

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

LUÍSA MATTIELLO FRANCISCO

**INFLUÊNCIA DA RAZÃO ENTRE SUBSTRATO E BIOMASSA E DA
RELAÇÃO ENTRE CARBONO E NITROGÊNIO NO
BIOPROCESSAMENTO ANAERÓBIO ACIDOGÊNICO DO LICOR DE
PENTOSSES DO BAGAÇO DE CANA**

SÃO CARLOS

2013

LUÍSA MATTIELLO FRANCISCO

INFLUÊNCIA DA RAZÃO ENTRE SUBSTRATO E BIOMASSA E DA RELAÇÃO
ENTRE CARBONO E NITROGÊNIO NO BIOPROCESSAMENTO ANAERÓBIO
ACIDOGÊNICO DO LICOR DE PENTOSE DO BAGAÇO DE CANA

Trabalho de Graduação apresentado à Escola
de Engenharia de São Carlos (EESC) -
Universidade de São Paulo (USP) como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Graduado em Engenharia Ambiental
Orientador: Dr. Gustavo Mockaitis

SÃO CARLOS

2013

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

F818i Francisco, Luisa Mattiello
Influência da razão entre substrato e biomassa e da
relação entre carbono e nitrogênio no bioprocessamento
anaeróbico acidogênico do licor de pentoses do bagaço de
cana / Luisa Mattiello Francisco; orientador Gustavo
Mockaitis. São Carlos, 2013.


Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2013.

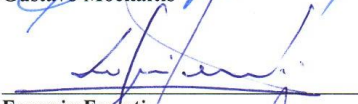
1. Biohidrogênio. 2. AGV. 3. Relação S/M. 4.
Relação C/N. 5. Xilose. 6. Licor de pentoses do bagaço
de cana. I. Título.

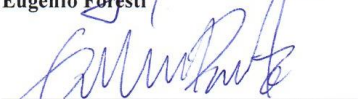
FOLHA DE APROVAÇÃO

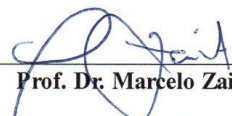
Candidato(a): **Luisa Mattiello Francisco**

Monografia defendida e aprovada em: **19/06/2013** pela Comissão Julgadora:


Gustavo Mockaitis


Eugenio Foresti


Guilherme Peixoto


Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico esse Trabalho aos meus queridos pais Antônio e Fátima, por todo amor, otimismo, conhecimento compartilhado e incentivo, e ao meu irmão Bruno pelo companheirismo e alegria, presentes desde o primeiro dia da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Gustavo Mockaitis por sua orientação e dedicação ao longo do projeto, como também ao encaminhamento para realização da Iniciação Científica.

Ao Prof. Dr. Marcelo Zaiat por “abrir as portas” do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), incentivando o trabalho com seu conhecimento e liderança.

À Priscila Camiloti pela paciência e contribuição no processo de aprendizagem dos métodos afins a este estudo.

À técnica Maria Ângela Talarico Adorno (Janja), por toda sua atenção e disposição em compartilhar seu domínio nas práticas do laboratório.

Aos meus amigos da Amb-08 e do LPB, Giz, Dilon e Berna, por toda amizade, companheirismo, colaboração e discussões de ensaios nas atividades realizadas.

A todos os demais colegas do LPB, responsáveis pelo meu crescimento profissional e pessoal ao longo de todo o período de realização da pesquisa.

Às “selmas” Li, Nina, Leza, Le, Jú, Bebete, Amorinha e Elisa da república Tapa da Pantera que, devido a intensa convivência e amizade, nos transformou em queridas irmãs, por todos os momentos de alegria, felicidade e diversão, pelas conversas duradouras de cada dia e pelas lições de vida durante os cinco anos de graduação.

À minha família pelo carinho, união e presença em cada etapa da minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica.

“Felicidade é ter o que fazer, ter o que amar e o que esperar”

Aristóteles (384 a.C. – 322 a.C.)

RESUMO

FRANCISCO, Luísa M. (2013). **Influência da razão entre substrato e biomassa e da relação entre carbono e nitrogênio no bioprocessamento anaeróbico acidogênico do licor de pentoses do bagaço de cana.** 97 p. Monografia (Graduação) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

O presente trabalho avaliou a produção de ácidos orgânicos voláteis e a composição do biogás, com foco na otimização da produção de H_2 em reatores operados em batelada simples em condições mesofílicas (30 °C) e termofílicas (55 °C). Os reatores anaeróbios (frascos de 2L) foram inoculados com biomassa anaeróbia proveniente de reator UASB pré-tratada com choque de pH para inibir as comunidades hidrogenotróficas. O meio nutriente variou a sua fonte de carbono em xilose e posteriormente licor de pentoses do bagaço da cana. O ensaio foi conduzido em duas etapas distintas nas quais foram investigadas a influência da variação das relações S/M (substrato/micro-organismo) e C/N (carbono/nitrogênio), unicamente pela variação da concentração de substrato. Durante a primeira etapa, as relações S/M estudadas foram de 2, 10, 20, 40 $mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg\ SVT^{-1}$ (através do método da demanda química de oxigênio) mantendo a concentração de inóculo inicial em $500\ mg \cdot L^{-1}$. Na segunda etapa foram verificadas as relações C/N de 10, 50, 100 e 200 $mg\ C \cdot mg\ N^{-1}$, sendo mantida uma concentração fixa de ureia ($93,5\ mg \cdot L^{-1}$ para os ensaios utilizando a xilose e de $5,1\ mg\ CH_4N_2O \cdot L^{-1}$ para os ensaios utilizando o licor de pentoses como substrato). Os melhores valores de produtividade de H_2 foram $1,92\ mol\ H_2 \cdot mol\ xilose^{-1}$ (xilose, $2\ mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg\ SVT^{-1}$ – 55 °C), $1,36\ mol\ H_2 \cdot mol\ xilose^{-1}$ (xilose, $10\ mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg\ SVT^{-1}$ – 55 °C), $1,55\ mol\ H_2 \cdot mol\ xilose^{-1}$ (licor de pentoses, $10\ mg\ C \cdot mg\ N^{-1}$ – 55 °C) e $1,43\ mol\ H_2 \cdot mol\ xilose^{-1}$ (licor de pentoses, $100\ mg\ C \cdot mg\ N^{-1}$ – 55 °C), indicando que a condição termofílica foi a mais favorável à produção de H_2 . A adição de ureia reduziu a produção H_2 em praticamente todas as condições com exceção às condições: de $2\ mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg\ SVT^{-1}$ a 55 °C com xilose como substrato e de $20\ mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg\ SVT^{-1}$ a 30 °C e 55 °C com xilose como substrato e a 55 °C com licor de pentoses como substrato. O biogás não apresentou CH_4 em nenhuma das condições investigadas. Em todos os experimentos ocorreu a formação de ácido acético.

Palavras-chave: Biohidrogênio. AGV. Relação S/M. Relação C/N. Xilose. Licor de pentoses do bagaço de cana.

ABSTRACT

FRANCISCO, Luísa M. (2013). **Influency of F/M and C/N ratio in the anaerobic acidogenic processing of pentose liquor of sugarcane bagasse.** 97 p. Monograph (Graduation) -Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

This study investigated the production of organic acids and biogas composition, focusing on the optimization of H_2 production in reactors operated in batch experiment in mesophilic ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) and thermophilic ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) conditions. The anaerobic reactors (2L bottles) were inoculated with anaerobic biomass from UASB pretreated with pH shock to inhibit hydrogenotrophic communities. Two carbon sources varied the nutrient medium, first xylose and subsequently the pentose liquor sugarcane bagasse. The experiment was conducted in two stages in which was investigated the influence of F/M (food-to-microorganisms)-ratio and C/N (carbon/nitrogen)-ratio, solely by varying of substrate concentration. During the first stage, the F/M-ratio studied were 2, 10, 20, 40 $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ SVT keeping the initial concentration of inoculum in $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. In the second step were verified the C/N-ratio of 10, 50, 100 and 200 $\text{mg}\cdot\text{C}\cdot\text{mg N}^{-1}$, being kept a fixed concentration of urea (93.5 mg L^{-1} for the experiments using xylose and $5.1\text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O}\cdot\text{L}^{-1}$ for the experiments using pentose liquor as substrates). The optimum productivity of H_2 was $1.92\text{ mol H}_2\cdot\text{mol xylose}^{-1}$ (xylose, $2\text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}\text{ SVT}^{-1} - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$), $1.36\text{ mol H}_2\cdot\text{mol xylose}^{-1}$ (xylose, $10\text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}\text{ SVT}^{-1} - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$), $1.55\text{ mol H}_2\cdot\text{mol xylose}^{-1}$ (pentose liquor, $10\text{ } 10\text{ mg C}\cdot\text{mg N}^{-1} - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$) and $1.43\text{ mol H}_2\cdot\text{mol xylose}^{-1}$ (pentose liquor, $100\text{ mg C}\cdot\text{mg N}^{-1} - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$), indicating that the thermophilic condition was the most favorable to the production of H_2 . The addition of urea reduced the H_2 production in almost all conditions except conditions: $2\text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg SVT}^{-1}$ at $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ with xylose as a substrate and $20\text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg SVT}^{-1}$ at $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ with xylose as substrate and at $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ with pentose liquor as substrate. The CH_4 was not present in the biogas in any of the investigated conditions. The formation of acetic acid was observed in all experiments.

Keywords: Biohydrogen. VFA. F/M-ratio. C/N-ratio. Xylose. Pentose liquor sugarcane bagasse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.....	26
Figura 5.1 - Reatores em batelada da “Etapa 1” ao utilizar xilose como fonte de carbono.	44
Figura 5.2 - Reatores em batelada da “Etapa 1” ao utilizar licor de pentoses como fonte de carbono.	44
Figura 5.3 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a; ■, linha tracejada) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b; □, linha pontilhada) como fonte de carbono.....	47
Figura 5.4 - Perfis de produção de H ₂ e CO ₂ nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	49
Figura 5.5 - Perfis de pH nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	52
Figura 5.6 - Perfis de concentração de sulfato (SO ₄ ²⁻) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	53
Figura 5.7 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	54
Figura 5.8 - Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	55
Figura 5.9 - Perfis de concentrações de álcoois nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	56
Figura 5.10 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.	59
Figura 5.11 - Perfis de produção de H ₂ e CO ₂ nos ensaios em condições termofílicos (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d)	

como fonte de carbono..... 61

Figura 5.12 - Perfis de produção de H₂ e CO₂ nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições II-c a IV-c) e licor de pentoses (condições II-d a IV-d) como fonte de carbono..... 62

Figura 5.13 - Perfis de pH nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono..... 64

Figura 5.14 - Perfis de concentração de sulfato (SO₄²⁻) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono..... 65

Figura 5.15 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono..... 66

Figura 5.16 - Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono..... 67

Figura 5.17 - Reatores em batelada da “Etapa 2” ao utilizar xilose como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio..... 68

Figura 5.18 - Reatores em batelada da “Etapa 2” ao utilizar licor de pentoses como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio..... 68

Figura 5.19 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono. 71

Figura 5.20 - Perfis de produção de H₂ e CO₂ nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono. 73

Figura 5.21 - Perfis de pH nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono. 76

Figura 5.22 - Perfis de concentração de sulfato (SO₄²⁻) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio..... 77

Figura 5.23 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e

a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.....	78
Figura 5.24- Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.....	79
Figura 5.25 - Perfis de concentrações de álcoois nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.....	80
Figura 5.26- Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.	83
Figura 5.27 - Perfis de produção de H ₂ e CO ₂ nos ensaios em condições termofílicos (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.	85
Figura 5.28 - Perfis de produção de H ₂ e CO ₂ nos ensaios em condições termofílicos (55 °C) utilizando a ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condição IV-g) e o licor de pentoses (condição IV-h) como fonte de carbono.	86
Figura 5.29 - Perfis de pH nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.	88
Figura 5.30 - Perfis de concentração de sulfato (SO ₄ ²⁻) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.....	89
Figura 5.31 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.	90
Figura 5.32- Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Reações de redução de sulfato e energia de <i>Gibbs</i>	29
Tabela 3.2 - Rota metabólica, rendimento de hidrogênio a partir de xilose e energia de <i>Gibbs</i> em processos fermentativos.....	30
Tabela 3.3 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis obtidos através da degradação anaeróbia da xilose.....	32
Tabela 4.1 - Delineamento experimental da investigação da influência da variação da carga orgânica específica aplicada na produção de hidrogênio e de ácidos voláteis.	37
Tabela 4.2 - Delineamento experimental da investigação da influência da variação C/N na produção de hidrogênio e de ácidos voláteis.....	38
Tabela 4.3 - Variáveis de interesse e seus respectivos métodos monitorados em todos os experimentos.....	38
Tabela 4.4 - Variáveis de interesse e seus respectivos métodos monitorados nas operações com o licor de pentoses do bagaço de cana.	39
Tabela 4.5 - Concentrações de micronutrientes no meio (Maintinguer, 2009).	40
Tabela 5.1 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	45
Tabela 5.2 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses e de sulfato para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.....	46
Tabela 5.3 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a III-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.	48
Tabela 5.4 - Parâmetros cinéticos ($H_{máx}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás, valores do rendimento de H_2 e da produção acumulada de CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) como fonte de carbono.	50
Tabela 5.5 - Valores do rendimento de H_2 e da produção acumulada de CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) e utilizando licor de pentoses (condições I-b a IV-b)	

como fonte de carbono.	51
Tabela 5.6 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.....	57
Tabela 5.7 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses, álcoois e de sulfato para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.	58
Tabela 5.8 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c e II-c) e licor de pentoses (condições I-d a III-d) como fonte de carbono.....	60
Tabela 5.9 - Parâmetros cinéticos (H_{max} , l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.	63
Tabela 5.10 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.	69
Tabela 5.11 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses e de sulfato para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.	70
Tabela 5.12 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condições I-e a III-e) e licor de pentoses (condições II-f a IV-f) como fonte de carbono.	72
Tabela 5.13 - Parâmetros cinéticos (H_{max} , l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e xilose (condições I-e a IV-e) como fonte de carbono.....	74
Tabela 5.14 - Valores do rendimento de H_2 e da produção acumulada de CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.....	75

Tabela 5.15 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono..... 81

Tabela 5.16 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses, álcoois e de sulfato para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono. 82

Tabela 5.17 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g e II-g) e licor de pentoses (condições I-h a III-h) como fonte de carbono..... 84

Tabela 5.18 - Parâmetros cinéticos ($H_{máx}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono. 87

Tabela 6.1. Concentrações iniciais de xilose, concentrações finais de ácidos orgânicos voláteis (acético, butírico e propiônico), produção volumétrica de H_2 ($H_{máx}$) e rendimento de H_2 (Y_{H_2}) nos ensaios em condições termofílicas e mesofílicas da etapa 1 e da etapa 2. 93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
CG	Cromatografia Gasosa
C/N	Relação Carbono/Nitrogênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
HPLC	Cromatografia Líquida
PDA	<i>Photo Diode Array</i> (Foto detector de matriz de díodos)
S	Concentração de Xilose
S/M	Relação Substrato/Micro-organismo
STD	Sulfetos Totais Dissolvidos
SVT	Sólidos Voláteis Totais
TCD	Detector de Condutividade Térmica
UASB	<i>Up Flow Anaerobic Sludge Bed</i> (Reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	23
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
3.1	Os resíduos da indústria sucro-alcooleira	24
3.2	A digestão anaeróbia de resíduos	25
3.3	Sulfetogênese	28
3.4	A produção de hidrogênio e de ácidos voláteis pelos processos anaeróbios acidogênicos (fermentação escura)	29
3.5	Processos anaeróbios utilizando pentoses como fonte de carbono	32
3.6	Relação carbono/nitrogênio	35
3.7	Considerações finais	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	Planejamento experimental	37
4.2	Meio Nutriente	39
4.3	Inóculo	40
4.4	Aparato Experimental	40
4.5	Análise do Biogás	41
4.6	Análise dos Ácidos Orgânicos Voláteis	42
4.7	Parâmetro cinético	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
5.1	Etapa 1- Influência da variação da relação S/M na obtenção de hidrogênio e de ácidos voláteis a partir da xilose e do licor de pentoses como fonte de carbono	44
5.1.1	Condições Mesofílicas	45
5.1.2	Condições Termofílicas	57
5.2	Etapa 2 - Influência da variação da relação C/N na obtenção de hidrogênio e de ácidos voláteis a partir da xilose e do licor de pentoses como fonte de carbono	68

5.2.1	Condições Mesofílicas.....	69
5.2.2	Condições Termofílicas	80
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	92
7	CONCLUSÕES.....	94
	REFERÊNCIAS.....	96

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a sociedade enfrenta grandes dificuldades quanto ao esgotamento dos combustíveis fósseis e a degradação do meio ambiente. Estes problemas estão diretamente relacionados, pois uma das principais fontes de poluição ambiental é o uso crescente de combustíveis fósseis para produzir energia, principalmente em veículos presentes em grandes centros urbanos.

Uma alternativa para a produção de energia é o gás hidrogênio, o qual pode ser considerado um carreador energético limpo por ter a água como único produto gerado na combustão com o oxigênio. Apesar de o hidrogênio ser um elemento muito abundante, o hidrogênio na sua forma gasosa molecular (H_2) é muito reativo, portanto sua ocorrência é extremamente rara nos recursos naturais.

A obtenção do hidrogênio pode ser feito por diversos processos e utilizando várias matérias primas. Embora os processos de eletrólise da água ou de obtenção e purificação de gás de síntese sejam os mais difundidos para a obtenção do hidrogênio molecular, tais processos são caros e podem ter a sua viabilidade comprometida, dependendo da aplicação. A “fermentação escura”, que é o processamento anaeróbico acidogênico de um determinado substrato para a produção de hidrogênio, é especialmente atrativa, pois requer pouco controle operacional e requerimentos nutricionais pouco fastidiosos, além de ser resistente a contaminações, por ser realizada por culturas mistas. Desta maneira, processos de produção de H_2 envolvendo bioprocessamento de resíduos como substratos para a fermentação escura se tornam uma alternativa interessante, tanto pelo baixo valor da matéria prima como pelas baixas exigências energéticas dos processos bioquímicos.

Considerando a matriz bioenergética do Brasil, a produção de etanol a partir da cana de açúcar gera dois resíduos que podem ser considerados matérias primas elegíveis ao processamento anaeróbico acidogênico para a produção de hidrogênio: a vinhaça e o resíduo líquido oriundo do processamento do bagaço de cana. O bagaço de cana já é reutilizado na produção do etanol de segunda geração a partir da hidrólise enzimática da celulose, no entanto, o pré tratamento do bagaço de cana visando a remoção da lignina e da hemicelulose para a sacarificação da celulose em glicose gera um resíduo rico em pentoses, originário da hidrólise da hemicelulose, denominado licor de pentoses (ou comercialmente como hidrolisado do bagaço). O bagaço de cana é, portanto, uma fonte de carboidratos simples a partir da sacarificação do material lignocelulósico, o qual pode produzir concentrações aproximadas de 55 a 65% de glicose e 35 a 45% de xilose. Embora ambos

os carboidratos possam ser utilizados como fonte de carbono na produção de hidrogênio, a utilização do licor de pentoses é mais vantajosa por se tratar de um resíduo com menor valor agregado e de disposição mais difícil, principalmente devido ao seu pH. Além da obtenção do gás hidrogênio como carreador energético, também há a geração de ácidos orgânicos voláteis que podem funcionar como precursores de produtos com alto valor agregado, como biopolímeros e solventes químicos, substituindo os compostos de origem petroquímica em outros processos.

Os trabalhos científicos e tecnológicos relatando o processamento anaeróbio acidogênico a partir da xilose como fonte de carbono são muito mais escassos do que os trabalhos considerando o metabolismo da glicose. Mais escassos ainda são os trabalhos para o reaproveitamento do licor de pentoses nos processos anaeróbios, o que torna uma necessidade a investigação da viabilidade tecnológica e econômica desta alternativa da reutilização e valoração deste resíduo.

Neste contexto, o presente projeto apresenta os resultados de duas etapas obtidos em reatores operados em bateladas simples. Primeiramente avaliando as variações da relação entre substrato (em termos de DQO) e inóculo (em termos de SVT) em 2, 10, 20, 40 mg $O_2 \cdot L^{-1} \cdot mg \text{ SVT}^{-1}$, além da fonte de carbono (xilose e licor de pentoses do bagaço de cana) e também a temperatura de operação (meso e termofílicos – 30 e 55 °C, respectivamente), totalizando 16 ensaios. Posteriormente, com outros 16 ensaios nas mesmas variações de temperatura e fonte de carbono que a primeira etapa, os resultados obtidos avaliaram a relação carbono/nitrogênio em 10, 50, 100 e 200 mg $C \cdot mg \text{ N}^{-1}$, suplementadas com ureia como fonte de nitrogênio. O inóculo utilizado em todos os ensaios (obtido de um biorreator UASB oriundo de um tratamento de resíduos de abatedouro de aves com características predominantemente metanogênicas) recebeu um tratamento de pH para a inibição dos processos metanogênicos.

2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

No contexto dos resíduos produzidos pela indústria sucro-alcooleira, o licor de pentoses oriundo do pré-tratamento do bagaço da cana de açúcar é um resíduo de baixo valor agregado e de difícil disposição, devido a sua carga orgânica e características físico-químicas. Desta forma, a valoração deste resíduo, por um processamento biológico otimizado, figura como uma alternativa interessante à sua disposição. Contudo, poucos trabalhos têm abordado o processamento anaeróbio acidogênico, no sentido de produção de hidrogênio e de ácidos orgânicos voláteis, o que aponta para uma necessidade de trabalhos fundamentais nos quais possam ser alicerçadas futuras tecnologias para esta finalidade.

O presente projeto tem por objetivo a *verificação da influência da razão entre substrato e inóculo, e da relação entre carbono e nitrogênio, em condições meso e termofílicas, no bioprocessamento anaeróbio acidogênico do licor de pentoses do bagaço de cana de açúcar*. Desta forma, propõem-se os seguintes objetivos específicos:

1. Avaliar o crescimento de biomassa anaeróbia;
2. Verificar a produção e composição do biogás, com foco na otimização da obtenção de H₂;
3. Verificar a produção e composição de ácidos orgânicos voláteis.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Os resíduos da indústria sucro-alcooleira

O Brasil, além de ser o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e o segundo maior produtor de álcool combustível, é reconhecido mundialmente como carro chefe, desde 1970, no programa de incentivo aos veículos biocombustíveis (na produção e utilização).

Com o objetivo de reduzir as emissões de CO₂ fóssil, o uso de biomassa como matéria-prima para bioenergia é largamente recomendada (CHERUBINI, 2010). Conforme Rabelo et al. (2011), nas usinas brasileiras, em média, uma tonelada de cana gera 280 kg de bagaço, o que possibilita essas usinas serem também geradoras de energia proveniente da biomassa. Outra utilização ao bagaço, que está sendo estudada em alta escala, é a produção de uma maior quantidade de etanol, conhecido como etanol celulósico ou etanol de segunda geração.

De acordo com Seleglim e Polikarpov (2009), uma usina típica que processe 500 toneladas por hora de cana-de-açúcar produz aproximadamente 45.000 litros por hora de etanol de primeira geração e cerca de 150 toneladas de bagaço, que podem ser convertidos em 50MW de energia elétrica, ou em 42.000 litros por hora de etanol de segunda geração. Desta forma é possível praticamente dobrar a produção total de etanol sem que seja necessário aumentar a área de plantio, reduzindo a competição entre biocombustíveis e alimentos.

O etanol de segunda geração utiliza apenas as hexoses fermentativas resultante da hidrólise da celulose, sem levar em consideração os polímeros de açúcares das hemiceluloses (formada basicamente por pentoses) e das pectinas, representantes de 70% dos açúcares na parede celular da cana (BUCKERIDGE, 2012).

Rabelo et al. (2011) estudaram dois distintos pré-tratamentos do bagaço: por hidróxido de cálcio (0,47 g cal.g⁻¹ de matéria seca de bagaço em 100 mL de água destilada, mantidos em agitadores com 150 rpm a 90°C por 90 horas) e por peróxido de hidrogênio alcalino (solução de 7,36%, com pH 11,5 e frascos mantidos a 150 rpm a 25°C por 1 hora). O teor de matéria seca do bagaço da cana foi aproximadamente 95% e as concentrações de biomassa em cada pré-tratamento foram variadas. A maior produção de metano ocorreu nas situações com a maior concentração de sólidos em ambos os casos, sendo superior com pré- tratamento alcalino (com NaOH) com 15% de matéria seca (72,1 L CH₄.kg bagaço⁻¹)

em relação ao pré-tratamento com cal e 8% de matéria seca (58,7 L CH₄.kg bagaço⁻¹). Foram obtidos 45,6% de matéria seca e 54,4% de hidrolisado ao utilizar pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino e 59% de matéria seca e 41% de hidrolisado ao utilizar a cal. Desta forma, resultou para o melhor cenário de cada pré-tratamento, 10.731,2 MJ.ton⁻¹ bagaço com pré-tartamento alcalino e 10.281,7 MJ.ton⁻¹ bagaço com pré-tratamento com cal, ao passo que ao incinerar obteve 15.130,6 MJ.ton⁻¹. Por fim, apesar da incineração do bagaço apresentar 1,6 vezes mais eficiente que o melhor cenário de cada pré-tratamento, os autores observaram que o desenvolvimento desses processos é importante devido ao fato de resultarem na produção de combustível líquido. Ainda Rabelo et al. (2011) ressaltam que no futuro será possível a utilização do bagaço tanto para gerar bioenergia como para produzir etanol celulósico.

O pré-tratamento do bagaço da cana de açúcar mais difundido é descrito por Betancur e Pereira (2010). O licor de pentoses (resíduo deste pré-tratamento do bagaço) é obtido por meio de uma hidrólise utilizando um agente hidrolisante ácido (solução de H₂SO₄ 1% v/v), em uma relação mássica 9:1 em relação ao bagaço de cana de açúcar seco e autoclavado sob uma pressão de 1,1 atm a 120 °C por 1 hora. Este processamento remove a maior parte da lignina e transforma a hemicelulose em mono e oligossacarídeos solúveis, além de preparar a parede celular do bagaço para a hidrólise enzimática objetivando a obtenção de glicose a ser utilizada na obtenção do etanol de segunda geração. A fração de carboidratos presente no licor de pentoses pode ser utilizada para produção de ácidos orgânicos voláteis e hidrogênio em um processamento anaeróbio acidogênico. No entanto, conforme Fangkun e Reungsang (2011), enquanto este pré-tratamento apresenta a vantagem de ser brando o suficiente para minimizar a liberação de compostos inibidores como hidroximetilfurfural e melanoidinas, apresenta a desvantagem de adicionar SO₄²⁻ em altas concentrações (aproximadamente em uma relação DQO/[SO₄²⁻] de 1,1), estimulando o crescimento de bactérias redutoras de sulfato, o que pode prejudicar a obtenção de hidrogênio no processo anaeróbio.

3.2 A digestão anaeróbia de resíduos

A digestão anaeróbia é um processo que ocorre na ausência de oxigênio e transforma diversas formas de matéria orgânica complexa (carboidratos, proteínas e lipídios) em produtos mais simples (como gás carbono e metano) pelo metabolismo de um consórcio de diferentes microrganismos (SPEECE, 1996).

O processo global de conversão pode ser dividido em quatro etapas distintas, onde cada etapa do processo resulta em produtos específicos através de populações bacterianas

específicas. As etapas da digestão anaeróbia com seus respectivos microrganismos estão esquematizadas na Figura 3.1 e posteriormente descritas.

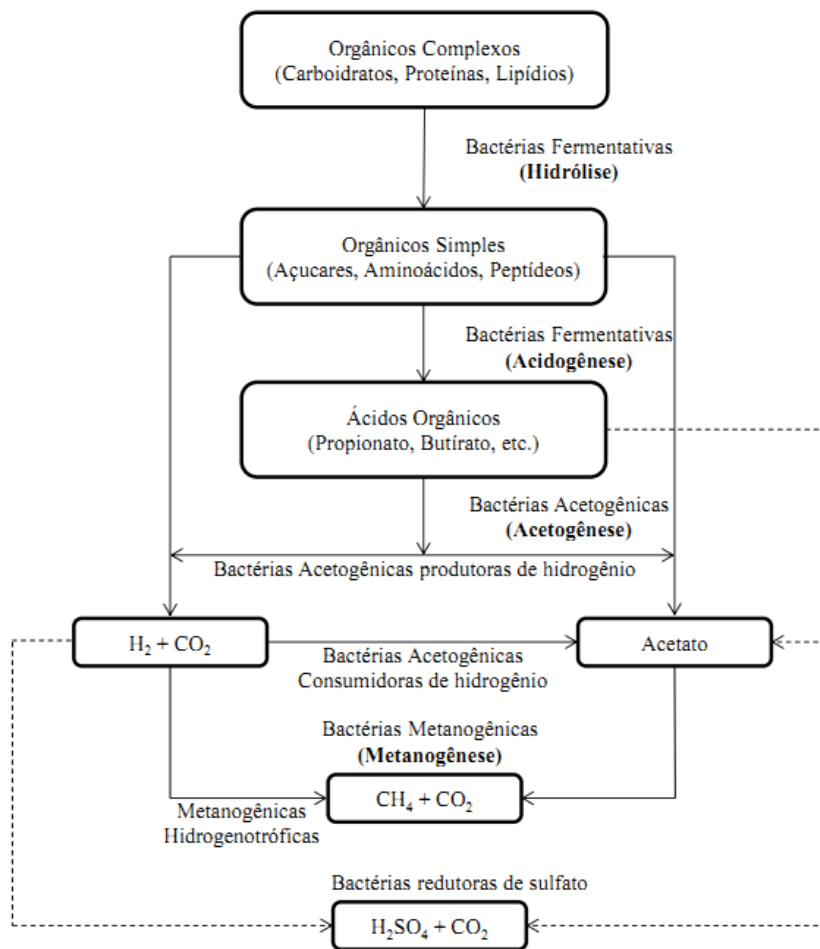


Figura 3.1 - Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia
Fonte: Chernicharo (1997)

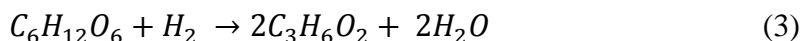
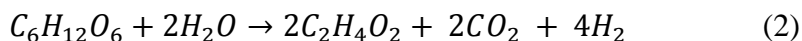
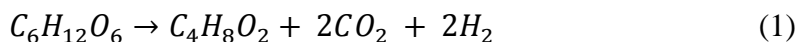
Hidrólise

As bactérias fermentativas presente nesta etapa convertem matéria orgânica particulada em compostos orgânicos dissolvidos de menor peso molecular. Desta forma as proteínas são degradadas a aminoácidos, os carboidratos a açúcares solúveis (mono e dissacarídeos) e os lipídios a ácidos graxos. (FORESTI *et al.*, 1999).

Acidogênese

Dentre as várias etapas do processo global da digestão anaeróbia, a acidogênese é a que converte os compostos orgânicos produzidos pela etapa de hidrólise em compostos inorgânicos como H₂, NH₃, CO₂ e H₂S, e principalmente em ácidos orgânicos voláteis (FORESTI *et al.*, 1999). A produção de hidrogênio ocorre predominantemente na etapa acidogênica da digestão anaeróbia podendo vir a ser consumido nas etapas posteriores (principalmente pela metanogênese hidrogenotrófica).

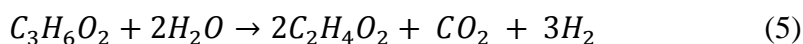
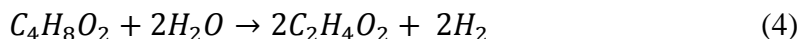
Os principais subprodutos desta etapa são formados através da transformação da glicose pelas reações da acidogênese para butirato (1), acidogênese para acetato (2) e acidogênese para propionato (3), como a seguir:



Desta forma, o processamento anaeróbio acidogênico de matéria orgânica é uma alternativa à disposição desses resíduos, podendo gerar uma gama de produtos com valor agregado.

Acetogênese

Os produtos gerados na etapa anterior são convertidos em dióxido de carbono, hidrogênio e acetato, os quais servem como substrato para a formação do metano. A relação de conversão da DQO digerida nesta etapa é aproximadamente 30% em hidrogênio e 70% em ácido acético (FORESTI *et al.*, 1999), sendo as principais reações a acetogênese do ácido butírico (4) e a acetogênese do ácido propiônico (5), como destacado abaixo:



Metanogênese

O metano produzido nesta etapa ocorre através de duas bactérias: as acetotróficas e as hidrogenotróficas. As primeiras bactérias produzem o CH₄ através da redução do ácido acético, enquanto as hidrogenotróficas produzem a partir da redução do dióxido de carbono, conforme as respectivas reações:



As quais: (6) metanogênese acetoclástica e (7) metanogênese hidrogenotrófica.

Devido ao fato das bactérias hidrogenotróficas possuírem crescimento superior ao das bactérias acetotróficas, uma quantidade grande de ácido acético não sofre transformação.

3.3 Sulfetogênese

Outros processos existentes no reator são a desnitrificação (transformação do nitrato em N_2) e a sulfetogênese (redução de sulfato (SO_4^{2-}) em sulfeto (H_2S)). O segundo processo é visto em muitos casos como indesejável, pois o sulfeto formado causa problemas químicos (odor desagradável, corrosão, aumento da DQO efluente) e biológicos (toxicidade e inibição dos microrganismos metanogênicos). Além de eliminar a transformação do material orgânico em metano, reduz a qualidade do biogás, no caso de geração de bioenergia, requerendo a lavagem para aproveitamento do potencial energético (para retirada do H_2S).

Com o objetivo de obter os efeitos do sulfato na produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia da sacarose com culturas mistas de bactérias, Lin e Chen (2006) realizaram um estudo utilizando reator de fluxo contínuo a $35^\circ C$ com concentrações de sulfato de 500, 1500 e 3000 $mg\ SO_4^{2-}\cdot L^{-1}$. O substrato utilizado foi a sacarose ($20.000\ mg\ C_{12}H_{22}O_{11}\cdot L^{-1}$) e o inóculo foi retirado de uma estação de tratamento de esgoto com pH 6,81 adaptado em um meio contendo 5240 $mg\ NH_4HCO_3\cdot L^{-1}$; 125 $mg\ K_2HPO_4\cdot L^{-1}$; 100 $mg\ MgCl_2\cdot 6H_2O\cdot L^{-1}$; 15 $mg\ MnSO_4\cdot 6H_2O\cdot L^{-1}$; 25 $mg\ FeSO_4\cdot 7H_2O\cdot L^{-1}$; 5 $mg\ CuSO_4\cdot 5H_2O\cdot L^{-1}$; 0,125 $mg\ CoCl_2\cdot 5H_2O\cdot L^{-1}$; 6720 $mg\ NaHCO_3\cdot L^{-1}$. Os experimentos foram realizados em dois valores de pH (5,5 e 6,5), favoráveis a produção de hidrogênio. Os autores observaram que a produção de biogás variou com as mudanças de concentração de sulfato, em concentrações elevadas de sulfato teve-se inibição da produção de hidrogênio. Entretanto ao verificar os resultados nos diferentes pH, os autores observaram que ao diminuir o pH do meio houve aumento da produção de hidrogênio, devido ao desfavorecimento do crescimento das bactérias redutoras de sulfato, que metabolizam o hidrogênio. O melhor rendimento obtido foi com 3000 $mg\ SO_4^{2-}\cdot L^{-1}$ e pH 5,5 de 3,3 $mol\ H_2\cdot mol\text{-sacarose}$. O aumento da concentração de sulfato também interfere na diminuição da concentração de ácido butírico e no aumento da concentração de etanol. Desta forma, a alta concentração de etanol acompanha a baixa produção de hidrogênio ao passo que a concentração de sulfato eleva. Os autores concluíram assim que em processos fermentativos com substrato rico em sulfato, faz-se interessante operar em pH baixo, que limitam o crescimento de bactérias redutoras de sulfato, para obter valores baixos de sulfeto no biogás e altos rendimentos de produção de hidrogênio.

Para tratamento anaeróbio de águas residuárias, sem o objetivo de produzir hidrogênio, a presença de sulfeto faz-se favorável, pois a redução do sulfato está associada à oxidação de doadores de elétrons, que neste caso são componentes da matéria orgânica.

Dentre os doadores de elétrons para redução de sulfato destacam-se o H₂, lactato, propionato, acetato, etanol e alguns álcoois. A utilização de hidrogênio, propionato e butirato na redução de sulfato podem ser vistas pelas reações da Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Reações de redução de sulfato e energia de *Gibbs*.

Reações	ΔG_o (kJ mol ⁻¹ SO ₄ ²⁻)
$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-38,1
$CH_3CH_2COO^- + \frac{3}{4}SO_4^{2-} \rightarrow \frac{3}{4}HS^- + 2CH_3COO^- + \frac{1}{2}H_2O$	-37,7
$CH_3(CH_2)_2COO^- + \frac{1}{2}SO_4^{2-} \rightarrow \frac{1}{2}HS^- + 2CH_3COO^- + \frac{1}{2}H^+$	-27,8

Ao passo que a variação da energia livre de *Gibbs* (ΔG) é uma propriedade termodinâmica que indica a espontaneidade de uma reação química, sendo espontânea se $\Delta G < 0$; não espontânea se $\Delta G > 0$ e em equilíbrio se $\Delta G = 0$, é possível observar que o processo é termodinamicamente favorável.

Desta forma, esses substratos podem servir como doadores de elétrons para o processo, sendo assim ferramenta para a remoção de sulfato conjuntamente à remoção de matéria orgânica presentes em águas residuárias. A sulfetogênese também é vantajosa para tratamento de lodo com metais pesados, pois o sulfeto formado destes é pouco solúvel em água. Entretanto, a sulfetogênese é desvantajosa na produção de H₂, pois a oxidação da matéria orgânica não produz esse gás, competindo assim com o mesmo substrato aproveitado pelas bactérias acidogênicas.

3.4 A produção de hidrogênio e de ácidos voláteis pelos processos anaeróbios acidogênicos (fermentação escura)

O hidrogênio pode ser produzido, dentre outras formas, por processos biológicos. A produção biológica pode ser realizada por biofotólise da água por algas e cianobactérias, foto-decomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas e produção fermentativa de hidrogênio a partir de compostos orgânicos (ANZOLA ROJAS, 2010). Esta última é atraente, pois pode utilizar águas residuárias como matéria-prima, a implementação é de baixo custo, é independente a luz e produz simultaneamente ao hidrogênio, os ácidos orgânicos voláteis. Neste caso, os micro-organismos produtores e consumidores de hidrogênio necessitam de uma classe de enzimas específicas, denominadas hidrogenases, para realizarem esse processo (KALIA et al., 2003)

Dentre as diversas rotas metabólicas presentes no processo anaeróbio, a Tabela 3.2

relaciona as rotas que utilizam a xilose como substrato, com o rendimento teórico de hidrogênio e o valor da energia livre de *Gibbs*.

Tabela 3.2 - Rota metabólica, rendimento de hidrogênio a partir de xilose e energia de *Gibbs* em processos fermentativos.

Processo Anaeróbico	Reação	H ₂ /açúcar	ΔG _o (kJ mol ⁻¹)
Acidogênese para valerato	$2C_5H_{10}O_5 + 2H_2O \rightarrow C_5H_{10}O_2 + 5CO_2 + 7H_2$	3,5	-296,51
Acidogênese para butirato	$2C_5H_{10}O_5 + 4H_2O \rightarrow C_4H_8O_2 + 6CO_2 + 5H_2$	2,5	-223,74
Acidogênese para propionato	$3C_5H_{10}O_5 + 5H_2 \rightarrow 5C_3H_6O_2 + 5H_2O$	-1,7	-472,77
Acidogênese para acetato	$C_5H_{10}O_5 + 3H_2O \rightarrow C_2H_4O_2 + 3CO_2 + 6H_2$	6,0	-99,98
Acidogênese para lactato	$3C_5H_{10}O_5 \rightarrow 5C_3H_6O_3$	-	-92,49
Solventogênese para etanol	$3C_5H_{10}O_5 \rightarrow 5C_2H_6O + 5CO_2$	-	-608,50
Solventogênese para metanol	$C_5H_{10}O_5 + 5H_2 \rightarrow 5CH_4O$	-5	-86,00

De acordo com o apresentado, a alta produção de hidrogênio está relacionada com a presença de subprodutos como ácido acético, ácido valérico e ácido butírico.

O acúmulo de hidrogênio nos processos anaeróbios só é possível quando as comunidades consumidoras de hidrogênio (metanogênicas, homoacetogênicas e redutoras de sulfato hidrogenotróficas) são eliminadas ou inibidas.

A relação entre o ácido propiônico e a produção de hidrogênio na fase acidogênica em um reator anaeróbico de fluxo contínuo foi analisada por Wang et al. (2006) com o objetivo de evitar o acúmulo deste ácido e aumentar a geração de hidrogênio, bem como investigar os fatores que afetam a fermentação e o acúmulo do ácido propiônico. Como substrato foi utilizado água residuária de uma refinaria de açúcar de beterraba e foi feito o controle do pH com valores 6,0, 5,0 e 4,2, através de adição de NaOH ou HCl. O pH, tal que obteve em pH 6,0, 5,5 e 4,5 maior concentração respectivamente de ácido butírico, ácido propiônico e etanol. Foi observado que a maior geração de hidrogênio não é sempre acompanhada com o acúmulo de ácido propiônico não existindo qualquer relação direta entre ambos. As maiores taxas de produção de hidrogênio (112 e 119 mmol·L⁻¹) ocorreram quando a produção do etanol foi favorecida, desta forma produzindo hidrogênio de forma eficiente e sem o acúmulo de ácido propiônico.

Leite et al. (2008) estudaram a produção de hidrogênio e de ácidos voláteis pelos processos anaeróbios através de um reator anaeróbico horizontal contínuo de leito

empacotado, com material suporte de pérolas de argila expandido. Foi utilizado a glicose, ureia e bicarbonato de sódio como fonte de carbono, fonte de nitrogênio e agente alcalinizante, respectivamente. O menor rendimento de hidrogênio ($1,81 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$) foi verificado ao utilizar a maior concentração de NaHCO_3 ($2.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), o qual interferiu negativamente na produção hidrogênio e tornou um processo atraente para o enriquecimento do ácido propiônico. Também foi observado que a maior produção de hidrogênio ocorreu na mesma fase que a maior concentração de ácido butírico.

Com o objetivo de comparar dois inóculos diferentes (lodo ativado e lodo digerido anaerobicamente) na produção de hidrogênio, Baghchehsaraee et al. (2010) realizaram um experimento em batelada em condições mesofílicas (37°C) e termofílicas (55°C). Ambos os lodos foram feitos em duplicata adaptados em um meio contendo glicose ($10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) e sais ($2600 \text{ mg-NH}_4\text{Cl} \cdot \text{L}^{-1}$, $250 \text{ mg-K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$, $125 \text{ mg-MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \text{ mg-FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, $2,5 \text{ mg-CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, $2,5 \text{ mg-MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, $2,5 \text{ mg-KI} \cdot \text{L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg-Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg-NiCl}_2 \cdot \text{H}_3\text{BO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg-NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mg-ZnCl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) objetivando o crescimento das comunidades microbianas. Posteriormente a solução foi tamponada com fosfato, ajustada ao pH 7 e os frascos colocados em um agitador a 180 rpm com temperatura primeiramente a 37°C e depois a 55°C . Nos ensaios utilizando lodo ativado como inóculo, durante a condição à 55°C , foi obtida a maior produtividade na conversão de hidrogênio ($1,32 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$), em pH 4. Durante o ensaio na temperatura de 37°C com lodo ativado, a produção de hidrogênio iniciou rapidamente, porém foi influenciada diretamente com o decaimento do pH, apresentando uma baixa produtividade ($0,56 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$). Quando o lodo digerido anaerobicamente foi submetido em condições mesofílicas, a produtividade foi de $2,18 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$, sendo maior do que a produtividade verificada na condição termofílica ($1,25 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$). Os autores também concluíram que o inóculo não apresentou sensibilidade frente à variação do pH. Em condições mesofílicas e termofílicas, a média de hidrogênio produzido com o lodo ativado foi de $1,21 \pm 0,61 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$ e com o lodo digerido anaerobicamente foi de $1,40 \pm 0,16 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol glicose}^{-1}$, verificando-se assim uma elevada diferença no coeficiente de variação (desvio padrão) de 0,51 em lodo ativado contra 0,12 em lodo digerido anaerobicamente, representando uma maior estabilidade na produção do hidrogênio com o uso do lodo digerido anaerobicamente. Os produtos do metabolismo variam de acordo com o inóculo e a temperatura, sendo que o lodo ativado a 55°C e o lodo digerido anaerobicamente a 37°C e 55°C apresentaram como produtos dominantes o ácido butírico e o ácido acético, enquanto o lodo anaeróbio a 37°C obteve como produto principal o lactato na solução. A formação de etanol foi maior no lodo

digerido anaerobiamente ($165\text{-}326\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) do que no lodo ativado ($81\text{-}114\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Foi observado no lodo ativado uma grande variação de produção de hidrogênio entre os diferentes lotes realizados, variando de 149 mL no lote 2 para 74 mL no lote 3, como também uma não constância na produção de ácido láctico, variando de $634\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ no lote 2 para $2155\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ no lote 3. Dessa forma os autores concluíram que concentrações elevadas de ácido láctico causa diminuição no rendimento de hidrogênio. Diferentemente ao lodo ativado, o lodo digerido anaerobiamente não apresentou diminuição no rendimento de hidrogênio e a concentração máxima de ácido láctico foi de $630\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, o que possibilitou classificar como nível limiar de ácido láctico na produção de hidrogênio de aproximadamente de $650\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Portanto foi concluído que o lodo ativado apresenta baixo potencial para a produção de hidrogênio, quando comparado ao lodo digerido anaerobiamente.

3.5 Processos anaeróbios utilizando pentoses como fonte de carbono

O objeto de estudo de Maintinguer (2009) foi a obtenção de ácidos voláteis e de hidrogênio através de processos anaeróbios. Foram utilizadas condições distintas em concentrações de sacarose ($630\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1.184\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1.816\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $4.128\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e xilose ($630\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1.341\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1.848\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $3.588\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) operadas em reator em batelada por 330 horas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao utilizar a xilose como substrato houve um melhor rendimento na obtenção de hidrogênio ($0,8\text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$), ocorrendo no reator que operou com a maior concentração de xilose ($3.588\text{ mg xilose}\cdot\text{L}^{-1}$), sendo que não foi observada a inibição das comunidades por excesso de substrato. A produção de ácidos voláteis foi verificada para cada condição estudada, conforme mostrado pela Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis obtidos através da degradação anaeróbia da xilose.

Concentração Xilose ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ácidos Orgânicos Voláteis ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	Acético	Butírico	Propiônico	Isobutírico	Isovalérico
630	322,6	63,0	-	11,8	10,2
1341	235,9	363,1	-	4,8	10,3
1848	856,8	310,7	6,1	12,7	24,9
3588	1207,6	1470,7	3,9	5,5	11,7

Fonte: Adaptado de Maintinguer (2009).

A influência da concentração de xilose e do pH na eficiência da produção de hidrogênio foram estudadas por Lin e Cheng (2006) por meio de um experimento

utilizando lodo de tratamento de esgoto como inóculo. Em temperatura mesofílica (35 °C) inicialmente utilizando um meio contendo xilose e micronutrientes (5240 mg $\text{NH}_4\text{HCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, 125 mg $\text{K}_2\text{HP}_4 \cdot \text{L}^{-1}$, 15 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 25 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 5 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 0,125 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ e 6720 mg $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), o experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa, a variação do pH foi objeto de estudo, tal que o pH iniciou em 5,0 e foi aumentando em um passo de 0,5 até o valor de 9,5, com uma concentração fixa de 20 g xilose. L^{-1} . Na segunda etapa foi aplicada uma variação da concentração de xilose de 10 a 100 g. L^{-1} , enquanto o pH foi mantido constante em 6,5. Em pH de 5,0, 9,0 e 9,5 não foi observada a produção de hidrogênio, provavelmente por desfavorecer o crescimento dos micro-organismos produtores de hidrogênio, enquanto que os maiores valores de hidrogênio ocorreram nos ensaios cujo pH foi 6,0 e 7,0, apresentando produtividades de, respectivamente, 1,92 e 2,25 mol $\text{H}_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$. Os maiores valores de hidrogênio apresentados no experimento são comparáveis a cultura de enriquecimento por *Clostridium sp.* em pH 6,5, variando de 2,2 a 2,6 mol $\text{H}_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$, representando assim uma alta produtividade de hidrogênio. Os autores observaram também que em concentrações mais elevadas que 60 g xilose. L^{-1} houve a diminuição da produção de hidrogênio. O trabalho mostrou que em condições mesofílicas a produção de hidrogênio através de lodo de tratamento de esgoto como inóculo pelo metabolismo da xilose, sendo que o pH e a concentração de substrato são fatores fundamentais para a eficiência da produção.

Para mostrar que a temperatura é um fator importante na produção de hidrogênio no processo anaeróbios, Lin et al. (2008) realizaram uma pesquisa utilizando lodo de tratamento de esgoto enriquecido com 20 g-xilose. L^{-1} e sais (5240 mg- $\text{NH}_4\text{HCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, 125 mg- $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$, 15mg- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 25mg- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 5 mg- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$, 0,125 mg- $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ e 6720 mg- $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$). Foram realizados experimentos com a variação de temperatura, tal que a temperatura iniciou a 30 °C sendo aumentada em passos de 5°C até 55°C, operando por 30 dias em cada temperatura, com pH constante de 7,1. Os autores observaram que entre as temperaturas de 45 °C e 55 °C, a produção de biogás e de hidrogênio aumentou gradualmente e depois manteve em valores constantes. Já entre as temperaturas de 30 °C a 40 °C a produção de biogás e de hidrogênio aumentou até atingir a temperatura máxima, logo em seguida caiu, mantendo um baixo valor constante. O rendimento obtido a 35 °C foi de 0,7 mol $\text{H}_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$ e a concentração de 0,10 mol $\text{H}_2 \cdot (\text{L} \cdot \text{dia})^{-1}$, enquanto a 50 °C foram de 1,4 mol $\text{H}_2 \cdot \text{mol-xilose}^{-1}$ e 0,25 mol $\text{H}_2 \cdot (\text{L} \cdot \text{dia})^{-1}$ respectivamente. Portanto foi observado que a produção de hidrogênio mais eficiente ocorre em condições termofílicas (50 a 55 °C) do que mesofílicas (30 a 40 °C). Em relação

à produção de ácidos orgânicos voláteis, as maiores produções de ácido acético (2193 mg O₂.L⁻¹) se deram nas temperaturas de 30 e 40 °C, de ácido propiônico (2234 mg O₂.L⁻¹) a 40 °C, de ácido butírico (4047 mg O₂.L⁻¹) a 50 °C, e de ácido valérico (470 mg O₂.L⁻¹) a 30 °C. Para finalizar, devido à queda da produção de hidrogênio após aquecer 5 °C da temperatura ótima (50 °C), os autores concluíram a necessidade do controle da temperatura. Desta forma foi apontado que a temperatura além de ser um fator de influência na eficiência de produção de hidrogênio, é também um fator da distribuição líquida do produto e da comunidade de micro-organismos

Pattra et al. (2008) realizaram um estudo comprovando a viabilidade da produção de hidrogênio a partir da fermentação da hemicelulose do bagaço hidrolisado com *Clostridium species* quando comprado ao uso de xilose e de glicose como substrato. A pesquisa foi dividida em três etapas: a otimização da concentração de H₂SO₄ no tratamento ácido, a influência do pH inicial na produção de hidrogênio e o efeito da concentração inicial de carboidrato. Primeiramente foi realizado um experimento em batelada variando além da concentração de ácido sulfúrico (de 0,25% a 7%), o qual é utilizado no tratamento ácido da hemicelulose para otimizar a hidrólise do bagaço em um autoclave a 121 °C e 1,5 kg.cm², também o tempo de reação (de 15 a 240 minutos). Com 0,5% de H₂SO₄ obteve as maiores concentrações de glicose (10,99 g.L⁻¹) e de xilose (11,29 g.L⁻¹). O excesso do ácido sulfúrico pode converter os carboidratos em outras substâncias, sendo essas em sua grande maioria inibidoras, como é o caso respectivamente do ácido acético (2,72 g.L⁻¹) e furfural (1,3 g.L⁻¹), quando adicionado 6% e 7% de H₂SO₄ no bagaço hidrolisado por 60 minutos. No segundo experimento fixou-se a temperatura em 37 °C e a concentração de carboidrato em 20 g.L⁻¹, variando apenas o pH em passos de 0,5 de 5,5 até 8,0. O melhor rendimento de hidrogênio (1,73 mol H₂.mol açúcar total⁻¹) obtido nesta etapa foi com pH inicial de 5,5. Junto à produção de hidrogênio os autores observaram também produção de ácidos voláteis como: HBu, HAc, HPr, EtOH e BuOH. O último experimento foi realizado através da variação da concentração de açúcar de 1,5 à 40 g.L⁻¹ em pH 5,5 e temperatura à 37°C. Os autores afirmam que há relação do aumento do hidrogênio produzido com o aumento da concentração de açúcar, entretanto um excesso de açúcar inibe a produtividade, conforme apresenta o resultado: a produtividade máxima ocorreu com 20 g açúcar.L⁻¹ e não com 40 g açúcar.L⁻¹. O resultado da pesquisa, portanto, concluiu que para atingir produtividade de 1,73 mol H₂.mol açúcar total⁻¹ através do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar com bactérias *C.butyricum*, as melhores condições: são pH 5,5, concentração inicial de 20 g-açúcar.L⁻¹ e temperatura de 37°C.

3.6 Relação carbono/nitrogênio

Com o objetivo de avaliar a influência da relação carbono/nitrogênio (C/N) na produção biológica de gás hidrogênio, Anzola Rojas (2010) realizou um experimento em reator anaeróbio de leito fixo, fluxo ascendente, a 25 °C, com sacarose como fonte de carbono (com demanda química de oxigênio de aproximadamente 2.000 mg·L⁻¹) e ureia como fonte de nitrogênio, em relações C/N de 40, 90, 140 e 190. Em todas as relações de C/N foram obtidos ácido acético, ácido butírico e etanol como produtos da fermentação. A concentração média de cada produto foi relativamente semelhante em todas as relações: 40 (365,8 mg-ác.acético·L⁻¹, 239,6 mg-ác.butírico·L⁻¹ e 483,4 mg-etanol·L⁻¹), 90 (314,2 mg-ác.acético·L⁻¹, 245,5 mg-ác.butírico·L⁻¹ e 322,0 mg-etanol·L⁻¹), 140 (343,3 mg-ác.acético·L⁻¹, 214,2 mg-ác.butírico·L⁻¹ e 469,4 mg-etanol·L⁻¹) e 190 (389,1 mg-ác.acético·L⁻¹, 219,9 mg-ác.butírico·L⁻¹ e 330,2 mg-etanol·L⁻¹). Foi observado um maior crescimento de biomassa (239,41 mg-biomassa·g⁻¹-suporte) na condição em que o nitrogênio estava em excesso (relação C/N de 40), afetando negativamente a produção de hidrogênio, já na carência de nitrogênio ocorreu o controle da biomassa gerando maiores produtividades. Como resultado a autora observou que a melhor produtividade de hidrogênio ocorreu com a relação C/N de 140 (2,2 mol-H₂·mol-sacarose⁻¹), enquanto para as relações de C/N de 40, 90 e 190 obtiveram respectivamente 0,6 mol-H₂·mol-sacarose⁻¹, 1,3 mol-H₂·mol-sacarose⁻¹ e 1,7 mol-H₂·mol-sacarose⁻¹.

Argun et al. (2008) utilizaram como fonte de carbono, nitrogênio e fósforo, respectivamente glicose (com demanda química de oxigênio de aproximadamente 60 g-glicose·L⁻¹), CON₂H₄ (ureia) e KH₂PO₄ para estudar os efeitos da relação C/N e C/P na produção de hidrogênio de uma fermentação escura. O ensaio foi conduzido em frascos de 2 L mantidos a 37 °C sendo que o meio foi ajustado inicialmente a pH 7, variando a relação C/N entre 20 e 200 e a relação de C/P entre 50 e 1000, totalizando 9 experimentos distintos. O lodo, proveniente de uma estação de tratamento de águas residuárias, sofreu um pré-tratamento térmico por 5 horas para eliminar as bactérias metanogênicas e foi enriquecido com: 60 g-glicose·L⁻¹, 10-peptona·L⁻¹, 0,6-extrato de levedura·L⁻¹, 0,25 g-MgSO₄·7H₂O·L⁻¹, 1 g-K₂HPO₄·L⁻¹, 1 g- KH₂PO₄·L⁻¹ e 0,1 g-HCl.H₂O·L⁻¹. Os autores observaram que a maior taxa de hidrogênio ocorreu com as maiores relações de C/N (200) e C/P (1000). Desta forma os autores concluíram que as altas concentrações de nitrogênio e de fósforo inibiram a formação de hidrogênio na fermentação escura, provavelmente pelo deslocamento da via metabólica. Os principais ácidos orgânicos obtidos neste experimento foram o acético, butírico, propiônico e láctico.

3.7 Considerações finais

A produção de hidrogênio e ácidos voláteis a partir de compostos orgânicos ocorre na etapa da acidogênese do processo anaeróbio. A formação de ácido acético e butírico nesta conversão está relacionada com a geração do gás hidrogênio e a formação do ácido propiônico e de álcoois podem ser relacionadas ao consumo desse gás.

Devido ao fato de os produtos das reações do ácido butírico e ácido propiônico na acetogênese serem substratos para a formação de metano, é necessário suprimir a metanogênese para maximizar a produção de hidrogênio. Sendo assim, o controle de pH pode ser um meio efetivo para favorecer a produção de hidrogênio, por eliminar ou inibir o desenvolvimento das arqueias metanogênicas.

O controle da temperatura é outro fator que influencia a eficiência da produção de hidrogênio. A otimização da temperatura, além da microflora, da concentração do substrato e do reator, são fatores importantes para aumentar o rendimento de hidrogênio.

Considerando a produção biológica de hidrogênio e ácidos voláteis, a fermentação anaeróbia como tratamento biológico e o reaproveitamento de resíduos, o presente projeto propõe confrontar as diferentes respostas determinadas por substratos de fermentação anaeróbia, xilose e hidrolisado de bagaço de cana na produção de hidrogênio em condições meso- e termofílicas (respectivamente 30 e 55 °C).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente projeto propõe, em duas etapas, a investigação da produção de hidrogênio e de ácidos orgânicos voláteis por meio da comparação entre o processamento anaeróbio acidogênico da xilose e do licor de pentoses do bagaço de cana, em condições meso e termofílicas. A primeira etapa submete o processo a diferentes relações substrato/micro-organismo (S/M) frente ao aumento da concentração de matéria orgânica aplicada e a segunda etapa verifica a influência da variação da relação carbono/nitrogênio (C/N) frente a adição de uma concentração fixa de ureia.

4.1 Planejamento experimental

O estudo contemplado na primeira etapa trata-se da variação da concentração de substrato mantendo constante a concentração de biomassa ($500 \text{ mg SVT} \cdot \text{L}^{-1}$). Desta forma, avaliou-se a influência da variação da relação entre substrato e inóculo (S/M) e, consequentemente, da carga orgânica específica aplicada, na produção de hidrogênio e de ácidos orgânicos voláteis. O delineamento experimental desta etapa do trabalho se encontra pormenorizado na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Delineamento experimental da investigação da influência da variação da carga orgânica específica aplicada na produção de hidrogênio e de ácidos voláteis.

Concentração de Matéria Orgânica ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Relação S/M ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{mg SVT}^{-1}$)	Condições Experimentais			
		Mesofílico (30 °C)		Termofílico (55 °C)	
		Xilose	Licor	Xilose	Licor
1.000	2	I-a	I-b	I-c	I-d
5.000	10	II-a	II-b	II-c	II-d
10.000	20	III-a	III-b	III-c	III-d
20.000	40	IV-a	IV-b	IV-c	IV-d

A segunda etapa analisa a influência da relação C/N (carbono/nitrogênio) na produção de hidrogênio e ácidos voláteis pela adição de ureia em uma concentração fixa ($93,5 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ para os ensaios utilizando a xilose e de $5,1 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ para os ensaios utilizando o licor de pentoses como substrato) e submetendo o sistema às mesmas variações na concentração de matéria orgânica investigadas na primeira etapa. O delineamento experimental desta etapa encontra-se descrito pela Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Delineamento experimental da investigação da influência da variação C/N na produção de hidrogênio e de ácidos voláteis.

C/N (mgC:mg N)	Concentração de Matéria Orgânica (mg O ₂ ·L ⁻¹)	Condições Experimentais			
		Mesofílico (30 °C)		Termofílico (55 °C)	
		Xilose	Licor	Xilose	Licor
10	1.000	I-e	I-f	I-g	I-h
50	5.000	II-e	II-f	II-g	II-h
100	10.000	III-e	III-f	III-g	III-h
200	20.000	IV-e	IV-f	IV-g	IV-h

As condições experimentais passarão a ser denominadas de acordo com a nomenclatura codificada pela Tabela 4.1 e pela Tabela 4.2, de maneira a melhor estruturar a discussão dos resultados.

As variáveis de interesse avaliadas nos ensaios estão descritas na Tabela 4.3. Estas variáveis foram realizadas periodicamente em amostras filtradas em membrana de acetato de celulose com um diâmetro de poro de 0,45 µm, visando à remoção de quaisquer interferentes sólidos nas análises.

Tabela 4.3 - Variáveis de interesse e seus respectivos métodos monitorados em todos os experimentos.

Variável	Unidade	Método	Referência
Concentração de matéria orgânica	mg O ₂ ·L ⁻¹	Demanda química de oxigênio (DQO)	Standard Methods (APHA, 1988)
pH			Standard Methods (APHA, 1988)
Concentração de carboidratos	mg·L ⁻¹	Carboidratos totais	(DUBOIS et al., 1956)
Concentração de H ₂ , CO ₂ , CH ₄ e N ₂	mmol·L ⁻¹	Cromatografia gasosa (CG)	Item 4.5
Produção volumétrica de biogás	mL	Manometria	Item 4.5
Concentração de ácidos orgânicos	mg·L ⁻¹	Cromatografia líquida (HPLC)	Item 4.6

Nas operações em que foi utilizado o licor de pentoses como substrato, além das análises físico-químicas apresentadas na Tabela 4.3, foram realizadas análises da concentração de SO₄²⁻ e de sulfetos totais dissolvidos (STD). A Tabela 4.4 apresenta essas análises com seus respectivos métodos.

Tabela 4.4 - Variáveis de interesse e seus respectivos métodos monitorados nas operações com o licor de pentoses do bagaço de cana.

Variável	Unidade	Método	Referência
Concentração de SO_4^{2-}	mg.L^{-1}	Cromatografia de íons	Standard Methods (APHA, 1988)
Concentração de sulfetos totais	mg.L^{-1}	Método do azul de metileno	Standard Methods (APHA, 1988)

As análises apresentadas na Tabela 4.4 foram realizadas somente para os ensaios com licor de pentoses devido ao tratamento deste substrato com solução de H_2SO_4 , que resulta na adição de sulfato no meio e a possibilidade de sua redução em sulfeto, sendo necessárias suas quantificações.

4.2 Meio Nutriente

Nas condições “a”, “c”, “e” e “g”, que utilizaram xilose como substrato, foram adicionadas ao meio concentrações de xilose de 935 mg.L^{-1} , 4.673 mg.L^{-1} , 9.346 mg.L^{-1} e 18.692 mg.L^{-1} para que a concentração inicial de cada ensaio, em termos de DQO, fossem respectivamente $1.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $5.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $10.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ e $20.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$. Além de, nas condições “e” e “g”, serem adicionados ao meio concentrações de $93,5 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O.L}^{-1}$.

Já nas condições “b”, “d”, “f” e “h”, em que a operação utilizou licor de pentoses do bagaço de cana como substrato, foi primeiramente feito o hidrolisado conforme procedimento estabelecido por Betancur e Pereira (2010), no qual o bagaço seco é tratado com uma solução de H_2SO_4 1% v/v em uma relação mássica de 1:9 e então autoclavado sob a pressão de 1,1 atm a 120°C por 1 hora. O resíduo sólido foi separado do resíduo líquido por prensagem e filtração. Em seguida foi realizada a caracterização do hidrolisado utilizado nos experimentos. O hidrolisado apresentou $13.825 \text{ mg carboidratos totais.L}^{-1}$, uma concentração de matéria orgânica de $25.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, em termos de DQO e uma concentração de nitrogênio total de 80 mg NTK.L^{-1} . Com base nesta caracterização e para que a concentração inicial de cada ensaio mantivesse as mesmas planejadas com xilose, ou seja, para que fossem respectivamente $1.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $5.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $10.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ e $20.000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, foram adicionadas ao meio 40 mL, 200 mL, 400 mL e 800 mL de hidrolisado. Ao passo que para o estudo da relação de C/N na segunda etapa, foram também adicionados para as condições “f” e “h” $5,1 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O.L}^{-1}$. Ao início de todos os experimentos foi adicionado bicarbonato de sódio para ajustar o pH do licor de pentoses em 6,0, devido ao tratamento ácido do hidrolisado.

Em todos os sistemas foi adicionada uma solução de micronutrientes, conforme descrita por Maintinguer (2009), apresentada na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Concentrações de micronutrientes no meio (Maintinguer, 2009).

Composto	Concentração (mg.L ⁻¹)
Sulfato de níquel (NiSO ₄ . 6H ₂ O)	0,50
Sulfato Ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	2,50
Cloreto Férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	0,25
Cloreto de Cobalto (CoCl ₂ .6.H ₂ O)	0,04
Cloreto de cálcio (CaCl ₂ .6H ₂ O)	2,06
Dióxido de selênio (SeO ₂)	0,14
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	5,36
Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	1,30
Fosfato de sódio dibásico (Na ₂ HPO ₄)	2,70

4.3 Inóculo

O inóculo utilizado nos experimentos foi proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB), o qual trata água residuária do abatedouro de aves Dacar Industrial S.A., sediada em Tietê, SP. Este inóculo foi selecionado com base nas características populacionais, compreendendo uma diversidade muito grande de organismos anaeróbios acidogênicos. O inóculo foi submetido a um pré-tratamento, no qual foi mascerado e posteriormente adicionou uma solução concentrada de HCl até que se atingiu pH 3,0, e então nessas condições e em temperatura ambiente ficou exposto por 24 horas. Após este período, o pH foi ajustado para 6,0 com uma solução de NaOH, deixando novamente o inóculo em repouso por 2 dias em temperatura ambiente. Este pré-tratamento foi realizado para inibir o crescimento dos micro-organismos metanogênicos, os quais são consumidores de hidrogênio.

4.4 Aparato Experimental

O aparato experimental constituiu em frascos Duran de 2 L, sendo 1 L de volume útil e 1 L de *headspace*. Os reatores foram mantidos em um agitador (*shacker*) orbital (100 rpm) com controle de temperatura (30 °C para o ensaio mesofílico e 55 °C para o termofílico). Após a esterilização do meio nutriente por autoclavagem, o pH foi medido e corrigido para 6,0. No caso dos experimentos com o licor de pentoses do bagaço de cana foi feito separadamente no hidrolisado o ajuste do pH para 6,0, devido ao fato de ser uma solução muito ácido, necessitando assim do uso de bicarbonato puro. Posteriormente ao

ajuste do pH, o fluxionamento de nitrogênio no *headspace* do reator e no meio líquido foi realizado por 10 minutos para garantir a completa troca de atmosfera, eliminando o ar atmosférico e deixando o meio anaeróbico. Por fim os reatores foram inoculados, fechados com uma tampa de borracha e outra de plástico e colocados no *shaker*.

4.5 Análise do Biogás

A determinação e quantificação do biogás (CH₄, CO₂, N₂ e H₂) foi realizada por cromatografia gasosa (Shimadzu® GC, 2010) com uma coluna capilar Carboxen® 1010 (30 m x 0,53 mm x 0,30 µm) e um detector de condutividade térmica (TCD), usando argônio como gás de arraste e ar comprimido sintético como make-up em 12 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram 220 e 230 °C respectivamente. A temperatura aplicada ao forno constituiu em um programa com rampa inicial de 40°C por 2 minutos, seguida de elevação até 60 °C a uma taxa de 5°C.min⁻¹ e então até 95°C a 25°C.min⁻¹. A temperatura de 95 °C foi mantida durante 5 minutos até as extremidades de execução. O volume injetado de biogás foi 30 µL.

O volume de biogás produzido foi obtido a partir da relação entre pressão e volume para gases ideais nas CNTP, pela medição da variação da pressão do biogás produzido por um manômetro digital. A determinação de pressão foi cumulativa, pois a pressão no frasco foi aliviada para a pressão atmosférica após cada determinação, para que o sistema não ficasse submetido a pressões muito altas e também para que os valores de pressão se mantivessem distantes do fundo de escala do manômetro. Desta forma, o método utilizado foi o do esvaziamento pontual do biogás, por meio do cálculo do volume equivalente e da produção volumétrica equivalente, respectivamente conforme a Equação 4.1 e a Equação 4.2:

$$V_{T\alpha} = \left(\frac{P \cdot V_H}{T} \cdot \frac{T_{CNTP}}{P_{CNTP}} \right) \cdot x_{\alpha} \quad \text{Equação 4.1}$$

$$\Gamma_{\alpha} = \sum_{i=0}^n {}^{i+1}V_{T\alpha} - {}^iV_H \cdot {}^i x_{\alpha} \quad \text{Equação 4.2}$$

Em que $V_{T\alpha}$ é o volume total do gás α equivalente na CNTP (L); P é a pressão absoluta do *headspace* (atm); V_H é o volume do *headspace* (L); T é a temperatura do sistema (K); T_{CNTP} é a temperatura na CNTP (273K); P_{CNTP} é a pressão na CNTP (1 atm); Γ é a produção volumétrica do gás α equivalente (L) e x_{α} é a fração molar do gás, onde α é H₂, N₂, CO₂ e CH₄.

4.6 Análise dos Ácidos Orgânicos Voláteis

A composição da fase líquida foi determinada por cromatografia líquida em um cromatógrafo HPLC Shimadzu® modular com sistema de bombeamento (LC-10AD), forno (CTO-20A), controlador (SCL-10A) e um fotodetector de matriz de diodo (PDA- *Photo Diode Array*) ajustado para ler comprimentos de onda entre 190 a 370 nm (UV) com passo de 1 nm. Um cromatograma mostrou leituras registradas no comprimento de onda de 205 nm. A fase fixa compreendeu uma coluna Bio-Rad Aminex® HPX-87H 3000 x 7,8 mm operada à temperatura constante de 55 °C. O efluente foi composto por H₂SO₄ a concentração de 0,005 mol.L⁻¹ a uma taxa de fluxo de 0,5 mL.min⁻¹. O volume de amostra injetado foi de 100 uL. As amostras foram analisadas para a determinação da concentração dos ácidos orgânicos voláteis. A identificação dos picos e a integração foram realizadas por meio do software Shimadzu Class-VP® versão 5.032. As concentrações foram expressas em termos de DQO (mg O₂.L⁻¹) e normalizadas pela concentração de matéria orgânica dissolvida, assumindo que somente tais ácidos compusessem toda a matéria orgânica efluente.

4.7 Parâmetro cinético

Devido às baixas concentrações de substrato envolvidas nos ensaios foi utilizado o modelo cinético de primeira ordem residual, oriundo da simplificação do modelo cinético proposto por Monod, conforme descrito por Mockaitis et al. (2012), de acordo com a Equação 4.3.

$$S(t) = S_R + (S_I - S_R) \cdot e^{-k_1^{app} \cdot t} \quad \text{Equação 4.3}$$

Em que $S(t)$ é a concentração de xilose (mg.L⁻¹); S_R é concentração residual de xilose (mg.L⁻¹); S_I é a concentração inicial de xilose (mg.L⁻¹); t é o tempo percorrido do experimento (horas) e k_1^{app} é a constante cinética aparente (horas⁻¹).

Desta forma, a eficiência absoluta é calculada conforme a Equação 4.4.

$$E_a = 1 - \frac{S_R}{S_I} \quad \text{Equação 4.4}$$

Para o cálculo da produção de hidrogênio acumulado foi empregado o modelo de sigmoide dose-resposta simples, apresentado na Equação 4.5.

$$H(t) = \frac{H_{máx}}{1 + 10^{(l-t) \cdot p}} \quad \text{Equação 4.5}$$

Em que $H(t)$ é a produção acumulada de H_2 após um determinado tempo t de fermentação (L); $H_{máx}$ é a produção máxima de H_2 (L); l é o tempo para atingir a velocidade máxima de produção (h); t é o tempo percorrido do experimento (h) e p é velocidade média de produção de H_2 na fase de crescimento exponencial ($L \cdot h^{-1}$).

O algoritmo de interações de Levenberg-Marquadt do software Microcal Origin[®] v 8.1 foi utilizado como ferramenta de ajuste para ambos os parâmetros cinéticos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados mostrados são referentes às duas etapas propostas no projeto: “etapa 1” e “etapa 2”, as quais investigam, respectivamente, diferentes relações substrato/micro-organismo (S/M) e relações carbono/nitrogênio (C/N) pela variação da concentração de matéria orgânica.

5.1 Etapa 1- Influência da variação da relação S/M na obtenção de hidrogênio e de ácidos voláteis a partir da xilose e do licor de pentoses como fonte de carbono

A Figura 5.1 e a Figura 5.2 apresentam os reatores para os quais o substrato foi xilose (condições “a” e “c”) e licor de pentoses do bagaço de cana (condições “b” e “d”), respectivamente.



Figura 5.1 - Reatores em batelada da “Etapa 1” ao utilizar xilose como fonte de carbono.



Figura 5.2 - Reatores em batelada da “Etapa 1” ao utilizar licor de pentoses como fonte de carbono.

É visível a diferença de coloração entre os reatores em função do substrato utilizado (Figura 5.1 e Figura 5.2). Os reatores nas condições “b” e “d” obtiveram cor mais escura

devido ao fato de que o licor de pentoses do bagaço de cana escurece quando à adição de bicarbonato para correção do pH, ao início do experimento.

5.1.1 Condições Mesofílicas

Foram empregados 8 reatores em batelada nas condições mesofílicas (30 °C), sendo 4 alimentados com xilose (condições I-a a IV-a) e 4 com licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono. A Tabela 5.1 apresenta os valores iniciais e finais de xilose (mg L^{-1}), DQO ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) e pH obtidos em cada condição, além do tempo de duração do experimento.

Tabela 5.1 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Xilose (condições I a IV a) e licor de pentoses (condições I b a IV b) como fonte de carbono.									
Condição		Xilose (mg L ⁻¹)		DQO (mg O ₂ L ⁻¹)			pH		Tempo (h)
		Inicial	Final	Inicial	Final	Média (nº de análises)	Inicial	Final	
Xilose	I-a	1042	1,2	1140	637	1384 ± 439 (9)	6,4	4,0	503
	II-a	3724	74	3420	4180	4906 ± 1567 (11)	6,4	3,5	574
	III-a	10878	84	8087	7580	7918 ± 520 (15)	6,3	3,0	744
	IV-a	16664	4812	17209	16331	17707 ± 1553 (15)	6,1	2,9	744
Licor	I-b	659	3,0	1026	821	864 ± 138 (9)	5,3	4,7	552
	II-b	3029	8,7	4186	3351	3672 ± 607 (9)	6,0	4,2	552
	III-b	5463	82	9085	6566	7413 ± 1217 (9)	6,1	4,3	551
	IV-b	9760	250	17644	14828	15696 ± 3009 (9)	6,6	5,3	551

Conforme apresentado na Tabela 5.1, em todos os experimentos da condição mesofílica foram observados consumo de xilose e queda de pH. Na condição “a” (ao utilizar xilose como substrato) a estabilização do pH em [3,0 – 4,0] foi devido às atividades das bactérias acidogênicas presentes no meio. Já na condição “b” (utilizando licor de pentoses como substrato) a estabilização ocorreu em pH mais elevado (5,0), devido ao efeito tamponante do bicarbonato de sódio utilizado para ajustar o pH do hidrolisado em 6,0 ao início do experimento. Em todas as condições, as operações foram iniciadas com pH 6,0, aproximadamente, devido ao pré-tratamento realizado no lodo.

Houve redução da concentração de matéria orgânica, expressa em termos de DQO, em praticamente todas as condições, porém sem grandes variações. Este resultado corrobora a operação dos resultados em condições acidogênicas, pois embora fora observado um claro consumo da xilose como substrato, esta foi convertida em matéria

orgânica (ácidos orgânicos voláteis), pouco afetando a remoção da matéria orgânica. A condição II-a apresentou um valor de DQO final superior ao encontrado inicialmente, provavelmente devido a uma presença de material particulado no meio.

O tempo médio de experimento nas condições III-a e IV-a foi superior aos demais, devido à alta concentração inicial de xilose a elas aplicada, possibilitando a obtenção de um perfil mais abrangente para essas condições.

A Tabela 5.2 apresenta, portanto, as concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis e hexoses para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono, assim como as concentrações de sulfato ao utilizar o segundo substrato.

Tabela 5.2 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses e de sulfato para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Ácidos orgânicos voláteis / Hexoses / Álcoois / Sulfato (mg L ⁻¹)		Condições Experimentais							
		Xilose				Licor de Pentoses			
		I-a	II-a	III-a	IV-a	I-b	II-b	III-b	IV-b
Ácidos Orgânicos Voláteis	Cítrico	-	2,4	2,5	2,7	3,2	4,9	7,3	11
	Málico	5,0	6,5	15	25	9,7	14	18	48
	Succínico	1,7	8,0	4,9	1,7	19	16	61	93
	Lático	-	-	-	-	11	80	230	318
	Fórmico	-	3,4	4,0	4,3	38	27	50	72
	Acético	4,6	4,1	3,9	4,6	204	522	1218	2161
	Propiônico	4,2	7,3	8,9	11	11	25	69	54
	Isobutírico	3,1	5,8	4,9	5,7	14	91	209	182
	n-Butírico	-	-	-	-	58	319	316	215
	Isovalérico	-	-	-	-	7,3	19	28	43
	n-Valérico	602	5,5	4,5	-	-	-	-	-
	Capróico	-	-	-	-	41	44	131	219
Hex. Sulfato	Glicose	0,00	0,00	9,2	14	3,5	6,0	5,0	596
	Frutose	447	1514	3128	6431	248	948	1844	3957
	Sulfato	-	-	-	-	750	1535	1746	6233

Os reatores foram todos inoculados ao início do experimento com a biomassa pré-tratada, o que possivelmente causou um metabolismo endógeno das substâncias presentes no próprio lodo, uma vez que foram detectadas outras substâncias (ácidos orgânicos

voláteis e hexoses) além do substrato no início do experimento. Além disso, houve aporte de sulfato devido ao pré-tratamento do bagaço da cana nos experimentos para as condições I-b a IV-b e em todas as condições não houve presença de álcoois no início do experimento.

A Figura 5.3 apresenta perfis do consumo da xilose nos ensaios de variação da concentração orgânica em condições mesofílicas. Cada gráfico apresenta duas curvas de concentração de xilose para os reatores que utilizaram xilose como substrato (condições I-a a IV-a, ■) e para os reatores utilizaram licor de pentoses como substrato (condições I-b a IV-b, □). As linhas referem-se ao ajuste do modelo cinético de primeira ordem residual aos perfis de concentração de xilose, sendo que a linha tracejada refere-se às condições I-a a IV-a (xilose como substrato) e a pontilhada refere-se às condições I-b a IV-b (licor de pentoses como substrato).

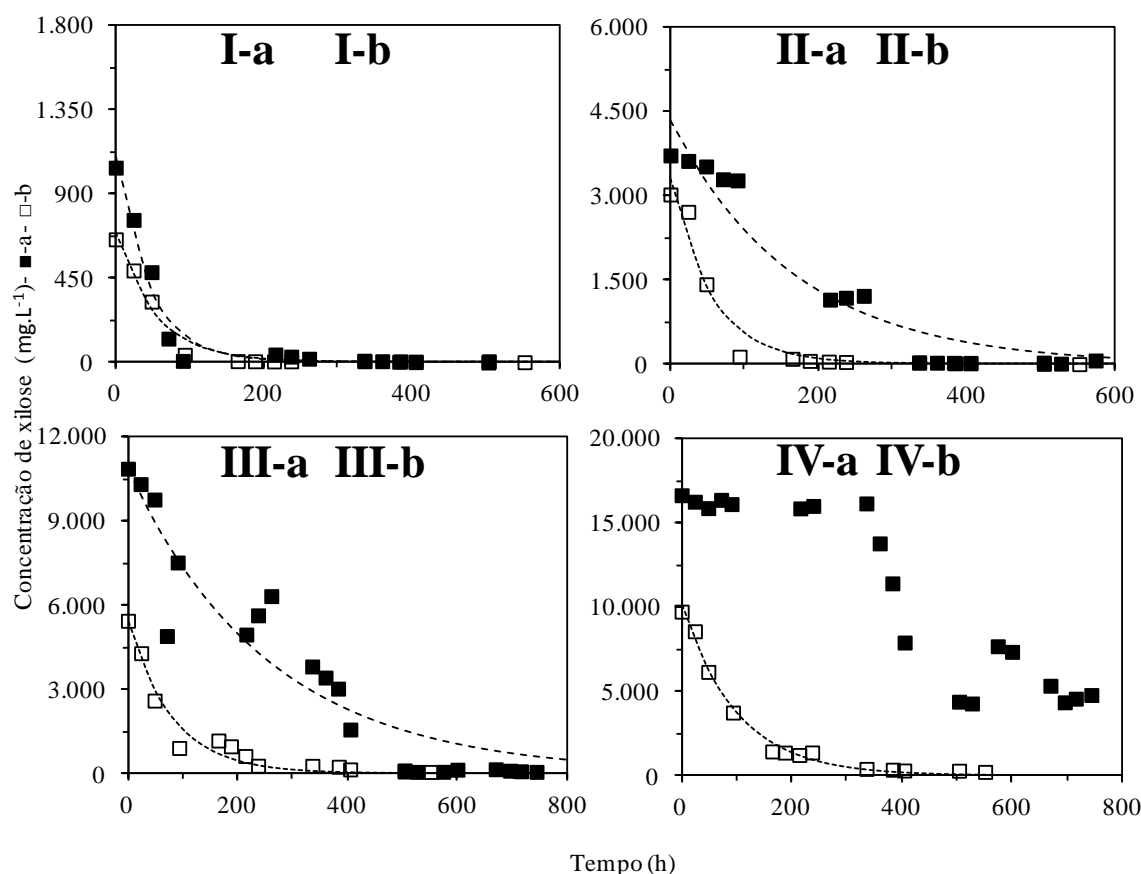


Figura 5.3 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a; ■, linha tracejada) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b; □, linha pontilhada) como fonte de carbono

O decaimento da xilose possuiu aspecto distinto em cada uma das condições (Figura 5.3). Entretanto em todas as relações S/M utilizando xilose como substrato

(condições I-a a IV-a), o consumo total da xilose na condição “a” foi mais lento que na condição “b”, devido ao fato do licor de pentoses ser uma solução menos concentrada.

Foram realizados os ajustes do modelo cinético de primeira ordem residual para todas as condições exceto IV-a, para a determinação dos parâmetros cinéticos aparentes. O ajuste do modelo não convergiu nos resultados de concentração de xilose da condição IV-a, pois o consumo da xilose iniciou apenas após 360 horas de experimento. A Tabela 5.3 apresenta os valores dos parâmetros cinéticos, da eficiência absoluta e do coeficiente de correlação das curvas não lineares para as sete condições acima citadas.

Tabela 5.3 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a III-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Condição	Parâmetros Cinéticos			E_A	R^2
	k_I^{app} (h ⁻¹)	C_I (mg L ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)		
Xilose	I-a	0,02 ± 0,003	1101 ± 73	1,3 ± 27	0,99
	II-a	0,005 ± 0,001	4356 ± 284	0,0*	1,00
	III-a	0,004 ± 0,001	10789 ± 751	0,0*	1,00
Licor	I-b	0,02 ± 0,002	692 ± 32	0,0*	1,00
	II-b	0,02 ± 0,003	3313 ± 223	0,0*	1,00
	III-b	0,01 ± 0,002	5400 ± 310	0,0*	1,00
	IV-b	0,01 ± 0,001	10106 ± 269	0,0*	1,00

*Valores forçados durante o ajuste, para que o modelo convergisse em valores fisicamente significativos.

A eficiência absoluta foi elevada para todas as condições. Entretanto as condições em que o valor obtido da eficiência foi máximo (1,0) ocorreram, pois, para adequar ao modelo, a concentração residual de xilose foi considerada zero.

Observou-se também que todos os ajustes apresentaram valores satisfatórios de correlação estatística ($R^2 > 0,80$), indicando que o modelo cinético de primeira ordem foi adequado para representar o comportamento do consumo do substrato. A variação do valor da constante cinética aparente de primeira ordem (k_I^{app}) mostrou que o aumento da concentração inicial do substrato exerceu um efeito inibitório no processo, embora todas as condições tenham se mostrado eficientes em consumir xilose. O efeito inibitório da concentração de xilose se tornou evidente na condição IV-a, na qual o sistema foi operado com maior concentração de carboidratos, apresentando um fraco consumo de substrato até cerca de 390 horas de ensaio.

Na Figura 5.4 os gráficos apresentam os resultados das produções acumuladas de H_2 e CO_2 , em condições mesofílicas (30 °C) e utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono. Cada gráfico apresenta quatro curvas: duas curvas de produção acumulada de H_2 (L) e duas curvas de produção acumulada de CO_2 (L). As curvas de produção acumulada de H_2 (L): uma (■) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e a segunda (□) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b. As curvas de produção acumulada de CO_2 (L): uma (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e a segunda (△) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b.

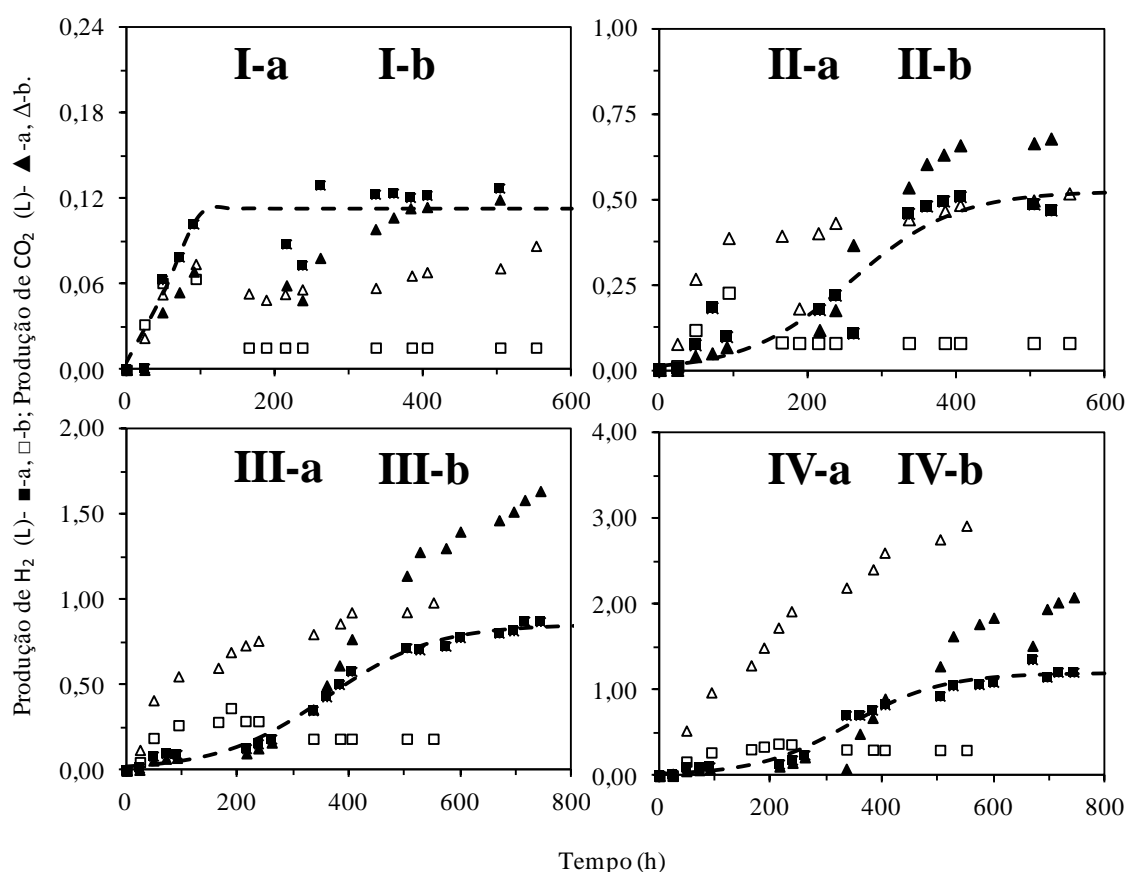


Figura 5.4 - Perfis de produção de H_2 e CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Como observado na Figura 5.4, ocorreu produção de H_2 e CO_2 nas oito condições mesofílicas estudadas. Entretanto não houve geração de metano, pois o pré-tratamento realizado no inoculo inibiu a metanogênese. Nas condições I-a e I-b houve pequena produção de biogás durante o experimento quando comparada às demais, portanto essa concentração de substrato não se apresentou satisfatória para esta finalidade.

Ao utilizar xilose como fonte de carbono observou-se estabilização da produção dos gases em torno de 490 horas nas duas primeiras condições, diferentemente das condições III-a e IV-a, nas quais somente a partir de 780 horas obteve esse processo. Já ao utilizar licor de pentoses as duas últimas condições (III-b e IV-b) apresentaram maior produção de ambos os gases, com estabilização H_2 em aproximadamente 200 horas, comparados com as duas primeiras condições (I-b e II-b), com estabilização de H_2 aproximadamente 100 horas.

Por meio das curvas de produção de H_2 e CO_2 apresentados na Figura 5.4, calculadas nas CNTP, observa-se uma estabilização aproximadamente semelhante dos gases na condição I-a (0,12 L CO_2 e 0,13 L H_2), enquanto nas demais condições com produções de CO_2 (L) e H_2 (L) respectivamente de 0,09 e 0,02 (I-b), 0,68 e 0,47 (II-a), 0,52 e 0,08 (II-b), 1,64 e 0,87 (III-a), 0,98 e 0,19 (III-b), 2,08 e 1,21 (IV-a), e 2,92 e 0,3 (IV-b), foram mais favoráveis ao CO_2 .

Conforme a Figura 5.4, foram realizadas curvas sigmoidais simples para produção H_2 com base na Equação 4.5 para as condições I-a, II-a, III-a e IV-a (xilose como fonte de carbono). Os resultados para as condições que utilizaram licor de pentoses (I-b a IV-b) não se adaptaram a esse modelo, devido a um pico no início da curva da produção de H_2 acumulada, resultado da concentração de H_2 zerar após aproximadamente 100 e 200 horas, respectivamente nas condições I- II e III-IV. Dessa forma, supõe-se que o H_2 produzido na condição “b” foi consumido pelas bactérias acetogênicas consumidoras de H_2 . A Tabela 5.4 apresenta os valores dos parâmetros ajustados pela curva sigmoide simples para as condições I-a, II-a, III-a e IV-a, bem como o rendimento de H_2 ($\text{mol } H_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$) e da produção acumulada de CO_2 (L) para as condições I-a a IV-d.

Tabela 5.4 - Parâmetros cinéticos ($H_{\text{máx}}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás, valores do rendimento de H_2 e da produção acumulada de CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) como fonte de carbono.

Parâmetros Cinéticos							
Condição		H _{máx} (L)	l (h)	p (L h ⁻¹)	R ²	Y _{H2} (mol H ₂ · mol S ⁻¹)	Produção Acumulada CO ₂ (L)
Xilose	I-a	0,11 ± 0,01	52 ± 7,9	0,029 ± 0,013	0,83	0,61 ± 0,21	0,12
	II-a	0,52 ± 0,05	257 ± 28	0,006 ± 0,002	0,86	0,85 ± 0,48	0,68
	III-a	0,86 ± 0,02	361 ± 9,7	0,005 ± 0,0004	0,99	0,35 ± 0,14	1,6
	IV-a	1,2 ± 0,04	343 ± 12	0,005 ± 0,0007	0,97	0,84 ± 0,37	2,1

Ao utilizar o licor de pentoses como substrato não foi possível adaptar os resultados da produção de H_2 à curva da sigmoide simples. Desta forma a Tabela 5.5 apresenta para as condições I-b a IV-b apenas o rendimento de H_2 ($\text{mol } H_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$) e a produção acumulada de CO_2 (L).

Tabela 5.5 - Valores do rendimento de H_2 e da produção acumulada de CO_2 nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) e utilizando licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

		Y_{H_2} ($\text{mol } H_2 \cdot \text{mol } S^{-1}$)	Produção Acumulada CO_2 (L)
Condição			
Licor	I-b	$0,36 \pm 0,33$	0,09
	II-b	$0,22 \pm 0,09$	0,52
	III-b	$0,31 \pm 0,11$	0,98
	IV-b	$0,22 \pm 0,07$	2,9

Conforme a Tabela 5.4 e a Tabela 5.5, o maior rendimento obtido na condição mesofílica foi de $0,85 \text{ mol } H_2 \cdot \text{mol xilose}^{-1}$ ao utilizar xilose como fonte de carbono (condição II-a), apesar de a maior produção de H_2 ter se estabilizado em aproximadamente 1,00 L na condição IV-a (Figura 5.4). Os rendimentos obtidos com licor de pentoses foram baixos.

Foram realiza análise de pH para as condições mesofílicas utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono, conforme apresentado na Figura 5.5.

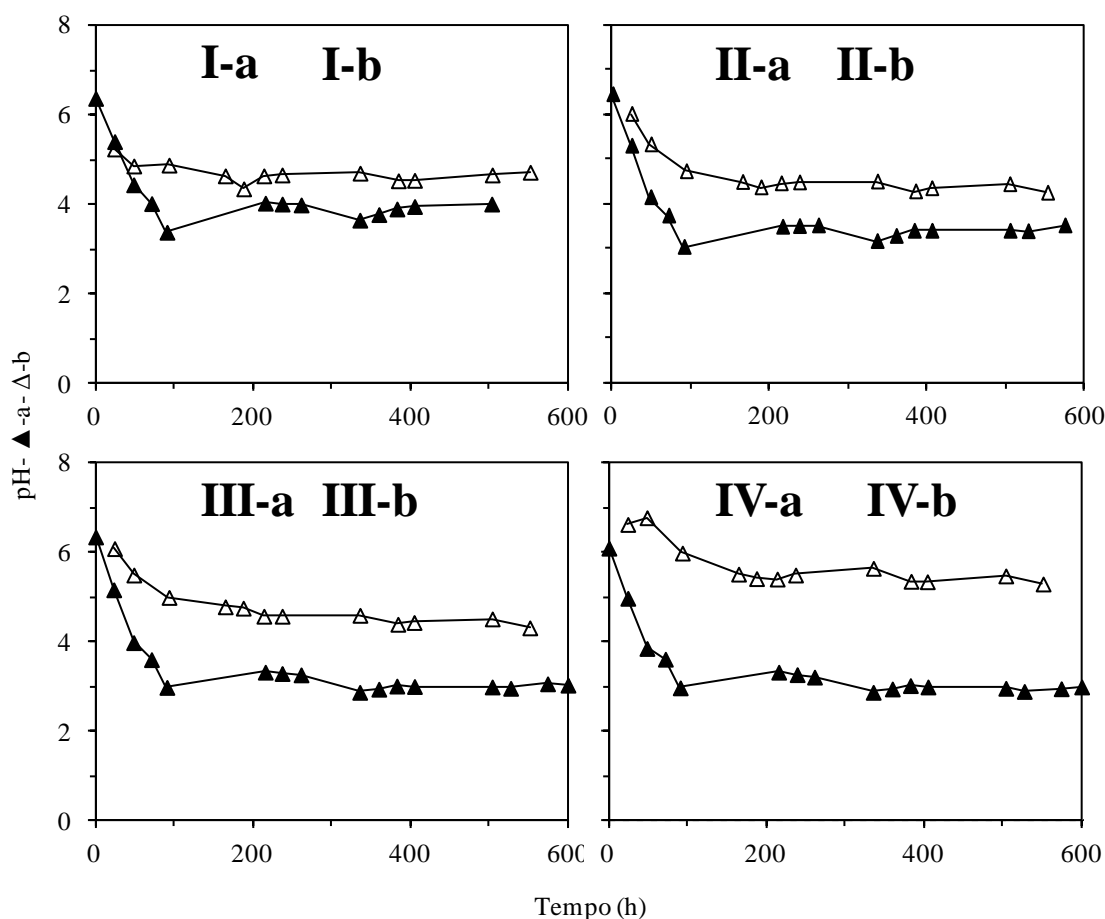


Figura 5.5 - Perfis de pH nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

O tempo de decaimento do pH foi semelhante em todas condições, ocorrendo a estabilização aproximadamente após as 200 primeiras horas, conforme Figura 5.5. Ao utilizar xilose como substrato (condições I-a a IV-a) a estabilização do pH ocorreu em [3,0 – 4,0], enquanto ao utilizar licor de pentoses (condições I-b a IV-b) a estabilização ocorreu em pH mais elevado (5,0).

A Figura 5.6 exibe os gráficos com as concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios utilizando licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

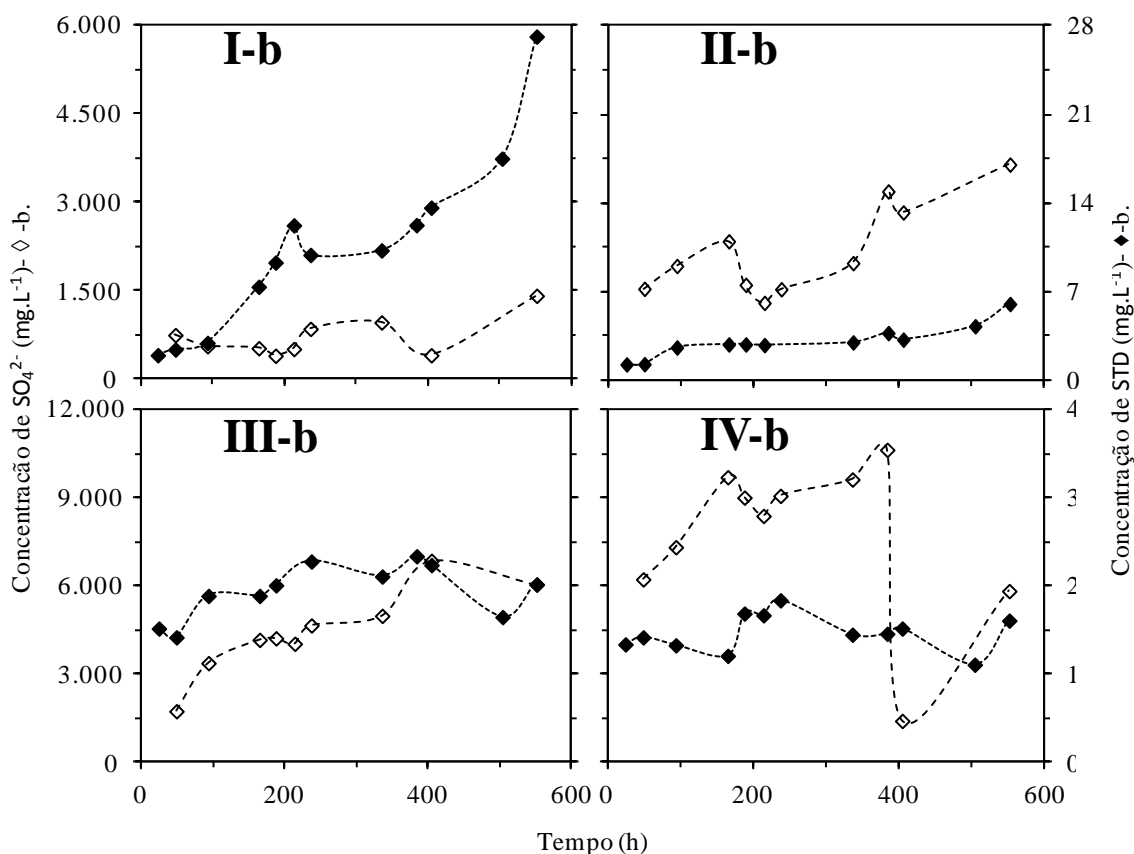


Figura 5.6 - Perfis de concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Os gráficos da Figura 5.6 mostram que quanto maior a relação S/M do reator, maior é a concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e menor a de sulfetos totais dissolvidos (STD). Assim, a sulfetogênese, no tempo de experimento realizado, ocorreu majoritariamente nas condições I e II, porém foi inibida nas condições III e IV. Isso ocorreu devido a uma maior concentração de hidrolisado de bagaço de cana, e consequentemente concentrações iniciais elevadas de sulfato (SO_4^{2-}), que provavelmente se mostraram inibitórias ao próprio processo sulfetogênico.

Apesar das quatro condições apresentarem altas concentrações iniciais de sulfato (SO_4^{2-}) não houve grande interferência desse elemento na produção de hidrogênio relativa a cada condição, pois como a estabilização do pH nessas condições foi inferior a 5,5 o crescimento de bactérias redutoras de sulfato é desfavorecido (Lin & Chen, 2006) e, portanto, não houve o consumo de H_2 .

Os gráficos com as concentrações dos ácidos acético, butírico e propiônico nos experimentos utilizando xilose (I-a a IV-a) e licor de pentoses (I-b a IV-b) como substrato estão respectivamente presentes na Figura 5.7. Cada gráfico apresenta seis curvas: duas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), duas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e

duas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). As curvas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (■) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e o símbolo (□) representa os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b. Ao passo que as curvas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (●) refere aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e o símbolo (○) refere aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b. E por fim, as curvas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (▲) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e o símbolo (△) representa os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b.

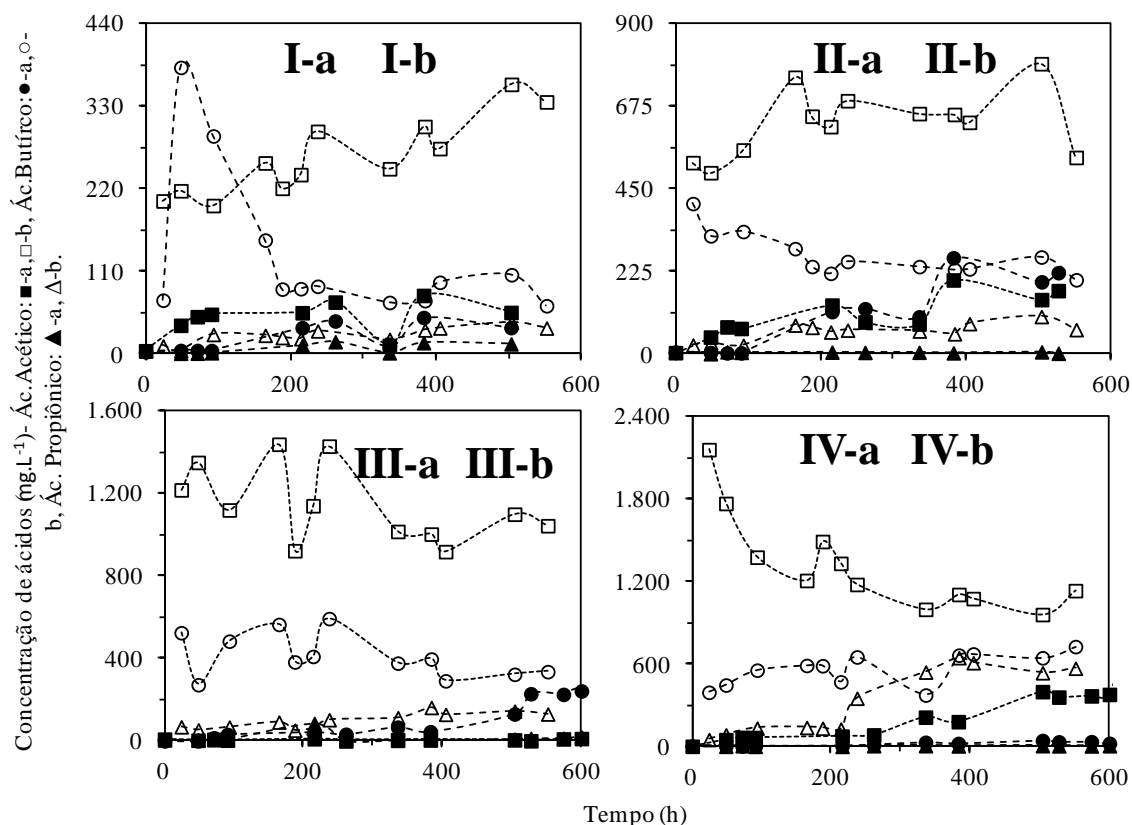


Figura 5.7 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Conforme apresentado na Figura 5.7, para todas as relações S/M da primeira etapa em condições mesofílicas. As concentrações de ácido acético e butírico na condição “b” foram superiores às da condição “a”, assim caracterizando o licor de pentoses (condição “b”) como um substrato favorável a produção de H_2 .

A produção crescente de ácido propiônico nas condições “b” também explica o

baixo rendimento desta condição na produção de hidrogênio: 0,36 mol H_2 .mol xilose⁻¹ (I-b), 0,22 mol H_2 .mol xilose⁻¹ (II-b), 0,31 mol H_2 .mol xilose⁻¹ (III-b) e 0,22 mol H_2 .mol xilose⁻¹ (IV-b).

A Figura 5.8 apresenta as concentrações de hexoses, sendo duas curvas da concentração de frutose e duas da concentração de glicose. As curvas da concentração de frutose (mg.L⁻¹) são: (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b. As curvas de concentração de glicose (mg.L⁻¹) são: (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e (△) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b.

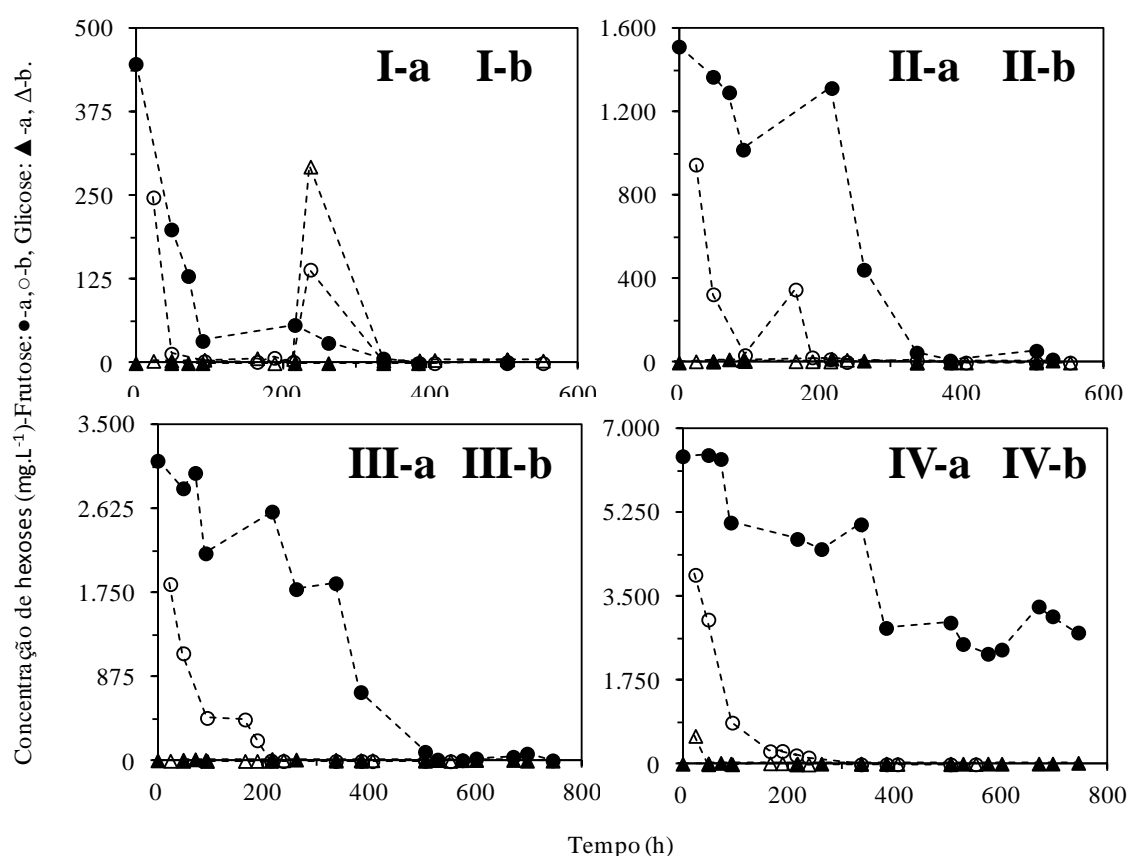


Figura 5.8 - Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

As oito condições realizadas em temperatura mesofílica, conforme a Figura 5.8, não apresentaram quantidades relativas de glicose, foram todas praticamente nulas. Em relação às concentrações de frutose, tanto ao utilizar xilose (condições I-a a IV-a) como licor de pentoses (condições I-b a IVb), foi possível observar uma alta concentração inicial desta hexose e seu consumo com o decorrer do experimento. Observou-se que quanto maior a relação S/M do reator, maior a presença inicial da frutose, como também que as

concentrações de frutose ao utilizar xilose como substrato foram superiores aquelas em que utilizaram licor de pentoses.

As concentrações dos álcoois metanol e etanol nos ensaios em condições mesofílicas são apresentadas na Figura 5.9. Duas curvas são da concentração de metanol ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b. E, as outras duas curvas são da concentração de etanol ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) são: (◆) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-a a IV-a e (◇) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-b a IV-b.

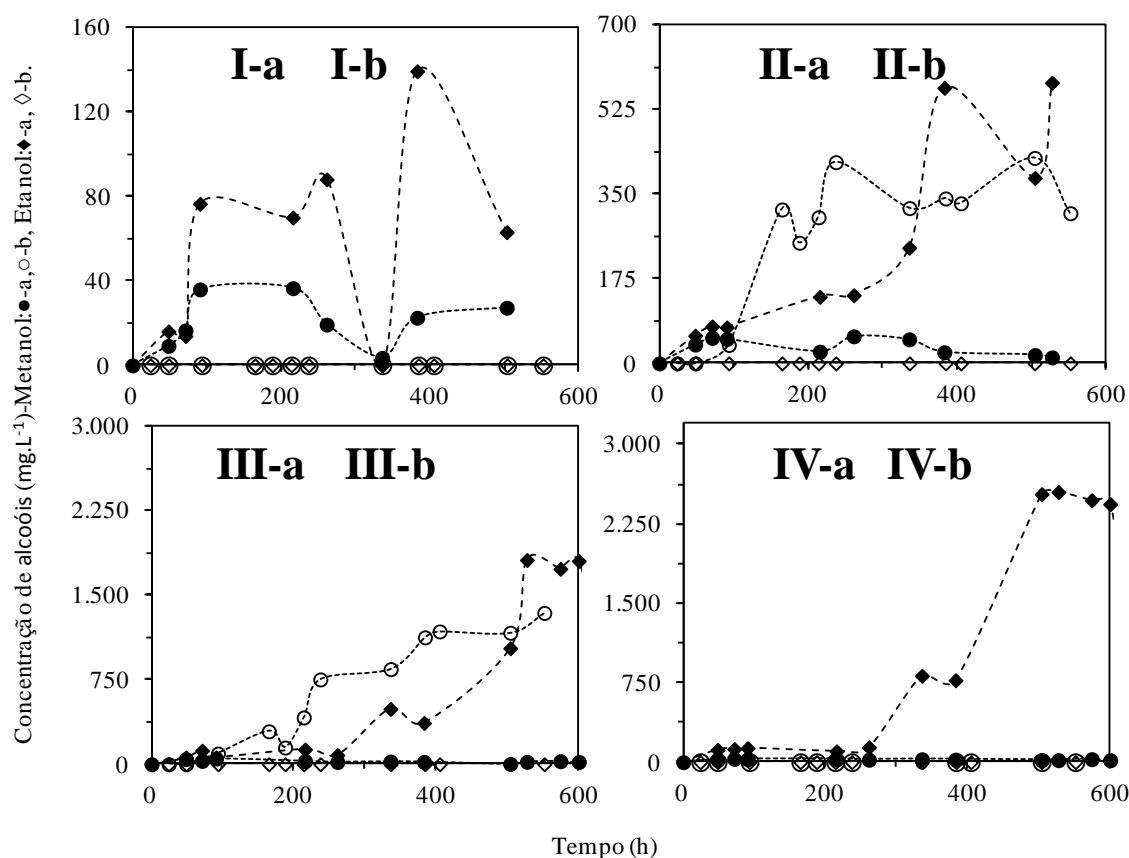


Figura 5.9 - Perfis de concentrações de álcoois nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-a a IV-a) e licor de pentoses (condições I-b a IV-b) como fonte de carbono.

Através da Figura 5.9 observa-se que não houve produção de álcoois na condição “b” (ao utilizar licor de pentose) para as relações S/M extremas (I-b e IV-b), todavia para as demais ocorreu apenas produção relevante de etanol. Em relação à condição “a” (ao utilizar xilose), sucedeu a produção de etanol em todas as relações S/M para esta condição e metanol apenas nas duas menores relações (I-a e II-a). Observa-se nos gráficos de concentração de álcoois da Figura 5.9 que a produção de etanol nas condições I-a a IV-a iniciou-se apenas após aproximadamente 200 horas de experimento, o que se deve à

estabilização do pH em aproximadamente 4,0 ter ocorrido neste mesmo período, favorecendo a produção deste álcool (WANG *et al.*, 2006).

5.1.2 Condições Termofílicas

Foram operados 8 reatores em batelada nas condições termofílicas (55 °C), sendo 4 alimentados com xilose (condições I-c a IV-c) e 4 com licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono. A Tabela 5.6 apresenta os valores iniciais e finais de xilose (mg L⁻¹), DQO (mg O₂ L⁻¹) e pH obtidas em cada condição, além do tempo de duração do experimento.

Tabela 5.6 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

Xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.									
Condição	Xilose (mg L ⁻¹)		DQO (mg O ₂ L ⁻¹)			pH		Tempo (h)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Média (n° de análises)	Inicial	Final		
Xilose	I-c	1623	175	977	1131	1009 ± 165 (11)	7,1	3,1	380
	II-c	4404	1286	5610	5273	5879 ± 673 (10)	6,0	3,6	1007
	III-c	9375	1894	11250	9513	9718 ± 608 (10)	6,1	3,5	1006
	IV-c	19800	17297	23451	23023	20431 ± 1196 (10)	6,1	3,6	1006
Licor	I-d	610	13	811	733	6070 ± 6501 (18)	6,0	4,8	1318
	II-d	3029	78	4147	3378	3599 ± 477 (19)	6,9	4,7	1969
	III-d	5463	1248	6607	5497	6714 ± 612 (19)	6,7	4,6	1969
	IV-d	9760	8278	14549	19607	14787 ± 1329 (19)	6,4	4,6	1969

Conforme apresentado na Tabela 5.6, em todos os experimentos da presente condição foi observado o consumo de xilose bem como a queda de pH. Na condição “c” (ao utilizar xilose como substrato) a estabilização do pH em [3,0 – 4,0] ocorreu devido à atividade das bactérias acidogênicas presentes no meio. Por outro lado, na condição “d” (utilizando licor de pentoses como substrato) a estabilização ocorreu em pH mais elevado (4,5 – 5,0) devido ao efeito tamponante do bicarbonato de sódio utilizado para ajustar o pH do hidrolisado em 6,0 ao início do experimento. A operação dos reatores iniciou-se em pH [6,0 – 7,0], aproximadamente, para todas as condições, devido ao pré-tratamento.

Houve redução da concentração de matéria orgânica, expressa em termos de DQO, em praticamente todas as condições, porém sem grandes variações. Este resultado corrobora a operação dos resultados em condições acidogênicas, pois embora fora observado um claro consumo da xilose como substrato, esta foi convertida em matéria

orgânica (ácidos orgânicos voláteis), pouco afetando a remoção da matéria orgânica. As condições I-c e IV-d apresentaram um valor de DQO final superior ao encontrado inicialmente, provavelmente devido a uma presença de material particulado no meio.

O tempo de experimento da condição I-c foi bem inferior aos demais, pois neste período grande parte da xilose foi consumida e a estabilização da produção de H₂ foi atingida. Nas condições II-d, III-d e IV-d, o tempo médio de experimento foi superior, possibilitando a obtenção de um perfil mais abrangente dessas condições.

A Tabela 5.7 apresenta, portanto, as concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis e hexoses para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c até IV-c) e licor de pentoses (condições I-d até IV-d) como fonte de carbono, assim como as concentrações de sulfato ao utilizar o segundo substrato.

Tabela 5.7 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses, álcoois e de sulfato para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

Ácidos orgânicos voláteis / Hexoses / Álcoois / Sulfato (mg L ⁻¹)		Condições Experimentais							
		Xilose				Licor de Pentoses			
		I-c	II-c	III-c	IV-c	I-d	II-d	III-d	IV-d
Ácidos Orgânicos Voláteis	Cítrico	2,6	3,0	2,8	2,9	3,2	5,5	11	9,2
	Málico	64	7,6	11	14	5,8	7,2	17	15
	Succínico	-	5,4	6,7	6,0	7,4	37	71	72
	Lático	-	80	127	42	107	72	81	70
	Fórmico	25	51	43	28	76	47	82	61
	Acético	17	131	125	71	138	395	1194	1038
	Propiônico	5,8	3,7	5,7	5,1	4,7	7,5	20	13
	Isobutírico	3,1	-	8,0	5,5	3,5	3,0	64	5,7
	n-Butírico	4,3	45	8,7	12	12	11	21	22
	Isovalérico	-	7,3	6,4	4,0	8,2	7,1	18	16
	n-Valérico	21	-	-	-	-	5,1	7,5	31
	Capróico	-	-	-	16	-	71	191	-
Álcoois	Metanol	24	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-	-
	Butanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Hex.	Glicose	-	6,0	8,6	8,2	4,7	91	305	238
	Frutose	597	2001	2580	3979	146	615	1981	1549
Sulfato		-	-	-	-	650	2668	6793	10793

Os reatores foram todos inoculados ao início do experimento com biomassa pré-tratada, o que possivelmente causou um metabolismo endógeno das substâncias presentes no próprio lodo, tal que foram detectadas outras substâncias (ácidos orgânicos voláteis e hexoses) além do substrato no início do experimento. Além disso, houve o aporte de sulfato devido ao pré-tratamento do bagaço da cana nos experimentos das condições I-d a IV-d. Apenas na condição I-c houve presença de metanol no início do experimento, possivelmente devido alguma infecção da amostra, nas demais condições não foram detectados álcoois (metanol, etanol e butanol).

A Figura 5.10 apresenta gráficos do consumo da xilose nos ensaios de variação da concentração orgânica em condições termofílicas. Cada gráfico apresenta duas curvas de concentração de xilose para os reatores que utilizaram xilose como substrato (condições I-c a IV-c, ■) e para os reatores utilizaram licor de pentoses como substrato (condições I-d a IV-d, □). As linhas referem-se ao ajuste do modelo cinético de primeira ordem residual aos perfis de concentração de xilose, sendo que a linha tracejada refere-se às condições I-c a IV-c (xilose como substrato) e a pontilhada refere-se às condições I-d a IV-d (licor de pentoses como substrato).

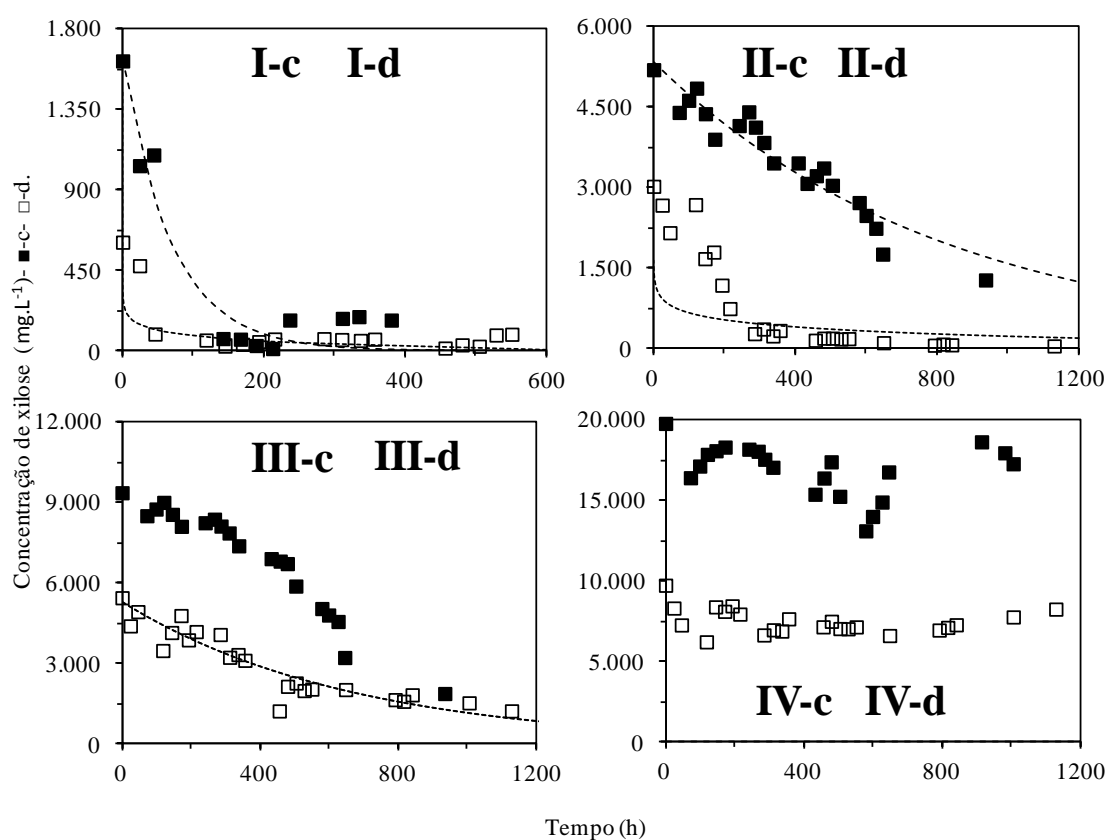


Figura 5.10 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

O decaimento da xilose apresentado na Figura 5.10 possuiu aspecto distinto em cada uma das condições, entretanto em todas as relações S/M utilizando xilose como substrato (condições I-c a IV-c), o consumo total da xilose na condição “c” foi mais lento que na condição “d”, isso se deve ao fato do licor de pentoses ser uma solução menos concentrada.

Foram realizados os ajustes do modelo cinético de primeira ordem residual para as condições I-c, I-d, II-c, II-d e III-d para a determinação dos parâmetros cinéticos aparentes. O ajuste do modelo não convergiu nos resultados de concentração de xilose das condições III-c, IV-c e IV-d, pois na primeira o consumo da xilose iniciou apenas após 360 horas, já nas duas últimas não houve relativo consumo de substrato no tempo de experimento realizado (1.200 h). A Tabela 5.8 apresenta os valores dos parâmetros cinéticos, da eficiência absoluta e do coeficiente de correlação das curvas não lineares para as cinco condições acima citadas.

Tabela 5.8 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c e II-c) e licor de pentoses (condições I-d a III-d) como fonte de carbono.

		Parâmetros Cinéticos			E_A	R^2
Condição		k_I^{app} (h ⁻¹)	C_I (mg L ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)		
Xilose	I-c	0,014 ± 0,003	1631 ± 132	0,0*	1,0	0,93
	II-c	0,001 ± 0,0001	5330 ± 172	0,0*	1,0	0,90
Licor	I-d	0,022 ± 0,005	631 ± 63	0,0*	1,0	0,80
	II-d	0,005 ± 0,0006	3165 ± 212	0,0*	1,0	0,91
	III-d	0,002 ± 0,0001	5310 ± 182	0,0*	1,0	0,93

*Valores forçados durante o ajuste, para que o modelo convergisse em valores fisicamente significativos.

A eficiência absoluta obtida em todas foi máxima, pois, para adequar ao modelo, a concentração residual de xilose foi considerada zero.

Observou-se também que todos os ajustes apresentaram valores satisfatórios de correlação estatística ($R^2 \geq 0,80$), indicando que o modelo cinético de primeira ordem foi adequado para representar o comportamento do consumo do substrato. A variação do valor da constante cinética aparente de primeira ordem (k_I^{app}) mostrou que o aumento da concentração inicial do substrato exerceu um efeito inibitório no processo, embora todas as condições tenham se mostrado eficientes em consumir xilose. O efeito inibitório da concentração de xilose se tornou evidente nas condições III-c, IV-c e IV-d, nas quais o

sistema foi operado com maior concentração de carboidratos, apresentando um pequeno consumo de substrato até cerca de 360 horas (III-c) e 1.200 horas (IV-c e IV-d) de ensaio, respectivamente.

Na Figura 5.11 os gráficos apresentam os resultados das produções acumuladas de H_2 e CO_2 , em condições termofílicas (55 °C) e utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d até IV-d) como fonte de carbono. Cada gráfico apresenta quatro curvas: duas curvas de produção acumulada de H_2 (L) e duas curvas de produção acumulada de CO_2 (L). As curvas de produção acumulada de H_2 (L): uma (■) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e a segunda (□) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d. Ao passo que as curvas de produção acumulada de CO_2 (L): uma (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e a segunda (△) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d.

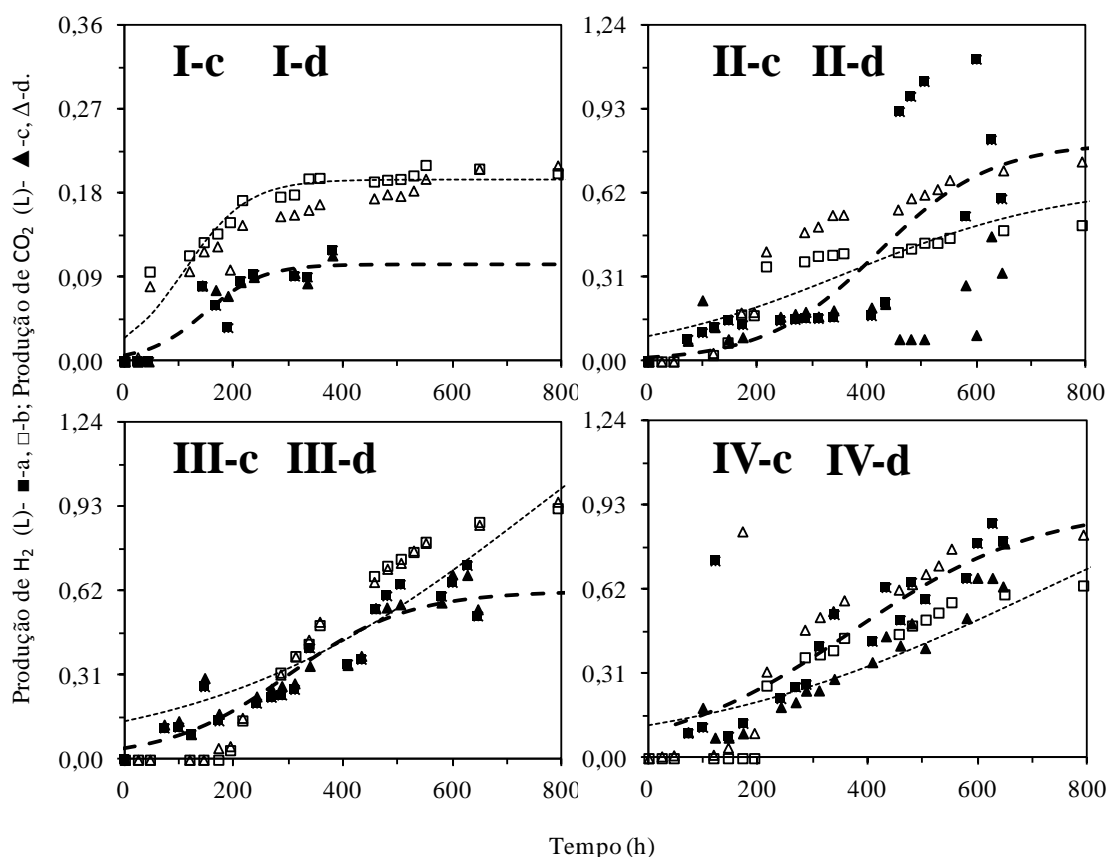


Figura 5.11 - Perfis de produção de H_2 e CO_2 nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

Conforme observado na Figura 5.11, a produção volumétrica de H_2 requer mais tempo para estabilizar nas condições II-d, III-d e IV-d (ao utilizar licor de pentoses) quando comparada com as condições II-c, III-c e IV-c (ao utilizar xilose), respectivamente. Por

essa razão, as concentrações de biogás para as condições utilizando licor de pentoses como substrato foram avaliadas pelo dobro do tempo em relação as demais condições. Desta forma, a Figura 5.12 apresenta os gráficos com os resultados obtidos das condições utilizando xilose (II-c a IV-c) e licor de pentoses (II-d a IV-d) como fonte de carbono em 800 horas (gráficos à esquerda) e 1.600 horas (gráficos à direita) de experimento.

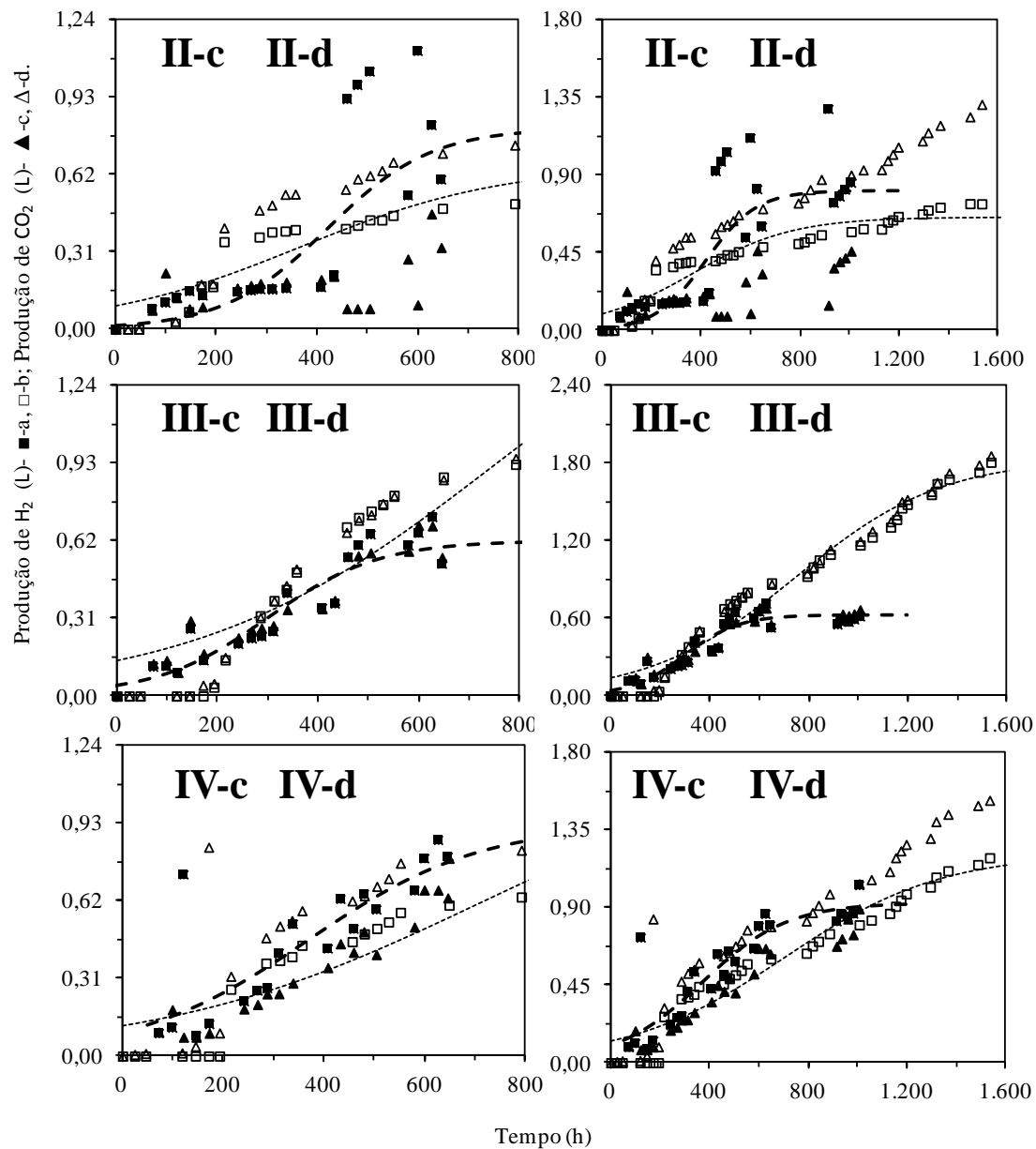


Figura 5.12 - Perfis de produção de H₂ e CO₂ nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições II-c a IV-c) e licor de pentoses (condições II-d a IV-d) como fonte de carbono.

Através da Figura 5.12 é possível observar que ao utilizar licor de pentose como fonte de carbono foi necessário maior tempo de experimento para a estabilização da produção de biogás. Para estabilizar a produção de H₂, a condição II-d necessitou de aproximadamente 800 horas, enquanto as condições III-d e IV-d levaram aproximadamente

1.600 horas.

Através das curvas de produção de H_2 e CO_2 apresentadas na Figura 5.11 e na Figura 5.12, calculadas nas CNTP, observa-se uma estabilização aproximadamente semelhante dos gases nas condições I-c (0,11 L CO_2 e 0,12 L H_2), I-d (0,3 L CO_2 e 0,2 L H_2), III-c (0,67 L CO_2 e 0,62 L H_2) e III-d (1,95 L CO_2 e 1,90 L H_2), enquanto as condições com produções de CO_2 (L) e H_2 (L) respectivamente de 1,36 e 0,72 (II-d), e 1,64 e 1,26 (IV-d) foram mais favoráveis ao CO_2 , e de 0,46 e 0,86 (II-c) e 0,89 e 1,03 (IV-c) à produção de H_2 .

Conforme a Figura 5.11, foram realizadas a curva sigmoidal simples para produção H_2 com base na Equação 4.5, para as todas as condições presentes na figura (I-c a IV-c, utilizando xilose, e I-d a IV-d, utilizando licor de pentoses). A Tabela 5.9 apresenta o valor dos parâmetros ajustados pela curva da sigmoide simples, além do rendimento de H_2 (mol H_2 ·mol xilose⁻¹) e da produção acumulada de CO_2 (L) para as oito condições acima citadas.

Tabela 5.9 - Parâmetros cinéticos ($H_{m\acute{a}x}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

		Parâmetros Cinéticos			R^2	Y_{H_2} (mol H_2 · mol S ⁻¹)	Produção Acumulada CO_2 (L)
Condição		$H_{m\acute{a}x}$ (L)	l (h)	p (L h ⁻¹)			
Xilose	I-c	0,10 ± 0,014	149 ± 28	0,008 ± 0,004	0,80	0,24 ± 0,16	0,11
	II-c	0,81 ± 0,073	422 ± 43	0,004 ± 0,001	0,80	1,4 ± 0,72	0,46
	III-c	0,62 ± 0,029	301 ± 23	0,004 ± 0,0007	0,89	1,0 ± 0,28	0,67
	IV-c	0,93 ± 0,083	370 ± 50	0,003 ± 0,0006	0,79	0,90 ± 0,44	0,89
Licor	I-d	0,20 ± 0,003	109 ± 8,6	0,008 ± 0,001	0,93	1,9 ± 0,54	0,31
	II-d	0,66 ± 0,024	367 ± 33	0,002 ± 0,0003	0,90	0,82 ± 0,32	1,4
	III-d	1,8 ± 0,098	749 ± 50	0,001 ± 0,0002	0,95	0,99 ± 0,62	2,0
	IV-d	1,2 ± 0,079	706 ± 64	0,001 ± 0,0002	0,93	0,78 ± 0,48	1,6

Conforme a Tabela 5.9, o maior rendimento obtido na condição termofílica foi de 1,9 mol H_2 ·mol xilose⁻¹ ao utilizar como fonte de carbono o licor de pentoses (condição I-d), apesar da maior produção de H_2 ter estabilizado em aproximadamente 1,8 L na condição III-d (Figura 5.12).

Foram realizadas em condições termofílicas utilizando xilose (condições I-c a IV-c)

e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono a análise do pH, conforme apresentado na Figura 5.13.

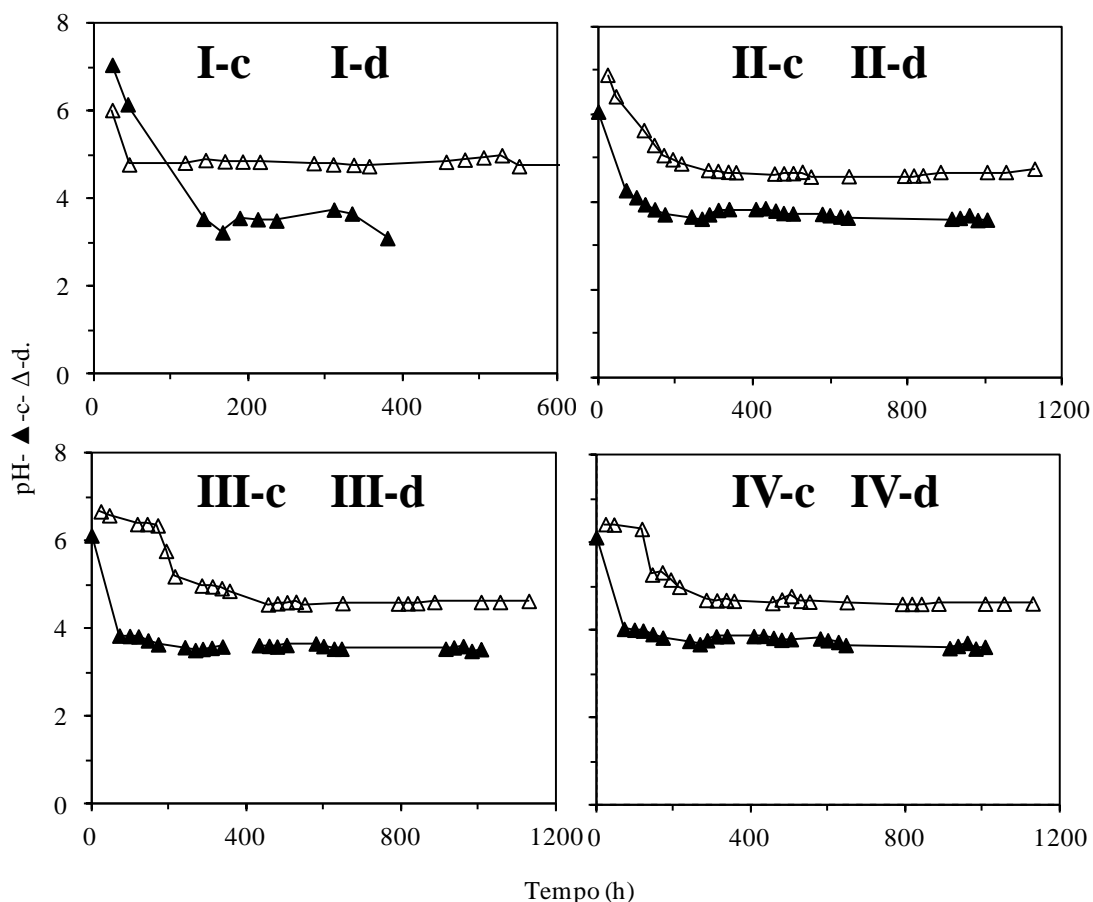


Figura 5.13 - Perfis de pH nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

O tempo de decaimento do pH ocorreu de forma mais acelerada em praticamente todas as condições que utilizaram xilose (II-c, III-c e IV-c) comparada com aquelas em que utilizaram licor de pentoses (II-c, III-c e IV-c) como fonte de carbono. Apenas na condição I, o tempo pra a estabilização do pH ocorreu de forma mais lenta ao utilizar a xilose como fonte de carbono (I-c), conforme Figura 5.13. A estabilização do pH ocorreu em [3,0 – 4,0] para as condições I-c a IV-c que utilizaram xilose como substrato, enquanto que para as condições I-d a IV-d (licor de pentoses) ocorreu em pH mais elevado (5,0).

A Figura 5.14 exibe os gráficos com as concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios utilizando licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

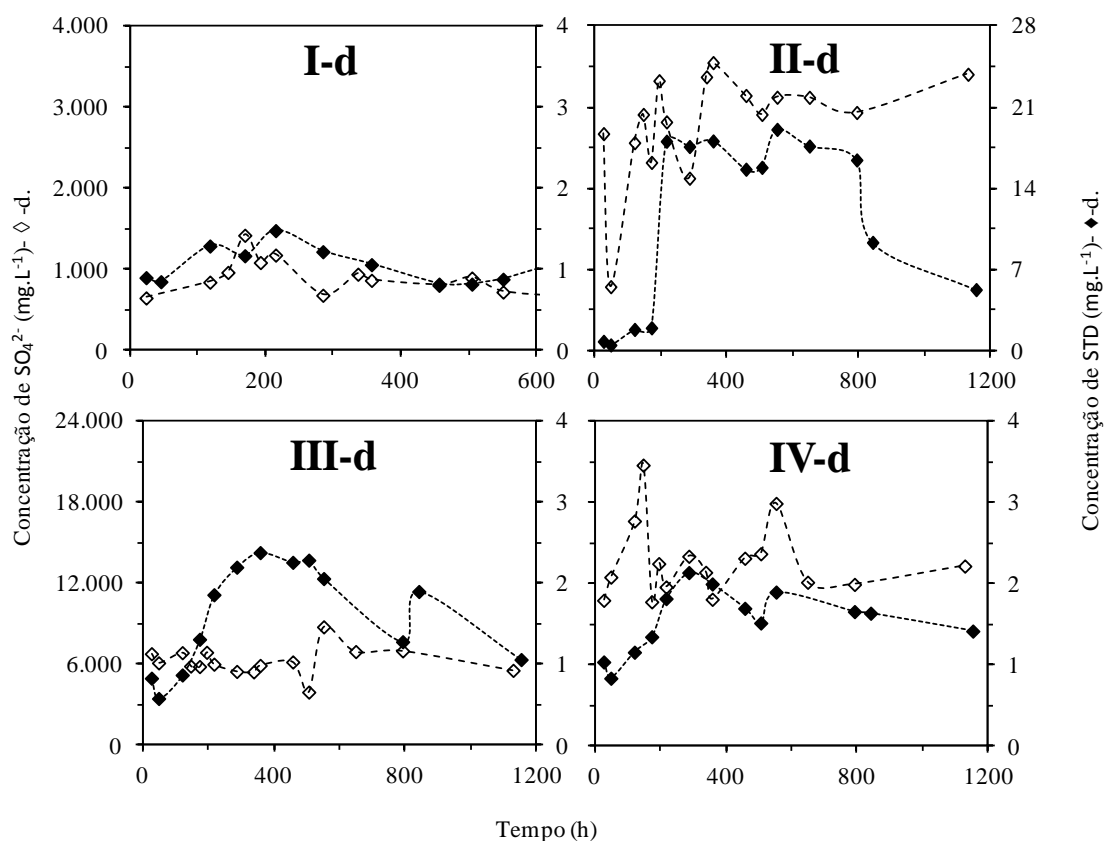


Figura 5.14 - Perfis de concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições termofílicas (55°C) utilizando licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

Os gráficos da Figura 5.14 mostram que quanto maior a relação S/M do reator, maior é a concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e menor a de sulfetos totais dissolvidos (STD). Ou seja, a sulfetogênese, no tempo de experimento realizado, ocorreu majoritariamente na condição II, porém foi inibida nas condições III e IV. A condição I apresentou baixa concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD). Isso devido a uma maior concentração de hidrolisado de bagaço de cana, portanto concentrações iniciais elevadas de sulfato (SO_4^{2-}), que devem ter se mostrado inibitórias ao próprio processo sulfetogênico.

Apesar das quatro condições apresentarem concentrações iniciais de sulfato (SO_4^{2-}) relevantes, não houve grande interferência desse elemento na produção de hidrogênio relativa a cada condição, pois como a estabilização do pH nessas condições foi inferior à 5,5 o crescimento de bactérias redutoras de sulfato é desfavorecido (Lin & Chen, 2006), e portanto não houve o consumo de H_2 .

Os gráficos com as concentrações dos ácidos acético, butírico e propiônico nos experimentos utilizando xilose (I-c a IV-c) e licor de pentoses (I-d a IV-d) como substrato estão respectivamente presentes na Figura 5.15. Cada gráfico apresenta seis curvas: duas

de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), duas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e duas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). As curvas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (■) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e o símbolo (□) os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d. Ao passo que as curvas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (●) refere aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e o símbolo (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d. E por fim, as curvas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (▲) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e o símbolo (△) os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d.

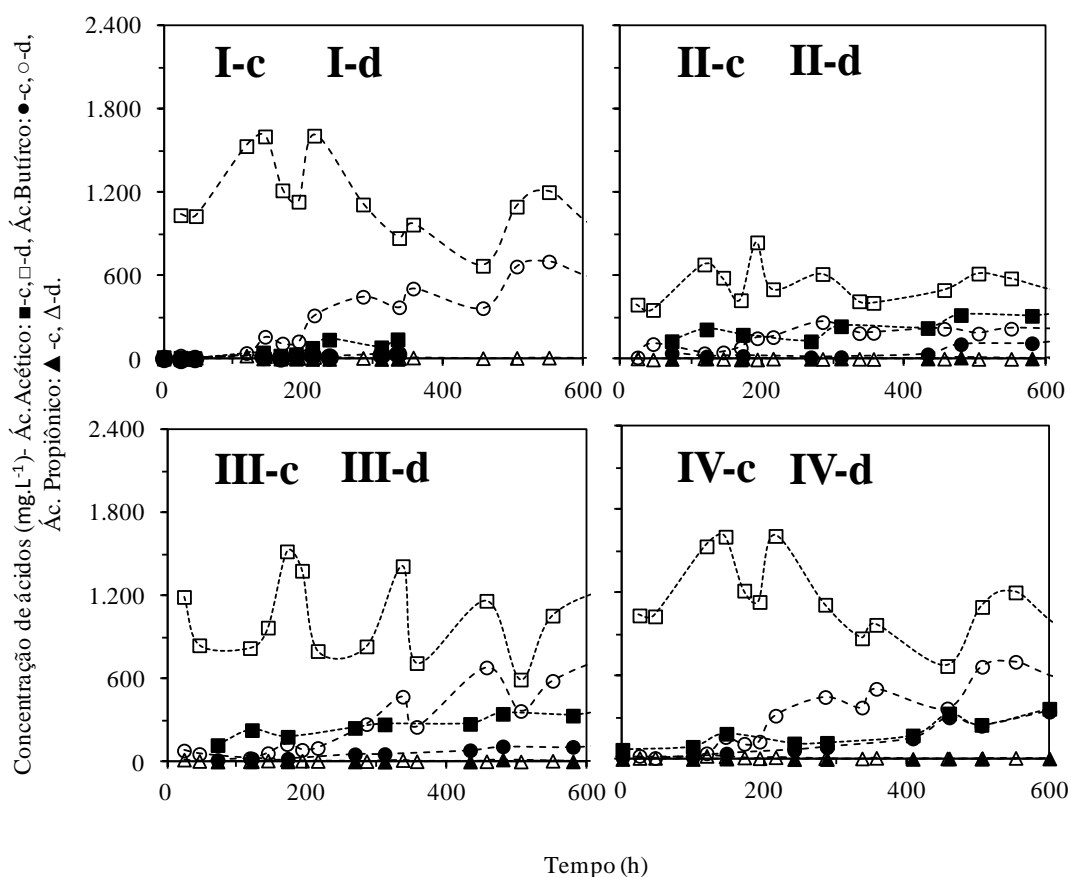


Figura 5.15 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições termofílicas ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

Conforme apresentado na Figura 5.15, para todas as relações S/M da primeira etapa em condições termofílicas, a concentração de ácido acético na condição “d” foi superior às da condição “c”, devido ao pré tratamento realizado no licor de pentoses do bagaço de cana.

A produção crescente de ácido butírico na condição “d” caracteriza o licor de pentoses como um substrato favorável a produção de H_2 . Conforme Figura 5.15, em todas as condições não houve produção relativa de ácido propiônico.

A Figura 5.16 apresenta as concentrações de hexoses, sendo duas curvas da concentração de frutose e duas da concentração de glicose. As curvas da concentração de frutose ($mg \cdot L^{-1}$) são: (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d. As curvas de concentração de glicose ($mg \cdot L^{-1}$) são: (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-c a IV-c e (△) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-d a IV-d.

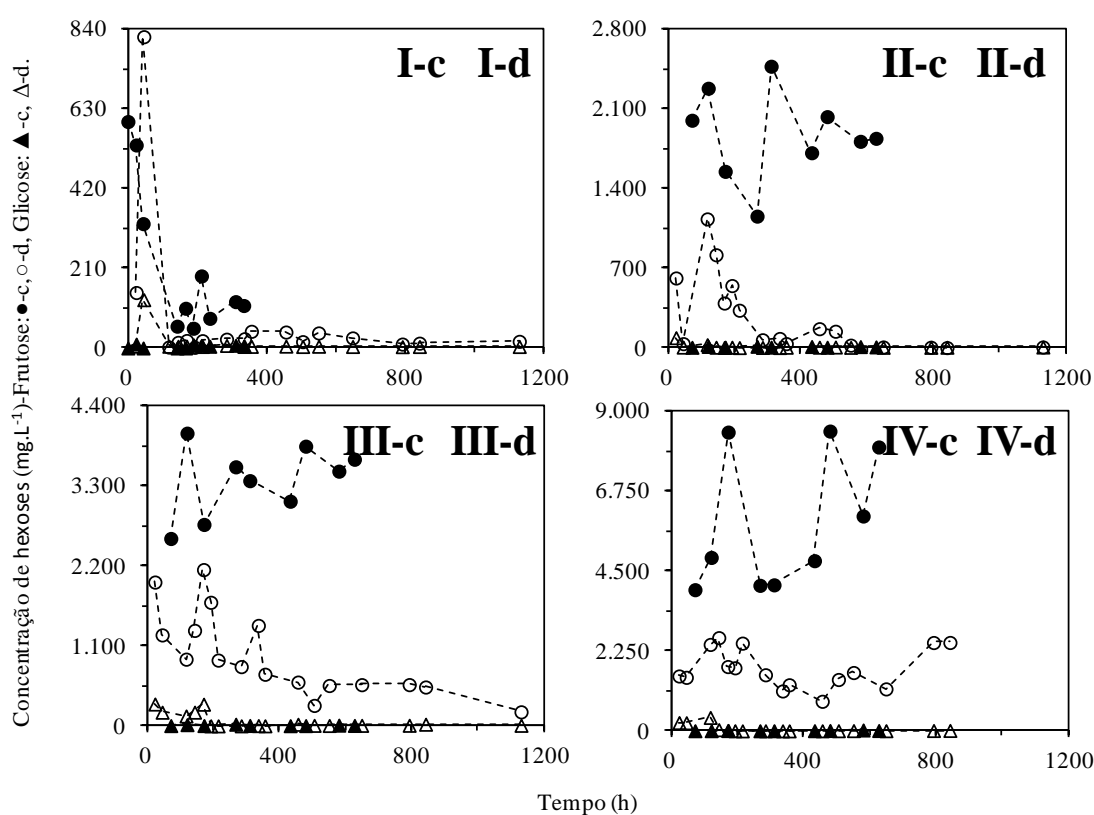


Figura 5.16 - Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-c a IV-c) e licor de pentoses (condições I-d a IV-d) como fonte de carbono.

As oito condições realizadas em temperatura termofílicas, conforme a Figura 5.16, não houve quantidades relativas de glicose, foram todas praticamente nulas. Em relação às concentrações de frutose, nas condições I-c, I-d, II-d e III-d foram possíveis observar uma concentração desta hexose elevada no início e seu consumo com o decorrer do experimento, já nas demais condições, II-c a IV-c (ao utilizar xilose) e IV-d (ao utilizar licor de pentoses) não houve consumo da frutose no tempo de experimento. Observou-se que quanto maior a relação S/M do reator, maior a presença inicial da frutose, como

também que as concentrações de frutose ao utilizar a xilose como substrato foram superiores aquelas em que utilizaram licor de pentoses.

Em condições termofílicas, não houve produção de metanol, etanol e butanol durante o experimento, provavelmente devido à evaporação dos álcoois.

5.2 Etapa 2 - Influência da variação da relação C/N na obtenção de hidrogênio e de ácidos voláteis a partir da xilose e do licor de pentoses como fonte de carbono

Conforme descrito em materiais e métodos, a diferença da segunda etapa para a primeira etapa foi a adição de ureia ($93,5 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ ao utilizar xilose e $5,1 \text{ mg CH}_4\text{N}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1}$ ao utilizar licor de pentoses) no meio como fonte de nitrogênio, para assim possibilitar um estudo da relação C/N.

A Figura 5.17 e a Figura 5.18 apresentam fotos dos reatores em batelada utilizados em laboratório para efeito desta pesquisa. Na Figura 5.17 e na Figura 5.18 é possível visualizar os reatores para os quais o substrato foi respectivamente xilose (condições “e” e “g”) e licor de pentoses (condições “f” e “h”).



Figura 5.17 - Reatores em batelada da “Etapa 2” ao utilizar xilose como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio.



Figura 5.18 - Reatores em batelada da “Etapa 2” ao utilizar licor de pentoses como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio.

Desta forma, a Figura 5.17 e a Figura 5.18 mostram que os reatores os quais o licor de pentoses foi o substrato apresentaram cores mais escuras que os da xilose, conforme também ocorrido na Etapa 1.

5.2.1 Condições Mesofílicas

Foram empregados 8 reatores em batelada nas condições mesofílicas (30 °C), sendo 4 com ureia (93,5 mg) como fonte de nitrogênio e xilose (condições I-e a IV-e) como fonte de carbono, e 4 com a ureia (5,1 mg) como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono. A Tabela 5.10 apresenta os valores iniciais e finais de xilose (mg L⁻¹), DQO (mg O₂ L⁻¹) e pH obtidos em cada condição, além do tempo de duração do experimento.

Tabela 5.10 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

1) como fonte de carbono.									
Condição		Xilose (mg L ⁻¹)		DQO (mg O ₂ L ⁻¹)			pH		Tempo (h)
		Inicial	Final	Inicial	Final	Média (nº de análises)	Inicial	Final	
Xilose	I-e	1523	126	1141	1012	1016 ± 91 (13)	6,6	4,5	912
	II-e	5801	21	4919	3714	4166 ± 336 (11)	6,0	3,9	912
	III-e	11601	2875	10871	8908	9046 ± 532 (13)	5,7	3,5	912
	IV-e	19947	10464	20565	18490	19447 ± 1114 (13)	5,3	3,6	912
Licor	I-f	475	73	985	656	743 ± 65 (10)	6,0	6,4	861
	II-f	4698	53	3649	2841	3116 ± 223 (9)	6,1	4,6	861
	III-f	3851	160	9258	6671	6745 ± 494 (10)	6,1	5,2	861
	IV-f	9738	536	17168	11397	13472 ± 1154 (9)	6,1	5,3	861

Conforme apresentado na Tabela 5.10, em todos os experimentos da condição mesofílica foi observado consumo de xilose. Obteve queda do pH em praticamente todas as condições, sendo apenas a condição I-f exceção. Na condição “e” (ao utilizar xilose como substrato) houve estabilização do pH em [3,5 – 4,5], já na condição “f” (utilizando licor de pentoses como substrato) a estabilização ocorreu em pH mais elevado devido ao efeito tamponante do bicarbonato de sódio utilizado para ajustar o pH do hidrolisado em 6,0 ao início do experimento. Em todas as condições, as operações foram iniciadas com pH 6,0, aproximadamente, devido ao pré-tratamento realizado no lodo.

Houve redução da concentração de matéria orgânica, expressa em termos de DQO, em todas as condições, porém sem grandes variações. Este resultado corrobora a operação dos resultados em condições acidogênicas, pois embora fora observado um claro consumo da xilose como substrato, esta foi convertida em matéria orgânica (ácidos orgânicos voláteis), pouco afetando a remoção da matéria orgânica.

O tempo médio de experimento nas condições III-a e IV-a foi superior aos demais, possibilitando a obtenção de um perfil mais abrangente dessas condições, devido à alta concentração inicial de xilose nestas condições.

A

Tabela 5.11 apresenta, portanto, as concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis e hexoses para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono, e ureia (condições I-e a IV-f) como fonte de nitrogênio, assim como as concentrações de sulfato ao utilizar o segundo substrato.

Tabela 5.11 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses e de sulfato para os ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Ácidos orgânicos voláteis / Hexoses / Álcoois / Sulfato (mg L ⁻¹)		Condições Experimentais							
		Xilose				Licor de Pentoses			
		I-e	II-e	III-e	IV-e	I-f	II-f	III-f	IV-f
Ácidos Orgânicos Voláteis	Cítrico	4,1	4,8	3,4	5,6	4,8	5,6	3,1	4,6
	Málico	20	17	24	32	27	29	1,7	96
	Succínico	7,8	20	15	19	23	54	77	173
	Lático	15	31	6,6	6,0	64	36	7,4	-
	Fórmico	45	38	47	56	45	64	27	26
	Acético	57	48	76	84	602	973	131	327
	Propiônico	5,3	3,9	11	11	7,3	4,0	-	10
	Isobutírico	0,68	-	0,33	0,73	15	84	2,6	6,9
	n-Butírico	15	8,9	20	24	5,5	12	15	6,6
	Isovalérico	9,0	4,2	5,5	5,9	17	20	31	6,5
	n-Valérico	-	-	-	-	5,3	8,1	5,1	5,0
	Capróico	-	-	-	-	17	97	-	15
Hex. Sulfato	Glicose	7,7	4,2	9,3	14	6,9	168	3,6	5,0
	Frutose	460	1713	4137	6731	1351	2279	8,8	154
		-	-	-	-	1079	3421	8448	17460

Os reatores foram todos inoculados ao início do experimento com a biomassa pré-tratada, o que possivelmente causou um metabolismo endógeno das substâncias presentes no próprio lodo, uma vez que foram detectadas outras substâncias (ácidos orgânicos voláteis e hexoses) além do substrato no início do experimento. Além disso, houve o aporte de sulfato devido ao pré-tratamento do bagaço da cana nos experimentos para as condições I-f a IV-f, e em todas as condições não houve presença de álcoois no início do experimento.

A Figura 5.19 apresenta gráficos do consumo da xilose nos ensaios de variação da concentração orgânica em condições mesofílicas. Cada gráfico apresenta duas curvas de concentração de xilose para os reatores que utilizaram a ureia como fonte de nitrogênio e a xilose como substrato (condições I-e a IV-e, ■), e aquelas para os reatores utilizaram a ureia como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses como substrato (condições I-f a IV-f, □). As linhas referem-se ao ajuste do modelo cinético de primeira ordem residual aos perfis de concentração de xilose, sendo que a linha tracejada refere-se às condições I-e a IV-e (xilose como substrato) e a pontilhada refere-se às condições I-f a IV-f (licor de pentoses como substrato).

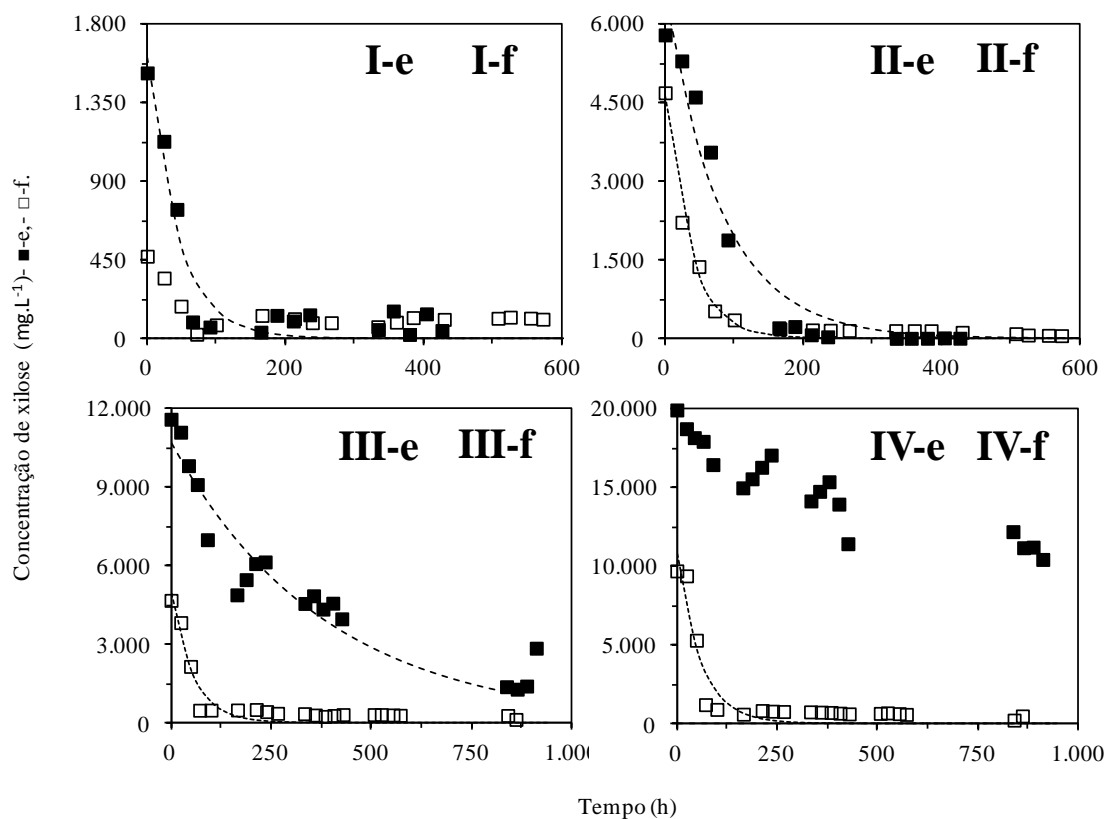


Figura 5.19 - Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

O decaimento da xilose possuiu aspecto distinto em cada uma das condições (Figura 5.19). Entretanto em todas as relações S/M utilizando xilose como substrato (condições I-e a IV-e), o consumo total da xilose na condição “e” foi mais lento que na condição “f”, devido ao fato do licor de pentoses ser uma solução menos concentrada.

Foram realizados os ajustes do modelo cinético de primeira ordem residual para praticamente todas as condições, com exceção das condições I-f e IV-e, para a determinação dos parâmetros cinéticos aparentes. O ajuste do modelo não convergiu nos resultados de concentração de xilose da condição I-f e IV-e, respectivamente devido à ausência da fase lag e ao moderado consumo da xilose nas 1.000 horas de experimento. A Tabela 5.12 apresenta os valores dos parâmetros cinéticos, da eficiência absoluta e do coeficiente de correlação das curvas não lineares para as seis condições acima citadas.

Tabela 5.12 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condições I-e a III-e) e licor de pentoses (condições II-f a IV-f) como fonte de carbono.

Condição		Parâmetros Cinéticos			E_A	R^2
		k_I^{app} (h ⁻¹)	C_I (mg L ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)		
Xilose	I-e	0,022 ± 0,003	1612 ± 129	0,0*	1,0	0,90
	II-e	0,012 ± 0,001	6542 ± 345	0,0*	1,0	0,96
	III-e	0,003 ± 0,0003	10711 ± 473	0,0*	1,0	0,92
Licor	II-f	0,028 ± 0,002	4654 ± 131	0,0*	1,0	0,99
	III-f	0,018 ± 0,003	4960 ± 375	0,0*	1,0	0,89
	IV-f	0,017 ± 0,003	10788 ± 906	0,0*	1,0	0,88

*Valores forçados durante o ajuste, para que o modelo convergisse em valores fisicamente significativos.

A eficiência absoluta obtida em todas foi máxima, pois, para adequar ao modelo, a concentração residual de xilose foi considerada zero.

Observou-se também que todos os ajustes apresentaram valores satisfatórios de correlação estatística ($R^2 > 0,80$), indicando que o modelo cinético de primeira ordem foi adequado para representar o comportamento do consumo do substrato. A variação do valor da constante cinética aparente de primeira ordem (k_I^{app}) mostrou que o aumento da concentração inicial do substrato exerceu um efeito inibitório no processo, embora todas as condições tenham se mostrado eficientes em consumir xilose. O efeito inibitório da concentração de xilose se tornou evidente na condição IV-e, na qual o sistema foi operado com maior concentração de carboidratos, apresentando um fraco consumo de substrato.

Na Figura 5.20 os gráficos apresentam os resultados das produções acumuladas de

H₂ e CO₂, em condições mesofílicas (30 °C), utilizando a ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condições I-e a IV-e) e o licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono. Cada gráfico apresenta quatro curvas: duas curvas de produção acumulada de H₂ (L) e duas curvas de produção acumulada de CO₂ (L). As curvas de produção acumulada de H₂ (L): uma (■) referente aos reatores que utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e xilose como substrato - condições I-e a IV-e e a segunda (□) aos reatores que utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f. As curvas de produção acumulada de CO₂ (L) estão representadas por (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e (△) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f.

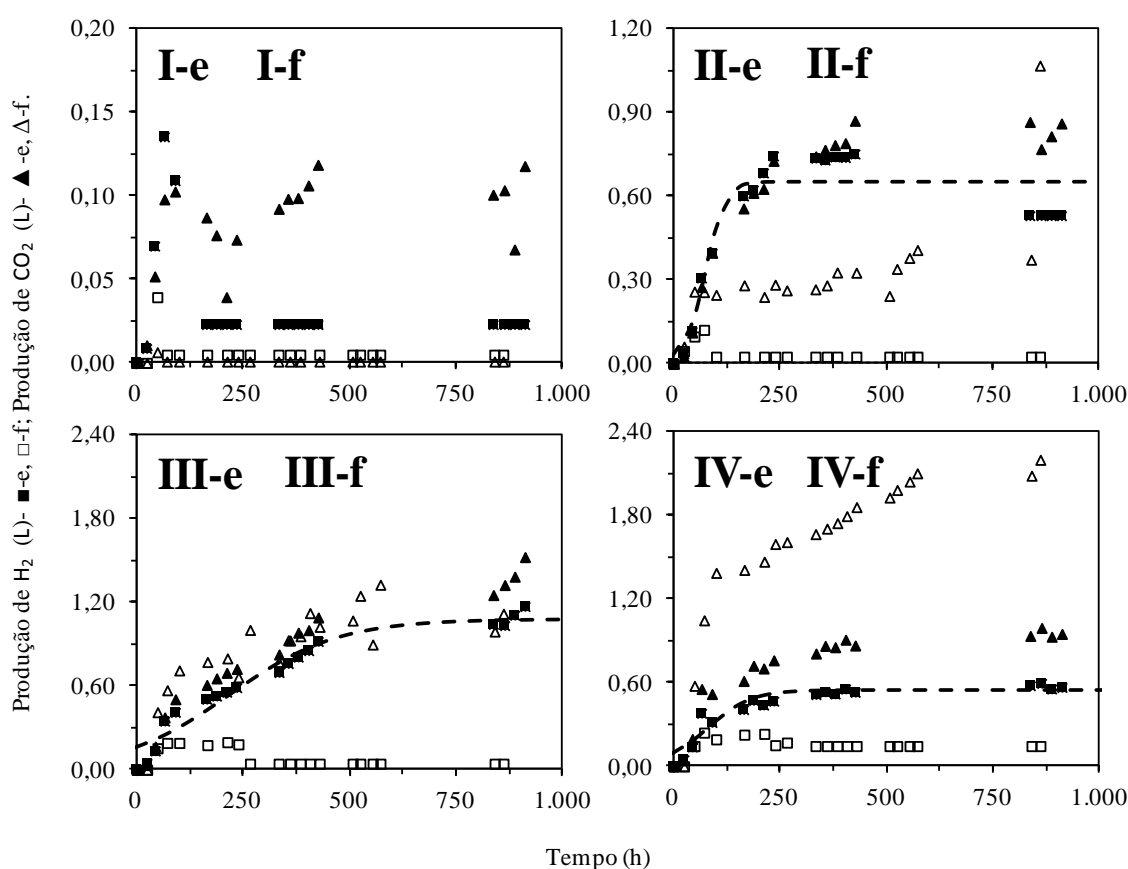


Figura 5.20 - Perfis de produção de H₂ e CO₂ nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Como observado na Figura 5.20, ocorreu produção de H₂ e CO₂ nas oito condições mesofílicas estudadas, entretanto não houve geração de metano, pois o pré-tratamento realizado no inóculo, inibindo a metanogênese. Ao utilizar ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses como fonte de carbono (condição “f”) houve pequena produção de H₂ durante o experimento quando comparada às demais.

Ao utilizar a xilose como fonte de carbono observou-se nas condições II-e e IV-e

estabilização de H₂ em aproximadamente 250 horas, entretanto na condição III-e a estabilização da produção dos gases ocorreu em torno de 550 horas.

Por meio das curvas de produção de H₂ e CO₂ apresentados na Figura 5.20, calculadas nas CNTP, observa-se em praticamente todas as condições produção superior de CO₂, com produções de CO₂ (L) e H₂ (L) respectivamente de 0,12 e 0,02 (I-e), 0,86 e 0,53 (II-e), 1,07 e 0,02 (II-f), 1,52 e 1,17 (III-e), 1,12 e 0,04 (III-f), 0,95 e 0,57 (IV-e), 2,2 e 0,15 (IV-f). A condição I-f praticamente não produziu nenhum dos gases.

Conforme a Figura 5.20, foram realizadas curvas sigmoidais simples para produção H₂ com base na Equação 4.5 para as condições II-e, III-e e IV-e (xilose como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio). As condições que utilizaram o licor de pentoses (I-f a IV-f) não adaptaram a esse modelo, pois em todas ocorreu um pico no início da curva da produção de H₂ acumulada, resultado da concentração de H₂ zerar após aproximadamente 70 e 250 horas, respectivamente nas condições I- II e III-IV. Dessa forma supõe-se que o H₂ produzido na condição “f” utilizado pelas bactérias acetogênicas consumidoras de H₂. A Tabela 5.13 apresenta os valores dos parâmetros ajustados pela curva da sigmoide simples para as condições II-e, III-e e IV-e, bem como o rendimento de H₂ (mol H₂·mol xilose⁻¹) e da produção acumulada de CO₂ (L) para as condições I-e a IV-e.

Tabela 5.13 - Parâmetros cinéticos ($H_{m\acute{a}x}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H₂ obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e xilose (condições I-e a IV-e) como fonte de carbono.

		Parâmetros Cinéticos			R^2	Y_{H_2} (mol H ₂ · mol S ⁻¹)	Produção Acumulada CO ₂ (L)
Condição		$H_{m\acute{a}x}$ (L)	l (h)	p (L h ⁻¹)			
Xilose	I-e	-	-	-	-	0,18 ± 0,13	0,12
	II-e	0,65 ± 0,02	77 ± 9,3	0,018 ± 0,007	0,88	0,70 ± 0,15	0,86
	III-e	1,1 ± 0,05	220 ± 20	0,003 ± 0,0005	0,94	0,64 ± 0,12	1,5
	IV-e	0,54 ± 0,02	84 ± 13	0,009 ± 0,002	0,89	0,52 ± 0,16	0,95

Ao utilizar o licor de pentoses como substrato e a ureia como fonte de nitrogênio não foi possível adaptar os resultados da produção de H₂ à curva da sigmoide simples. Desta forma a Tabela 5.14 apresenta para as condições I-f a IV-f apenas o rendimento de H₂ (mol H₂·mol xilose⁻¹) e a produção acumulada de CO₂ (L).

Tabela 5.14 - Valores do rendimento de H₂ e da produção acumulada de CO₂ nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Condição		Y _{H2} (mol H ₂ ·mol S ⁻¹)	Produção Acumulada CO ₂ (L)
Licor	I-f	0,12 ± 0,08	0,0
	II-f	0,06 ± 0,04	1,1
	III-f	0,13 ± 0,11	1,1
	IV-f	0,12 ± 0,03	2,2

Conforme a Tabela 5.13 e a Tabela 5.14, o maior rendimento obtido na condição mesofílica do estudo da relação C/N foi de 0,70 mol H₂·mol xilose⁻¹ ao utilizar xilose como fonte de carbono (condição II-e), apesar de a maior produção de H₂ ter se estabilizado em aproximadamente 1,1 L na condição III-e (Figura 5.20). Os rendimentos obtidos com licor de pentoses como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio foram baixos.

Foram realizadas análises de pH para as condições mesofílicas utilizando xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono, conforme apresentado na Figura 5.21.

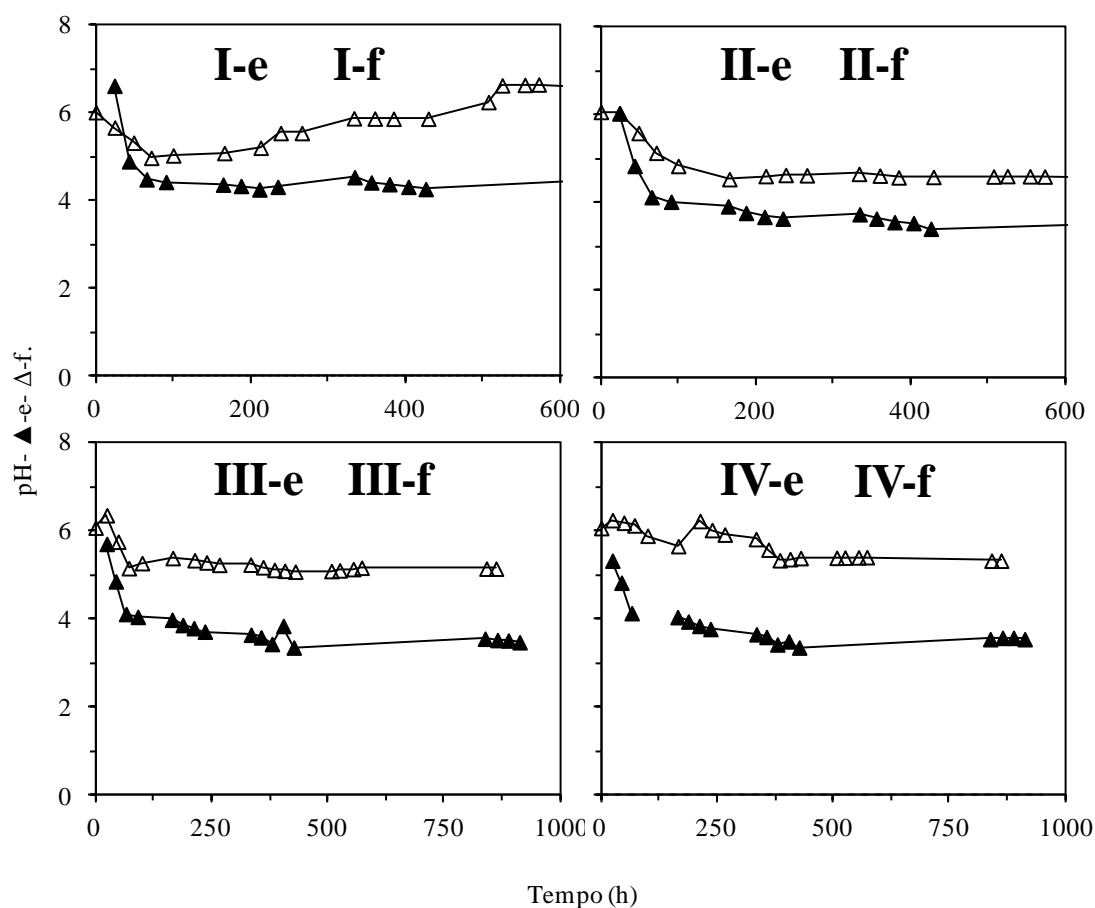


Figura 5.21 - Perfis de pH nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

A condição I-f foi a única que não apresentou decaimento do pH, entretanto nas demais houve uma estabilização do pH em valor inferior aos iniciais. O tempo de decaimento do pH foi de aproximadamente 100 horas nas condições I-e, II-e, II-f, III-e e III-f, contudo nas condições IV-e e IV-f foi de 375 horas, conforme Figura 5.21. Ao utilizar xilose como substrato (condições I-e a IV-e) a estabilização do pH ocorreu em [3,0 – 4,5], enquanto ao utilizar licor de pentoses (condições I-f a IV-f) a estabilização ocorreu em pH mais elevado.

A Figura 5.22 exibe os gráficos com as concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios utilizando a ureia como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses como fonte de carbono (condições I-f a IV-f).

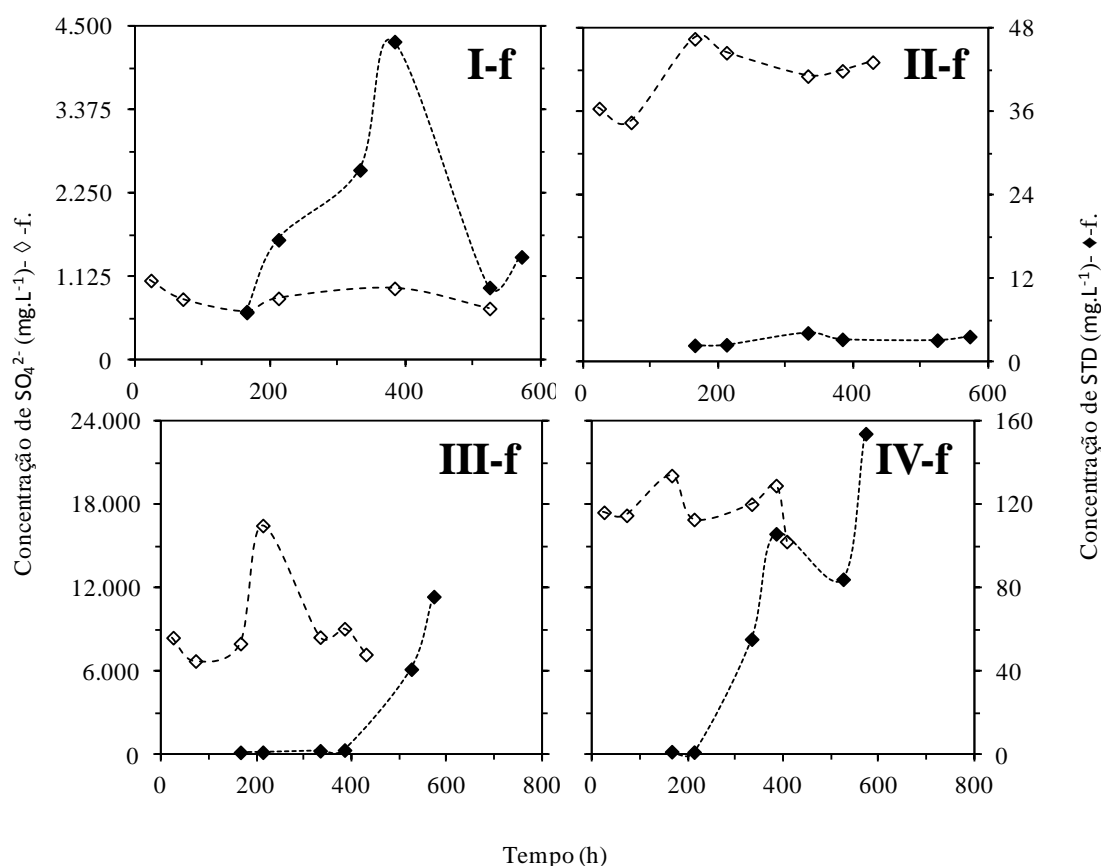


Figura 5.22 - Perfis de concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio.

Os gráficos da Figura 5.22 mostram que quanto maior a relação S/M do reator, maior é a concentração de sulfato (SO_4^{2-}), resultado de uma maior concentração de hidrolisado de bagaço de cana. Nas condições I, III e IV observou altas concentrações de sulfetos totais dissolvidos (STD) desta forma houve sulfetogênese, todavia foi inibida na condição II. A presença de sulfetos totais dissolvidos (STD) no reator inicia aproximadamente após 200 horas de experimento em todas as condições, exceto na condição III, a qual inicia após 400 horas.

Apesar das quatro condições apresentarem altas concentrações iniciais de sulfato (SO_4^{2-}) não houve grande interferência desse elemento na produção de hidrogênio relativa a cada condição, pois como a estabilização do pH nessas condições foi inferior a 5,5 o crescimento de bactérias redutoras de sulfato é desfavorecido (Lin & Chen, 2006) e, portanto, não houve o consumo de H_2 .

Os gráficos com as concentrações dos ácidos acético, butírico e propiônico nos experimentos utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (I-e a IV-e) e licor de pentoses (I-f a IV-f) como substrato, estão respectivamente presentes na Figura 5.23. Cada gráfico apresenta seis curvas: duas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), duas de

concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e duas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). As curvas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (■) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e o símbolo (□) os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f. Ao passo que as curvas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (●) refere aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e o símbolo (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f. E por fim, as curvas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (▲) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e o símbolo (△) os reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f.

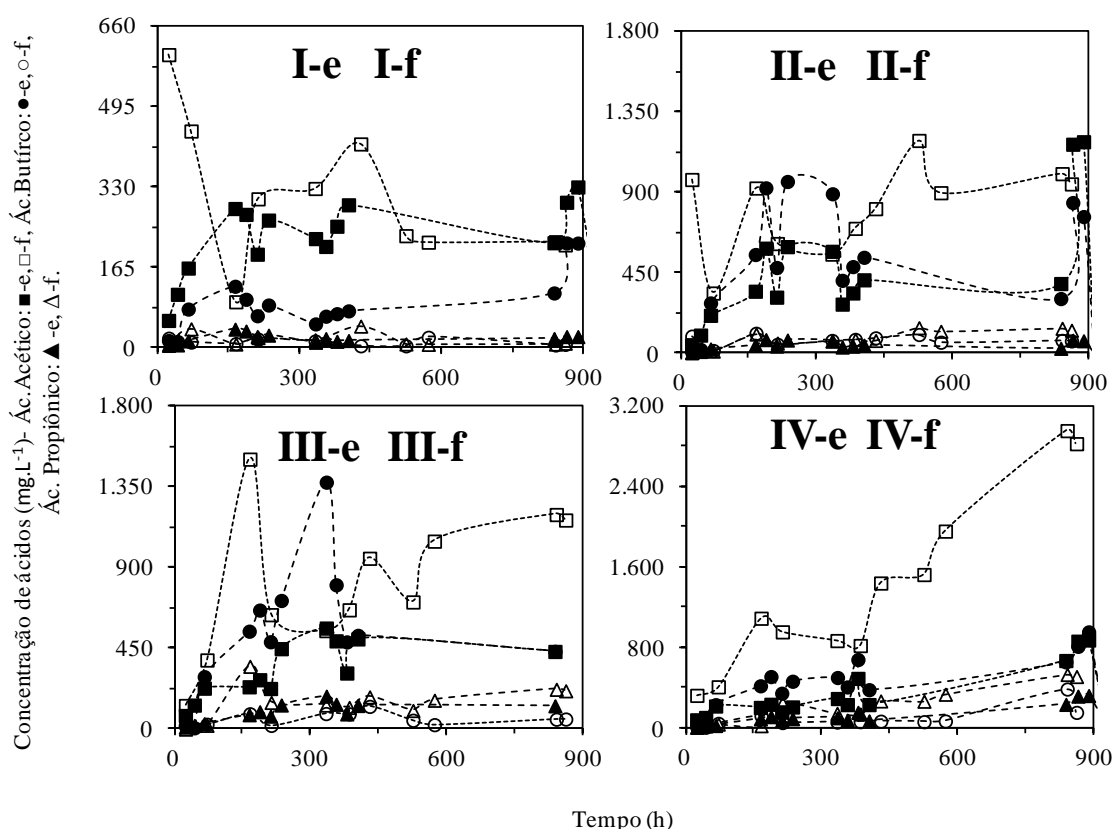


Figura 5.23 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Conforme apresentado na Figura 5.23, para todas as relações C/N a concentração de ácido acético na condição “f” foi superior à da condição “e”.

A produção crescente, apesar de pequena, de ácido propiônico nas condições “f” também explica o baixo rendimento desta condição na produção de hidrogênio: $0,12 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (I-f), $0,06 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (II-f), $0,13 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (III-f) e $0,12 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (IV-f).

A Figura 5.24 apresenta as concentrações de hexoses, sendo duas curvas da concentração de frutose e duas da concentração de glicose. As curvas da concentração de frutose ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) são: (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e (○) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f. As curvas de concentração de glicose ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) são: (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e (△) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f.

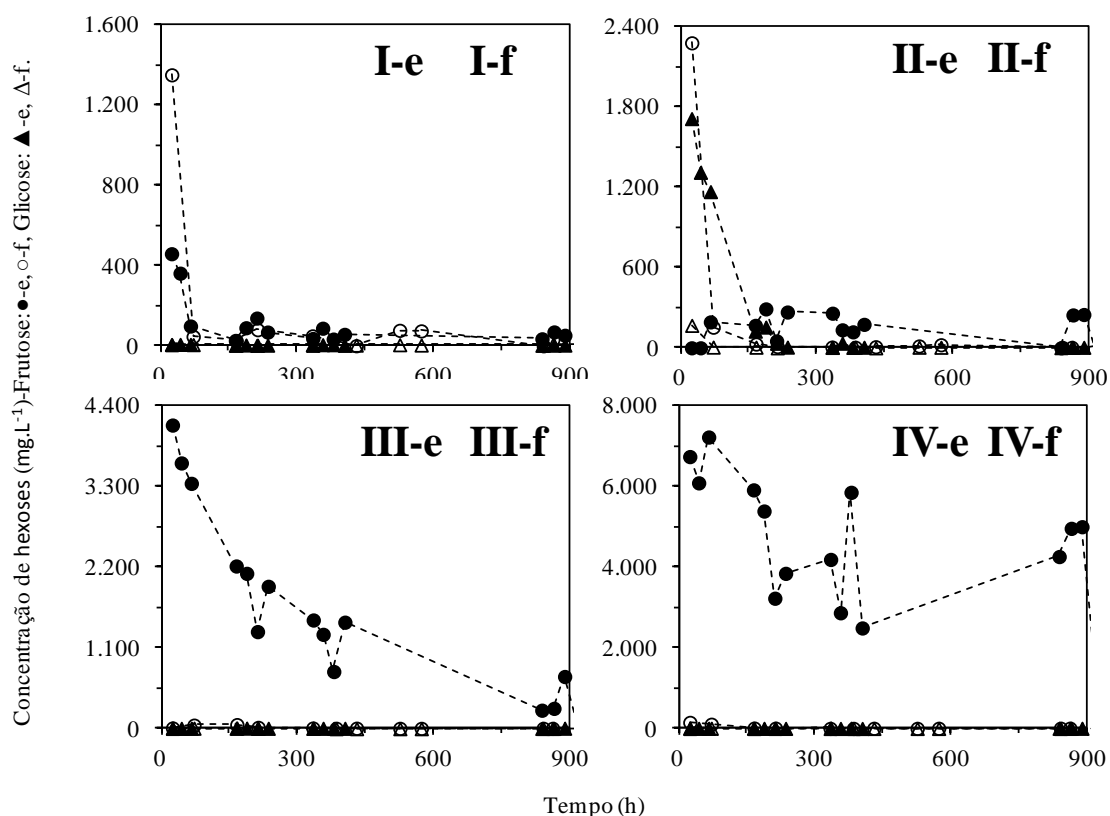


Figura 5.24- Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições mesofílicas ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Em praticamente todas as condições realizadas em temperatura mesofílica, conforme a Figura 5.8, não houve quantidades relativas de glicose, com exceção da condição II-e a qual apresentou concentrações elevadas no início. Em relação às concentrações de frutose, as condições I e II apresentaram produção desta hexose superior ao utilizar licor de pentoses como substrato (condição “f”) a aquelas em que utilizaram xilose (condição “e”), ao passo que o inverso ocorreu nas condições III e IV. Em situações que com presença de frutose houve o consumo deste produto com o decorrer do experimento.

As concentrações dos álcoois metanol e etanol nos ensaios em condições mesofílicas são apresentadas na Figura 5.25. Duas curvas são da concentração de metanol

(mg·L⁻¹): (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e (○) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f. E, as outras duas curvas são da concentração de etanol (mg·L⁻¹) são: (♦) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-e a IV-e e (◇) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-f a IV-f.

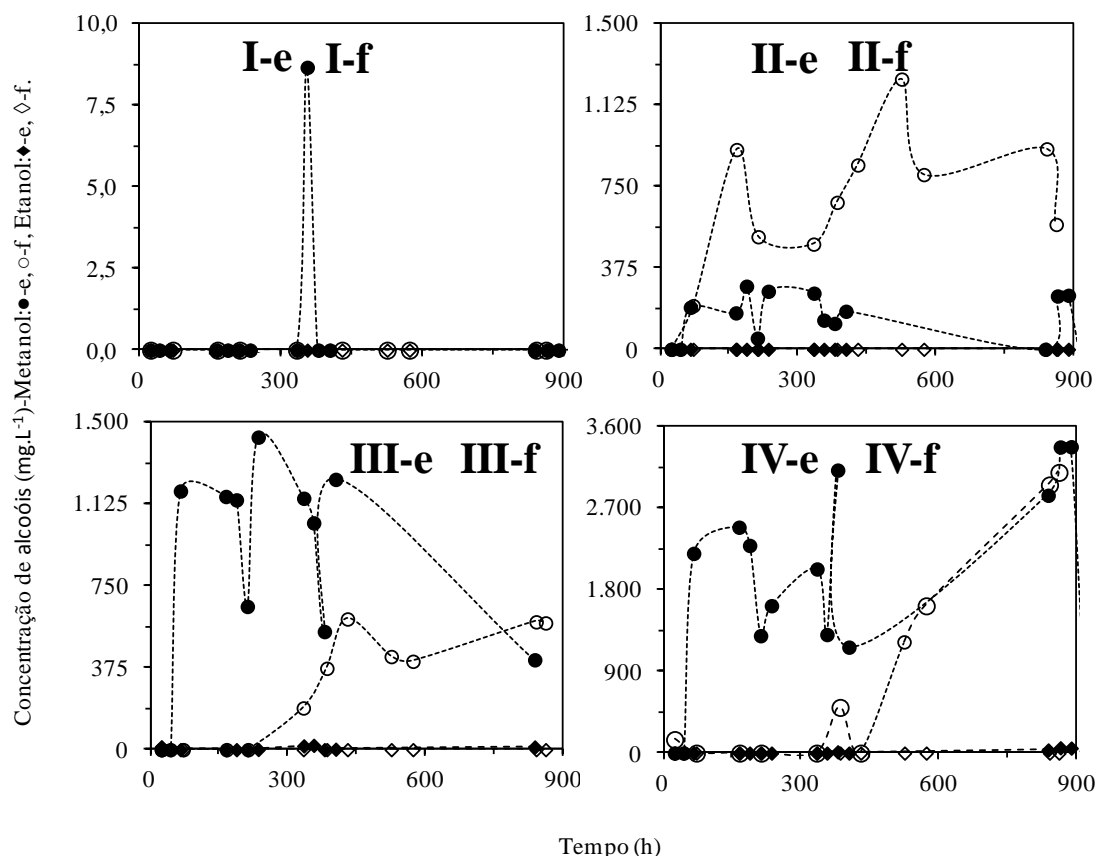


Figura 5.25 - Perfis de concentrações de álcoois nos ensaios em condições mesofílicas (30 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-e a IV-e) e licor de pentoses (condições I-f a IV-f) como fonte de carbono.

Através da Figura 5.25 observa-se que não houve produção considerável de álcoois na condição I, tanto ao utilizar xilose como licor de pentose como substrato, e para as demais condições ocorreu apenas produção relevante de metanol. O etanol não foi produzido em nenhuma condição.

5.2.2 Condições Termofílicas

Foram operados 8 reatores em batelada nas condições termofílicas (55 °C), sendo 4 com a ureia (93,5 mg) como fonte de nitrogênio e a xilose (condições I-g a IV-g) como fonte de carbono, e 4 com a ureia (5,1 mg) como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono. A Tabela 5.15 apresenta os valores iniciais e finais de xilose (mg L⁻¹), DQO (mg O₂ L⁻¹) e pH obtidos em cada condição, além do tempo

de duração do experimento.

Tabela 5.15 - Condições iniciais e finais dos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

Condição	Xilose (mg L ⁻¹)		DQO (mg O ₂ L ⁻¹)			pH		Tempo (h)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Média (nº de análises)	Inicial	Final		
Xilose	I-g	935	4,3	1168	785	845 ± 73 (9)	6,0	4,3	1072
	II-g	4673	8,9	4621	3669	4055 ± 402 (9)	5,8	3,8	936
	III-g	9348	4790	10138	8841	9433 ± 539 (9)	6,1	3,6	1007
	IV-g	18699	8417	20621	18150	19572 ± 474 (9)	6,1	3,5	1007
Licor	I-h	475	3,6	980	503	821 ± 205 (10)	6,1	5,0	864
	II-h*	4496	36	4429	2526	3212 ± 548 (5)	6,0	4,6	334
	III-h	5463	1243	8977	7649	7476 ± 615 (18)	6,5	4,6	1969
	IV-h	8174	7368	16167	14355	14704 ± 1049 (18)	6,6	4,7	1969

* O reator foi interrompido devido à quebra do reator.

Conforme apresentado na Tabela 5.15, em todos os experimentos da condição termofílica foram observados consumo de xilose e queda de pH. Na condição “g” (ao utilizar xilose como substrato) a estabilização do pH em [3,5 – 4,5] se deveu as atividades das bactérias acidogênicas presentes no meio. Já na condição “h” (utilizando licor de pentoses como substrato) a estabilização ocorreu em pH mais elevado (5,0), devido ao efeito tamponante do bicarbonato de sódio utilizado para ajustar o pH do hidrolisado em 6,0 ao início do experimento. Em todas as condições, as operações foram iniciadas com pH 6,0, aproximadamente, devido ao pré-tratamento realizado no lodo.

Houve redução da concentração de matéria orgânica, expressa em termos de DQO, em todas as condições, porém sem grandes variações. Este resultado corrobora a operação dos resultados em condições acidogênicas, pois embora fora observado um claro consumo da xilose como substrato, esta foi convertida em matéria orgânica (ácidos orgânicos voláteis), pouco afetando a remoção da matéria orgânica.

O tempo médio de experimento nas condições III-h e IV-h foi superior aos demais, devido à alta concentração inicial de xilose a elas aplicada, possibilitando a obtenção de um perfil mais abrangente para essas condições.

A Tabela 5.16 apresenta, portanto, as concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, álcoois e hexoses para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de

carbono, e ureia (condições I-e a IV-f) como fonte de nitrogênio, assim como as concentrações de sulfato ao utilizar o segundo substrato.

Tabela 5.16 - Concentrações iniciais de ácidos orgânicos voláteis, hexoses, álcoois e de sulfato para os ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

Ácidos orgânicos voláteis / Hexoses / Álcoois / Sulfato (mg L ⁻¹)		Condições Experimentais							
		Xilose				Licor de Pentoses			
		I-g	II-g	III-g	IV-g	I-h	II-h	III-h	IV-h
Ácidos Orgânicos Voláteis	Cítrico	3,0	3,0	7,1	2,9	3,1	3,0	4,5	5,2
	Málico	5,6	7,9	13	24	2,8	9,8	10	14
	Succínico	5,3	5,5	5,7	4,9	10	17	57	86
	Lático	15	26	40	6,2	23	2,4	47	99
	Fórmico	47	49	35	43	28	50	58	155
	Acético	224	166	131	97	104	202	609	1009
	Propiônico	5,1	3,5	4,8	4,0	5,8	6,6	12	11
	Isobutírico	0,27	0,53	-	0,37	-	10	7,2	9,0
	n-Butírico	59	85	105	132	-	3,4	13	12
	Isovalérico	19	16	13	12	4,3	9,7	14	21
	n-Valérico	7,4	-	-	5,2	-	6,8	7,9	-
	Capróico	19	-	16	-	-	18	36	-
Álcoois	Metanol	-	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	15	-
	Butanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Hex. Sulfato	Glicose	5,6	7,9	6,9	4,3	3,8	-	213	347
	Frutose	138	1519	3344	8579	33	398	1357	2215
	Sulfato	-	-	-	-	933	4202	8425	12954

Os reatores foram todos inoculados ao início do experimento com a biomassa pré-tratada, o que possivelmente causou um metabolismo endógeno das substâncias presentes no próprio lodo, uma vez que foram detectadas outras substâncias (ácidos orgânicos voláteis e hexoses) além do substrato no início do experimento. Além disso, houve aporte de sulfato devido ao pré-tratamento do bagaço da cana nos experimentos para as condições I-h a IV-h. Apenas na condição III-h houve presença de etanol no início do experimento, possivelmente devido alguma infecção da amostra, nas demais condições não foram detectados álcoois (metanol, etanol e butanol).

A Figura 5.26 apresenta gráficos do consumo da xilose nos ensaios de variação da concentração orgânica em condições termofílicas. Cada gráfico apresenta duas curvas de concentração de xilose para os reatores que utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e xilose como substrato (condições I-g a IV-g, ■), e para os reatores utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses como substrato (condições I-h a IV-h, □). As linhas referem-se ao ajuste do modelo cinético de primeira ordem residual aos perfis de concentração de xilose, sendo que a linha tracejada refere-se às condições I-g a IV-g (xilose como substrato) e a pontilhada refere-se às condições I-h a IV-h (licor de pentoses como substrato).

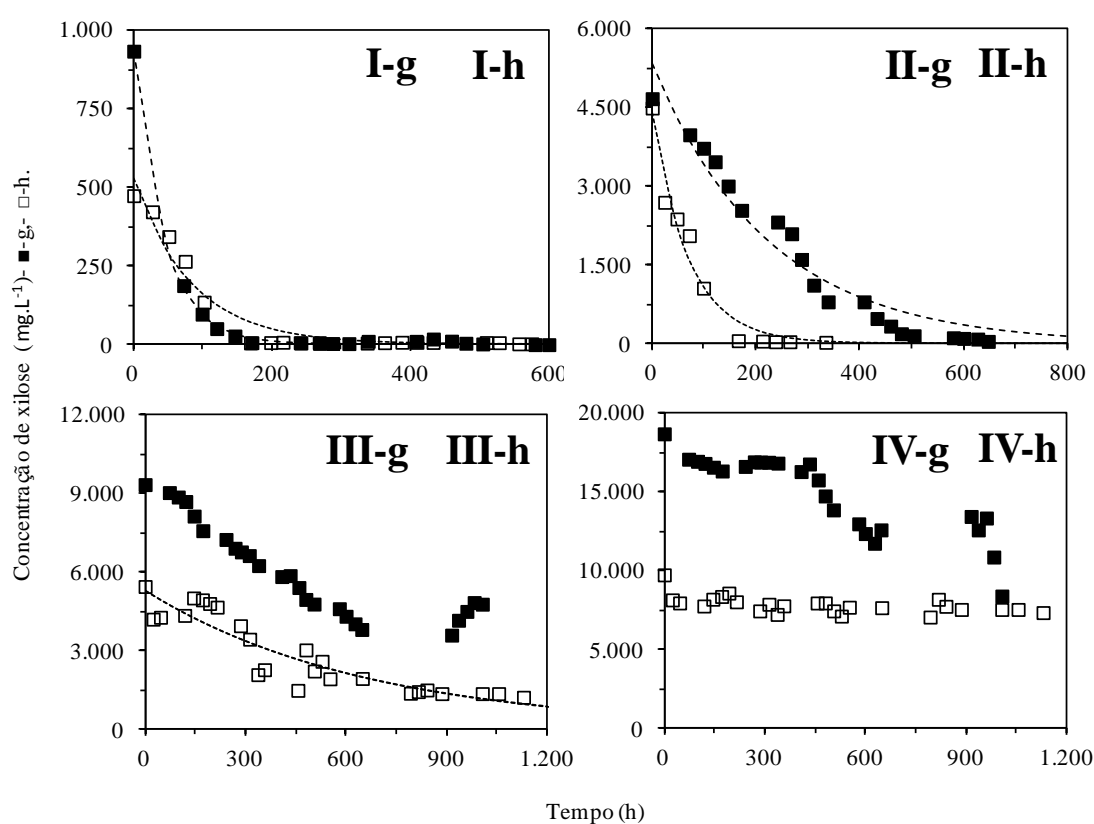


Figura 5.26- Perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

O decaimento da xilose apresentado na Figura 5.26 possuiu aspecto distinto em cada uma das condições, entretanto nas condições II e III utilizando xilose como substrato (condição “e”) o consumo total da xilose foi mais lento que as utilizando licor de pentoses (condição “f”), diferentemente da condição I, a qual ocorreu o oposto. O tempo de experimento da condição IV não foi suficiente para resultar com qual substrato houve o primeiro decaimento da xilose.

Foram realizados os ajustes do modelo cinético de primeira ordem residual para

praticamente todas as condições, com exceção das condições III-g, IV-g e IV-h, para a determinação dos parâmetros cinéticos aparentes. O ajuste do modelo não convergiu nos resultados de concentração de xilose da condição III-g devido à falta da fase lag no consumo do substrato. As condições IV-g e IV-h não se adaptaram ao modelo, pois o consumo da xilose respectivamente iniciou apenas após 450 horas de experimento e não ocorreu nas 1.200 horas de experimento. A Tabela 5.17 apresenta os valores dos parâmetros cinéticos, da eficiência absoluta e do coeficiente de correlação das curvas não lineares para as cinco condições acima citadas.

Tabela 5.17 - Parâmetros cinéticos (k_I^{app} , C_I e C_R), eficiência absoluta (E_A) e coeficiente de correlação (R^2) relativos ao consumo da xilose e obtidos pelo ajuste dos perfis de concentração de xilose nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g e II-g) e licor de pentoses (condições I-h a III-h) como fonte de carbono.

Condição		Parâmetros Cinéticos			E_A	R^2
		k_I^{app} (h ⁻¹)	C_I (mg L ⁻¹)	C_R (mg L ⁻¹)		
Xilose	I-g	0,02 ± 0,0004	935 ± 7,8	0,0*	1,0	1,0
	II-g	0,005 ± 0,0003	5326 ± 260	0,0*	1,0	0,95
Licor	I-h	0,01 ± 0,001	531 ± 27	0,0*	1,0	0,96
	II-h	0,01 ± 0,002	4396 ± 241	0,0*	1,0	0,97
	III-h	0,002 ± 0,0002	5308 ± 285	0,0*	1,0	0,83

*Valores forçados durante o ajuste, para que o modelo convergisse em valores fisicamente significativos.

A eficiência absoluta obtida em todas foi máxima, pois, para adequar ao modelo, a concentração residual de xilose foi considerada zero.

Observou-se também que todos os ajustes apresentaram valores satisfatórios de correlação estatística ($R^2 > 0,80$), indicando que o modelo cinético de primeira ordem foi adequado para representar o comportamento do consumo do substrato. A variação do valor da constante cinética aparente de primeira ordem (k_I^{app}) mostrou que o aumento da concentração inicial do substrato exerceu um efeito inibitório no processo, embora todas as condições tenham se mostrado eficientes em consumir xilose. O efeito inibitório da concentração de xilose se tornou evidente nas condições IV-g e IV-h, nas quais o sistema foi operado com maior concentração de carboidratos, apresentando um fraco consumo de substrato.

Na Figura 5.27 os gráficos apresentam os resultados das produções acumuladas de H₂ e CO₂, em condições termofílicas (55 °C), utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono. Cada gráfico apresenta quatro curvas: duas curvas de produção acumulada de H₂

(L) e duas curvas de produção acumulada de CO_2 (L). As curvas de produção acumulada de H_2 (L): uma (■) referente aos reatores que utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e xilose como substrato - condições I-g a IV-g e a segunda (□) aos reatores que utilizaram ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h. As curvas de produção acumulada de CO_2 (L): uma (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a IV-g e a segunda (△) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h.

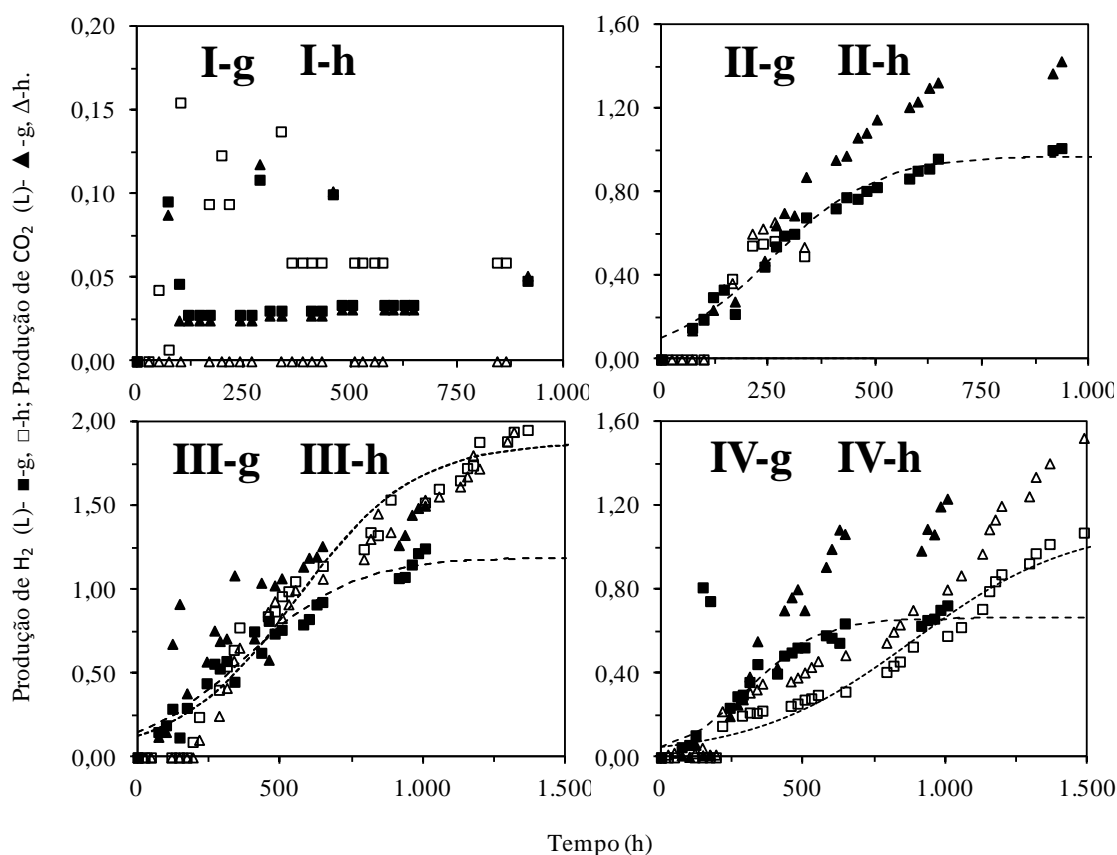


Figura 5.27 - Perfis de produção de H_2 e CO_2 nos ensaios em condições termofílicas (55°C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

Conforme observado na Figura 5.27, a produção volumétrica de H_2 requer mais tempo para estabilizar nas condições IV-g (ao utilizar licor de pentoses) comparada respectivamente com as condições IV-h (ao utilizar xilose). Devido a este resultado foi avaliado para esta condição, sendo o substrato licor de pentoses, as concentrações de biogás por mais 500 horas. Desta forma, a Figura 5.28 apresenta os gráficos com os resultados obtidos da condição utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (IV-g) e licor de pentoses (IV-h) como fonte de carbono em 1.500 horas (gráficos à esquerda) e 2.000 horas (gráficos à direita) de experimento.

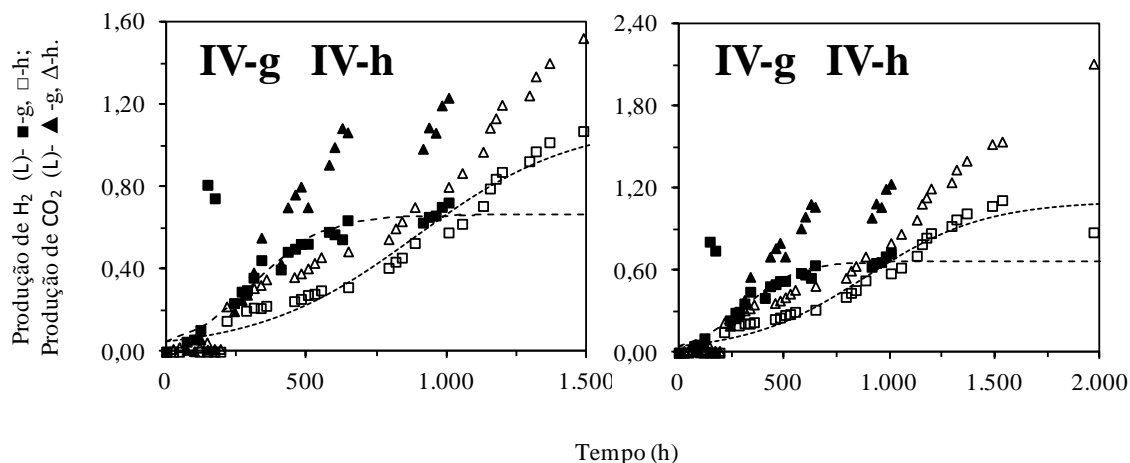


Figura 5.28 - Perfis de produção de H₂ e CO₂ nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando a ureia como fonte de nitrogênio, a xilose (condição IV-g) e o licor de pentoses (condição IV-h) como fonte de carbono.

Como observado na Figura 5.27 ocorreu produção de H₂ e CO₂ em praticamente todas as condições estudadas, com exceção da condição I-h, a qual não produziu CO₂. Nas oito condições realizadas não houve geração de metano, devido ao pré-tratamento realizado no inóculo, inibindo a metanogênese.

Ao utilizar a ureia como fonte de nitrogênio e a xilose como fonte de carbono observou nas condições II-g e IV-g estabilização de H₂ em aproximadamente 750 horas, entretanto na condição III-g a estabilização ocorreu em torno de 1.000 horas. Ao utilizar a ureia como fonte de nitrogênio e o licor de pentoses como fonte de carbono a estabilização da produção de H₂ para as condições III-h e IV-h ocorre respectivamente após 1.500 horas e 1.750 horas.

Por meio das curvas de produção de H₂ e CO₂ apresentados na Figura 5.27, calculadas nas CNTP, observa-se maior produção de H₂ em relação ao CO₂ apenas na condição I-h (0,00 L CO₂ e 0,06 L H₂) e estabilização aproximadamente semelhante dos gases na condição I-g (0,05 L CO₂ e 0,05 L H₂). Entretanto nas demais condições com produções de CO₂ (L) e H₂ (L) respectivamente de 1,43 e 1,01 (II-g), 1,43 e 1,01 (II-h), 1,50 e 1,25 (III-g), 2,75 e 1,79 (III-h), 1,23 e 0,72 (IV-g), e 2,11 e 0,88 (IV-h), foram mais favoráveis ao CO₂.

Conforme a Figura 5.27, foram realizadas curvas sigmoidais simples para produção H₂ com base na Equação 4.5, para as condições II-g, III-g, III-h, IV-g e IV-h. As demais condições (I-g, I-h e II-h) não adaptaram a esse modelo, pois em todas ocorreu um pico no início da curva da produção de H₂ acumulada. A Tabela 5.18 apresenta os valores dos parâmetros ajustados pela curva sigmoide simples para as condições II-g, III-g, III-h, IV-g e IV-h, além do rendimento de H₂ (mol H₂·mol xilose⁻¹) e da produção acumulada de CO₂

(L) para as condições I-g a IV-h.

Tabela 5.18 - Parâmetros cinéticos ($H_{máx}$, l e p) e coeficiente de correlação (R^2) relativos a produção volumétrica (nas CNTP) de H_2 obtidos pelo ajuste dos perfis de produção de biogás nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

		Parâmetros Cinéticos			R^2	Y_{H_2} (mol H_2 · mol S^{-1})	Produção Acumulada CO_2 (L)
Condição		$H_{máx}$ (L)	l (h)	p (L h $^{-1}$)			
Xilose	I-g	-	-	-	-	$0,31 \pm 0,15$	0,05
	II-g	$0,97 \pm 0,03$	260 ± 12	$0,004 \pm 0,0003$	0,97	$1,2 \pm 0,18$	1,4
	III-g	$1,2 \pm 0,06$	378 ± 27	$0,002 \pm 0,0003$	0,95	$1,4 \pm 0,41$	1,5
	IV-g	$0,66 \pm 0,02$	315 ± 13	$0,004 \pm 0,0003$	0,97	$0,75 \pm 0,34$	1,2
Licor	I-h	-	-	-	-	$1,6 \pm 1,1$	0,00
	II-h	-	-	-	-	$0,38 \pm 0,38$	0,54
	III-h	$1,9 \pm 0,06$	555 ± 29	$0,002 \pm 0,0002$	0,96	$1,4 \pm 0,76$	2,8
	IV-h	$1,1 \pm 0,06$	891 ± 49	$0,002 \pm 0,0002$	0,96	$0,56 \pm 0,33$	2,1

Conforme a Tabela 5.18, o maior rendimento obtido na condição termofílica do estudo da relação C/N foi de 1,6 mol H_2 ·mol xilose $^{-1}$ ao utilizar como fonte de carbono o licor de pentoses, entretanto seu desvio (1,1 mol H_2 ·mol xilose $^{-1}$) foi muito elevado. Desta forma o segundo maior rendimento foi de 1,1 mol H_2 ·mol xilose $^{-1}$ tanto ao utilizar a xilose (III-g, com desvio de 0,41 mol H_2 ·mol xilose $^{-1}$) como ao utilizar o licor de pentoses (III-h, com desvio de 0,76 mol H_2 ·mol xilose $^{-1}$) como substrato.

Os rendimentos obtidos com licor de pentoses como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio foram bem satisfatórios.

Foram realizadas em condições termofílicas utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono a análise do pH, conforme apresentado na Figura 5.29.

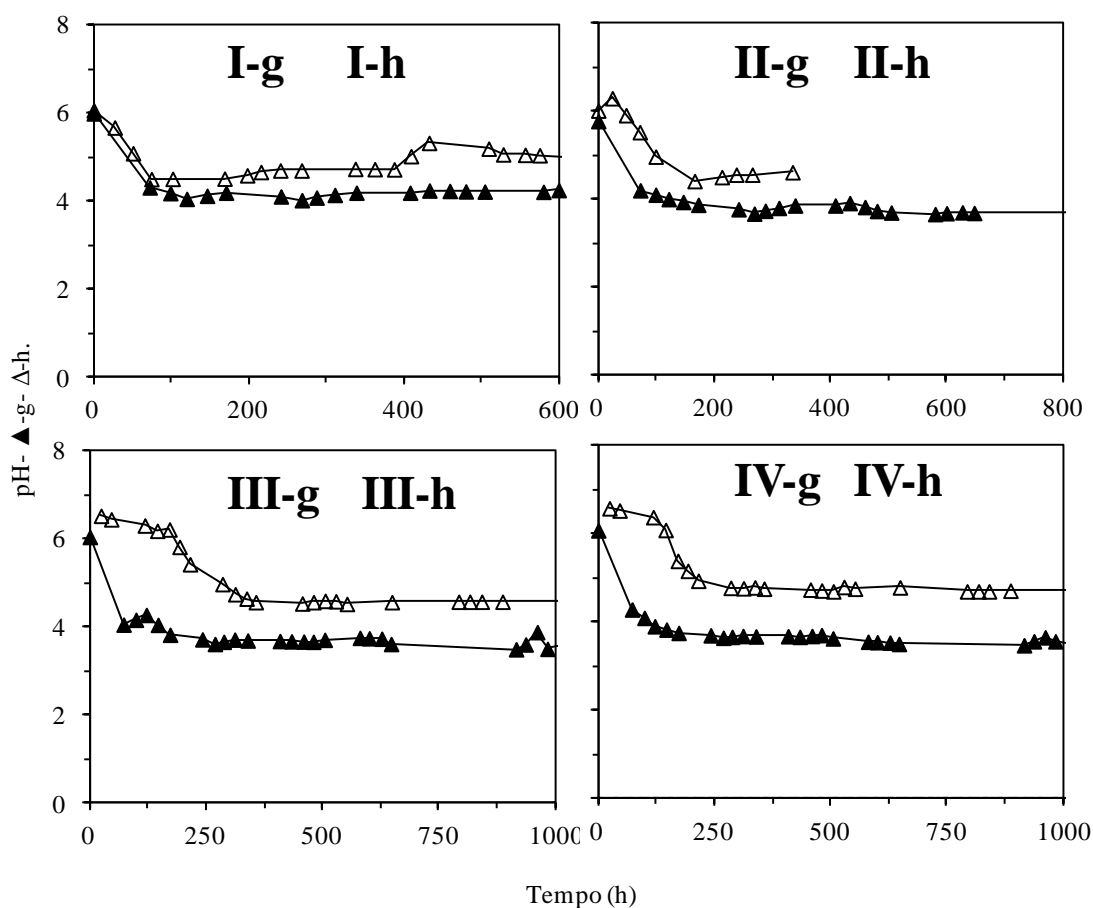


Figura 5.29 - Perfis de pH nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

A condição I-h foi a única que apresentou decaimento do pH no início e posteriormente sofreu uma elevação, entretanto nas demais houve uma estabilização do pH em valor inferior aos iniciais. O tempo de decaimento do pH foi de aproximadamente 100 horas nas condições utilizando xilose (I-g, II-g, III-g e IV-g) e a estabilização do pH ocorreu em [3,5 – 4,5], contudo em praticamente todas as condições utilizando licor de pentoses (II-h, III-h e IV-h) o tempo de decaimento do pH foi de 250 horas e a estabilização ocorreu em pH mais elevado.

A Figura 5.30 exibe os gráficos com as concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios utilizando ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses como fonte de carbono (condições I-h a IV-h).

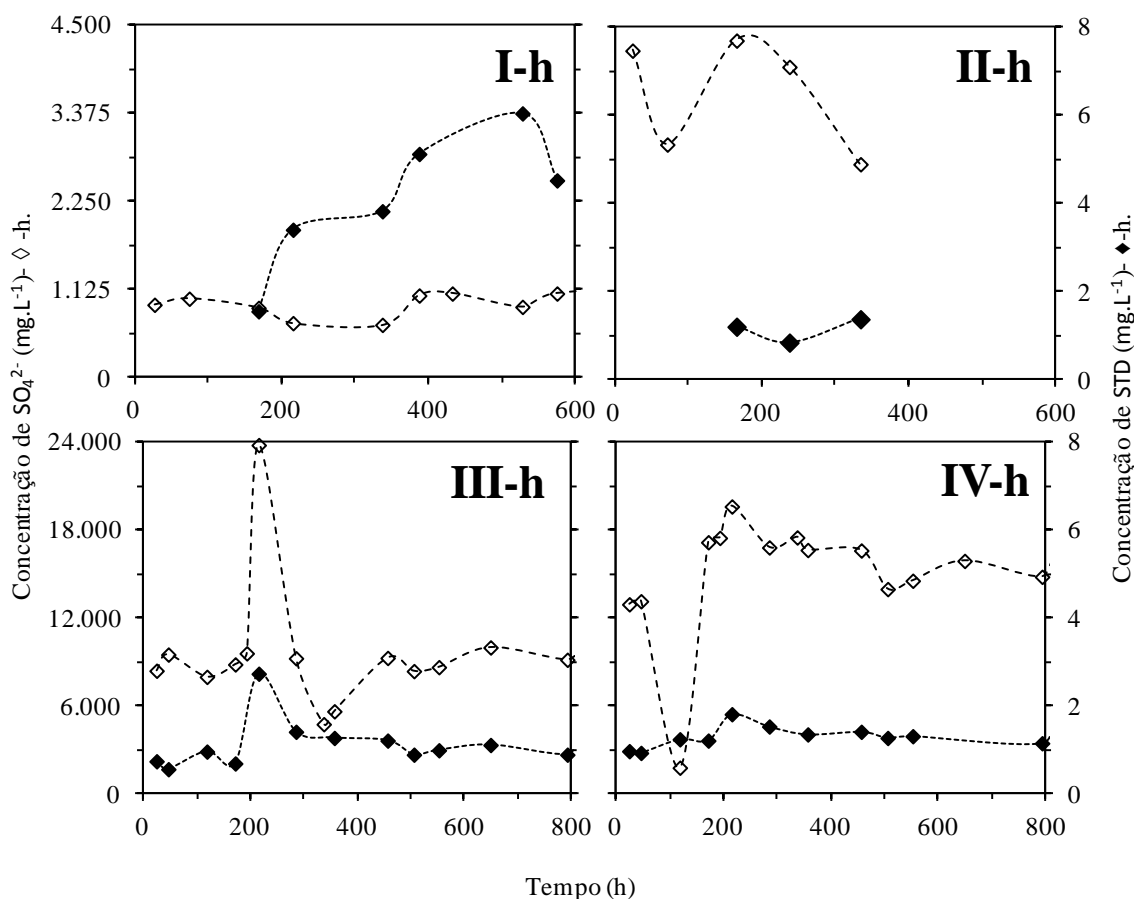


Figura 5.30 - Perfis de concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfetos totais dissolvidos (STD) nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

Os gráficos da Figura 5.30 mostram que as condições III e IV apresentaram as maiores concentrações de sulfato (SO_4^{2-}), resultado da alta concentração de hidrolisado de bagaço de cana, entretanto concentrações baixas de sulfetos totais dissolvidos (STD), ou seja, a sulfetogênese foi inibida. No tempo de experimento da condição II possivelmente também não ocorreu sulfetogênese, devido às baixas concentrações de sulfetos totais dissolvidos (STD) apresentadas. Nas condições I e II observou concentrações de sulfetos totais dissolvidos (STD) no reator. Desta forma a sulfetogênese ocorreu majoritariamente nas condições I.

Os gráficos com as concentrações de ácidos (acético, butírico e propiônico) nos experimentos utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (I-g a IV-g) e licor de pentoses (I-h a IV-h) como substrato, estão respectivamente presentes na Figura 5.31. Cada gráfico apresenta seis curvas: duas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), duas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e duas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). As curvas de concentração de ácido acético ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (■) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a

IV-g e o símbolo (\square) os reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h. Ao passo que as curvas de concentração de ácido butírico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (\bullet) refere aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a IV-g e o símbolo (\circ) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h. E por fim, as curvas de concentração de ácido propiônico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) estão assim organizadas: o símbolo (\blacktriangle) representa os reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a IV-g e o símbolo (\triangle) os reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h.

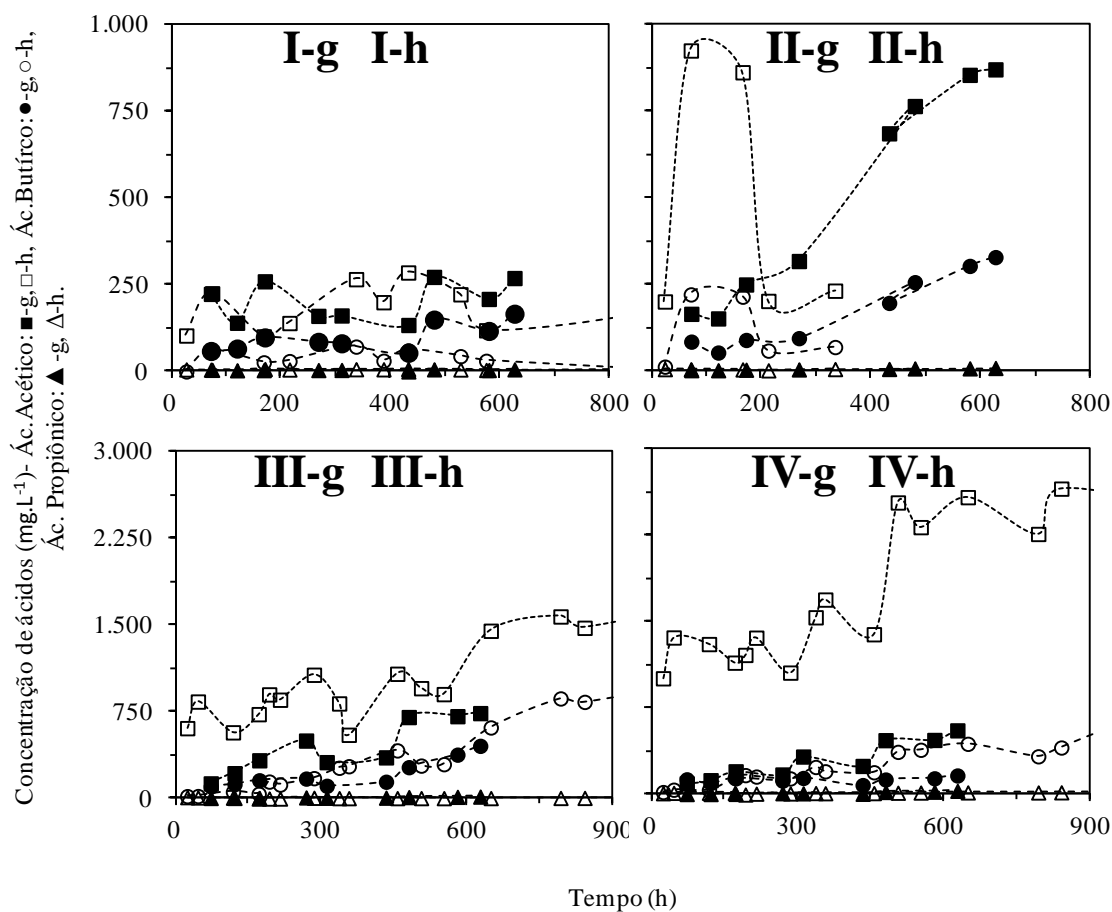


Figura 5.31 - Perfis de concentrações de ácidos orgânicos voláteis nos ensaios em condições termofílicas ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

Conforme apresentado na Figura 5.31, para as duas condições de maior relação C/N (III e IV) que utilizaram licor de pentoses (condição “h”) como fonte de carbono, a concentração de ácido acético foi superior aos demais ácidos. Na condição II-g (utilizou xilose como substrato), a partir de 200 horas de experimento as produções de ácido acético e butírico crescem rapidamente. Em todas as relações C/N em condições termofílicas, não houve produção significativa de ácido propiônico.

A Figura 5.32 apresenta as concentrações de hexoses, sendo duas curvas da

concentração de frutose e duas da concentração de glicose. As curvas da concentração de frutose ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) são: (●) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a IV-g e (○) aos reatores que utilizaram o licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h. As curvas de concentração de glicose ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) são: (▲) referente aos reatores que utilizaram xilose como substrato - condições I-g a IV-g e (△) aos reatores que utilizaram licor de pentoses como substrato - condições I-h a IV-h.

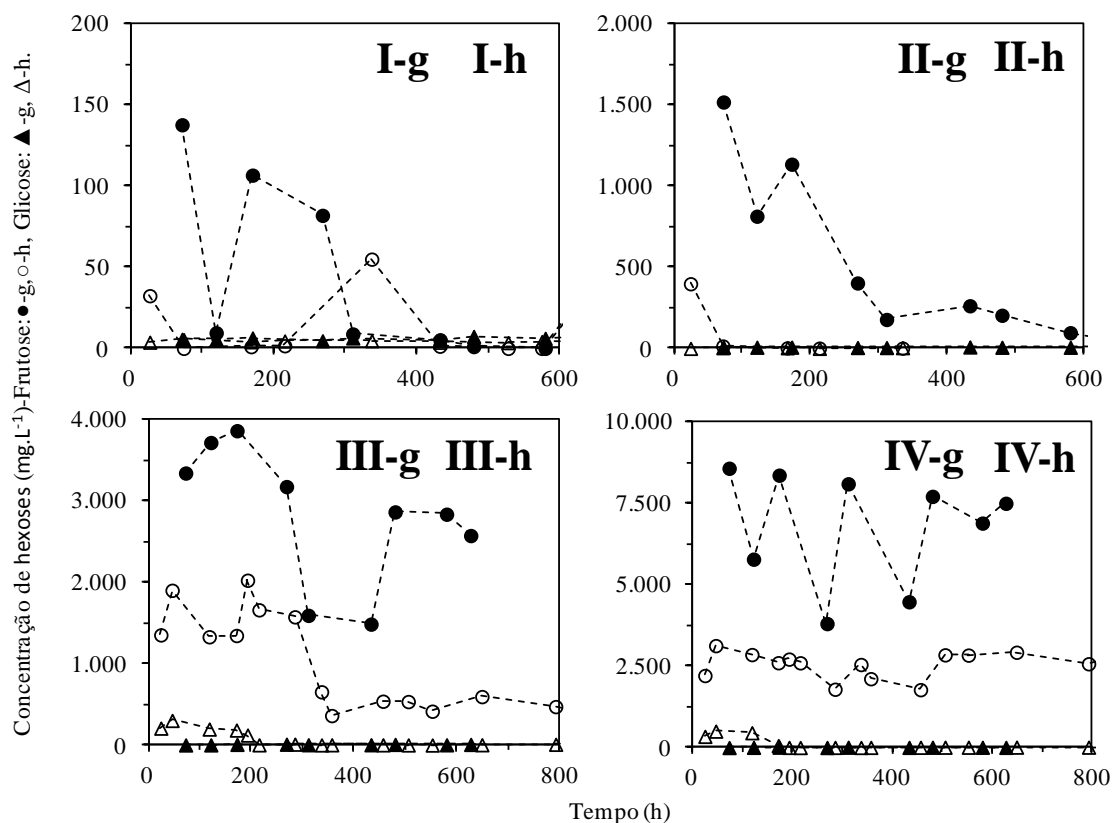


Figura 5.32- Perfis de concentrações de hexoses nos ensaios em condições termofílicas (55 °C) utilizando ureia como fonte de nitrogênio, xilose (condições I-g a IV-g) e licor de pentoses (condições I-h a IV-h) como fonte de carbono.

As oito condições realizadas em temperatura termofílica, conforme a Figura 5.32, não houve quantidades relativas de glicose, foram todas praticamente nulas. Em relação às concentrações de frutose, nas condições II e III tanto ao utilizar xilose (condição “g”) como licor de pentoses (condições “h”), foi possível observar uma alta concentração inicial desta hexose e seu consumo com o decorrer do experimento, entretanto na condição I este processo ocorreu apenas ao utilizar xilose (condição “g”). Observou-se que quanto maior a relação C/N do reator, maior a presença inicial da frutose, como também que as concentrações de frutose ao utilizar xilose como substrato foram superiores aquelas em que utilizaram licor de pentoses.

Em condições termofílicas, não houve produção de metanol, etanol e butanol durante o experimento, provavelmente devido à evaporação dos álcoois.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para melhor visualização dos resultados obtidos, a Tabela 6.1 destaca a produção de ácidos orgânicos voláteis com foco nos ácidos acético, butírico e propiônico, bem como a produção e o rendimento de H_2 .

A Tabela 6.1 apresenta as condições em análise, os valores iniciais de xilose ($mg \cdot L^{-1}$), as concentrações finais dos ácidos ($mg \cdot L^{-1}$), a produção volumétrica acumulada de H_2 (L) e o rendimento de H_2 ($mol H_2 \cdot mol xilose^{-1}$). Com relação às concentrações de ácidos, foram utilizados os valores finais coletados, por refletirem a quantidade de ácido efetivamente produzido.

Tabela 6.1. Concentrações iniciais de xilose, concentrações finais de ácidos orgânicos voláteis (acético, butírico e propiônico), produção volumétrica de H₂ (H_{máx}) e rendimento de H₂ (Y_{H2}) nos ensaios em condições termofílicas e mesofílicas da etapa 1 e da etapa 2.

Concentração final de ácidos (mg L ⁻¹)								Concentração final de ácidos (mg L ⁻¹)								
Condição		Xilose inicial (mg L ⁻¹)	Ácido Acético	Ácido Butírico	Ácido Propiônico	H _{máx} (L)	Y _{H2} (mol H ₂ · mol S ⁻¹)	Condição		Xilose inicial (mg L ⁻¹)	Ácido Acético	Ácido Butírico	Ácido Propiônico	H _{máx} (L)	Y _{H2} (mol H ₂ · mol S ⁻¹)	
Xilose	I-a	Mesofílico (30°C)	1042	55,6	31,3	13,74	0,11 ± 0,01	0,61 ± 0,21	I-b	Mesofílico (30°C)	659	336,0	54,6	34,8	-	0,36 ± 0,33
	II-a		3724	173,2	215,9	2,5	0,52 ± 0,05	0,85 ± 0,48	II-b		3029	536,0	195,9	66,9	-	0,22 ± 0,09
	III-a		10878	420,1	2,51	5,5	0,86 ± 0,02	0,35 ± 0,14	III-b		5463	1044,1	330,2	130,6	-	0,31 ± 0,11
	IV-a		16664	882,7	30,6	10,3	1,2 ± 0,04	0,84 ± 0,37	IV-b		9760	1136,0	584,6	572,0	-	0,22 ± 0,07
	I-c	Termofílico (55°C)	1623	145,0	22,3	4,0	0,10 ± 0,014	0,24 ± 0,16	I-d	Termofílico (55°C)	610	324,6	116,5	0,0	0,20 ± 0,003	1,9 ± 0,54
	II-c		4404	336,4	140,1	15,9	0,81 ± 0,073	1,4 ± 0,72	II-d		3029	979,2	392,3	3,9	0,66 ± 0,024	0,82 ± 0,32
	III-c		9375	371,9	115,4	7,4	0,62 ± 0,029	1,0 ± 0,28	III-d		5463	1061,3	707,9	8,9	1,8 ± 0,098	0,99 ± 0,62
	IV-c		19800	366,9	344,2	8,6	0,93 ± 0,083	0,90 ± 0,44	IV-d		9760	1983,4	910,0	21,9	1,2 ± 0,079	0,78 ± 0,48
Xilose e Ureia	I-e	Mesofílico (30°C)	1523	219,8	183,0	20,1	-	0,18 ± 0,13	I-f	Mesofílico (30°C)	475	211,6	7,4	9,8	-	0,12 ± 0,08
	II-e		5801	18,0	15,7	5,1	0,65 ± 0,02	0,70 ± 0,15	II-f		4698	947,8	68,8	129,2	-	0,06 ± 0,04
	III-e		11601	362,5	291,2	106,6	1,1 ± 0,05	0,64 ± 0,12	III-f		3851	1165,4	53,9	213,5	-	0,13 ± 0,11
	IV-e		19947	415,6	375,0	162,2	0,54 ± 0,02	0,52 ± 0,16	IV-f		9738	2826,9	53,6	514,0	-	0,12 ± 0,03
	I-g	Termofílico (55°C)	935	269,4	121,3	6,0	-	0,31 ± 0,15	I-h	Termofílico (55°C)	475	209,7	6,8	6,8	-	1,6 ± 1,1
	II-g		4673	870,6	323,2	9,9	0,97 ± 0,03	1,2 ± 0,18	II-h		4496	232,6	42,3	6,8	-	0,38 ± 0,38
	III-g		9348	738,4	451,6	16,6	1,2 ± 0,06	1,4 ± 0,41	III-h		5463	1713,8	1004,7	8,2	1,9 ± 0,06	1,4 ± 0,76
	IV-g		18699	556,9	162,0	32,2	0,66 ± 0,02	0,75 ± 0,34	IV-h		8174	2463,7	686,8	17,7	1,1 ± 0,06	0,56 ± 0,33

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos experimentos em reatores em batelada simples com diferentes relações S/M (2, 10, 20 e 40) na primeira etapa e diferentes relações C/N (10, 50, 100 e 200) na segunda etapa, em temperaturas mesofílica e termofílica, utilizando xilose e licor de pentoses como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio, possibilitaram as seguintes conclusões:

A maior produção de ácido acético na primeira etapa foi de $1.983,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ao utilizar licor de pentoses com $20.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 55°C . Já na segunda etapa, a maior produção de ácido acético foi de $2.826,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ao utilizar licor de pentoses como substrato com $20.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 30°C .

A maior produção de ácido butírico na primeira etapa foi de $910,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ao utilizar licor de pentoses com $20.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 55°C . Já na segunda etapa, a maior produção de ácido butírico foi de $1.004,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ao utilizar licor de pentoses com $10.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 55°C .

A maior produção de ácido propiônico na primeira e na segunda etapa ocorreu ao utilizar licor de pentoses com $20.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 30°C , com concentrações respectivamente de $572,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $514,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Houve maior produção volumétrica de H_2 ao utilizar licor de pentoses com $10.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ a 55°C na primeira e na segunda etapa, com valores respectivamente de $1,8 \text{ L}$ e $1,9 \text{ L}$.

Houve influência da temperatura na produção de H_2 , sendo a operação em condição termofílica mais favorável. Com rendimento de $1,92 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (ao utilizar licor de pentoses com $1.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) na primeira etapa e de $1,55 \text{ mol H}_2\cdot\text{mol xilose}^{-1}$ (ao utilizar licor de pentoses com $1.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) na segunda etapa.

A adição de ureia no reator afetou a produção de H_2 . Em praticamente todas as condições, a adição de ureia reduziu a produção H_2 .

Foi observada a inibição da sulfetogênese nos reatores com licor de pentoses, provavelmente devido ao efeito do pH, visto que apesar das elevadas concentrações de sulfato no meio, a produção de H_2 não foi interrompida.

Em temperatura termofílica não houve produção relevante de álcoois (metanol, etanol e butanol).

O biogás produzido foi composto principalmente por CO_2 e H_2 , não houve produção de CH_4 .

A concentração inicial de matéria orgânica interferiu no consumo de substrato. Observou-se que não apresentaram consumo do substrato no início dos experimentos que utilizaram as maiores concentrações de matéria orgânica ($10.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e $20.000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$).

O pré-tratamento do inóculo foi eficiente para eliminação das bactérias metanogênicas dos experimentos, contribuindo na seleção das espécies produtoras de hidrogênio.

REFERÊNCIAS

- ANZOLA ROJAS, M.D.P. (2010). **Influência da relação C/N na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo**. 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- 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. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n.7, p.1813-1819.
- BAGHCHEHSARAEE, B. et al. (2010). Fermentative hydrogen production by diverse microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.35, n.10, p.5021-5027.
- BETANCUR, G.J.V.; PEREIRA, N. (2010). Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pre-treatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.13, n.3, p.1-9. Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol13/issue3/full/3/3.pdf>>. Acesso em: 09 mar. 2012.
- BUCKERIDGE, M.S. (2012). Entre açúcares e genes. **Pesquisa FAPESP**, v.200, p.86-91.
- CHEN, W. M. et al. (2005). Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* GCS5 isolated from anaerobic sewage sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.30, p.1063-1070.
- CHERNICHARO, C.A.L. (1997). **Reatores anaeróbios: princípio do tratamento biológico de águas residuárias**. 2.ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais. v.5.
- CHERUNINI, F. (2010). The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v.51, n.7, p.1412-1421.
- DUBOIS, S.M. et al. (1956). Colorimetric methods for determination of sugar and related substance. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356.
- FANGKUM, A; REUNGSANG, A. (2011). Biohydrogen production from mixed xylose/arabinose at thermophilic temperature by anaerobic mixed cultures in elephant dung. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.36, p.13929
- FORESTI, E. et al. (1999). Fundamentos do tratamento anaeróbio. In: CAMPOS, J.R. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: PROSAB. p.29-52.
- KALIA et al., (2003) Genomic databases yield novel bioplastic producers. **Nature Biotechnology**, v.21, p.845-846.
- KHANAL, S.K. et al. (2004). Biological hydrogen production: effects of pH and

intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.29, n.11, p.1123-1131.

LAY, J.J.; LEE, Y.J.; NOIKE, T. (1999). Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. **Water Research**, v.33, n.11, p.2576–2586.

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.

LIN, C.Y.; CHEN, H.P. (2006). Sulfate effect fermentative hydrogen production using anaerobic mixed microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.31, n.7, p.953-960.

LIN, C.Y.; CHENG, C.H. (2006). Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.31, n.7, p.832-840.

LIN, C.Y.; WU, C.C.; HUNG, C.H. (2008). Temperature effects on fermentative hydrogen production from xylose using mixed anaerobic cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.33, n.1, p.43-50.

MAINTINGUER, S.I. (2009). **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio bacteriano utilizado em reator anaeróbio em batelada aplicada à produção de hidrogênio**. 2009. 167p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PATTRA, S. et al. (2008). Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagassehydrolysate by *Clostridium butyricum*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.33, n.19, p.5256-5265.

RABELO, S.C. et al. (2011). Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource technology**, v.102, n.17, p.7887-7895.

SELEGHIM, P.J.; POLIKARPOV, I. (2009). Gasolina de capim. **Scientific American Brasil**, v.87, p.32-37.

SPEECE, R.E. (1996) **Anaerobic biotechnology**: for industrial wastewaters. Nashville: Archae.

EATON, A.D. et al. (1998). **Water environment federation standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington: American Public Health Association.

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.