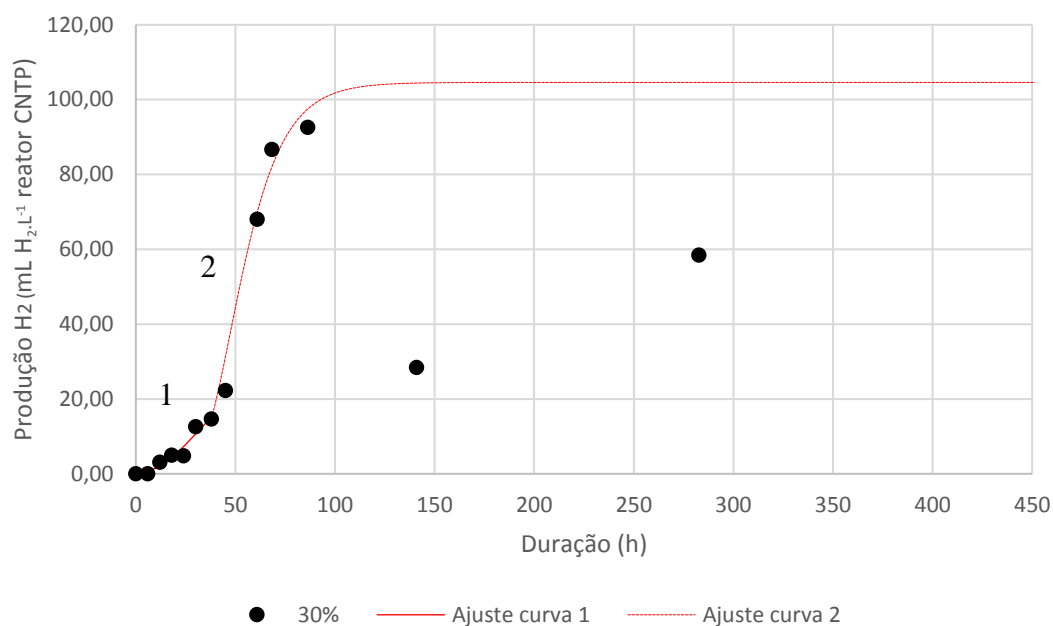


Figura 29 – Modelo matemático ajustado à produção de hidrogênio obtida na segunda etapa para pH 5,5, temperatura de 37°C e concentração de licor de pentoses no substrato em volume de 30%.

Assim como na primeira etapa, fez-se necessária a utilização de duas curvas para ajuste cinético da produção de hidrogênio para esta segunda etapa do projeto para a condição de 30% de licor de pentoses. Além disso, ainda que tenha sido observada produção de hidrogênio para a condição de 50%, as concentrações foram extremamente baixas de modo que não foi possível efetuar ajuste matemático à curva apresentada para esta condição.

A fim de melhor comparar os resultados obtidos na segunda etapa com os da primeira, a Tabela 17 exhibe os parâmetros cinéticos encontrados para a curva de concentração de 30% de licor de pentoses da primeira e da segunda etapa do projeto.

Tabela 17 – Parâmetros cinéticos para a produção de hidrogênio em reatores em batelada utilizando substrato com concentração de licor de pentoses de 30% e pH 5,5 da primeira e da segunda etapas do projeto

Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	λ (h)	Rs (mL H ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹ .g ⁻¹ SSV)	P (mL H ₂ .L ⁻¹)	R ²
E2: 30 – Curva 1	11,30	0,21	28,29	0,91
E2: 30 – Curva 2	33,18	0,95	104,60	0,98
E1: 30 – Curva 1	25,29	8,99	1.019,22	0,99
E1: 30 – Curva 2	Nd ¹	2,93	1.008,50	0,99

Nd¹: Não detectado.

A análise da Tabela 17 permite verificar que de fato os valores apresentados para a primeira etapa do projeto não foram reproduzidos na segunda fase. Inicialmente, é possível perceber que para o primeiro ajuste de curvas a segunda parte do projeto apresentou uma fase lag inferior à fase lag da primeira etapa. Mas, no caso da fase lag da Curva 2, o valor apresentado pela segunda etapa foi superior aquele apresentado para a primeira etapa. A velocidade específica da produção de hidrogênio sofreu uma alteração substancial àquela apresentada na primeira fase do projeto.

A comparação dos parâmetros cinéticos obtidos para a primeira e segunda fase de projeto demonstram que de fato, a produção de hidrogênio foi afetada pelas diferenças apresentadas entre o licor de pentoses utilizado na primeira e na segunda fase do projeto. Entretanto, ainda assim é possível verificar que a produção apresentada foi de certa maneira satisfatória quando comparada a estudos elaborados no próprio Laboratório de Processos Biológicos da USP (LPB). Peixoto (2011), por exemplo, encontrou em seu trabalho de avaliação de produção de hidrogênio utilizando combinação de esgoto sanitário e águas residuárias industriais um potencial de produção de 6,82 mL para arroz, 6,25 mL para vinhaça e 9,34 mL para Sacarose. Ainda que estes valores tenham sido observados após 24 horas, 16 horas e 36 horas de experimento, comparando-se esses volumes e tempos com o obtido pelo presente trabalho é possível concluir que a produção obtida com licor de pentoses, nesses períodos era superior à apresentada por Peixoto (2011).

Assim, é possível concluir, que apesar das variações nos resultados da segunda etapa em relação aos da primeira, a produção de hidrogênio obtida foi boa, mesmo em condições mais extremas de concentração do substrato. Em termos de tempo de operação, tem-se que a produção de hidrogênio foi mantida por um intervalo de tempo superior ao obtido na primeira

etapa. Entretanto, a fim de se entender melhor a degradação do composto, avaliou-se também o consumo de carboidratos específicos, a variação do pH e os perfis de variação dos ácidos orgânicos e de compostos como 5-hidroximetilfurfural e furfural, outras análises foram efetuadas e encontram-se relatadas nos itens a seguir.

5.2.2. Análise da variação de pH

A Tabela 18 apresenta os dados relativos à variação do pH obtido na segunda etapa do projeto.

Tabela 18 Valores de pH final e suas variações para pH inicial de 5,5 e concentrações de licor de 30% e 50% da etapa 1 e 2

Etapa	Concentração de licor de pentoses em volume no substrato (%)	pH final	Δ pH
1	30	3,78	1,66
	50	3,92	1,58
2	30	3,59	1,92
	50	3,61	1,90

A partir da análise da Tabela 18 é possível observar que as bateladas de 30% sofreram maior variação de pH em relação ao pH inicial do que os reatores em triplicata de 50% na primeira etapa. Já na segunda etapa, esta variação é praticamente insignificante de modo que os valores de pH finais para as concentrações de 30% e 50% foram praticamente os mesmos.

No entanto, é válido observar que esta desigualdade era esperada uma vez que o licor de pentoses utilizado na segunda etapa do projeto possuía um pH natural mais baixo (3,60) do que aquele utilizado na primeira fase do projeto (4,0) e conforme constatado anteriormente, as bateladas tendem a apresentar valor de pH final próximo ao valor do pH natural do licor. Assim, é interessante verificar que os pH finais tanto da primeira quanto da segunda etapa tenderam a valores próximos do pH natural do licor de pentoses sem a correção.

Francisco (2013) em seu estudo utilizando licor de pentoses sintético verificou-se que o pH final tendia a valores próximos de 5,0, entretanto, para acerto do pH inicial para valores próximos de 6,0 utilizou-se bicarbonato de sódio o qual possui efeito tamponante de modo que a variação do pH assim como o pH final tiveram seus valores controlados.

5.2.3. Carboidratos

A Tabela 19 apresenta os dados sobre a conversão de carboidratos referentes à segunda fase do projeto para pH 5,5 com concentração de licor de pentoses de 30% e 50%.

Tabela 19 – Conversão de carboidratos totais para pH 5,5 e concentrações de licor de pentoses no substrato de 30% e 50%

Etapa	Concentração de Licor de Pentoses em volume no substrato (%)	Concentração de carboidratos totais no licor inicialmente (g.L ⁻¹)	Concentração de carboidratos totais no licor final (g.L ⁻¹)	Eficiência de conversão de carboidratos (%)
1	30	7,11	2,42	66%
	50	11,85	7,23	39%
2	30	8,82	3,62	59%
	50	14,70	8,23	44%

Assim como esperado, a conversão de carboidratos foi menor para a concentração de licor de pentoses em volume de 50%. Entretanto, comparando-se etapa 2 com a etapa 1, verifica-se que a conversão de carboidratos para a concentração de licor de 30% foi menor na segunda etapa enquanto que para a concentração de 50% foram obtidos resultados mais satisfatórios nesta etapa. Além disso, verifica-se que a concentração total de carboidratos do licor nessa segunda fase era significativamente mais alta (29,4 g.L⁻¹) do que a concentração total de carboidratos do licor utilizado na primeira fase (23,7 g.L⁻¹).

A diferença para estes resultados, assim como no caso do pH é decorrente das características do licor utilizado na segunda fase. Como dito anteriormente, por se tratar de um efluente real as características apresentam grandes variações, principalmente em termos de concentração. No caso da segunda etapa, verificou-se que o licor de pentoses utilizado apresentava uma concentração de carboidrato totais mais alta do que a concentração de carboidratos totais do licor utilizado na primeira etapa, bem como de compostos considerados inibidores do crescimento biológico. Assim, sua degradação se tornava mais complicada, de modo que já se esperava que os resultados desta segunda etapa fossem inferiores aqueles obtidos na primeira fase.

5.2.4. Análise das amostragens líquidas

5.2.4.1. Ácidos

A análise ácida das amostras líquidas retiradas ao longo do experimento permitiu caracterizar os ácidos presentes assim como a evolução das suas proporções nos reatores. A Figura 30 e a Figura 31 apresentam para as concentrações volumétricas de licor de pentoses de 30% e 50%, respectivamente, as concentrações dos ácidos láctico, propiônico e acético para a segunda etapa ao longo da operação do reator

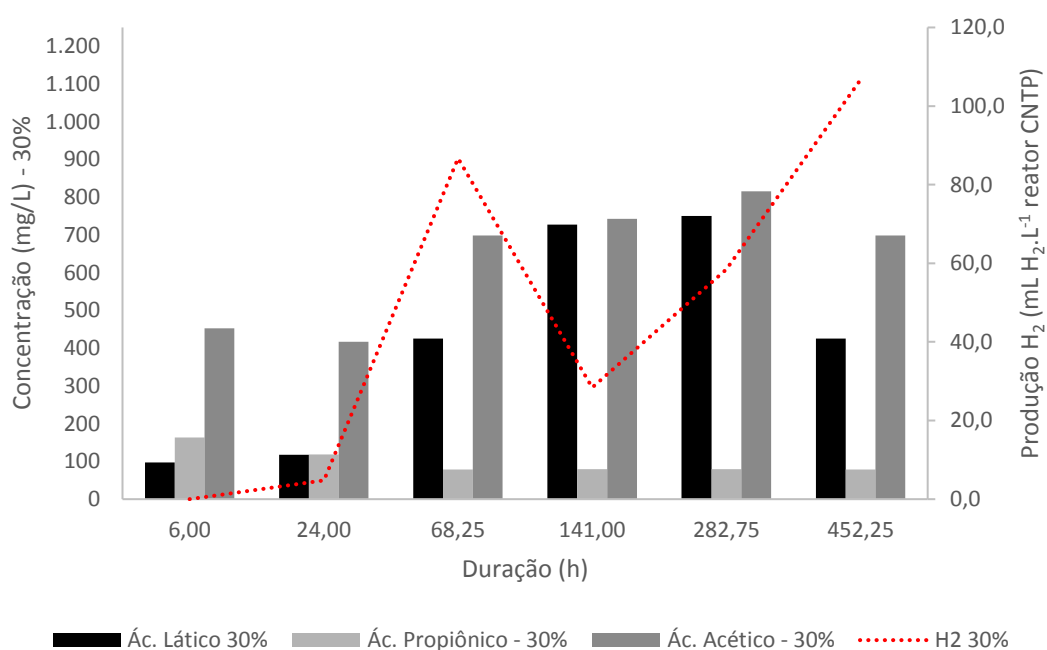


Figura 30 - Perfil da concentração de ácido láctico, propiônico e acético nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 30% de licor de pentoses da etapa 2 – E₂

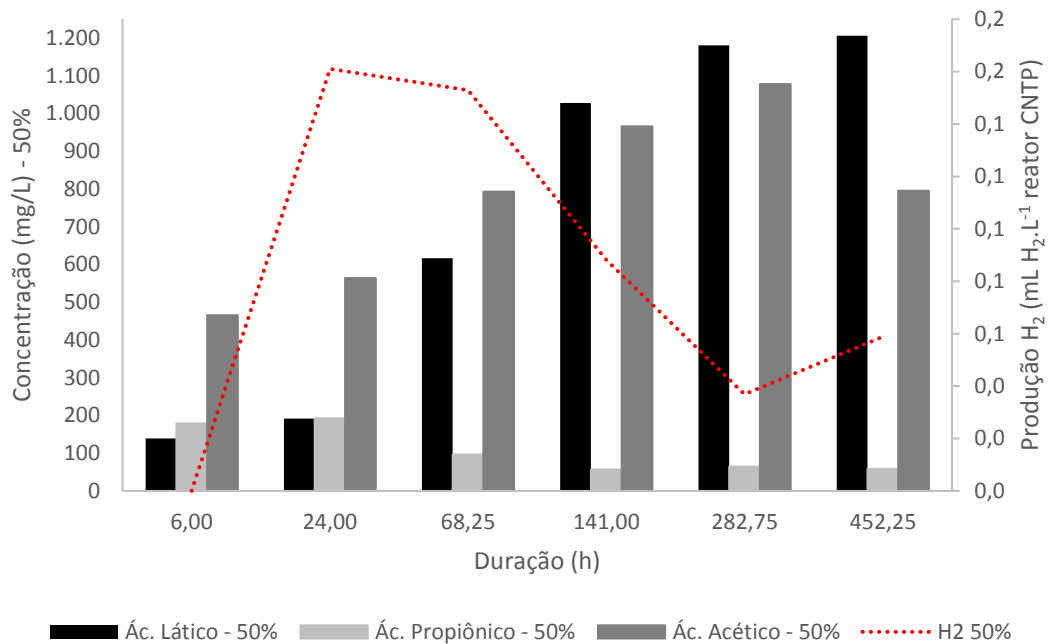


Figura 31 - Perfil da concentração de ácido lático, fórmico e acético nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 50% de licor de pentoses da etapa 2 – E₂

A análise da Figura 30 e Figura 31 permite verificar que houve aumento do ácido lático durante o experimento, sendo estes um dos ácidos em maior quantidade dentre os ácidos analisados nessas figuras. Além disso, sabe-se que o ácido lático interfere negativamente na produção de hidrogênio (FERNANDES, 2008). Para as condições analisadas pode se verificar que a medida que a concentração de ácido lático aumentava a quantidade de hidrogênio presente no *headspace* tendia a diminuir, ou seja, as reduções nas concentrações de ácido lático coincidiam com aumento da concentração de biogás nos reatores e vice-versa.

Assim como o ácido lático, o ácido propiônico também interfere na quantidade de hidrogênio produzido (WANG *et al*, 2006), entretanto, o ácido propiônico pouco sofreu alteração em sua concentração nos reatores ao longo do experimento para a concentração de licor de pentoses de 30%. Já para a concentração de 50% verificou-se reduções sutis na concentração desse ácido ao longo do tempo.

O ácido acético sofreu aumento gradativo durante o tempo de operação dos reatores com concentração de substrato de 30% e 50%. Uma análise conjunta do ácido acético com o ácido propiônico demonstra que reduções no ácido propiônico ocorrem em paralelo com aumentos de concentração de ácido acético o que pode ser um indício de que a atividade microbiana existente é do tipo acetogênica (TAVARES, 2008). Portanto, tem-se que se os carboidratos

existentes forem quebrados em compostos orgânicos mais simples, o resultado será uma maior produção de hidrogênio, entretanto, os carboidratos podem também ser convertidos em outros compostos que podem afetar negativamente a produção de hidrogênio (SPEECE, 1996).

A Figura 32 e a Figura 33 apresentam para as concentrações volumétricas de licor de pentoses de 30% e 50%, respectivamente, as concentrações de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural para a segunda etapa ao longo da operação do reator

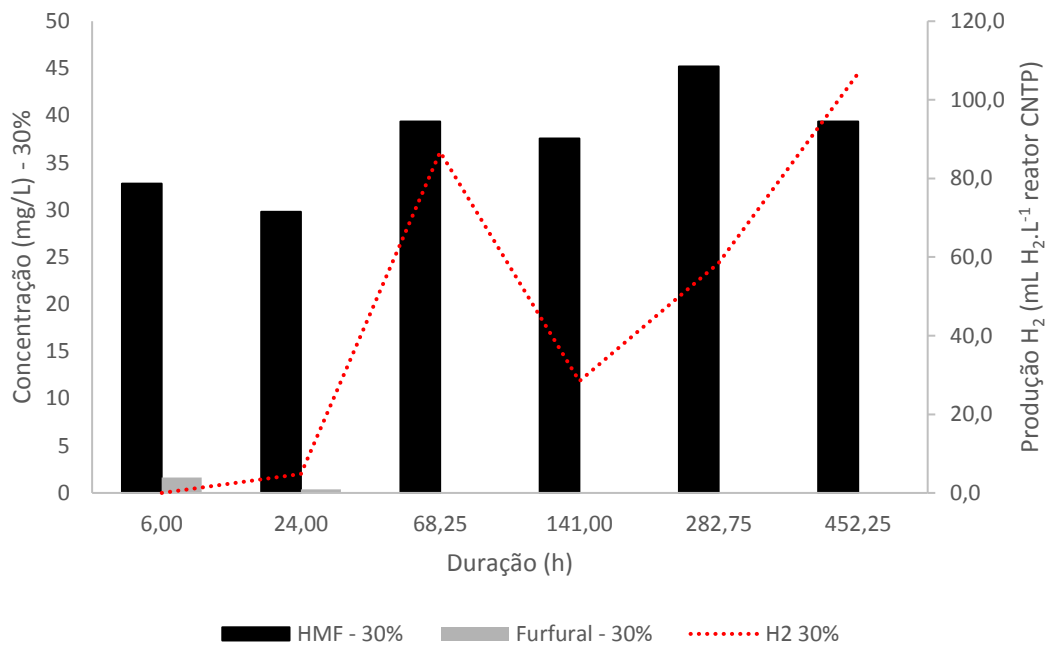


Figura 32 - Perfil da concentração de HMF e furfural nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 30% de licor de pentoses da etapa 2 – E2

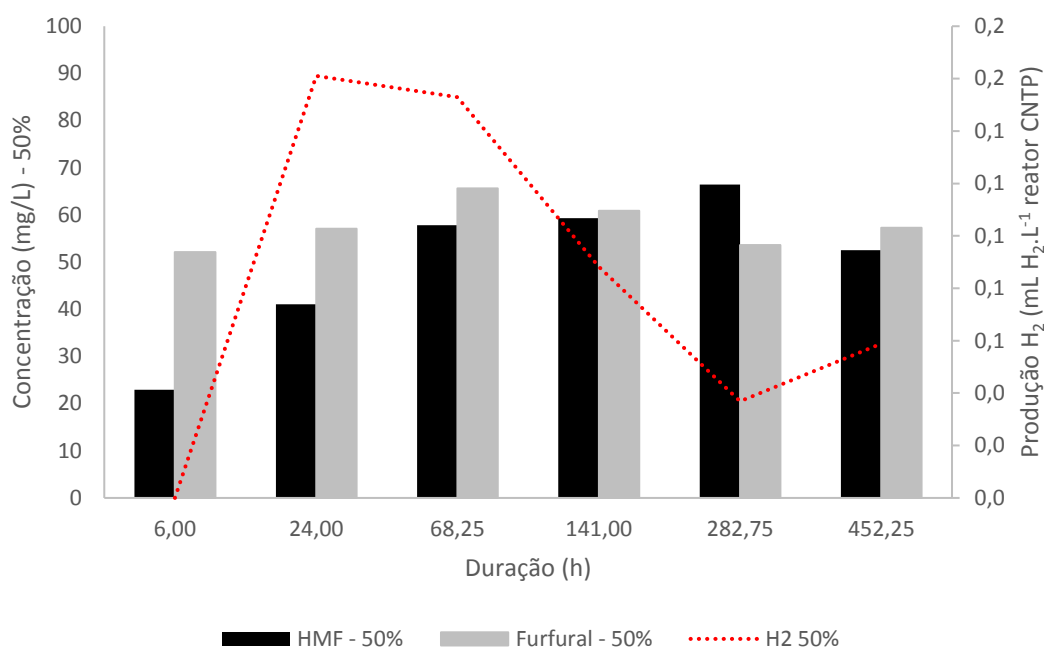


Figura 33 - Perfil da concentração de HMF e furfural nos reatores com pH inicial de 5,5 concentração de 50% de licor de pentoses da etapa 2 – E2

A partir da Figura 32 e da Figura 33 é possível verificar o comportamento do HMF e furfural, compostos de difícil degradação ao longo do experimento. Para a condição com concentração de substrato de 30% é possível verificar que a concentração de HMF sofreu oscilações ao longo da operação do reator, entretanto, estas variações estão dentro do erro proposto pelo método. Verifica-se uma tendência a concentrações mais altas de HMF para valores mais baixos de hidrogênio. Já para a concentração de 50%, verificou-se um aumento do HMF ao longo do experimento o qual pode ser explicado por eventuais solubilizações de compostos presentes no licor. Para a concentração de 30% observou-se que a concentração de furfural reduziu ao longo do experimento, entretanto, o mesmo padrão não foi observado para a condição de 50% onde a concentração de furfural se mostrou praticamente constante ao longo do tempo.

Segundo Datar *et al* (2009) processos relativos à degradação de carboidratos podem resultar na formação de compostos como o HMF e o furfural. A variação desses compostos ao longo da operação do reator indica que estes podem estar sendo consumidos, entretanto, a velocidade de formação em alguns casos tende a ser superior à de consumo de modo que a concentração desses compostos tende a aumentar. No entanto, de modo geral, a redução da porcentagem de furfural ao longo do experimento sugere que a biomassa seja capaz de

promover sua degradação. Assim, embora estudos relatem a presença de furfural como um inibidor (ALLEN *et al*, 2010), é possível que os microrganismos desenvolvam aparatos enzimáticos capazes de transformar o furfural em compostos de menor toxicidade os quais podem ser aproveitados pelos microrganismos (LIU *et al*, 2004). Akobi *et al* (2016), por exemplo, demonstram que em certas concentrações de furfural é possível promover a produção de hidrogênio.

As grandes proporções de ácido acético e ácido lático, principalmente no final do experimento, justificam as limitações encontradas na produção de hidrogênio uma vez que estes ácidos podem ser considerados inibidores à produção deste biogás (AKOBI *et al*, 2016; SIQUEIRA E REGINATTO, 2015). Além disso, o aumento desses ácidos justifica a redução do pH ao longo das bateladas assim como o efeito tampão observado.

5.2.4.2. DQO

A Figura 34 apresenta a média dos dados relativos à análise de DQO filtrada efetuadas tanto para o licor de pentoses (amostra no tempo zero) quanto para as amostragens líquida retiradas durante a operação do reator.

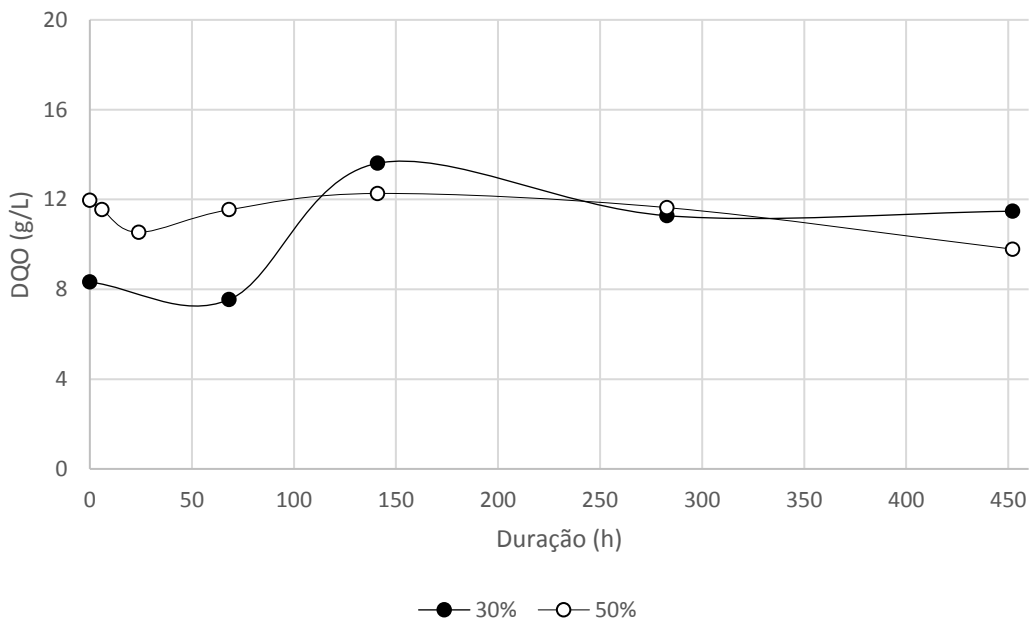


Figura 34 – Resultados das análises de DQO da segunda etapa

A análise da DQO para a operação dos reatores desta segunda etapa demonstra que os valores se mantiveram praticamente constante durante a operação do reator, entretanto, após 150h de operação é possível verificar um súbito aumento no valor da DQO de 30% sendo este valor praticamente mantido até o final da batelada. Uma vez que não se pode constatar o motivo dessa variação em análise conjunta com os demais dados obtidos, entende-se que este súbito aumento pode ter sido consequência de algum composto presente no licor uma vez que o substrato não é filtrado para a montagem dos reatores em batelada.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao fim da primeira etapa, verificou-se que os valores finais de pH nas bateladas tendiam a valores próximos do pH apresentado pelo licor de pentoses utilizado na sua montagem sem as devidas correções. Em termos de conversão de carboidratos, observou-se conversão destes, mesmo nos frascos em que a produção de hidrogênio não foi detectada pela metodologia utilizada, além disso, verificou-se que a concentração de carboidratos influi diretamente nos resultados finais obtidos. Concluiu-se que a melhor condição obtida para produção de hidrogênio foi a de pH 5,5 com concentração de carboidratos de 23,7 mg.L⁻¹ e concentração volumétrica de licor de pentoses em relação ao volume total, de 30%, com uma produção de hidrogênio acumulada de 980 mL H₂.L⁻¹ reator CNTP.

Em relação à segunda etapa, constatou-se que a variação da qualidade do licor influiu diretamente nos resultados. Verificou-se que em relação ao pH de 5,5 da primeira etapa, o licor da segunda etapa possuía uma concentração de carboidratos superior, 29,4 g.L⁻¹, àquela encontrada na primeira fase, 23,7 g.L⁻¹. Assim, devido à ação desses compostos, obteve-se uma produção de hidrogênio, considerando as condições da CNTP, próxima de 100 mL H₂.L⁻¹ reator CNTP, ou seja, cerca de dez vezes inferior à produção obtida na primeira etapa.

Assim, de modo geral pode-se concluir que, a partir dos estudos cinéticos realizados neste trabalho, a melhor condição para produção de hidrogênio a partir do licor de pentoses, com base nos critérios de escolha pré-definidos, é a de pH 5,5 e com concentração em volume de 30% e concentração de carboidratos totais iniciais de 7,11 g.L⁻¹. Em relação aos ácidos, pode-se verificar que conforme disposto na literatura a concentração de alguns compostos como o ácido acético e láctico podem influenciar negativamente na produção de hidrogênio. Por fim, tem-se que o comportamento dos ácidos propiônico e acético ao longo do experimento indicam a atividade de bactérias acetogênicas.

7. SUGESTÕES

A partir do presente trabalho assim como das conclusões obtidas tem-se as seguintes sugestões:

- Realizar estudos em batelada a fim de indicar a melhor condição para produção de hidrogênio tendo a concentração de carboidratos como condição fixa.
- Realizar estudos em bateladas com frascos maiores de modo que seja possível retirar mais amostras líquidas e assim obter melhor perfil de parâmetros como carboidratos parciais e suas variações.
- Realizar análises microbiológicas a fim de se verificar as populações existentes e assim buscar a identificação das rotas de consumo dos carboidratos e ácidos assim como os possíveis produtos gerados.
- Avaliar a possível ação inibidora de compostos já presentes no licor de pentoses assim como daqueles formados ao longo do processo;
- Realizar estudos que utilizem tanto o licor de pentoses quanto a vinhaça como substrato de modo a se verificar a capacidade de degradação desses compostos de forma conjunta (hexoses e pentoses).

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AKOBI, C., HAFEZ, H., NAKHLA, G. (2016). The impact of furfural concentrations and substrate-to-biomass ratios on biological hydrogen production from synthetic lignocellulosic hydrolysate using mesophilic anaerobic digester sludge. *Bioresource Technology*. v.221, p.598-606.
- ALLEN, S.A., CLARK, W., MCCAFFERY, J.M., CAI, Z., LANCTOT, A., SLININGER, P.J., LIU, Z.L., GORSICH, S.W. (2010). Furfural induces reactive oxygen species accumulation and cellular damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology for Biofuels*. v.3, n. 2
- ALZATE-GAVIRIA, L. M. et al. (2007) Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 2007. 3141-3146.
- APHA / AWWA / WEF. (2005). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 21st Ed. American Public Health Association, Washington D. C.
- ARGUN, H. et al. (2008) Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate, 33, 2008. 1813-1819
- LEVENSPIEL, O. Engenharia das reações químicas. 3ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2000.
- BAUDEL, H. M. (2006) Pré-tratamento e Hidrólise. III Workshop Tecnológico sobre Hidrólise – Projeto Programa de Pesquisas em Tecnologias Públicas – Etanol. São Paulo, 2006.
- BRAGATO, I. R., SIQUEIRA, E. S., GRAZIANO, G. O., SPERS, E. E. (2008). Produção de açúcar e álcool vs. responsabilidade social corporativa: as ações desenvolvidas pelas usinas de cana-de-açúcar frente às externalidades negativas. *Gest. Prod.* v, 15, n.1, p. 89-100.
- CAI, C.M.; ZHANG, T.; KUMAR, R.; WYMAN, C. (2013) Integrated furfural production as a renewable fuel and chemical platform from lignocellulosic biomass. *J Chem Technol Biotechnol*. v. 89, p. 2–10

- CHEN, C. C. LIN, C. Y. CHANG, J. S. (2001). Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 55, n. 1, p. 56-64.
- CHEN, W., CHEN, S., KHANAL, S. K., SUNG, S. (2006). Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 31, p. 2170-2178.
- CHERNICHARO, C. L. (1997) Reatores anaeróbios. Princípios do tratamento biológico de águas Residuárias. Belo Horizonte: DESA/UFMG, v. 5.
- CORTEZ, L.A.B., LORA, E.E.S., GOMES, E.O. (2008) Biomassa para Bioenergia. UNICAMP, Campinas.
- DARIEOTI, M. A., VAVOURAKI, A. I., KORNAROS, M. (2014). Effect of Ph of anaerobic acidogenesis of agroindustrial wastewaters for maximization of bio-hydrogen production: A lab-scale evaluation using batch tests. *Bioresource Technolog*, v. 162, p. 218-227.
- DAS, D. VEZIROGLU, T. N. (2001). Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 26, p. 13-28.
- DATAR, R., HUANG, J., MANESS, P., MOHAGHEGHI, A., CZERNIK, S., CHORNET, E. (2007). Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 32, p. 932-939.
- DEL NERY, V. (1987). Utilização de lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo de partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo. Tese (Mestrado). *Departamento de Hidráulica e Saneamento*, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- DEMIRBAS, M. F. (2009). Biorefineries for biofuel upgrading: A critical review. *Applied Energy*. v. 86, p. S151-S161.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. (1956). Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. *Nature*, v. 28, n. 3, p. 350-356.

- ESPINOZA-ESCALANTE, F., PELAYO-ORTÍZ, C., NAVARRO-CORONA, J., GONZALEZ-GARCIA, Y., BORIES, A., GUTIERREZ-PULIDO, H. (2009). Anaerobic digestion of the vinasses from the fermentation of *Agave tequilana* Weber to tequila: The effect of pH, temperature and hydraulic retention time on the production of hydrogen and methane. *Biomass and Bioenergy*. v. 33, n.1, p. 14-20.
- FANG, H. H. P., LIU, H., ZHANG, T. (2002). Characterization of a hydrogen producing granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering*. v. 78, p. 44-52.
- FERNANDES, B. S. (2008). Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fixo. *Tese (Doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.*
- FERNANDES, B. S. (2008). Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fixo. *Tese (Doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.*
- FERRAZ JUNIOR, A. D. N. (2013). Digestão anaeróbia da vinhaça da cana de açúcar em reator acidogênico de leito fixo seguido de reator metanogênico de manta de lodo. *Tese (Doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.*
- FRANCISCO, L. M. (2013). Influência da razão entre substrato e biomassa e da relação entre carbono e nitrogênio no bioprocessamento anaeróbico acidogênico do hidrolisado do bagaço de cana. *Tese (Graduação). Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.*
- GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. *European Journal of Wood and Wood Products*. v.57, p.191-202, 1999.
- GAVALA, H. N. *et al.* (2006). Biological hydrogen production in suspended and attached growth anaerobic reactor systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 31, n. 9, p. 1164-1175.
- GRANBIO. Bioflex I. 2016. Disponível em: < <http://www.granbio.com.br /conteudos/biocombustiveis/>>. Acesso em 25.jun.2016

- HALLENBECK, P.C., GHOSH, D., 2009. Advances in fermentative biohydrogen production: The way forward? *Trends Biotechnology*. v. 27, n. 5, p. 287–297.
- KHANAL, S. K., CHEN, W. H., LI, L., SUNG, S. (2004). Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 29, p. 1123-1131.
- LAY, J. J., LEE, Y. J. NOIKE, T. (1999). Feasibility of biological hydrogen production from organiz fraction of municipal solid waste. *Water Resources*. v. 33, n. 11, p. 2579-2586.
- LEE Y.J., MIYAHARA T., NOIKE T. (2001). Effect of iron concentration on hydrogen fermentation. *Bioresource Technology* v. 80 n.3 p.227–231.
- LEITE, J. A. C. *et al.* (2008). Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 33, n. 2, p. 579-586.
- LI, C., FANG, H. H. P. (2007). Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. v. 37, p. 1-39.
- LIN C.Y., HUNG, W. C. (2008). Enhancement of fermentative hydrogen/ethanol production from cellulose using mixed anaerobic cultures. *International Journey of Hydrogen Energy*. v. 33, p. 3660-3667.
- LIN C.Y., LAY C.H. (2004) Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 29, n. 3, p. 275–281.
- LIN C.Y., WU, C. C. HUNG, C. H. (2008). Temperature effects on fermentative hydrogen production from xylose using mixed anaerobic cultures. *International Journey of Hydrogen Energy*. v. 33, p. 43-50.
- LIN, C. Y., CHENG, C. H. (2006). Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.31, p.832–840.

- LIN, C.Y.; LAY, C. (2004) Carbon/nitrogen ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 29, p. 41 –45.
- LIU, Z.L., SLININGER, P.J., DIEN, B.S., BERHOW, M.A., KURTZMAN, C.P., GORSICH, S.W. (2004). Adaptive response of yeasts to furfural and 5-hydroxymethylfurfural and new chemical evidence for HMF conversion to 2,5-bis-hydroxymethylfuran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. v. 31, p. 345–352.
- LUO, G., XIE, L., ZOU, Z., ZHOU, Q., WANG, J. (2010). Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: Effects of temperature and pH. *Applied Energy*. v. 87, p. 3710-3717.
- LYND, L. R.; CUSHMAN, J. H.; NICLHOLS, R. J., et al. (1991) Fuel ethanol from cellulosic biomass. *Science*, 251:1318-1323.
- MACEDO, I., (2005) A Energia da Cana-de-Açúcar (Sugarcane's energy: twelve studies on Brazilian sugarcane agribusiness and its sustainability). *UNICA* (São Paulo Sugarcane Agroindustry Union). São Paulo, Brazil.
- MADDY, J., CHERRYMAN, S., HAWKES, F.R., HAWKES, D.L., DINSDALE, R.M., GUWY, A.J., PREMIER, G.C., COLE, S. (2003). *Hydrogen*. Report Number 1 ERDF partfunded project entitled: ‘‘A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy’’, University of Glamorgan.
- MARTÍN, C., GALBE, M., NILVEBRANT, N.-O., JÖNSSON, L.J. (2002). Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolyzates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, p. 699–716.
- MIZUNO, O. DINSDALE, R. HAWKES, F. R. HAWKES, D. L. NOIKE, T. (2000). Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresource Technology*. v. 73. p. 9-65.
- MONOD, J. (1949). The Growth of Bacterial Cultures. *Annual Review of Microbiology*. v. 3 p. 371-394.
- MONOD, J. (1966). From Enzymatic Adaptation to Allosteric Transitions. *Science*. v. 154, n.3748, p. 475-483.

- MONTEIRO, T. P. P., FERREIRA, P. A. (2010). Gestão e meio ambiente: um estudo de caso em uma usina sucroalcooleira.
- MORAES, B. S., ZAIAT, M., BONOMI, A. (2015). Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. v. 44, p. 888-903.
- MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R. Y.Y., HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M. (2005) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96: 673-686.
- MU, Y., WANG, G., YU, H. Q. (2006). Response surface methodological analysis on biohydrogen production by enriched anaerobic cultures *Enzyme and Microbial Technology*, n. 38, p. 905–913.
- MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. (2004) Alternatives for detoxication of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technology* v.93, p. 1-10.
- NATH, K. DAS, D. (2011). Modeling and optimization of fermentative hydrogen production. *Bioresource Technology*. v. 102. p. 8569-8581.
- OJEDA, K., KAFAROV, V., (2009) Energy analysis of enzymatic hydrolysis reactors for transformation of lignocellulosic biomass to bioethanol. *Chemical Engineering Journal*. v. 154, n. 1, p. 390-395.
- OZTEKIN, R. et al. (2008) Optimization of media composition for hydrogen gas production from hydrolyzed wheat starch by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33: 4083-4090.
- PANDEY, A., SOCCOL, C.R., NIGAM, P., SOCCOL, V.T., (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues. Part I. Sugarcane bagasse. *Bioresource Technology* 74, 69–80.
- PEIXOTO, G. (2011). Sistema fermentativo de duas fases para a produção de hidrogênio e metano a partir de esgoto sanitário combinado com águas residuária industriais. *Tese*

(Doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PELCZAR, M., REID, R.; CHAN, E. C. S.; *Microbiologia*, volume 1; Editora McGraw-Hill do Brasil; São Paulo, 1980; p. 23.

RETTORI, D. E VOLPE, P. L. O. (2000). Microcalorimetria: uma técnica aplicável ao estudo do diauxismo da *Saccharomyces cerevisiae*. *Química nova*. v. 23, n. 2.

ROJAS, M. D. P. A. (2010). Influência da relação C/N na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo. Tese (Mestrado). Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

ROJAS, M. D. P. A. (2014). Estratégias para a produção contínua de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo. Tese (Doutorado). Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SANTOS, E. S. (2008) Análises físico-químicas de águas e de solos. *Caderno Pedagógico*.

SHOW, K. Y. LEE, D. J. CHANG, J. S. (2011). Bioreactor and process design for biohydrogen production. *Bioresource Technology*. v. 102. p. 8524-8533.

SIQUEIRA, M.R., REGINATTO, V. (2015). Inhibition of fermentative hydrogen production by hydrolysis byproducts of lignocellulosic substrates. *Renewable Energy* v. 80, p. 109–116.

SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATA, C., SLUITER, J., TEMPLETON, D., CROCKER, D. (2008). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. *Laborator Analytical Procedure*.

SOCOL, C.R., VANDENBERGHE, L.P.S., MEDEIROS, A.B.P. et al. (2010) Bioetahnol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology*, 101: 4820-4825.

SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters. Nashville, Tenn.: *Archae Press*, 1996.

- SUN, Y., CHENG, J. (2002) Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11.
- SYDNEY, E. B. (2013). Valorization of vinasse as broth for biological hydrogen and volatile fatty acids by means of anaerobic bacteria. Tese. Département Génie Biologique. Bioprocess Engineering and Biotechnology Division.
- SZCZODRAK, J., FIEDUREK, J. (1996) Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Biomass and Bioenergy*, v. 10, n.5-6, p. 367-375.
- TAVARES, A. (2008). Modelagem matemática da degradação da glicose, com produção de hidrogênio, em um reator anaeróbico de leito fixo. Tese (Mestrado). *Departamento de Hidráulica e Saneamento*, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- THATTAI, M., SHRAIMAN, B. (2003). Metabolic Switching in the Sugar Phosphotransferase System of *Escherichia coli*. *Biophysical Journal*. v. 85, p. 744-754.
- WANG, J. WAN, W. (2009). Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 34, p. 235-244.
- WANG, J. WAN, W. (2009). Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 34, p. 3313-3323.
- WANG, J., WAN, W. (2009). Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 34, p. 3313-3323.
- WANG, L. ZHOU, Q., LI, F. T. (2006). Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production. *Biomass and Bioenergy*. v. 30, n.2, p. 177-182.
- YUAN, W.J.; CHANG, B.L.; REN, J.G.; LIU, J.P.; BAI, F.W.; LI, Y.Y. (2011) Consolidated bioprocessing strategy for ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Kluyveromyces marxianus* under high gravity conditions. *Journal of Applied Microbiology*, v. 112, p. 38-44, 2011.

ZWIETERING, M. H. JONGENBURGER, F. M. ROMBOOTS, VAN'T RIET, K. (1990).
Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, v.56,
p. 1875-1881.