

Universidade Federal do Rio de Janeiro

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO A PARTIR DA
CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS

Fabírcia Maria Santana Silva

2017



AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO A PARTIR DA
CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS

Fabírcia Maria Santana Silva

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil.

Orientadores: Claudio Fernando Mahler

Luciano Basto Oliveira

João Paulo Bassin

Rio de Janeiro

Abril de 2017

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO A PARTIR DA
CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS

Fabírcia Maria Santana Silva

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA CIVIL.

Examinada por:

Prof. Claudio Fernando Mahler, D.Sc.

Dr. Luciano Basto Oliveira, D.Sc.

Prof. João Paulo Bassin, D.Sc.

Prof. Otto Corrêa Rotunno Filho, Ph.D.

Prof. Magali Christe Cammarota, D.Sc.

Prof. Isabelli do Nascimento Dias, D.Sc.

Prof. Marcelo de Miranda Reis, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

ABRIL DE 2017

Silva, Fabrícia Maria Santana

Avaliação da Produção de Hidrogênio e Metano a Partir da Codigestão Anaeróbia de Resíduos/ Fabrícia Maria Santana Silva. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2017.

XIX, 139 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Claudio Fernando Mahler

Luciano Basto Oliveira

João Paulo Bassin

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Civil, 2017.

Referências Bibliográficas: p. 118-139.

1. Hidrogênio. 2. Metano. 3. Resíduos orgânicos. 4. Lodo de ETE. 5. Glicerol. I. Mahler, Claudio Fernando *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Civil. III. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu marido, que mesmo distantes, se fizeram presentes em todos os momentos desta minha caminhada. Meu eterno agradecimento!

AGRADECIMENTOS

A Deus, força maior, por me amparar nos momentos difíceis e mostrar os caminhos nas horas incertas.

Aos meus pais, Ivan e Léa, por todo amor e pelas palavras de apoio e incentivo ao longo da minha vida. A presença de vocês me fortalece e me faz acreditar que com fé e perseverança tudo desafio pode ser superado.

Ao meu marido, Jorge Marques, pelo companheirismo, paciência e por compreender que o nosso amor é maior do que qualquer dificuldade e ausência física. Obrigada por estar sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino.

Aos meus familiares, em especial a minha irmã Patrícia Silva, pelo incentivo e por me amparar nos momentos mais difíceis.

A minha amiga e irmã, Ingrid Alves, por tantos anos de amizade e parceria. Muito obrigada por estar presente em todos os momentos da minha vida, me ajudando a enfrentar as dificuldades e compartilhando comigo as alegrias. Quero ter a oportunidade de estar ao seu lado, dividindo os sonhos e as próximas conquistas.

A minha “mãe loira”, Ivana França, pela torcida, amor e principalmente por todos os ensinamentos compartilhados.

Ao meu orientador, prof. Dr. João Bassin, pelo auxílio na realização dos experimentos e pela preciosa colaboração que amenizou as minhas dificuldades. Sua ajuda e amizade foram essenciais para a consolidação desta tese.

Ao meu orientador, prof. Dr. Claudio Mahler, pela oportunidade e auxílio durante a realização desta pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. Luciano Basto, pelo incentivo no desenvolvimento da tese e por todo o conhecimento compartilhado ao longo desses anos de amizade.

Aos meus queridos amigos, Flaviano Alves, Mariana Ladeira, Rosa Robertson e Ana Dolores, pelo enorme carinho e apoio que me proporcionaram ao longo desses anos de convivência.

Aos amigos do Laboratório de Controle de Poluição das Águas (LABPOL) pelas contribuições no desenvolvimento das análises físico-químicas e pelos inúmeros momentos de descontração.

A todos do Laboratório de Hidráulica do Instituto Militar de Engenharia (IME), em especial ao prof. Dr. Marcelo Reis, Sgto Marcelo Dias e técnico Carlos pelo apoio e parceria durante a fase inicial da pesquisa.

Ao Laboratório de Biocatálise (LABIC) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), em especial, à Viridiana Ferreira-Leitão, Livian Vasconcelos e Mariana Faber pelos ensinamentos na área de produção biológica de hidrogênio e pela parceria na realização das análises cromatográficas.

Ao Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), em especial à Maria Ângela (Janja), pela receptividade e realização das análises cromatográficas.

Ao Laboratório de Tecnologia Ambiental (LTA) da Escola de Química da UFRJ, em especial, à prof^a Magali Cammarota e Eduardo pela realização das análises cromatográficas.

Aos funcionários do Laboratório de Geotecnia da COPPE/UFRJ pela colaboração e auxílios prestados durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

A Raul Garcia pela amizade e auxílio para a realização desse trabalho.

Ao CENPES/Petrobrás, em especial a Márcio Portilho, pelo fornecimento do glicerol, à CEDAE, pelas coletas das amostras de lodo e à equipe de nutricionistas do restaurante universitário da UFRJ (RU Central) pelas amostras de resíduos orgânicos.

A CAPES pela bolsa concedida;

E por fim, a todos aqueles que de perto ou de longe acompanharam a minha trajetória pessoal e profissional e torceram pela minha vitória.

“Desistir... eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem mais chão nos meus olhos do que o cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos, do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”

Cora Coralina

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO A PARTIR DA CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS

Fabírcia Maria Santana Silva

Abril /2017

Orientadores: Claudio Fernando Mahler

Luciano Basto Oliveira

João Paulo Bassin

Programa: Engenharia Civil

A produção sequencial de hidrogênio e metano a partir da codigestão anaeróbia em duas fases (acidogênese e metanogênese) de resíduos orgânicos (RO), lodo de estação de tratamento de esgoto (LP) e glicerol bruto (GL), foi investigada em ensaios em batelada sob condições controladas de temperatura. O efeito da adição de glicerol (1 e 3% v/v), como cosubstrato, foi avaliado em misturas binárias (LP+GL e RO+GL) e ternárias (RO+LP+GL). A codigestão da mistura de lodo e glicerol não gerou hidrogênio. A presença de GL (1 e 3%), no entanto, aumentou a produção de hidrogênio nas demais condições testadas (RO+GL e RO+LP+GL) e reduziu o tempo de aclimação (fase *lag*) em aproximadamente 4 horas em comparação com os testes sem adição desse cosubstrato (experimento controle). A máxima produção de hidrogênio foi obtida nas amostras RO+GL e RO+LP+GL com o emprego de 3% de GL, para as quais foram atingidos 179 mL H₂/g SV e 260 mL H₂/g SV, respectivamente. Por outro lado, a maior produção de metano foi de 301 mL CH₄/g SV e 377,4 mL CH₄/g SV, valores obtidos nos testes com mistura binária e ternária com 1% de glicerol. A codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol bruto mostrou ser promissora, representando uma alternativa para maximizar a produção de energia e contribuir para a gestão e tratamento destes resíduos.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

EVALUATION OF HYDROGEN AND METHANE PRODUCTION FROM
ANAEROBIC CO-DIGESTION OF WASTE

Fabírcia Maria Santana Silva

April/2017

Advisors: Claudio Fernando Mahler

Luciano Basto Oliveira

João Paulo Bassin

Department: Civil Engineering

The sequential production of hydrogen and methane through anaerobic co-digestion in two phases (acidogenesis and methanogenesis) of organic waste (OW), sewage sludge (SS) and raw glycerol (GL), was investigated in batch assays under temperature controlled conditions. The effect of glycerol addition (1 and 3% v/v) as co-substrate was assessed in binary (SS+GL and OW+GL) and ternary (OW+SS+GL) mixtures. No hydrogen was generated from the co-digestion of the mixture of sewage sludge and glycerol. However, the presence of GL (1 and 3%) increased the hydrogen production in all tested conditions (OW+GL and OW+SS+GL) and reduced the acclimation time (lag phase) in around 4 hours in comparison with the tests carried out without this co-substrate (control experiment). Maximum hydrogen production was found to be 179 mL H₂/gVS and 260 mL H₂/gVS, obtained for the OW+GL and OW+SS+GL mixtures employing 3% GL, respectively. On the other hand, the highest methane production was 301 mL CH₄/gVS e 377,4 mL CH₄/gVS, values obtained with the binary and ternary samples with 1% GL. The co-digestion of organic waste, sewage sludge and raw glycerol has shown to be promising and can be potentially used to maximize energy production, while contributing for the management and treatment of these residues.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS.....	XV
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	XVIII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1.2 OBJETIVOS	5
1.2.1 <i>Objetivo geral</i>	5
1.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	5
1.3 ESTRUTURA DA TESE	6
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO COMO FONTE ENERGÉTICA	7
2.2 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO	10
2.3 ASPECTOS GERAIS DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ANAERÓBIA	11
2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM O PROCESSO FERMENTATIVO ANAERÓBIO.....	14
2.4.1 <i>Tipo de inóculo</i>	14
2.4.2 <i>pH</i>	17
2.4.3 <i>Temperatura</i>	19
2.4.4 <i>Modo operacional do reator</i>	20
2.4.5 <i>Substratos</i>	21
2.4.5.1 <i>Resíduos orgânicos municipais</i>	23
2.4.5.2 <i>Lodo de ETE</i>	26
2.4.5.3 <i>Glicerol da produção de biodiesel</i>	29
2.5 CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS	34
2.5.1 <i>Codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE com glicerol</i>	37
2.6 SISTEMA DE DIGESTÃO ANAERÓBIA EM DUAS FASES – PRODUÇÃO SEQUENCIAL DE HIDROGÊNIO E METANO	38
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 SUBSTRATOS	44
3.1.1 <i>Resíduos orgânicos</i>	44
3.1.2 <i>Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto (Lodo primário)</i>	45
3.1.3 <i>Glicerol bruto</i>	46
3.2 INÓCULO	46
3.3 SISTEMA DE DIGESTÃO ANAERÓBIA EM DUAS FASES - PRODUÇÃO DE H ₂ E CH ₄	46
3.3.1 <i>Procedimentos experimentais para os ensaios de BHP e BMP</i>	48
3.3.1.1 <i>Produção de hidrogênio (Fermentação acidogênica) - Ensaio BHP</i>	48
3.3.1.2 <i>Produção de metano (Metanogênese) – Ensaio BMP</i>	51
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	53
3.5 ANÁLISE DE DADOS.....	56

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS	58
4.1.1	<i>Resíduos orgânicos</i>	58
4.1.2	<i>Lodo de ETE</i>	63
4.1.3	<i>Glicerol</i>	66
4.2	PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO - PRIMEIRA FASE (FERMENTAÇÃO ACIDOGÊNICA) 67	
4.2.1	<i>Mistura Binária de lodo de ETE e glicerol</i>	67
4.2.2	<i>Mistura Binária de resíduos orgânicos e glicerol</i>	69
4.2.3	<i>Mistura Ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol</i>	76
4.2.4	<i>Análise da eficiência do uso de glicerol na fermentação acidogênica</i>	82
	4.2.4.1 Aspectos gerais	82
	4.2.4.2 Produção de Hidrogênio	90
4.3	PRODUÇÃO DE METANO - SEGUNDA FASE (METANOGÊNESE)	95
4.3.1	<i>Mistura binária de resíduos orgânicos e glicerol</i>	95
4.3.2	<i>Mistura ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol</i>	98
4.3.3	<i>Desempenho do sistema de duas fases na produção de metano</i>	102
	4.3.3.1 Aspectos gerais	102
	4.3.3.2 Produção de metano	104
4.4	ANÁLISE COMPARATIVA DOS ENSAIOS DE CODIGESTÃO A PARTIR DO SISTEMA DE DIGESTÃO ANAERÓBIA EM DUAS FASES.....	109
5	CONCLUSÕES.....	115
6	SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	117
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Oferta interna de energia no Brasil em 2015 (MME, 2016).....	7
Figura 2.2. Principais indústrias consumidoras de hidrogênio no mundo (adaptado de CHAUBEY et al., 2013).	9
Figura 2.3. Representação esquemática das etapas e microrganismos envolvidos no processo de digestão anaeróbia, bem como as reações de consumo de hidrogênio (Adaptada de CHERNICHARO, 1997).	13
Figura 2.4. Tendência de comportamento da produção de hidrogênio em uma ampla faixa de TDH (Adaptada de VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009).....	21
Figura 2.5. Fluxograma do processo de obtenção de biodiesel a partir da transesterificação (PARENTE, 2003).	29
Figura 2.6. Reação global do processo de transesterificação de triglicerídeo (óleos vegetais ou gordura animal) para produção de biodiesel (LÔBO, FERREIRA e CRUZ, 2009).	30
Figura 2.7. Rotas fermentativas e produtos finais da fermentação do glicerol (NAKAZAWA (2015), adaptado de BIEBL et al. (1999); da SILVA et al. (2009)).	33
Figura 2.8. Esquema da produção biológica de hidrogênio e metano em duas fases (Adaptado de HAWKES et al., 2002).	39
Figura 2.9. Esquema de uma planta em escala piloto para produção de hidrogênio e metano (Adaptado de LEE e CHUNG (2010)).	41
Figura 3.1. Esquema geral das etapas do quarteamento e processamento das amostras de resíduos orgânicos.....	44
Figura 3.2. Etapas envolvidas no sistema de digestão anaeróbia em duas fases para produção de H ₂ via fermentação acidogênica e produção de CH ₄ via metanogênese.	48
Figura 3.3. Aparato e procedimento experimentais utilizado para a realização dos Ensaios BHP e BMP.	49
Figura 3.4. Fluxograma do sistema de digestão anaeróbia em duas fases.	53
Figura 3.5. Ampola gasométrica para amostragem de gás conectada ao cromatógrafo a gás.	55
Figura 4.1. Caracterização gravimétrica dos resíduos orgânicos utilizados como substrato.	58

Figura 4.2. Comportamento do pH na codigestão de lodo de ETE e glicerol, durante 36 horas de fermentação acidogênica.	68
Figura 4.3. Remoção de matéria orgânica em termos de DQO, SV e carboidratos obtida na digestão de resíduos orgânicos sem e com a adição de glicerol após 36 horas de fermentação acidogênica.	70
Figura 4.4. Concentração de glicerol nas amostras de codigestão binária durante 36 horas de fermentação acidogênica.	72
Figura 4.5. Comportamento do pH na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol durante a fermentação anaeróbia.	72
Figura 4.6. Proporção dos compostos orgânicos gerados na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol.	73
Figura 4.7. Comportamento da produção de hidrogênio durante a codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de hidrogênio.	74
Figura 4.8. Produção de hidrogênio a partir de diferentes misturas de resíduos orgânicos e lodo de ETE. (A) Volume acumulado e (B) Produção específica e percentual de hidrogênio no biogás.	77
Figura 4.9. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e carboidratos obtida na codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE sem e com glicerol após 36 horas de fermentação acidogênica.	79
Figura 4.10. Comportamento do pH ao longo da codigestão anaeróbia de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol.	80
Figura 4.11. Comportamento da produção de hidrogênio durante a codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de hidrogênio.	81
Figura 4.12. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e proteínas por meio da codigestão de resíduos orgânicos sem e com a adição de glicerol, após 40 dias da fase metanogênica.	96
Figura 4.13. Comportamento do pH durante a digestão anaeróbia dos efluentes da fase acidogênica da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol.	97
Figura 4.14. Produção de metano ao longo do tempo a partir dos efluentes da etapa acidogênica da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de metano.	98
Figura 4.15. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e proteínas obtida por meio da codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE sem e com glicerol após 40 dias de fase metanogênica.	100

Figura 4.16. Comportamento do pH durante a digestão anaeróbia dos efluentes da codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE com e sem a adição de glicerol advindos do estágio acidogênico.	100
Figura 4.17. Comportamento da produção de metano a partir dos efluentes da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa específica de produção de metano.	101
Figura 4.18. Visão geral da produção de hidrogênio e metano por meio de um sistema de digestão anaeróbia em duas fases.	110
Figura 4.19. Comportamento do teor de hidrogênio e metano produzidos nos experimentos de codigestão binária e ternária por digestão anaeróbia em duas fases. (A e C) Hidrogênio - 36 horas de fermentação acidogênica e (B e D) Metano – 40 dias de metanogênese.	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Métodos de produção de hidrogênio a partir das três principais matérias-primas utilizadas.	9
Tabela 2.2. Diferentes tipos de inóculo e pré-tratamentos usados na produção de hidrogênio.....	17
Tabela 2.3. Faixas de pH testadas e valores ótimos de pH relatados a partir da fermentação anaeróbia de resíduos orgânicos.	18
Tabela 2.4. Resumo da degradação de substratos e de produção de hidrogênio na fermentação anaeróbia.	22
Tabela 2.5. Composição de diferentes componentes típicos dos resíduos alimentares (em % peso seco/matéria).....	24
Tabela 2.6. Rendimentos de hidrogênio por fermentação anaeróbia de resíduos orgânicos.	26
Tabela 2.7. Composição química e propriedades típicas do lodo bruto e digerido.	27
Tabela 2.8. Rendimentos de hidrogênio por fermentação anaeróbia de lodo de ETE....	28
Tabela 2.9. Caracterizações de glicerol bruto descritas na literatura.....	32
Tabela 2.10. Produção de hidrogênio a partir da codigestão anaeróbia de glicerol e outros substratos.	38
Tabela 2.11. Produção de hidrogênio e metano por um sistema de duas fases a partir da codigestão de resíduos.....	42
Tabela 3.1. Detalhamento das etapas, substratos e amostras utilizadas nos ensaios BHP e BMP.....	47
Tabela 3.2. Detalhamento das etapas, tipos de amostras e respectivos volumes utilizados nos ensaios para produção de hidrogênio.....	51
Tabela 3.3. Parâmetros e métodos utilizados para a caracterização das amostras.	54
Tabela 4.1. Comparação entre a composição física dos resíduos alimentares obtida nesse estudo e a reportada na literatura com base em resíduos de diferentes origens.	59
Tabela 4.2. Caracterização química dos resíduos orgânicos utilizados nesse trabalho. .	60
Tabela 4.3. Características químicas dos resíduos alimentares reportados na literatura.	62
Tabela 4.4. Composição de resíduos alimentares provenientes de diferentes fontes de origem (base % peso seco) (IACOVIDOU, OHANDJA e VOULVOULIS, 2012).....	63

Tabela 4.5. Caracterização química do lodo primário de ETE utilizado como substrato.	64
Tabela 4.6. Características físico-químicas de lodo de ETE reportados na literatura. ...	65
Tabela 4.7. Características químicas do glicerol bruto utilizado como cosubstrato nessa pesquisa.	67
Tabela 4.8. Caracterização físico-química das amostras, no início e final dos experimentos, com resíduo orgânico e glicerol (mistura binária), utilizados na fermentação acidogênica. Dados do experimento controle realizado somente com resíduo orgânico estão mostrados para fins de comparação.....	70
Tabela 4.9. Concentração dos principais produtos metabólicos formados na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol, após 36 h de fermentação acidogênica.	73
Tabela 4.10. Produção de hidrogênio no ensaio BHP a partir da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1% e 3%).....	76
Tabela 4.11. Caracterização físico-química das amostras, no início e final da fermentação acidogênica com resíduo orgânico, lodo de ETE e glicerol (mistura ternária) e apenas resíduos orgânicos e lodo de ETE (experimento controle).	78
Tabela 4.12. Produção de hidrogênio no ensaio BHP a partir da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1% e 3%).	82
Tabela 4.13. Comparação entre as taxas máximas de produção de hidrogênio para amostras dos ensaios de codigestão com mistura binária e ternária. O percentual de aumento em relação às amostras controles (desprovidas de glicerol) está igualmente indicado.	91
Tabela 4.14. Produção específica de hidrogênio obtida a partir da codigestão de diferentes resíduos em misturas binárias e ternárias (dados reportados na literatura e desse estudo).....	94
Tabela 4.15. Caracterização físico-química das amostras de misturas binárias (RO+GL1% e RO+GL3%) e da amostra controle (RO) no início e final da fase metanogênica.	96
Tabela 4.16. Produção de metano no ensaio BMP a partir dos efluentes da etapa acidogênica de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%).	98
Tabela 4.17. Caracterização físico-química das amostras de misturas ternárias (RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3%) e do experimento controle (RO+LP) no início e fim da fase de metanogênese.	99
Tabela 4.18. Produção de metano no ensaio BMP a partir dos efluentes da etapa acidogênica de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%).	102

Tabela 4.19. Produção específica de hidrogênio e metano a partir da codigestão de diferentes resíduos em misturas binárias e ternárias por um sistema de duas fases (dados reportados na literatura e neste estudo).....	108
Tabela 4.20. Resumo dos percentuais médios de remoção de matéria orgânica (em termos de DQO, SV e carboidratos) obtidos por digestão anaeróbia em duas fases. ...	109
Tabela 4.21. Eficiência de conversão em energia em termos de H ₂ e CH ₄ obtida no processo de digestão em duas fases.	112
Tabela 4.22. Comparação entre as eficiências de conversão em energia obtidas no processo de digestão em duas fases (presente estudo) e em fase única (Alves, 2016)..	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1,3-PDO	1,3-propanodiol
AOV	Ácidos orgânicos voláteis
AT	Alcalinidade total
AV	Ácidos voláteis totais
BHP	Potencial Bioquímico de Hidrogênio
BMP	Potencial Bioquímico de Metano
C/N	Relação carbono e nitrogênio
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CH ₃ COOH	Ácido acético
CH ₄	Gás metano
CO ₂	Gás carbônico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETE	Estação de tratamento de esgoto
FORSU	Fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos
g/L	Gramas por litro
H ₂	Gás hidrogênio
H ₂ S	Gás sulfídrico
Hac	Ácido acético
HBu	Ácido butírico
HBu/HAc	Relação ácido butírico/ácido acético
K	Kelvin
Kg/m ³	Quilograma por metro cúbico
KJ/g	QuiloJoule por grama
KJ/g SV	QuiloJoule por grama de sólidos voláteis
KJ/mol	QuiloJoule por mol
L/g SV	Litro por grama de sólidos voláteis
L/kg SV	Litro por quilograma de sólidos voláteis
m ³	Metro cúbico
mL/kg SV	Mililitros por quilograma de sólidos voláteis
mg/L	Miligramas por litro
MJ/kg	Megajoule por quilograma
mL/g SV	Mililitros por grama de sólidos voláteis
MPa	Megapascal
Mt Bbs/ano	Milhões de toneladas de biomassa base seca por ano
MTep	Milhões de toneladas equivalentes de petróleo
N ₂	Nitrogênio
NH ₃	Amônia
Nm ³ /ano	Normal metro cúbico por ano
NmL	Normal mililitros (0 °C, 1013 hPa)
NmL/g SV	Normal mililitros por grama de sólidos voláteis (0°C, 1013 hPa)
NTK	Nitrogênio total Kjeldahl

O ₂	Gás oxigênio
pH	Potencial hidrogeniônico
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
p/p	Peso por peso
p/v	Peso por volume
rpm	Rotações por minuto
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulico
UASB	Reator de fluxo ascendente e manta de lodo (<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>)
v/v	Volume por volume

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

O esgotamento das reservas e os danos ambientais causados pelo uso indiscriminado de combustíveis fósseis, sobretudo sólidos e líquidos, têm impulsionado o desenvolvimento de pesquisas sobre a oferta futura de energia. Neste sentido, estão em voga os temas sobre eficiência dos equipamentos de conversão energética, controle das emissões e incremento da utilização de fontes com menores fatores de emissão, como o gás natural, as renováveis e o hidrogênio (H₂).

Em comparação a outros combustíveis, o hidrogênio vem sendo apontado como uma alternativa promissora, por se tratar de um combustível sustentável com alto potencial energético (142 KJ/g) (VAN GINKEL, SUNG e LAY, 2001). Além disso, o hidrogênio é um vetor de energia versátil que pode ser utilizado diretamente em motores de combustão interna ou em células a combustível¹ para a produção de eletricidade (KOTAY e DAS, 2008). Como sua obtenção tradicional decorre de combustíveis fósseis, recaem sobre ele os mesmos riscos quanto ao esgotamento, ainda que conte com sistemas de conversão energética mais eficientes.

A produção de biocombustíveis (etanol, biodiesel, biometano e biohidrogênio, provenientes do biogás), apesar de solucionar a finitude dos fósseis, sofria críticas em função da necessidade de utilização de áreas para cultivo de biomassa que poderiam concorrer com a produção de alimentos, questão conhecida como “Segurança Alimentar”. Este quadro está sendo alterado com o desenvolvimento das tecnologias de aproveitamento de resíduos, em alguns casos definida como de segunda geração (2G).

O desenvolvimento de tecnologias para produção de H₂ a partir de biomassa é uma área que vem despertando interesse, devido à possibilidade de utilizar métodos biológicos para a sua produção. Dentre os métodos biológicos, a fermentação anaeróbia tem se destacado por ser uma tecnologia simples e, ao mesmo tempo, por permitir a obtenção de H₂ a partir do uso de uma grande variedade de substratos renováveis, incluindo rejeitos e produtos residuais (DAS, 2009), contribuindo com a sustentabilidade e a viabilidade do processo de produção de hidrogênio.

¹ Célula a combustível é um dispositivo eletroquímico em que a energia química é convertida diretamente em energia elétrica, com um baixo impacto ambiental (LUCIA, 2014).

Resíduos orgânicos municipais e lodo de estação de tratamento de esgoto (ETE) são os principais resíduos produzidos em áreas urbanas e, por serem matérias-primas facilmente disponíveis e em grandes quantidades, podem vir a fornecer energia de uma forma sustentável para comunidades locais (LEVIN *et al.*, 2007).

No Brasil, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), sancionada em 2010, prevê a redução na geração de resíduos e a destinação final ambientalmente adequada aliada ao uso de tecnologias que visam à recuperação energética e a disposição final adequada dos rejeitos em aterros sanitários, de modo a minimizar os impactos ambientais (BRASIL, 2010), no entanto, poucos avanços no setor foram observados desde a sanção, visto que das 64,4 milhões de toneladas (base úmida) ou cerca de 25,8 milhões de toneladas de biomassa em base seca por ano² (Mt Bbs/ano) de resíduos sólidos urbanos coletados no ano de 2014, entre domiciliares e públicos, cerca de 58,5% foram dispostos de forma inadequada em lixões e aterros controlados (BRASIL, 2016b).

Conforme composição gravimétrica média dos resíduos sólidos urbanos (RSU) coletados no Brasil, cerca de 50% é de matéria orgânica, aproximadamente 7,5 Mt Bbs/ano de resíduos orgânicos ainda são destinadas inadequadamente por ano no país (ALVES, 2016).

Ainda no setor de saneamento, no mesmo ano, o tratamento de esgoto atingiu apenas 40,8% da população brasileira (BRASIL, 2016c). No Brasil, a produção de lodo, principal resíduo das estações de tratamento de esgoto (ETE), foi cerca de 1 Mt de Bbs/ano, sendo a maioria não tratada (ALVES, 2016). No Rio de Janeiro, a quantidade de lodo gerada atinge 4.253 toneladas por ano e em todas as unidades o destino do lodo, após o tratamento, é o aterro sanitário (RIO, 2015). Os dados apontam a enorme dificuldade no gerenciamento desse tipo de resíduo.

Por outro lado, dentre os resíduos industriais, o glicerol bruto vem atraindo atenção em todo o mundo em decorrência da expansão da produção de biocombustíveis. O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel no mundo desde a instituição do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel em 2004, o qual prevê a adição gradual e crescente deste biocombustível ao diesel.

O aumento da mistura atual para 8% de biodiesel ao óleo diesel (chamada B8), comercializado em todo o território nacional, tornou-se obrigatória com a Lei nº

² Teor médio de umidade de 60%.

13.263/2016 (BRASIL, 2016a), que estabelece o aumento de 1% de biodiesel ao ano, no período de três anos, até atingir 10% (B10) em 2019, com perspectiva de elevar a mistura para 15% em 2020, caso testes validem a utilização dessa mistura em veículos e motores (MDA, 2017). A quantidade de biodiesel produzida no país aumentou nos últimos anos, atingindo 3,9 milhões de m³ em 2015 (ANP, 2016), dos quais cerca de 10% (p/p) da produção correspondem ao glicerol (YAZDANI e GONZALEZ, 2007). Embora o glicerol tenha diversas aplicações industriais, a quantidade atual produzida não é totalmente absorvida pelo mercado (MARU *et al.*, 2013). O volume excedente, a desvalorização comercial e as preocupações com a estocagem e destinação estimulam o desenvolvimento de novas formas de aproveitamento desse produto.

Neste contexto, há uma necessidade iminente de reduzir a quantidade de resíduos dispostos em aterros e, principalmente, desenvolver soluções alternativas sustentáveis para o tratamento. A digestão anaeróbia aparece como uma opção promissora para solucionar tais necessidades e para atender a crescente demanda de energia a partir da valorização dos resíduos orgânicos como fonte de energia renovável.

A biotransformação de resíduos orgânicos em biogás pode ser considerada uma alternativa interessante para o aproveitamento de resíduos problemáticos e de difícil disposição, permitindo alcançar benefícios do ponto de vista ambiental (redução do volume/estabilização do material e dos impactos ambientais com o descarte inadequado), econômico (valorização energética na forma de gás de grande valor agregado e gerenciamento de resíduos com baixo custo) (ALIBARDI e COSSU, 2015; HAN *et al.*, 2005; KAPDAN e KARGI, 2006; PATEL, KUMAR e KALIA, 2012; WONG, WU e JUAN, 2014) e político (melhorias na gestão e atendimento às normas estabelecidas pela PNRS). Além disso, a conversão biológica de glicerol representa um caminho promissor para alcançar a viabilidade econômica no setor dos biocombustíveis (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009).

O processo convencional de digestão anaeróbia não permite a obtenção de H₂, produto intermediário, sendo necessária a interrupção do processo para obtenção desse tipo de gás. Tipicamente, apenas de 10 a 20% da energia contida no substrato orgânico é convertido em H₂ na fase acidogênica, mas este passo pode contribuir para hidrolisar e pré-fermentar a matéria orgânica, tornando-a mais disponível na etapa posterior, a metanogênese. A produção de biohidrogênio a partir de resíduos orgânicos é geralmente acompanhada pela produção de ácidos orgânicos, que são substratos adequados para a produção de metano (PAGLIACCIA *et al.*, 2015).

O processo de digestão anaeróbia em um sistema de duas fases consiste, basicamente, em separar fisicamente as fases de produção de H₂ e CH₄ (acidogênese e metanogênese) em reatores distintos. O hidrogênio é produzido na primeira fase, denominada fermentação anaeróbia, enquanto o metano é produzido na fase posterior de metanogênese. Dessa forma, a aplicação desse tipo de sistema pode aumentar a eficiência de conversão em energia na forma de dois gases com elevado poder de combustão e, simultaneamente, reduzir o potencial poluidor de diferentes resíduos (LIU *et al.*, 2013).

A escolha do substrato também desempenha um papel importante na digestão anaeróbia, seja em termos de rendimento de gás ou de economia do processo. Resíduos orgânicos e lodo de ETE são substratos que se destacam por suas características, baixo custo e disponibilidade, sendo potencialmente favoráveis à produção de biogás por codigestão (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014). A codigestão, digestão simultânea de dois ou mais substratos, pode proporcionar melhorias no rendimento de biogás devido ao fornecimento de nutrientes adicionais a partir dos cosubstratos, na estabilidade do processo e nos custos através do processamento de diferentes resíduos em uma única instalação (WU *et al.*, 2016).

A maior parte dos estudos relatados na literatura concentra a atenção na produção sequencial de H₂ e CH₄ tendo com substratos apenas resíduos orgânicos (CHU *et al.*, 2008; HAN *et al.*, 2005; LEE e CHUNG, 2010; PISUTPAISAL, NATHAO e SIRISUKPOKA, 2014; WANG e ZHAO, 2009). Alguns estudos têm demonstrado o aumento no rendimento da produção de H₂ a partir da codigestão de resíduos orgânicos com lodo de ETE (KIM *et al.*, 2013; KIM, HAN e SHIN, 2004; SREELA-OR *et al.*, 2011; TYAGI *et al.*, 2014; ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA, 2013; ZHU *et al.*, 2008), porém poucos relatam a codigestão desses resíduos na produção de CH₄ utilizando um sistema de duas fases, cujos resultados são comumente significativos comparados à digestão anaeróbia em fase única (LIU *et al.*, 2013; SIDDIQUI, HORAN e SALTER, 2011).

Alguns estudos exploraram a produção de H₂ a partir da codigestão de resíduos orgânicos ou lodo de ETE com glicerol bruto, como cosubstrato (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009; RIVERO, SOLERA e PEREZ, 2014; SITTIJUNDA e REUNGSANG, 2012b; ZAHEDI *et al.*, 2016), porém não há relatos da produção de H₂ e nem de CH₄ por um sistema de duas fases a partir da mistura desses três resíduos (mistura ternária). Tal fato evidencia a necessidade de buscar novas informações referentes à produção de

H₂ por fermentação anaeróbia e, subsequentemente, CH₄, a partir da codigestão de resíduos.

O presente estudo permite uma análise da produção de H₂ a partir da codigestão de resíduos orgânicos municipais e lodo de ETE, em misturas binárias e ternárias, tendo o glicerol como cosubstrato. O tratamento anaeróbio em um sistema de duas fases possibilita a obtenção de bioenergia através da recuperação de H₂ e CH₄ de forma separada, sendo também uma alternativa para o tratamento de resíduos altamente poluidores. Por fim, os resultados deste trabalho poderão fornecer informações úteis e inovadoras para o desenvolvimento de sistemas de tratamento a partir da codigestão de resíduos, contribuindo também para diversificação da matriz energética brasileira.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a produção sequencial de hidrogênio e metano a partir da codigestão anaeróbia em duas fases de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol bruto.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência do glicerol, como cosubstrato, na produção de hidrogênio a partir da codigestão de resíduo orgânico e lodo de ETE em misturas binárias e ternárias (etapa acidogênica);
- Avaliar a produção de metano a partir das amostras de misturas binárias e ternárias oriundas da fase acidogênica (etapa metanogênica);
- Analisar o desempenho do sistema de digestão anaeróbia em duas fases através da produção conjunta de hidrogênio e metano, remoção de matéria orgânica e recuperação de energia.

1.3 Estrutura da Tese

A tese encontra-se estruturada em revisão bibliográfica, na qual estão contextualizados os principais fundamentos teóricos que embasam o assunto, destacando a produção de hidrogênio e metano por via biológica, os aspectos gerais e os fatores que influenciam a digestão anaeróbia. Além disso, são apresentados também os aspectos relacionados aos benefícios da codigestão e da produção sequencial de hidrogênio e metano por meio de um sistema de digestão anaeróbia em duas fases.

Posteriormente, no item materiais e métodos, estão descritos a caracterização dos resíduos utilizados como substratos (resíduos orgânicos municipais, lodo de ETE e glicerol), os procedimentos experimentais para a produção de hidrogênio e metano nos ensaios com misturas binárias ou ternárias e os métodos analíticos utilizados ao longo da pesquisa. Os resultados de cada etapa do estudo e a discussão deles, baseada em estudos correlatos publicados na literatura, são mostrados em seguida. Por fim, as principais conclusões obtidas e os pontos relevantes da contribuição científica deste trabalho e sugestões para pesquisas futuras completam a presente tese.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Panorama da produção de hidrogênio como fonte energética

Estima-se que o consumo mundial de energia irá crescer 48% até 2040 e que os combustíveis fósseis (carvão, gás natural e petróleo) continuarão representando quase 80% dessa demanda (EIA, 2016). Por outro lado, apesar do domínio dos combustíveis fósseis, existe uma necessidade iminente de diversificar a matriz energética atual por meio do uso de fontes renováveis e com baixo impacto ambiental.

Em 2015, as fontes renováveis contribuíram com 41,2% da participação na demanda total de energia no Brasil. Atualmente, o etanol e a queima do bagaço representam a segunda maior fonte energética brasileira, representando 41,1% do consumo em relação às fontes renováveis, perdendo apenas para o petróleo, com cerca de 63,4% dentre as fontes não renováveis. Este indicador faz da matriz energética brasileira uma das mais limpas do mundo, visto que as energias renováveis representam apenas 14,2% da matriz energética mundial (MME, 2016). A Figura 2.1 ilustra a estrutura da oferta interna de energia no Brasil no ano de 2015.

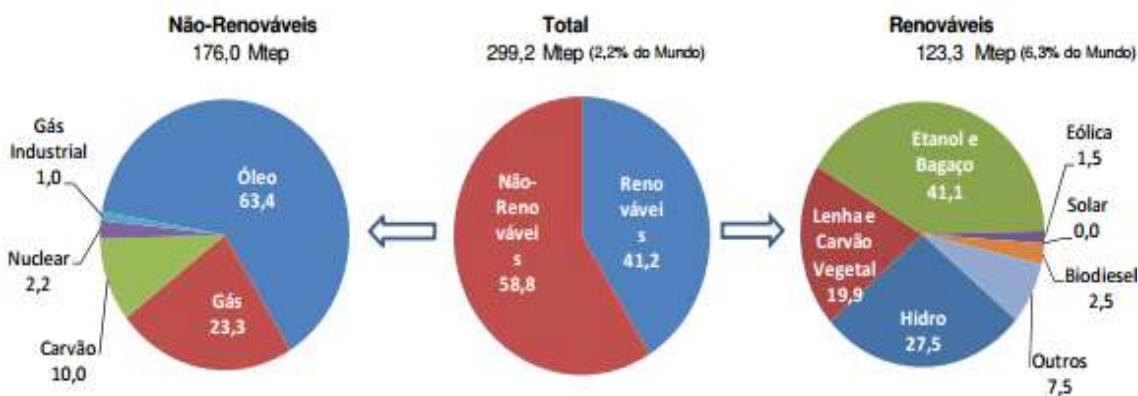


Figura 2.1. Oferta interna de energia no Brasil em 2015 (MME, 2016).

O aumento da demanda energética mundial associado às preocupações em relação ao aumento dos preços e escassez dos combustíveis fósseis, bem como à necessidade de reduzir os danos provocados pelo processo de mudanças climáticas, aceleram a busca por fontes de energia renováveis (HALLENBECK, 2009).

A biomassa é uma das fontes para produção de energia com maior potencial de crescimento, sendo considerada uma das principais alternativas para a diversificação da matriz energética e a consequente redução da dependência dos combustíveis fósseis

(ANEEL, 2008). Biocombustíveis líquidos ou gasosos (bioetanol, biodiesel e biogás) derivados da biomassa apresentam potenciais benefícios relacionados com redução de gases de efeito estufa, sustentabilidade e custo de produção relativamente baixo (AL-HAMAMRE *et al.*, 2017).

Em meio às alternativas energéticas não poluentes, o gás H₂ vem ganhando destaque como combustível alternativo e tende a desempenhar um papel importante nos sistemas energéticos nas próximas décadas. A biomassa é uma opção de matéria-prima com grande potencial para produção de biogás, porém ainda pouco explorada.

O hidrogênio é um carreador de energia altamente eficiente, com um conteúdo energético na ordem de 142 KJ/g, cerca de 2,75 vezes maior quando comparado a combustíveis à base de hidrocarbonetos, tais como o metano (55,7 KJ/g), gás natural (50 KJ/g), biodiesel (37 KJ/g) e etanol (29,9 KJ/g). Além disso, sua combustão direta libera apenas vapor d'água como produto final, não havendo emissão de gases de efeito estufa (DAS, 2009; KOTAY e DAS, 2008; WONG, WU e JUAN, 2014; ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA, 2013). Do ponto de vista comercial, existem pesquisas promissoras com veículos contendo célula a combustível realizadas por grande montadoras como Toyota, Mercedes e Honda (RAHMAN *et al.*, 2016).

A produção mundial de H₂ é de cerca de 500 milhões de Nm³/ano, sendo a maior parte desta obtida a partir de combustíveis fósseis, tipicamente por reforma a vapor do gás natural e gaseificação do carvão (LEE *et al.*, 2014). De acordo com Ehsan e Wahid (2016), os recursos renováveis irão compartilhar 36% e 69% do total da demanda de energia global em 2025 e 2050, respectivamente, dos quais o H₂ deverá contribuir com cerca de 11% em 2025 e 34% em 2050.

No Brasil, o Ministério de Minas e Energia vem, desde 2005, se empenhando no sentido de planejar a estruturação da Economia do Hidrogênio no país, no entanto, a inserção comercial de H₂, como combustível e fonte de energia, é prevista para depois de 2030 (MMA, 2014; MOREIRA *et al.*, 2013).

Os principais setores responsáveis pelo consumo global de H₂ são as indústrias de fertilizantes (produção de amônia) e as indústrias químicas/refinarias de petróleo (produção e melhoramento de combustíveis) (Figura 2.2). Além destes, ele também é utilizado em indústrias eletrônicas (fabricação de semicondutores), siderúrgicas e alimentícias (produção de gorduras hidrogenadas) (CHAUBEY *et al.*, 2013).

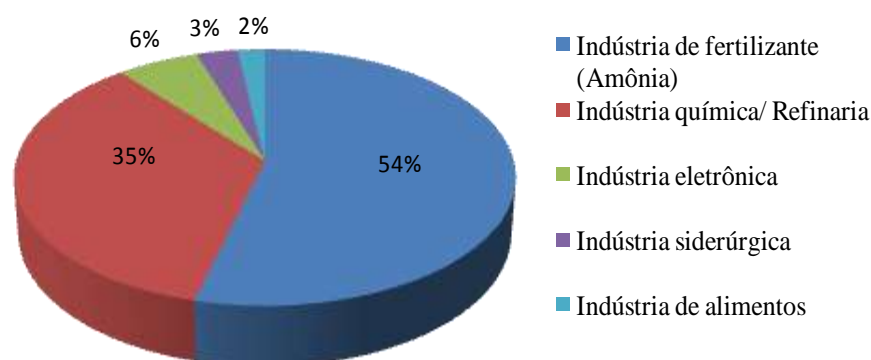


Figura 2.2. Principais indústrias consumidoras de hidrogênio no mundo (adaptado de CHAUBEY *et al.*, 2013).

O H_2 é produzido a partir de fontes naturais, principalmente combustíveis fósseis, água e biomassa, e por diferentes métodos de produção químicos e biológicos (CHAUBEY *et al.*, 2013). Na Tabela 2.1 estão descritos os métodos utilizados para a produção de H_2 com base no tipo de matéria-prima utilizada.

Tabela 2.1. Métodos de produção de hidrogênio a partir das três principais matérias-primas utilizadas.

Matérias-Primas	Métodos
Combustíveis fósseis	Reforma a vapor do gás natural
	Oxidação parcial de hidrocarbonetos pesados
	Gaseificação do carvão
Água	Eletrólise da água
	Processos foto-eletrólise
	Processos termoquímicos
Biomassa	Processos biológicos (biofotólise da água, foto-fermentação e fermentação anaeróbia)
	Gaseificação da biomassa
	Reforma a vapor do etanol
	Reforma em fase líquida

Fonte: SÁ, CAMMAROTA e FERREIRA-LEITÃO (2014).

Entre os métodos supracitados, estima-se que a reforma do gás natural contribui com cerca de 40% da produção de H_2 , seguido pela oxidação de petróleo bruto e nafta – 30%, gaseificação do carvão – 18% e eletrólise da água – 4%. A produção de H_2

utilizando biomassa contribui com apenas 1% da produção total (DAS, 2009). No cenário atual, mais de 96% da produção mundial de H₂ é gerada a partir de combustíveis fósseis, prática um tanto que contraditória, uma vez que um combustível limpo é produzido a partir de fontes não renováveis e poluentes (VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009; WONG, WU e JUAN, 2014).

A produção de H₂ por meio da reforma a vapor de gás natural é obtida em elevadas temperaturas e pressão, 970–1100K até 3,5 MPa, de modo que quantidade apreciável de energia é requerida para esse processo (KOTHARI, BUDDHI e SAWHNEY, 2008). Tal cenário corrobora a necessidade de desenvolver pesquisa para ampliar o uso de recursos renováveis (biomassa) e métodos mais sustentáveis, a exemplo daqueles que fazem uso de sistemas biológicos.

Estudos comparativos sobre os processos disponíveis atualmente indicam que a produção de H₂ exige melhorias, principalmente em relação ao uso de matérias-primas mais baratas (DAS e VEZIROGLU, 2001). Além disso, inúmeros trabalhos têm demonstrado a viabilidade do uso de fermentação na produção de H₂ utilizando resíduos orgânicos como principal fonte de carbono (ALZATE-GAVIRIA *et al.*, 2007).

2.2 Produção biológica de hidrogênio

A produção biológica de H₂ (também referida como produção de biohidrogênio) pode ocorrer por meio de diferentes processos classificados em: biofotólise da água, realizada por algas verdes (direta) e cianobactérias (indireta), foto-fermentação de compostos orgânicos por bactérias fotossintetizantes, fermentação anaeróbia ou fermentação escura de compostos orgânicos por meio de bactérias fermentativas e sistemas híbridos, nos quais a produção é feita por bactérias fotossintetizantes e fermentativas (DAS e VEZIROĞLU, 2001).

Em uma breve descrição dos processos biológicos, Brentner, Peccia e Zimmerman (2010) citam que na biofotólise direta as algas verdes utilizam a energia luminosa para decompor a molécula de água em hidrogênio e oxigênio (O₂) sob condições anaeróbias. Na biofotólise indireta, cianobactérias utilizam a energia armazenada nos carboidratos produzidos na fotossíntese para formar H₂ a partir da água. A foto-fermentação é realizada por bactérias púrpuras não sulfurosas que utilizam a energia luminosa para transformar ácidos orgânicos em H₂ e gás carbônico (CO₂). E, por fim, a fermentação anaeróbia é um processo pelo qual bactérias anaeróbias estritas

ou facultativas, tais como *Clostridium*, *Escherichia* e *Enterobacter* entre outras, convertem carboidratos em H₂ e em outros subprodutos gasosos, independente de luz. Os processos supracitados podem ser combinados entre si, em sistemas híbridos, aumentando as possibilidades de produção de H₂.

Os processos biológicos consistem em alternativa promissora em relação aos métodos químicos convencionais, visto que são normalmente operados à temperatura e pressão ambientes, proporcionando um menor gasto de energia (MOHAN, BABU e SARMA, 2007). Além disso, esses processos são adequados para a produção descentralizada de energia, em instalações de pequena escala e em locais onde a biomassa ou resíduos estão disponíveis, evitando os custos com o transporte (KOTAY e DAS, 2008).

A fermentação anaeróbia destaca-se por ser um processo de operação simples e que possibilita o uso de uma ampla variedade de resíduos sólidos orgânicos e efluentes como substratos (LAY, LEE e NOIKE, 1999), no entanto, durante a produção de H₂ por este método, apenas 10-20% do substrato (no máximo 30%) é utilizado na produção de gás; o restante é convertido em outros produtos metabólicos (etanol, ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, entre outros). Esse percentual é baixo se comparado ao rendimento de metano (CH₄) obtido por meio da digestão anaeróbia convencional, o qual se situa na faixa de 80-90% (COONEY *et al.*, 2007).

2.3 Aspectos gerais do processo de fermentação anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo natural que ocorre em quatro estágios bioquímicos consecutivos em que grupos distintos de microrganismos (bactérias e arqueas) degradam compostos orgânicos complexos em produtos mais simples na ausência de oxigênio. De modo simplificado, o processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em duas etapas: fermentação e metanogênese. A etapa de fermentação, por sua vez, pode ser subdividida em três fases: hidrólise, acidogênese e acetogênese (PALMISANO e BARLAZ, 1996).

Na fase de hidrólise, as bactérias hidrolíticas produzem enzimas extracelulares que são liberadas para o meio a fim de promover a degradação de compostos orgânicos complexos (carboidratos, lipídios e proteínas) em compostos orgânicos mais simples (açúcares, ácidos graxos e aminoácidos). Na acidogênese, bactérias fermentam os produtos hidrolisados e produzem ácidos orgânicos voláteis (acético, butírico,

propiônico entre outros), álcoois (etanol e butanol), H_2 e CO_2 . Em seguida, na fase de acetogênese, as bactérias acetogênicas ou produtoras de H_2 convertem os produtos gerados na acidogênese em acetato, H_2 e CO_2 . Ainda nessa fase do processo, bactérias homoacetogênicas ou consumidoras de H_2 utilizam o H_2 e CO_2 para produzir acetato, principal precursor do CH_4 (AQUINO e CHERNICHARO, 2005; VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009).

Além disso, bactérias redutoras de sulfato de oxidação parcial são consideradas acetogênicas. Sob baixas concentrações de sulfato, utilizam substratos orgânicos, tais como lactato, e formam acetato e H_2 , os quais são utilizados pelas arqueas metanogênicas. Entretanto, sob altas concentrações de sulfato, esses microrganismos podem inibir a metanogênese, competindo pelo mesmo substrato (acetato, H_2 , CO_2) que as arqueas metanogênicas para geração de gás sulfídrico (H_2S) (CHERNICHARO, 1997; CHRISTY, GOPINATH e DIVYA, 2014).

Por fim, para uma degradação completa da matéria orgânica, o acetato, H_2 e CO_2 são convertidos em CH_4 e CO_2 pelas arqueas metanogênicas. A conversão do acetato é realizada pelas arqueas metanogênicas acetoclásticas, enquanto as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas utilizam H_2 e CO_2 para produção de CH_4 . Os microrganismos acetoclásticos contribuem com 70% do CH_4 produzido, e os 30% restantes são produzidos pela via hidrogenotrófica (AQUINO e CHERNICHARO, 2005; VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009).

A composição do biogás gerado no processo de digestão anaeróbia pode variar dependendo das características dos substratos e das condições operacionais. O biogás é composto tipicamente de CH_4 (40% - 75%), CO_2 (15% - 60%) e quantidades traço de água (5% - 10%), H_2S (0,005% - 2%), NH_3 (<1%), O_2 (0% -2%), entre outros (XIA, CHENG e MURPHY, 2016).

O hidrogênio é um produto intermediário produzido na etapa de fermentação (acidogênese) e consumido na etapa posterior (metanogênese ou sulfetogênese). Logo, para a sua obtenção, é necessário interromper o processo de digestão, estabelecendo condições favoráveis para a atividade das bactérias acidogênicas e, conseqüentemente, inibindo os microrganismos consumidores de H_2 (arqueas metanogênicas, as bactérias homoacetogênicas e as bactérias redutoras de sulfato) (NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010). A Figura 2.3 ilustra as fases da digestão anaeróbia, os grupos microbianos envolvidos e suas respectivas rotas de consumo de H_2 .

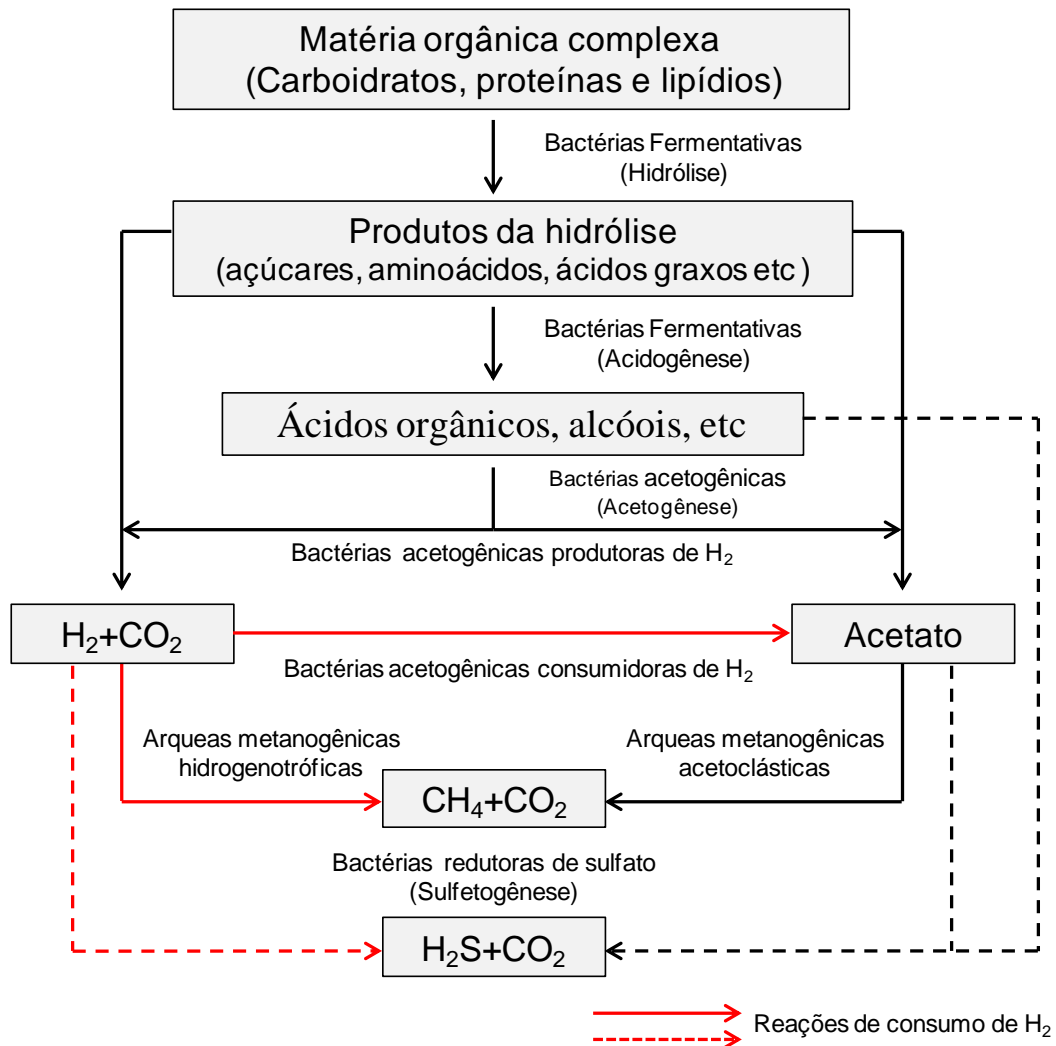
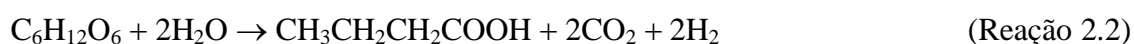
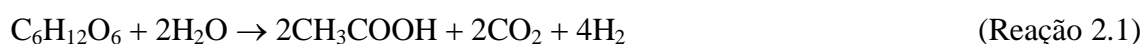


Figura 2.3. Representação esquemática das etapas e microrganismos envolvidos no processo de digestão anaeróbia, bem como as reações de consumo de hidrogênio (Adaptada de CHERNICHARO, 1997).

A formação de ácidos orgânicos voláteis (AOV) e álcoois fornecem informações importantes sobre as vias metabólicas que serão seguidas por diferentes microrganismos. DONG *et al.* (2009) descrevem que os AOV podem desempenhar uma função estimuladora, inibidora ou mesmo tóxica para as bactérias fermentativas, dependendo de suas concentrações.

O ácido acético e ácido butírico são os principais produtos formados durante o processo de fermentação anaeróbia. A maior produção teórica de H_2 é obtida quando o produto final da fermentação é o ácido acético, contudo, na prática, os rendimentos mais elevados ocorrem com uma mistura de ácido acético e ácido butírico como produtos finais (REN *et al.*, 2006).

Com a formação de ácido acético e ácido butírico é possível obter, respectivamente, 4 e 2 moles de H₂ por mol de glicose consumida (Reações 2.1 e 2.2) (LEVIN, PITT e LOVE, 2004). Na prática, processos fermentativos produzem 2,4 a 3,2 moles de H₂ por mol de glicose e são facilmente reduzidos pela formação de ácido propiônico e etanol como produtos finais (REN *et al.*, 2006; HOLLADAY *et al.*, 2009).



Embora a fermentação anaeróbia atraia notável atenção, alguns desafios tecnológicos precisam ser superados para melhorar a produção de H₂, tais como: baixo rendimento de H₂ devido à coformação de metabólitos solúveis, principalmente ácidos orgânicos voláteis e álcoois, necessidade de pré-tratamento do inóculo, escolha e ajuste do processo de purificação (SIVAGURUNATHAN *et al.*, 2016; THI, LIN e KUMAR, 2016).

2.4 Fatores que influenciam o processo fermentativo anaeróbio

A produção biológica de H₂ é influenciada por vários parâmetros físico-químicos e condições operacionais que afetam diretamente o metabolismo microbiano e, conseqüentemente, o rendimento final do biogás obtido. O tipo de inóculo, temperatura, pH, configuração e modo operacional do reator e composição do substrato são alguns desses fatores.

2.4.1 Tipo de inóculo

Uma enorme diversidade de microrganismos anaeróbios estritos ou facultativos é capaz de produzir H₂ via fermentação anaeróbia, sob a forma de culturas puras de bactérias produtoras de H₂ selecionadas ou consórcio microbiano (culturas mistas) provenientes de ambientes naturais.

Dentre as espécies típicas produtoras de H₂ destacam-se às pertencentes aos gêneros *Clostridium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Thermotoga* (XIA, CHENG e MURPHY, 2016). Os dois primeiros grupos são

caracterizados pela formação de endosporos³ em resposta às condições ambientais de estresse (altas temperaturas, desidratação, limitação nutricional, acidez e alcalinidade extremas) (CHEONG e HANSEN, 2006; HAWKES *et al.*, 2002). A seleção e a utilização de cada tipo de cultura devem ser feitas levando em consideração requisitos operacionais e econômicos.

Em comparação ao uso de culturas puras, as culturas mistas são mais estáveis e mais facilmente adaptáveis às mudanças no meio, incluindo limitação de substrato e variações de pH e temperatura. Obtidas a partir de diversas fontes (ex. lodo de ETE, composto, estrume, entre outros), consórcios microbianos mistos favorecem a aplicação comercial em grande escala e em fluxo contínuo devido à simplicidade e ao baixo custo global do processo, uma vez que não requerem condições estéreis. Além disso, esse tipo de inóculo permite o uso de uma ampla variedade de substratos complexos (BRENTNER, PECCIA e ZIMMERMAN, 2010; NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010; WONG, WU e JUAN, 2014).

A principal desvantagem na utilização de culturas mistas como inóculo para a produção de H₂ é a presença de microrganismos consumidores desse gás (arqueas metanogênicas, bactérias homoacetogênicas e bactérias sulfato/nitrato redutoras), os quais podem inviabilizar o processo.

Quando se opta por trabalhar com uma cultura mista, há a necessidade de submeter o inóculo a um pré-tratamento, cuja principal finalidade é preservar a atividade de espécies produtoras de H₂ (bactérias fermentativas acidogênicas) e inibir a atividade das bactérias consumidoras de H₂, as quais, em geral, apresentam-se mais sensíveis a alterações no meio (CHEONG e HANSEN, 2006). Em outras palavras, é preciso proporcionar condições operacionais que favoreçam somente a produção de H₂ e CO₂ em detrimento à produção de CH₄ e outros produtos (H₂S e NH₃).

Vários métodos de pré-tratamento do inóculo, incluindo choque térmico, acidificação, alcalinização, aeração, congelamento/descongelamento e uso de inibidores químicos (ex. Besa ou Ácido-2-bromoetanosulfônico), usados individualmente ou em conjunto para melhorar a eficiência do processo de produção de H₂, foram relatados na literatura (DONG *et al.*, 2010; HAWKES *et al.*, 2002; ROSSI *et al.*, 2011; WONG,

³ Células de “repouso” produzidas em condições de estresse e que permanecem vivas durante anos, voltando a se multiplicar assim que o ambiente se tornar favorável (TORTORA, FUNKE e CASE, 2005).

WU e JUAN, 2014). Parâmetros operacionais, como pH baixo e menor tempo de detenção hidráulica (TDH), também podem inibir a ação das arqueas metanogênicas (FALOYE, GUEGUIM KANA e SCHMIDT, 2013). Na Tabela 2.2 estão exemplificados alguns tipos de culturas mistas e pré-tratamentos utilizados na produção de H₂.

Dentre os tipos de pré-tratamento citados, o térmico tem sido apontado como o mais utilizado para minimizar o crescimento de microrganismos consumidores de H₂, sendo eficaz para processos descontínuos (batelada) (HAN e SHIN, 2004a; JAYALAKSHMI, JOSEPH e SUKUMARAN, 2009; KIM *et al.*, 2011b; KIM, HAN e SHIN, 2008; LEE *et al.*, 2010; SREELA-OR *et al.*, 2011a; ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA, 2013). De acordo com YASIN *et al.* (2013), a escolha pelo pré-tratamento térmico ocorre devido à simplicidade e por não necessitar de longos períodos de tempo em comparação com os tratamentos químicos (alcalino, ácido, entre outros). Os tratamentos químicos demandam pelo menos 24 h e a utilização de produtos químicos pode aumentar os custos do processo. No tratamento térmico, a temperatura pode variar de 65 a 105 °C e o tempo de aquecimento de 15 minutos a 2 horas (Tabela 2.2).

O tratamento térmico seleciona as bactérias formadoras de endosporos resultando em uma comunidade microbiana mais homogênea em comparação com inóculos não tratados termicamente, nos quais a diversidade microbiana é maior (KRAEMER e BAGLEY, 2007). O pré-tratamento térmico é capaz de interromper a ação das arqueas metanogênicas, no entanto, não inibe o consumo de H₂ por alguns grupos de bactérias homoacetogênicas, os quais também formam endosporos para sobreviver (OH, VAN GINKEL e LOGAN, 2003). BAGHCHEHSARAEI *et al.* (2008) indicaram que inóculos pré-tratados termicamente podem melhorar cerca de 7 vezes a produção de H₂ em comparação com inóculos não tratados.

Tabela 2.2. Diferentes tipos de inóculo e pré-tratamentos usados na produção de hidrogênio.

Substrato	Inóculo	Pré-Tratamento	Referências
Efluente sintético	Composto/ solo	Térmico: 104 °C/ 2h	GINKEL, SUNG e LAY (2001)
Mistura de cascas de frutas	Estrume de vaca	Ácido: 24h Térmico: 105 °C/ 1h	VIJAYARAGHAVAN, AHMAD e SONING (2007)
Resíduos alimentares	Lodo digerido anaeróbio	Térmico: 80 °C/ 30 min	NAZLINA <i>et al.</i> (2009)
FORSU	Lodo digerido de ETE	Térmico: 100 °C/30 min	DONG <i>et al.</i> (2010)
Glicerol	Lodo anaeróbio - UASB	Térmico: 100 °C/15 min Acidificação: 24h Alcalinização: 24h Congelamento/ descongelamento: - 10 °C/ 24 h e 30 °C/ 6h Secagem e dessecação – 105 °C/ 2h	ROSSI <i>et al.</i> (2011)
Biomassa residual	Lodo anaeróbio	Ácido-2-bromoetano-sulfônico Térmico: 105 °C/ 2h Aeração	GHIMIRE <i>et al.</i> (2015)
Glicose	Lixiviado de aterro	Térmico: 65 °C/ 30 min	WONG <i>et al.</i> (2014)

2.4.2 pH

A seleção do pH adequado é fundamental para aumentar a produção de H₂, devido aos efeitos desse parâmetro sobre a atividade enzimática (hidrogenase) e vias metabólicas. Além disso, pode também afetar o rendimento de produção de H₂ por meio de culturas mistas e os tipos de comunidades bacterianas presentes no meio fermentativo (CHEONG e HANSEN, 2006; TEMUDO *et al.*, 2008).

Valores de pH na faixa de 5,0 a 6,0 são muitas vezes considerados ideais para evitar a metanogênese, por conseguinte, aumentar a geração de H₂. Em contrapartida, valores de pH inferiores a 4,5 afetam negativamente a atividade da enzima hidrogenase, enquanto que valores superiores a 7 favorecem o consumo direto de H₂ pelos microrganismos metanogênicos e homoacetogênicos. Para manter as condições dentro

de uma faixa ótima, o ajuste de pH com a adição de ácido ou base exógenos é muitas vezes proposto como uma solução de controle da fermentação em condições de laboratório (TENCA *et al.*, 2011)

Estudos relatam que valores de pH na faixa entre 4,5 - 7 podem ser considerados ideais para a produção de H₂, conforme apresentado na Tabela 2.3. Embora os valores ótimos de pH para a produção de H₂ por fermentação anaeróbia sejam bastante controversos, o pH inicial de 5,5 é o mais comumente utilizado em reatores operados em batelada, sendo esse valor relacionado aos melhores rendimentos de gás (DONG *et al.*, 2009; GUO *et al.*, 2010; KAPDAN e KARGI, 2006; KIM, KIM e SHIN, 2009; VAN GINKEL, SUNG e LAY, 2001).

Tabela 2.3. Faixas de pH testadas e valores ótimos de pH relatados a partir da fermentação anaeróbia de resíduos orgânicos.

Substrato	pH		Referências
	Valor/Faixa (Testado)	Valor/Faixa (Ótimo)	
FORSU	5,7	-	ALZATE-GAVIRIA <i>et al.</i> (2007)
Resíduo de alimento + efluente da fabricação de azeite	4,5 - 6,5	6,5	CAPPAI <i>et al.</i> (2014)
Arroz, batata, alface, carne magra, óleo, gordura e folhas	5,5	-	DONG <i>et al.</i> (2009)
Vegetais	5,5 - 7,0	6,0 - 7,0	LEE <i>et al.</i> (2008)
	6,0 (inicial)	-	LEE <i>et al.</i> (2010)
	5,5	-	LEE e CHUNG (2010)
	5,5	-	CHU <i>et al.</i> (2008)
Resíduo de alimento	5,3 - 5,6	-	LI <i>et al.</i> (2008)
	5,0	-	KIM, KIM e SHIN (2009)
	5,0 - 6,0	5,5	SHIN e YOUN (2005)
	4,5 - 5,5 - 6,0	4,5	SHIN, YOUN e KIM (2004)
Resíduo de alimento + Lodo de ETE	8,0 (inicial) 6,0 (operação)	-	KIM <i>et al.</i> (2011a)
	7,0 (inicial)	5,5-6,0	ZHU <i>et al.</i> (2008a)

Fonte: Adaptada de CAPPAI *et al.* (2014).

Bactérias formadoras de endosporos tais como as espécies do gênero *Clostridium* são tolerantes a valores de pH elevado. Por outro lado, bactérias anaeróbias facultativas, tais como espécies de *Enterobacter* e *Klebsiella*, produzem H₂ em uma faixa de pH ótima muito restrita, particularmente entre 5,0 e 6,0 (ROSSI *et al.*, 2011). Segundo VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO (2009), alterações de pH em torno de 0,5 a partir da faixa ótima determinada podem ocasionar a diminuição de até 20% da produção de H₂.

Alterações nas vias metabólicas fermentativas e formação de subprodutos também são influenciados em valores de pH na faixa ácida. TEMUDO *et al.* (2008) investigaram a fermentação anaeróbia por cultura mista em diferentes valores de pH (4-8,5) e com três substratos (glicose, glicerol e xilose). Segundo os autores, em valores de pH baixos (4-5,5) os principais produtos formados consistiam principalmente em butirato e acetato. Contudo, em valores de pH elevados (7-8,5) houve uma maior formação de acetato e etanol.

2.4.3 Temperatura

A fermentação anaeróbia pode ser realizada em uma ampla faixa de temperatura. Grande parte dos estudos acerca da produção de H₂ com culturas mistas, no entanto, foi realizada em condições mesofílicas (25-40 °C), pois permite obter bons resultados com menores gastos de energia. Além disso, essa faixa de temperatura é mais fácil de ser controlada em escala laboratorial e industrial e oferece menor sensibilidade às alterações ambientais em relação às demais condições de temperatura (KOTHARI, 2014; MAO *et al.*, 2015; YASIN *et al.*, 2013). Há também a possibilidade de realizar a fermentação anaeróbia em condições termofílicas (45-60 °C), termofílicas extremas (65-80 °C) ou ainda hipertermofílicas (80 °C) (LEVIN, PITT e LOVE, 2004).

A condição ótima para cada processo vai depender do tipo e origem do inóculo, da quantidade de substrato biodegradável e das condições operacionais do sistema. Temperaturas fora da faixa apropriada restringem a produção de H₂, de modo que esse é um fator crucial para a fermentação anaeróbia (GUO *et al.*, 2010; WONG, WU e JUAN, 2014).

LEVIN, PITT e LOVE (2004) reportaram que uma maior diversidade de microrganismos produtores de H₂ foi encontrada em condições de temperaturas mesofílicas. Por outro lado, SHIN, YOUN e KIM (2004) compararam a produção de H₂

a partir de resíduos alimentares em condições mesofílicas e termofílicas e concluíram que o aumento da temperatura promove o aumento da taxa de hidrólise do substrato, resultando em maiores rendimentos de H₂.

2.4.4 Modo operacional do reator

A configuração do reator é considerada um fator crucial para o processo de produção biológica de H₂. De modo geral, a configuração influencia diretamente as condições do microambiente dentro do reator, a população microbiana dominante, o comportamento hidrodinâmico e o contato entre o substrato e os consórcios microbianos (NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010).

Diferentes configurações de reatores têm sido utilizadas para produzir H₂ via fermentação anaeróbia em escala de laboratório. Na grande maioria dos estudos, frascos de pequeno volume (100-500 mL) e fermentadores de 2 a 10 L (com agitação) são utilizados, os quais podem ser operados em regime de batelada, semicontínuo ou contínuo (DE GIOANNIS *et al.*, 2013).

Reatores em batelada são os mais utilizados em trabalhos de pesquisa, sendo mais adequados para fins de investigação em laboratório, no entanto, são menos eficientes em comparação aos sistemas semicontínuos ou contínuos. Em um contexto industrial, em grande escala, processos contínuos são mais recomendados por razões práticas de armazenamento e de ordem econômica (GUO *et al.*, 2010; LIN *et al.*, 2012).

Reatores do tipo tanque agitado contínuo (*continuous stirred tank reactor* – CSTR) são comumente utilizados em sistemas contínuos devido à facilidade de operação e construção e boa eficiência de mistura, bem como fácil controle da temperatura e do pH. Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*upflow anaerobic sludge blanket* – UASB), reator anaeróbio operado em batelada sequencial (Anaerobic Sequencing Batch Reactor - ASBR), Biorreatores de Membranas (MBR), reatores de leito fixo (*Packed-bed reactor*) ou empacotado, entre outros, também têm sido utilizados para a produção de H₂ (NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010; SÁ, CAMMAROTA e FERREIRA-LEITÃO, 2014).

A produção de H₂ nos diferentes tipos de reatores é influenciada por diversos parâmetros operacionais, dentre os quais se destaca o tempo de detenção hidráulica (TDH). TDH é um parâmetro de concepção importante uma vez que determina o tempo de contato entre os microrganismos e o substrato (tempo de reação) e consequentemente

a eficiência de remoção do substrato e sua conversão em produtos (ROMERO AGUILAR *et al.*, 2013). Tipicamente um baixo TDH favorece o crescimento de bactérias acidogênicas (tempo de geração de aproximadamente 30 minutos) e, conseqüentemente, rendimentos mais elevados de H₂. Por outro lado, em um elevado TDH, a taxa de produção de H₂ diminui progressivamente, favorecendo o crescimento das arqueas metanogênicas (tempo de geração de 2-3 dias) (AQUINO e CHERNICHARO, 2005; VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009). A tendência de comportamento da produção de H₂ em uma ampla faixa de TDH é ilustrada na Figura 2.4.

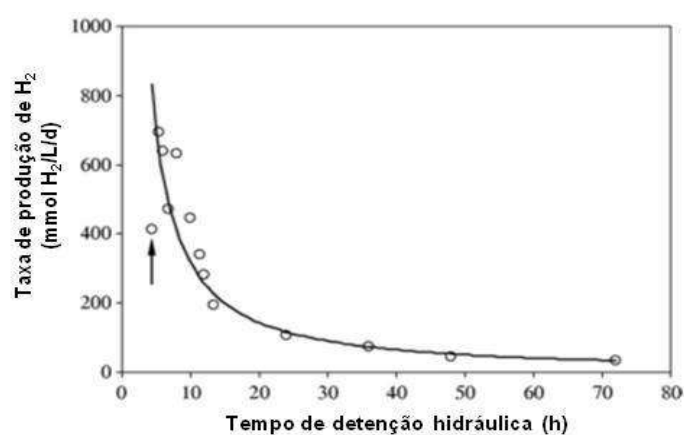


Figura 2.4. Tendência de comportamento da produção de hidrogênio em uma ampla faixa de TDH (Adaptada de VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009).

2.4.5 Substratos

A viabilidade técnica e econômica para a produção de H₂ por fermentação anaeróbia é fortemente influenciada pelo tipo de substrato. Disponibilidade, custo, biodegradabilidade e conteúdo de carboidratos são critérios fundamentais para a seleção de matérias-primas para a produção de H₂ (KAPDAN e KARGI, 2006).

Os carboidratos constituem a principal fonte de carbono para a fermentação anaeróbia seja na forma de oligossacarídeos ou polímeros (amido, celulose ou hemicelulose). De acordo com LAY (2003), o potencial de produção de H₂ a partir de resíduos com elevado conteúdo de carboidratos é cerca de 20 vezes maior do que aquele obtido com resíduos ricos em gordura e proteínas. Tal fato é atribuído à produção de amônia na degradação de proteínas e ao acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa

oriundos da degradação de lipídios. Ambos podem inibir as bactérias acidogênicas quando em concentrações elevadas (DONG *et al.*, 2009).

Por outro lado, proteínas são indispensáveis para a fermentação anaeróbia, sendo uma fonte de nitrogênio essencial para o crescimento celular (KIM, HAN e SHIM, 2004). Já o glicerol, existente em vegetais e animais em formas combinadas de glicerina com ácidos graxos, dentro do sistema metabólico de microrganismos, atua como regulador de vários mecanismos bioquímicos intracelulares e pode ser naturalmente utilizado como fonte de carbono para a produção de H₂ (LAGES, SILVA-GRAC e LUCAS, 1999; SILVA, MACK e CONTIERO, 2009).

A reação básica na fermentação de H₂ envolve os monômeros de carboidratos (monossacarídeos), proteínas (aminoácidos) e lipídios (ácidos graxos de cadeia longa e glicerol) (XIA, CHENG e MURPHY, 2016). A Tabela 2.4 resume as características de degradação dos substratos e produção de H₂ na fermentação anaeróbia.

Tabela 2.4. Resumo da degradação de substratos e de produção de hidrogênio na fermentação anaeróbia.

Classe	Monômeros	Número de Carbono	Degradabilidade	Produção de H ₂
Carboidratos	Açúcares	5 - 6	++	++
Proteínas	Aminoácidos	2 -11	+	-
Lipídios	Glicerol	3	++	++
Lipídios	Ácidos graxos de cadeia longa	>12	-	-

++: Efeito fortemente positivo

+: Efeito positivo

-: Pequeno ou sem efeito

Fonte: XIA, CHENG e MURPHY (2016).

Materiais residuais complexos são opções de substrato de baixo custo, renováveis e viáveis de serem aplicados em grande escala em comparação aos carboidratos puros (ex. glicose, amido), normalmente utilizados em pesquisas em escala de laboratório (BARTACEK, ZABRANSKA e LENS, 2007). Resíduos municipais ou domésticos (GÓMEZ *et al.*, 2006; HAN e SHIN, 2004a; PAN *et al.*, 2008); resíduos alimentares industriais (KIM, LEE, 2010; VENETSANEAS *et al.*, 2009); resíduos da indústria de papel e celulose (LIN, WU e WANG, 2013; PENDYALA *et al.*, 2013); resíduos da indústria de biocombustíveis - glicerol bruto (CHOOKAEW,

PRASERTSAN e REN, 2014; SELEMBO *et al.*, 2009); efluentes municipais (TAWFIK e EL-QELISH, 2014) e efluentes industriais (FERNANDES *et al.*, 2010) são alguns dos inúmeros resíduos que têm sido utilizados como substrato na produção fermentativa de H₂.

Dentre os resíduos citados, resíduos orgânicos municipais, lodo de ETE e o glicerol bruto podem ser considerados fontes de carbono e nutrientes com elevado potencial para a produção de H₂. Além disso, tais resíduos são produzidos em quantidade substancial, apresentam um alto poder poluidor e uma enorme dificuldade na sua gestão e tratamento, principalmente em países em desenvolvimento, sendo necessária a busca de soluções para amenizar tais problemas.

Ensaio em escala de laboratório, denominados ensaios do potencial bioquímico de metano (BMP) são frequentemente utilizados para avaliar o potencial de produção de biogás no processo de digestão anaeróbia a partir de resíduos orgânicos e efluentes. O ensaio BMP é também utilizado para avaliar e comparar diferentes condições de digestão (por exemplo, codigestão) ou efeitos de pré-tratamento do substrato na produção de biogás (ALIBARDI e COSSU, 2015). Já o ensaio do potencial bioquímico de H₂ (BHP) apresenta o mesmo princípio do BMP, porém, adaptado para avaliar a produção de H₂ durante a fermentação anaeróbia (LIN *et al.*, 2007).

2.4.5.1 Resíduos orgânicos municipais

A geração de resíduos no mundo gira em torno de 12 bilhões de toneladas por ano, e até 2020 o volume previsto é de 18 bilhões de toneladas/ano (SANTOS e GONÇALVES-DIAS, 2012). Contudo, com o aumento da renda e do consumo da população, esses números tendem a aumentar.

Resíduos orgânicos municipais, sejam eles classificados como fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU) ou resíduos alimentares, são substratos complexos, formados essencialmente por três grupos principais de compostos orgânicos biodegradáveis: carboidratos (amido, celulose e hemicelulose), proteínas e lipídios. Além disso, apresentam também na sua composição lignina, ácidos orgânicos e uma menor parcela inorgânica restante (KIRAN *et al.*, 2014).

Em média, aproximadamente 50% dos resíduos sólidos urbanos coletados no Brasil consistem em uma fração fermentável e biodegradável, passível de ser aproveitada energeticamente na forma de biogás, no entanto, 58,5% desse resíduo com

grande potencial energético são destinados de forma inadequada em aterros controlados e lixões (BRASIL, 2016b).

Do ponto de vista prático, a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos, ou seja, uma mistura mais ampla de resíduos coletados de várias fontes é definitivamente mais representativa do que os resíduos alimentares. Ambos são fontes relativamente baratas e adequadas de matéria orgânica (DE GIOANNIS *et al.*, 2013; ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA, 2013). Resíduos alimentares compreendem resíduos provenientes de residências, estabelecimentos comerciais, instituições e outras fontes, como cafeterias, cantinas ou refeitórios, incluindo os resíduos de preparação de alimentos, frigorífico ou alimentos congelados, sendo sua composição amplamente variável dependendo da natureza e da origem (IACOVIDOU, OHANDJA e VOULVOULIS, 2012).

Frutas, vegetais, grãos, e carnes em geral são os componentes mais comuns usados em estudos de fermentação anaeróbia em que resíduos orgânicos são utilizados como substratos (REDONDAS *et al.*, 2012). A composição em termos de carboidratos, lipídios e proteínas de alguns dos componentes típicos encontrados nos resíduos alimentares encontram-se sumarizados na Tabela 2.5.

Tabela 2.5. Composição de diferentes componentes típicos dos resíduos alimentares (em % peso seco/matéria).

Resíduos	Carboidratos	Proteínas	Lipídios
Carne e osso	<1	70-75	23-30
Ovo	2	35	32
Carne de peixe	-	75,6	20,2
Leite em pó integral	37,7	26,5	27,4
Leite desnatado	53	36	-
Queijo	-	25-35	20-45
Legumes ^a	46-47	23-29	1,3-5
Vegetais frescos ^b	27,1	26,9	1,4
Fruta	83	4	2
Pão	84	14	2
Batata	99	1	<1
Arroz	76,3	7,4	0,8-2,4
Farinha	70	12	<1

^a Não inclui soja, que é composta por 41% de proteína, 19,6% de lipídios e 31,6% carboidratos. ^b Principalmente espinafre

Fonte: Adaptada de IACOVIDOU, OHANDJA e VOULVOULIS (2012).

Variação na composição, origem e diferentes condições operacionais da digestão anaeróbia podem afetar diretamente os rendimentos de H_2 a partir de resíduos orgânicos. Diversos estudos na literatura apontam a viabilidade do uso de resíduos alimentares frescos (*in natura*) como substratos para fermentação anaeróbia por apresentarem uma composição mais simples e de fácil reprodução em comparação com a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (KIM, HAN e SHIN, 2004; LIU, MIN e ANGELIDAKI, 2008; PAN *et al.*, 2008; SHIN, YOUN e KIM, 2004).

Em outros estudos, resíduos orgânicos sintéticos ou simulados com diferentes proporções de componentes criteriosamente selecionados para representar carboidratos, proteínas, lipídios e celulose foram utilizados como substratos de modo a obter uma composição semelhante aos dos resíduos reais (ALZATE-GAVIRIA *et al.*, 2007; DANKO *et al.*, 2008; SEKOAI e GUEGUIM KANA, 2014). Além disso, o uso de diferentes pré-tratamentos nos resíduos orgânicos (térmico, ácido, alcalino entre outros) também é mencionado como uma estratégia para aumentar a eficiência da fermentação anaeróbia e a produção de H_2 (ELBESHBISHY *et al.*, 2011; KIM, KIM e SHIN, 2009). Na Tabela 2.6 encontram-se descritos alguns estudos da literatura, cujos rendimentos de H_2 foram obtidos a partir da fermentação anaeróbia de resíduos orgânicos com diferentes características.

Além da obtenção de H_2 , resíduos alimentares têm sido utilizados como matéria-prima para o desenvolvimento de vários tipos de bioprodutos de valor agregado, incluindo CH_4 , etanol, enzimas, ácidos orgânicos, biopolímeros e bioplásticos. Deve notar-se, no entanto, que a procura do mercado para esses produtos químicos é muito menor do que para os biocombustíveis (KIRAN *et al.*, 2014). Logo, mostra-se mais atrativa a valorização desse tipo de resíduo para produção de biogás, na forma de H_2 e/ou CH_4 .

Tabela 2.6. Rendimentos de hidrogênio por fermentação anaeróbia de resíduos orgânicos.

Substrato	Características dos Resíduos	Rendimento de H ₂ (mL H ₂ /g SV)	Referências
Resíduos alimentares	<i>In natura</i>	121,6	KIM, HAN e SHIN (2004)
		39	PAN <i>et al.</i> (2008)
		70,3	BONI, SBAFFONI e TUCCINARDI (2013)
	Pré-tratado	148,7	KIM, KIM e SHIN (2009)
		118	ELBESHBISHY <i>et al.</i> (2011)
		154,8	DANKO <i>et al.</i> (2008)
20,6	REDONDAS <i>et al.</i> (2012)		
Resíduos domésticos	<i>In natura</i>	257	LIU, MIN e ANGELIDAKI (2008)
	<i>In natura</i>	360	VALDEZ-VAZQUEZ <i>et al.</i> (2005)
FORSU	<i>In natura</i>	70,1	FAVARO <i>et al.</i> (2013)
		99	ALZATE-GAVIRIA <i>et al.</i> (2007)
	Simulado	247	SEKOAI e GUEGUIM KANA (2014)
		85	ALIBARDI e COSSU (2015)

FORSU- fração orgânica de resíduos sólidos urbanos

2.4.5.2 Lodo de ETE

O lodo é o principal resíduo sólido e o maior desafio de uma estação de tratamento de esgoto devido à complexidade e aos elevados custos operacionais do seu tratamento e disposição final, os quais podem representar até 60% dos custos totais de uma ETE (BATISTA, 2015; GUO, LIU e XIAO, 2013).

Diversas estratégias e tecnologias para minimizar a produção de lodos e melhorar seu tratamento têm sido desenvolvidas. Entre as opções disponíveis, a digestão anaeróbia é provavelmente a tecnologia mais amplamente utilizada para a estabilização de lodo e produção de energias renováveis (WEI *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2016).

Segundo VON SPERLING e ANDREOLI (2001), o termo lodo tem sido utilizado para designar os subprodutos sólidos do tratamento de esgotos. Os lodos gerados durante o tratamento são classificados em lodo primário ou bruto, lodo

secundário ou biológico e lodo misto, conforme a fase do tratamento em que foram originados.

Na maior parte das etapas do seu manuseio, o lodo de ETE é constituído de mais de 95% de água, com uma concentração de sólidos da ordem de 0,25 a 12% do lodo, em peso (METCALF e EDDY, 1991). Contudo, após a digestão, os sólidos presentes são constituídos por 45% de matéria orgânica e 55% de substâncias minerais (BATISTA, 2015). A composição típica do lodo bruto e digerido é mostrada na Tabela 2.7.

Tabela 2.7. Composição química e propriedades típicas do lodo bruto e digerido.

Parâmetros	Lodo Bruto		Lodo Digerido	
	Faixa	Típico	Faixa	Típico
pH	5,0 – 8,0	6	6,5 – 7,5	7
Alcalinidade (mg/L em CaCO ₃)	500 – 1500	600	2500 – 3000	3000
Ácidos orgânicos (mg/L em HAc)	200 – 2000	500	100 – 600	200
Sólidos totais (ST)	2 – 8	5	6 – 12	10
Sólidos voláteis (%ST)	60 – 80	65	30 – 60	40
Graxas e gorduras (%ST)	6 – 30	–	5 – 20	18
Proteínas (%ST)	20 – 30	25	15 – 20	18
Nitrogênio (%ST)	1,5 – 4,0	2,5	1,6 – 6,0	3
Fósforo (%ST)	0,8 – 2,8	1,6	1,5 – 4,0	2,5
Potássio (%ST)	0,0 – 1,0	0,4	0,0 – 3,0	1
Celulose (%ST)	8 – 15	10	8 – 15	10
Ferro (exceto na forma de sulfeto)	2,0 – 4,0	2,5	3,0 – 8,0	4
Sílica (%ST)	15 – 20	–	10 – 20	–

Fonte: BATISTA (2015).

De modo geral, lodo de ETE é constituído, tipicamente, de cerca de 41% de proteínas, 25% de lipídios, 14% de carboidratos e 20% de componentes desconhecidos (com base na DQO) (KOTAY e DAS, 2010). Os compostos orgânicos presentes no lodo, basicamente constituídos por nitrogênio, não são facilmente metabolizados na fermentação anaeróbia. Logo, os rendimentos de H₂ são menores quando comparados a outros substratos ricos em carboidratos. Dessa forma, métodos de pré-tratamento são essenciais para tornar o lodo um substrato favorável à produção de H₂ (GUO, LIU e XIAO, 2013; KOTAY e DAS, 2010).

A combinação de dois ou mais métodos de pré-tratamento pode aumentar a solubilização da matéria orgânica e os rendimentos de H₂ se comparada à aplicação individual de cada método (KANG, KIM e LEE, 2012). Os métodos de pré-tratamento

podem melhorar a hidrólise do lodo bruto, promovendo a quebra de moléculas complexas, tais como celulose, em subunidades mais simples e, também, inibir a atividade das arqueas metanogênicas (MASSANET-NICOLAU *et al.*, 2010).

Esterilização (XIAO e LIU, 2009), tratamento térmico (KANG, KIM e LEE, 2012; MASSANET-NICOLAU *et al.*, 2010), alcalinização (CAI, LIU e WEI, 2004), acidificação (WANG *et al.*, 2003) e ultrasonificação (KIM *et al.*, 2013b) são alguns dos métodos de pré-tratamento relatados na literatura.

KIM, HAN e SHIN (2004) relataram um rendimento máximo de 32,6 mL H₂/g DQO e sugeriram a presença de substâncias orgânicas recalcitrantes presentes no lodo bruto como a principal causa da baixa eficiência de produção de H₂. CAI, LIU e WEI (2004) relataram um aumento significativo de 82% no rendimento de H₂ após a aplicação de um pré-tratamento alcalino no lodo bruto (16,6 mL H₂/ g ST) em relação ao lodo sem pré-tratamento (9,1 mL H₂/g ST). Resultados semelhantes foram obtidos por XIAO e LIU (2009), cujo rendimento máximo de H₂ com o lodo pré-tratado foi 46 vezes maior em comparação ao obtido com lodo bruto.

Os rendimentos de H₂ obtidos pela fermentação anaeróbia de lodo de ETE são normalmente baixos se comparados àqueles obtidos com a fermentação de resíduos orgânicos (Tabela 2.8). Alguns estudos sugerem que a melhor estratégia para o aproveitamento desse resíduo é a codigestão com resíduos ricos em carboidratos (LIU *et al.*, 2013b; ZHOU, ELBESHBIHY e NAKHLA, 2013; ZHU *et al.*, 2008a).

Tabela 2.8. Rendimentos de hidrogênio por fermentação anaeróbia de lodo de ETE.

Substrato	Pré-tratamento	Rendimento de H ₂	Referências
Lodo de ETE	-	9,13 ^a	CAI, LIU e WEI, (2004)
	Alcalino	16,6 ^a	CAI, LIU e WEI, (2004)
	-	32,6 ^b	KIM, HAN e SHIN, (2004)
	-	0,35 ^c	XIAO e LIU (2009)
	Esterilização	16,26 ^c	XIAO e LIU (2009)
	Térmico/alcalino	1,41–7,9 ^b	KANG, KIM e LEE (2012)
	Alcalino/ ultrasonificação	4,3 ^d	KIM <i>et al.</i> (2013)

^a mL H₂/g ST, ^b mL H₂/g DQO, ^c mL H₂/g SV, ^d mL H₂/g SSV.

2.4.5.3 Glicerol da produção de biodiesel

Nos últimos anos, o setor de biocombustíveis, em especial a produção de biodiesel, tem apresentado um crescimento exponencial e, como consequência, um volume excedente de glicerol tem sido gerado. Principal resíduo da produção de biodiesel, o glicerol é resultado do processo de transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal na presença de um álcool (metanol ou etanol), sob ação de um catalisador ácido ou básico (KOH ou NaOH) (Figura 2.5).

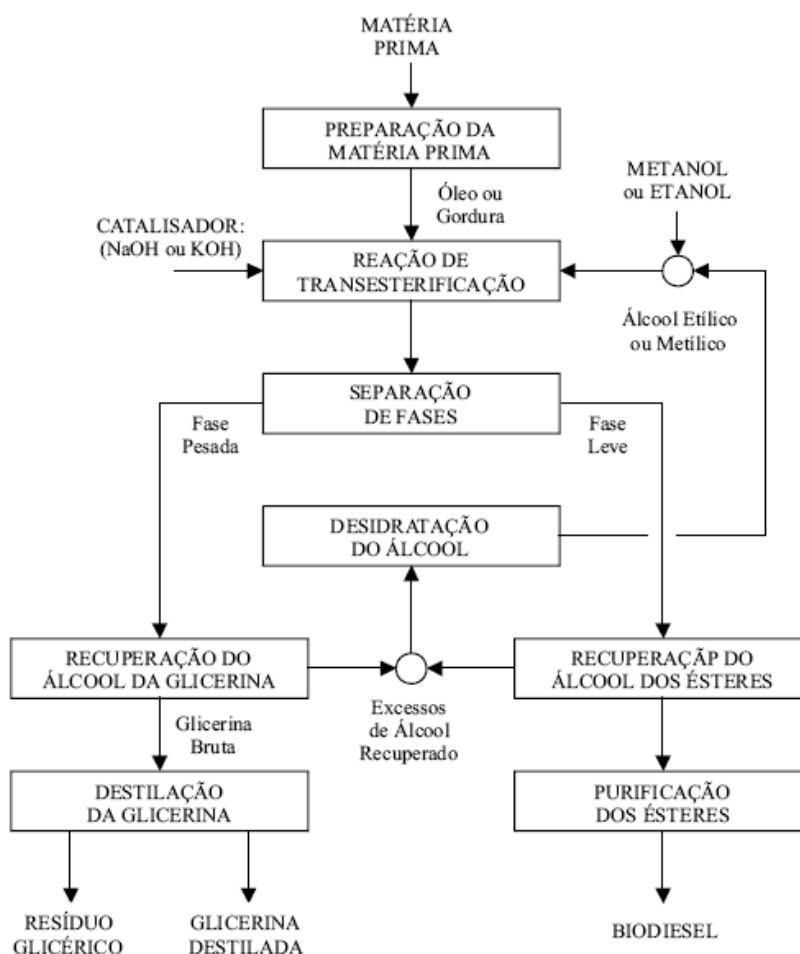


Figura 2.5. Fluxograma do processo de obtenção de biodiesel a partir da transesterificação (PARENTE, 2003).

A composição do glicerol bruto varia, dependendo da origem da matéria prima e do processo de produção de biodiesel. A maioria dos excessos de álcool (acima de 80%)

se acumulará no glicerol, sendo o álcool recuperado para fins de reuso (THOMPSON e HE, 2006).

No final da etapa de transesterificação, o glicerol e ésteres formam uma massa líquida de duas fases que são facilmente separáveis por decantação ou centrifugação. A fase mais leve ou menos densa, contém os ésteres metílicos ou etílicos constituintes do biodiesel, conforme a natureza do álcool originalmente adotado. A fase inferior ou pesada é composta de glicerol bruto e impurezas inerentes à matéria prima (PARENTE, 2003). O processo resulta em três moléculas de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol (glicerina), conforme reação apresentada na Figura 2.6.

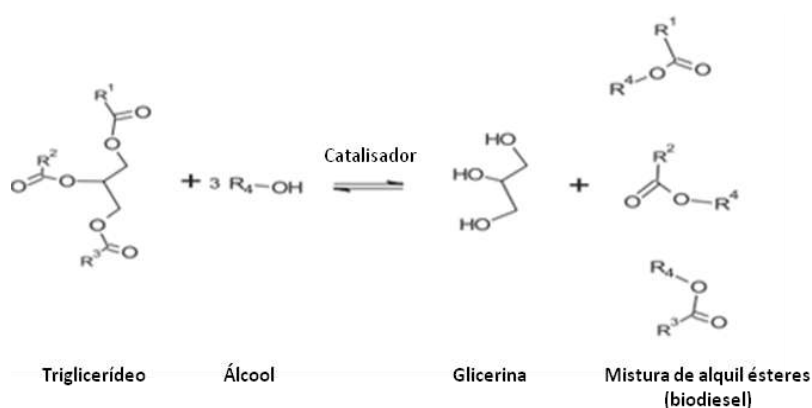


Figura 2.6. Reação global do processo de transesterificação de triglicerídeo (óleos vegetais ou gordura animal) para produção de biodiesel (LÔBO, FERREIRA e CRUZ, 2009).

Glicerol é o nome comum do composto orgânico 1,2,3 propanotriol. É também conhecido como glicerina, trihidroxipropano, glicil álcool, gliceril ou 1,2,3-trihidroxipropano. Quimicamente, o glicerol (C₃H₈O₃) é um álcool que contém na sua estrutura três grupos hidroxila (-OH), responsável pela solubilidade em água. Além disso, a presença de um grupo -OH ligado a cada um dos três átomos de carbono faz do glicerol um potencial candidato para uma grande variedade de reações químicas (BEATRIZ, ARAÚJO e LIMA, 2011; QUISPE, CORONADO e CARVALHO JR., 2013).

Dentre as várias denominações comerciais, glicerina ou glicerol são as mais comuns e diferem em seu conteúdo de pureza e em outras características, tais como cor, sabor e presença de impurezas. O termo glicerina é comumente utilizado para um produto com 99,1-99,8% de pureza e apresenta-se como um líquido transparente de

sabor adocicado, inodoro e bastante viscoso. Na forma de glicerina loira ou glicerol, termo usado para designar o resíduo da produção de biodiesel, apresenta-se como um líquido viscoso pardo escuro e com conteúdo variável de glicerol (entre 50-80%) e impurezas como sais (sabões alcalinos e hidróxidos), álcool (metanol ou etanol), material orgânico não-glicerol (MONG), polímeros e água (LEE *et al.*, 2015; QUISPE, CORONADO e CARVALHO JR., 2013; RIVALDI *et al.*, 2007; SANTIBÁÑEZ, VARNERO e BUSTAMANTE, 2011).

O glicerol bruto também contém elementos nutricionais como fósforo, enxofre, magnésio, cálcio, nitrogênio e sódio, cuja quantidade varia dependendo da matéria-prima utilizada, que são factíveis de serem utilizados por microrganismos durante processos fermentativos (THOMPSON e HE, 2006). A Tabela 2.9 apresenta as principais características do glicerol bruto, de acordo com a literatura.

Segundo a Agência Nacional do Petróleo (ANP), no ano de 2015, a quantidade de glicerol gerada no Brasil foi de 472.000 m³, o que equivale a um aumento de aproximadamente 47% nos últimos cinco anos (ANP, 2016). Desse total, apenas uma parte da produção é absorvida pelos mercados atuais, principalmente para produção de produtos cosméticos, produtos farmacêuticos, alimentos, entre outros (QUISPE, CORONADO e CARVALHO JR., 2013).

Produzido em uma proporção estequiométrica de 10% (p/p) em relação ao biodiesel (a produção de 100 kg de biodiesel gera aproximadamente 10 kg de glicerol bruto) (WENDISCH, LINDNER e MEISWINKEL, 2011), a quantidade excedente acumulada de glicerol na forma bruta é um fator preocupante, pois interfere diretamente na economia e competitividade da indústria de biocombustíveis.

Embora o glicerol possua um valor comercial como coproduto, contendo 55 - 90% de pureza (AMARAL *et al.*, 2009) e representando uma boa fonte de energia para processos de biotransformação, os custos elevados para sua purificação e a presença de impurezas limitam o seu uso em diversas indústrias (MARTÍN *et al.*, 2013). A aplicação do glicerol no setor industrial está condicionada ao grau de pureza, que deve ser igual ou superior a 95%. Esse nível de pureza é geralmente obtido por meio de destilação (RIVALDI *et al.*, 2007). Além da queda do preço por conta de instabilidade entre oferta e procura, a estocagem e o risco de contaminação do meio ambiente são outros problemas associados à produção excessiva de glicerol.

Tabela 2.9. Caracterizações de glicerol bruto descritas na literatura.

Glicerol Bruto	Referências
60 - 70% (em peso) de glicerol, Nutrientes: carbono (cerca de 25%), metais Ca, K, Mg, Na, P e S (4-163 ppm) e proteína (0,05-0,44%), 0,25 - 5,5 % Cinzas.	THOMPSON e HE (2006)
65-70% de glicerol, 30% impurezas	RIVALDI <i>et al.</i> (2007)
50 - 60% de glicerol, 12 - 16% de sais (sabão e hidróxidos), 15 - 18% de ésteres metílicos, 8 - 12% de metanol, 2 - 3% de umidade, Variedade de elementos, tais como Ca, Mg, P, ou S, e outros componentes.	SANTIBÁÑEZ, VARNERO e BUSTAMANTE (2011)
75% de glicerol, Até 25% metanol.	SARMA <i>et al.</i> (2012)
50 - 70% de glicerol, 10 - 20% metanol, 5 - 10 % de sais, < 3 a 10% de umidade, <1 a 5% de ácidos graxos, 5% de Material orgânico não glicerol (MONG).	QUISPE, CORONADO e CARVALHO JR. (2013)
60 - 80% de glicerol, 1,5 - 6,5% de umidade, 1,5 - 2,5 % de cinzas, 3 - 5% de sais (sabão)	LEE <i>et al.</i> (2015)

O glicerol é considerado uma fonte de carbono simples, altamente assimilável por uma grande variedade de microrganismos, sob condições de aerobiose e anaerobiose, que não requer nenhum tipo de pré-tratamento para o seu uso (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009; GARLAPATI, SHANKAR e BUDHIRAJA, 2016; SARMA *et al.*, 2012).

A utilização do glicerol como fonte de carbono, em substituição a carboidratos tradicionais como glicose e sacarose, é uma alternativa promissora para a obtenção simultânea de produtos metabólicos de valor agregado, tais como H₂, 1,3- propanodiol, etanol e ácidos orgânicos, a partir de processos biotecnológicos (MANGAYIL *et al.*, 2015; SEIFERT *et al.*, 2009; VARRONE *et al.*, 2012).

Muitos microrganismos são capazes de metabolizar o glicerol, tais como bactérias do gênero *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Clostridium*, entre outros. O glicerol quando utilizado como substrato pode ser degradado por duas rotas fermentativas distintas, a oxidativa e a redutora. Na via oxidativa, com formação de piruvato, a fermentação do glicerol passa a ser comparada à fermentação de açúcares (ex. glicose), com formação de H₂, CO₂ e outros metabólitos (ácido acético, ácido láctico, ácido propiônico, ácido butírico, 2,3-butanodiol, butanol, etanol). Na via redutora, o glicerol degradado produz apenas 1,3-propanodiol (1,3-PDO) (TEMUDO *et al.*, 2008a; YAZDANI e GONZALEZ, 2007). A produção de H₂ e de outros metabólitos competem com a produção de 1,3-PDO (LIU *et al.*, 2013a). O 1,3-PDO é um intermediário químico utilizado na fabricação de poliéteres, poliésteres e poliuretanos e amplamente utilizado nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticos (LEE *et al.*, 2015). A rota fermentativa simplificada do glicerol pode ser observada na Figura 2.7.

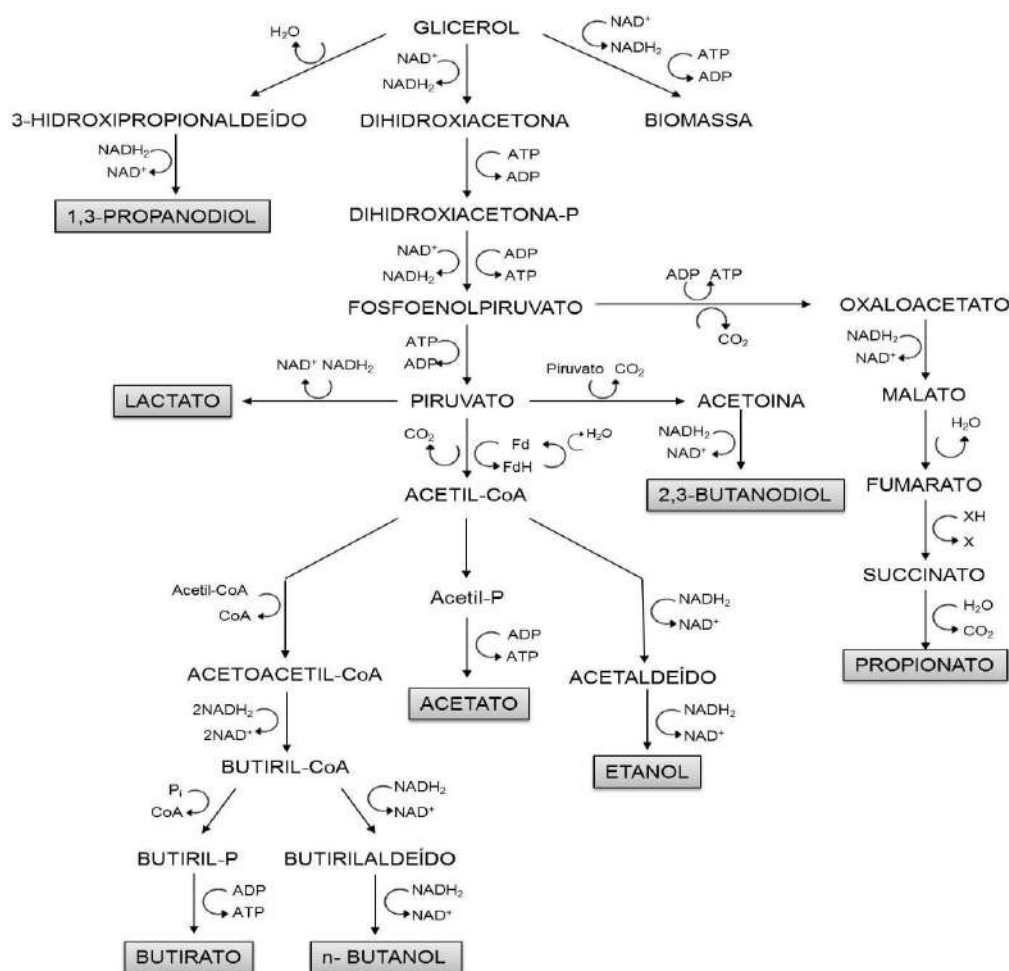


Figura 2.7. Rotas fermentativas e produtos finais da fermentação do glicerol (NAKAZAWA (2015), adaptado de BIEBL *et al.* (1999); da SILVA *et al.* (2009)).

Além disso, o 1,3 propanodiol pode ser convertido a ácido propiônico (Reação 2.3) (WATANABE, 2013), no entanto, a produção de ácido propiônico a partir do glicerol não produz de H₂ (WANG e YANG, 2013).



Diferentes pesquisadores têm avaliado o desempenho do glicerol como um substrato barato para a produção de H₂, pois o seu potencial de geração de hidrogênio é comparável a qualquer outro resíduo orgânico atualmente utilizado para produção de biogás (MARU *et al.*, 2012; SITTIJUNDA e REUNGSANG, 2012a; TEMUDO *et al.*, 2008a). Paralelo a isso, o glicerol destaca-se também como um cosubstrato ideal para codigestão de resíduos, devido à sua alta biodegradabilidade ($\approx 100\%$) (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014)

O rendimento teórico máximo de H₂ obtido pelo metabolismo microbiano é de 3 mol de H₂/mol glicerol, valor esse obtido apenas quando o acetato é o produto final da via oxidativa (reação 2.4) (NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010):



O conteúdo energético do glicerol puro é de 19,0 MJ/kg, enquanto que o do glicerol bruto é de 25,30 MJ/kg, sendo essa diferença atribuída à presença de metanol e vestígios de biodiesel na forma bruta desse composto. O elevado conteúdo energético do glicerol bruto indica um alto potencial para ser usado como substrato para a produção de H₂. Além disso, o uso de glicerol bruto como matéria-prima de baixo custo na fermentação anaeróbia é uma excelente alternativa para diminuir o custo com a disposição desse resíduo e para atingir a viabilidade econômica na indústria de biocombustíveis (SARMA *et al.*, 2012). É necessário, ainda, aperfeiçoar o seu uso de forma isolada ou em codigestão com outros resíduos de modo a viabilizar seu aproveitamento.

2.5 Codigestão anaeróbia de resíduos

O termo codigestão é usado para descrever o tratamento combinado de vários resíduos com características complementares, cujo princípio consiste em obter um

maior equilíbrio de componentes necessários para a digestão anaeróbia por meio da mistura de substratos (FERNÁNDEZ, SÁNCHEZ e FONT, 2005).

Em comparação com a fermentação anaeróbia de um único substrato, a codigestão pode apresentar diversos benefícios, dentre eles: (a) o aumento da produção de biogás em função da melhora da digestibilidade do substrato e da biodiversidade microbiana, (b) equilíbrio do conteúdo de nutrientes fornecidos pelos diferentes substratos, (c) diluição de compostos tóxicos/inibitórios, (d) equilíbrio da relação carbono/nitrogênio (C/N), (e) controle interno do pH, (f) equilíbrio de umidade, (g) redução do volume e estabilização dos resíduos (DE GIOANNIS *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2011b; KIM, HAN e SHIN, 2004; MATA-ALVAREZ, MACE e LLABRES, 2000; WONG, WU e JUAN, 2014).

Lodo de ETE, esterco animal, resíduos orgânicos municipais, resíduos industriais e agroindustriais são alguns dos possíveis cosubstratos usados para potencializar a produção de biogás. As características físico-químicas do cosubstrato e o custo de transporte a partir do local de geração para o biodigestor ou planta de biogás são critérios importantes que devem ser levados em consideração na escolha dos resíduos (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014).

A produção biológica de H₂ por meio de fermentação anaeróbia utilizando um único substrato, seja um carboidrato simples ou complexo, tem sido bem documentada ao longo das décadas, porém, poucos estudos exploraram a codigestão de diferentes substratos (GUPTA *et al.*, 2014). Segundo um levantamento realizado por MATA-ALVAREZ *et al.* (2014), dentre os possíveis cosubstratos usados para a produção de biogás, a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos e lodo de ETE são as misturas mais relatadas na literatura entre os anos de 2010 e 2013.

A codigestão anaeróbia de lodo de ETE e resíduos orgânicos municipais aparece como uma tecnologia viável para equilibrar o processo de produção de H₂ e aumentar a sua eficiência, visto que a mistura desses dois resíduos compensa as limitações nutricionais de cada um isoladamente, as quais podem dificultar o processo de fermentação anaeróbia. A codigestão também amplia as vias para a utilização e valorização destes resíduos como fontes de energia renováveis, sendo apontada como uma alternativa atraente em comparação a processos convencionais, como compostagem (HONG e HAIYUN, 2010; SOSNOWSKI *et al.*, 2008).

Embora os carboidratos sejam o substrato preferido pelas bactérias produtoras de H₂, em algumas circunstâncias, proteínas residuais contidas no lodo podem fornecer

nutrientes essenciais para a atividade metabólica e crescimento celular (DE GIOANNIS *et al.*, 2013; TYAGI *et al.*, 2014). A adição de lodo de ETE como cosubstrato na fermentação de resíduos alimentares promove tanto o equilíbrio da relação C/N pelo fornecimento de nutrientes proteicos, como o equilíbrio do pH do meio reacional devido à sua capacidade de tamponamento, aumentando assim o rendimento e a taxa de produção de H₂ (KIM, HAN e SHIN, 2004; ZHU *et al.*, 2008a).

O conceito de codigestão de resíduos orgânicos municipais e lodo de ETE para produção de H₂ é, sem dúvida, interessante para integrar a gestão desses resíduos, ou seja, promover a utilização de instalações de tratamento de esgoto existentes para tratar resíduos municipais e produzir bioenergia (ZHU *et al.*, 2008a).

Diferentes proporções e misturas de resíduos sólidos orgânicos e lodo de ETE têm sido propostas por alguns pesquisadores para serem utilizadas na produção de H₂ via fermentação anaeróbia. KIM *et al.* (2011) estabeleceram como ideal a proporção 10:1 na codigestão de resíduos de alimentos e lodo de ETE e obtiveram boa produção de H₂ (165 mL H₂/g SV), cerca de 12% maior do que aquela obtida apenas utilizando resíduos alimentares (147 mL H₂/g SV). Segundo os autores, uma pequena quantidade de lodo foi capaz de melhorar o desempenho da fermentação de resíduos orgânicos.

ZHOU, ELBESHISHY E NAKHLA (2013) descreveram que a fermentação anaeróbia de uma mistura ternária de resíduos de alimentos (RA), lodo primário (LP) e lodo ativado (LA) produziu substancialmente mais H₂ do que a digestão de misturas binárias (resíduo de alimentos + lodo primário e resíduo de alimentos + lodo ativado) e de substratos individuais. O aumento na produção de H₂ foi atribuído ao melhor equilíbrio de carboidratos, nitrogênio e outros nutrientes.

TYAGI *et al.* (2014) constataram que a codigestão de uma mistura de fração orgânica de resíduos sólidos urbanos juntamente com uma mistura de lodos de ETE (lodo primário e lodo ativado), na proporção de 5:1 (resíduos sólidos:lodos), aumentou em 70% a taxa de produção de H₂ em relação aos resíduos fermentados individualmente. Para os autores, a mistura de lodos de ETE foi o melhor cosubstrato para a fração orgânica em comparação com a opção usando apenas lodo primário ou lodo ativado. O uso de resíduos de alimentos como substrato principal e lodo de ETE como cosubstrato parece ser a forma mais apropriada para produzir H₂ por codigestão (KIM, HAN e SHIN, 2004).

De fato, conforme apontado na literatura, a codigestão de diferentes resíduos, em determinadas proporções, pode melhorar o desempenho da produção de H₂. Apesar

disso, há a necessidade de se obter mais informações sobre a codigestão de resíduos orgânicos municipais e/ou lodo de ETE e desses resíduos com outros subprodutos, tais como glicerol.

2.5.1 Codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE com glicerol

O glicerol bruto é um substrato atraente para aumentar a produção de biogás por fermentação anaeróbia. Segundo MATA-ALVAREZ *et al.* (2014), o glicerol destaca-se como um cosubstrato ideal para codigestão de resíduos devido à sua elevada biodegradabilidade anaeróbia, aproximadamente 100%, porém, poucos estudos relatam o seu uso como cosubstrato para a produção de H₂.

Alguns autores demonstraram a aplicação de glicerol bruto como cosubstrato na fermentação de resíduos orgânicos municipais e industriais, efluentes e lodo de ETE. SITTIJUNDA e REUNGSANG (2012a) relataram que a adição de lodo ao glicerol a 1% (v/v) apresentou uma taxa máxima de produção duas vezes maior do que a obtida na amostra controle (glicerol residual sem adição de lodo). Segundo os autores, a adição de lodo de ETE como uma fonte de nitrogênio é necessária para digerir o glicerol bruto e intensificar a produção de gás.

FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009) investigaram a produção de H₂ a partir da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos e de uma mistura de efluentes (matadouro e de indústrias de fabricação de azeite), ambos suplementados com glicerol 1%. O maior rendimento de H₂ foi obtido na mistura de glicerol e fração orgânica de resíduos sólidos urbanos, devido à maior concentração de carboidratos presentes no substrato.

O efeito da adição de glicerol (1%) na produção de H₂ a partir de resíduos sólidos urbanos industriais foi descrita por ZAHEDI *et al.* (2016). Os resultados apresentados pelos autores mostraram que as taxas de produção e produção específica de H₂ praticamente duplicaram com a adição de glicerol quando comparado ao resíduo sem adição de glicerol.

A codigestão de uma mistura de lodo de ETE (lodo primário e lodo ativado) e glicerol, por meio de um processo de digestão de duas fases, foi estudada por RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014). Para os autores, o elevado teor de carbono presente no glicerol ajuda a equilibrar a relação C/N na mistura, evitando assim a inibição do processo pelo excesso de nitrogênio presente no lodo. Além disso, a codigestão melhora a utilização de ambos os resíduos, reduzindo o conteúdo de matéria orgânica e obtendo

energia na forma de H₂ e CH₄. A Tabela 2.10 apresenta alguns dados de produção de hidrogênio a partir da codigestão de diferentes resíduos e glicerol, relatados na literatura.

Tabela 2.10. Produção de hidrogênio a partir da codigestão anaeróbia de glicerol e outros substratos.

Substratos	Rendimento de H ₂ (mL H ₂ /g VS)	Referências
FORSU + glicerol (1%)	26	FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009)
Mistura de efluentes (Indústria de azeite + matadouro) + glicerol (1%)	15	FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009)
Lodo de ETE pré-tratado + glicerol (1%)	0,5	RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014)
Resíduos sólidos industriais + glicerol (1%)	51	ZAHEDI <i>et al.</i> (2016)

FORSU- fração orgânica de resíduos sólidos urbanos

2.6 Sistema de digestão anaeróbia em duas fases – Produção sequencial de hidrogênio e metano

A fermentação anaeróbia é comumente utilizada para a produção H₂ por ser um método rápido e relativamente simples, no entanto, durante a produção de H₂ por via fermentativa, apenas uma pequena parcela do substrato é convertida a biogás (10-20%). Os produtos finais da fermentação, isto é, a matéria orgânica remanescente (DQO residual) pode ser convertida em CH₄ em uma etapa complementar de digestão anaeróbia convencional (KUMAR *et al.*, 2016).

A digestão anaeróbia em duas fases vem sendo apontada como um método promissor uma vez que possibilita a redução da carga orgânica, minimizando possíveis impactos ambientais, e contempla a produção de dois biocombustíveis a partir da separação das etapas de acidogênese e metanogênese. A primeira fase é destinada à produção de H₂ e CO₂ (fermentação anaeróbia) e a segunda fase, à produção de CH₄ e CO₂ (metanogênese) (TAHTI, KAPARAJU e RINTALA, 2013).

A geração de CH₄ a partir do produto oriundo da fase acidogênica (destinada à produção de H₂) por um sistema de duas fases apresenta vantagens em relação ao

sistema convencional de fase única, pois permite um maior controle operacional de cada uma das etapas separadamente, favorecendo a seleção e o enriquecimento de microrganismos acidogênicos e metanogênicos em reatores distintos. Além disso, aumenta a estabilidade e a eficiência do processo de digestão anaeróbia, uma vez que evita flutuações drásticas de pH e de carga orgânica que podem inibir a população metanogênica (KOUTROULI *et al.*, 2009; KYAZZE *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2006a). O efluente final da digestão anaeróbia também pode ser utilizado como fertilizante (CAVINATO *et al.*, 2011).

Apesar dos rendimentos mais elevados de CH₄ e do melhoramento da estabilidade e flexibilidade do processo, as possíveis desvantagens da digestão anaeróbia em dois estágios estão relacionadas à maior complexidade e custo do aparato operacional e à falta de experiência no processo, uma vez que existem poucas unidades comerciais projetadas com essa característica (NASR *et al.*, 2012).

Os gases obtidos no sistema de duas fases podem ser utilizados separadamente em células a combustíveis ou motor de combustão, ou ainda em uma mistura gasosa chamada de biohitano (5-10% de H₂, 30-40% de CO₂ e 50-65% de CH₄), a qual tem apresentado uma melhor eficiência e desempenho na combustão quando comparada ao gás natural (CHINELLATO *et al.*, 2013). A Figura 2.8 mostra um esquema para a produção de H₂ e CH₄ por um sistema de duas fases.

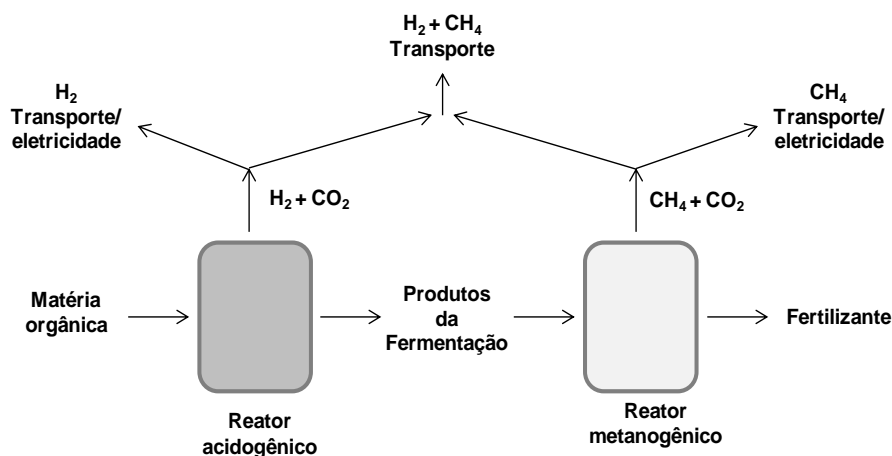


Figura 2.8. Esquema da produção biológica de hidrogênio e metano em duas fases (Adaptado de HAWKES *et al.*, 2002).

As dimensões dos reatores e as condições operacionais devem ser essencialmente diferentes nas duas fases, principalmente no que se refere ao tempo de

detenção hidráulica. A produção de H_2 , na primeira fase, ocorre preferencialmente quando o pH do meio encontra-se ácido (entre 5 e 6) e em TDH reduzido (tipicamente 1-2 dias), dependendo das características e das concentrações do substrato. Nessa fase, reatores com dimensões menores são normalmente empregados. Por outro lado, o crescimento mais lento das arqueas metanogênicas exige um pH neutro (entre 6,8 e 7,5) e TDH mais longo (tipicamente 10-20 dias), o que é obtido em reatores com dimensões maiores (COONEY *et al.*, 2007; ZHU *et al.*, 2008b). Experimentos têm sido comumente realizados em escalas maiores utilizando reatores que variam de 10 a 500 L (CHU *et al.*, 2008; HAN *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2010; WANG e ZHAO, 2009).

O sistema de digestão em duas fases em escala piloto e de forma contínua demonstrou ser promissor para diferentes tipos de resíduos sólidos orgânicos. UENO, FUKUI e GOTO (2007) avaliaram a produção combinada de H_2 e CH_4 em uma planta piloto operada em condições termofílicas (temperaturas de 60 °C e 55 °C para os reatores acidogênico e metanogênico, respectivamente), utilizando resíduos orgânicos provenientes de restaurante e escritório. Os autores obtiveram rendimentos significativos de H_2 e metano, de 50-60% e 63%, respectivamente. LEE e CHUNG (2010) relataram aproximadamente 60% de rendimento de H_2 e mais de 80% de rendimento de CH_4 em uma planta piloto destinada a codigestão de resíduos alimentares em condições mesofílicas. Os autores, com base em uma avaliação econômica, reportaram que o sistema de digestão em duas fases pode ser um meio efetivo para a recuperação da energia e tratamento de resíduos.

O esquema da planta em escala piloto para produção de H_2 e CH_4 , desenvolvida por LEE e CHUNG (2010), é apresentado na Figura 2.9. De forma simplificada, a planta é constituída por um reator acidogênico (500 L) e um reator metanogênico – UASB (1000 L). O efluente do reator acidogênico, antes de ser transferido para a segunda fase, é coletado em tanque de precipitação para a separação de fases líquida (sobrenadante) e sólida (biomassa). A biomassa é recirculada para o reator acidogênico e o sobrenadante é transferido para um tanque de armazenamento para equalizar as concentrações dos ácidos orgânicos e intermediários. Posteriormente, o sobrenadante é transferido para o reator UASB. No fim do processo, o efluente da saída do reator metanogênico é transferido para uma estação de tratamento de esgoto para remoção da matéria orgânica residual, enquanto que o CH_4 gerado é recolhido por meio de uma saída de gás na parte superior do reator. A planta também é composta por uma instalação de purificação de gás e célula a combustível. Antes de serem introduzidos no

reator acidogênico, os resíduos orgânicos são pré-tratados termicamente (100 °C/30 min) e diluídos até obter a carga orgânica desejada (9 gDQO/(L.h)).

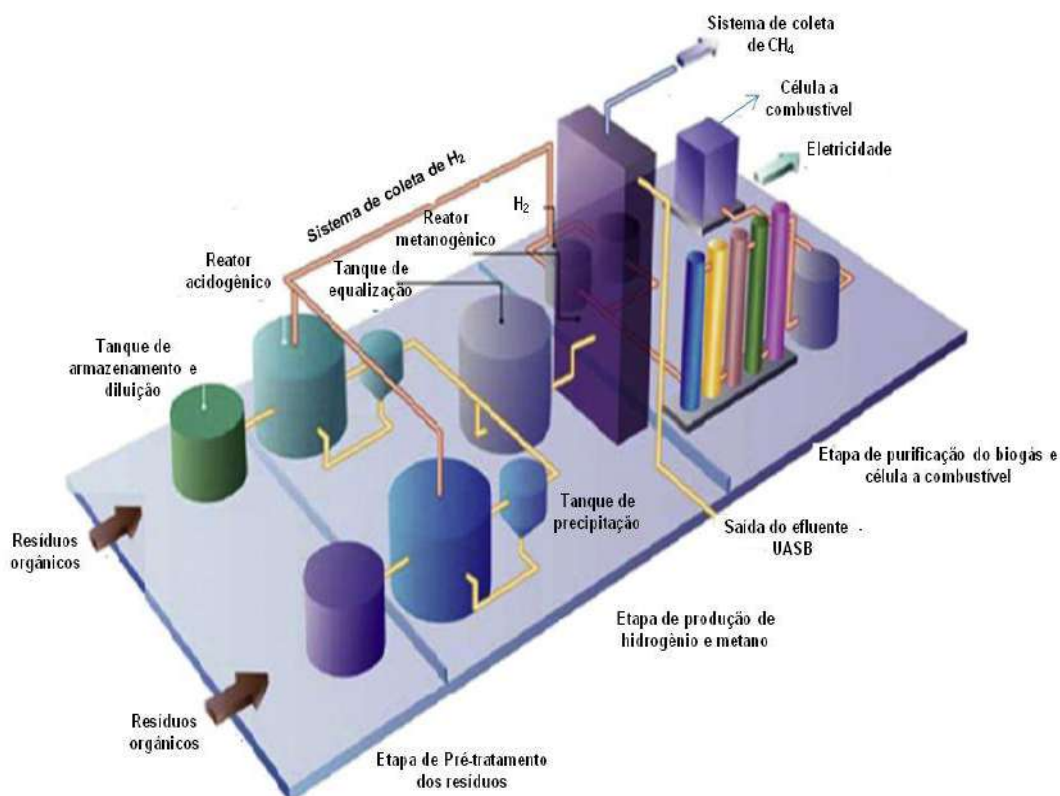


Figura 2.9. Esquema de uma planta em escala piloto para produção de hidrogênio e metano (Adaptado de LEE e CHUNG (2010)).

A codigestão em um sistema de duas fases foi abordada em alguns estudos utilizando reatores em batelada. SIDDIQUI *et al.* (2011) avaliaram o total de gases produzidos a partir da mistura de resíduos de alimentos e lodo de ETE e obtiveram rendimentos de 130 mL H₂/kg SV e 670 mL CH₄/kg SV. LIU *et al.* (2013) obtiveram a maior produção de energia (14,0 KJ/g SV) utilizando uma mistura composta de 85% de resíduos de alimentos e 15% de lodo ativado, com rendimentos de 106,4 mL H₂/g SV e 353,5 mL CH₄/g SV. RIVERO *et al.* (2014) avaliaram a codigestão de uma mistura de lodos de ETE (lodo primário e lodo ativado) com glicerol a 1% (v/v) e observaram um aumento na produção de biogás. A produção específica de H₂ foi de 0,50 L H₂/g SV e a de CH₄ foi de 1,48 L CH₄/g SV. Os resultados obtidos por esses autores sugeriram que lodo de ETE e glicerol podem ser eficientemente codigeridos em um processo de duas fases.

KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017) estudaram a fermentação anaeróbia em condição termofílica de temperatura para produção de H₂ e o processo

metanogênico em condição mesofílica para a produção de CH₄ a partir da codigestão de torta de óleo de palma resultante do processo de prensagem e glicerol bruto (0,75 a 1,5% p/v) e obtiveram uma produção de 23 L H₂/kg ST e de 44 L CH₄/g ST, respectivamente.

Segundo SARMA *et al.* (2015), há uma preferência por culturas mistas e processo contínuo para a produção sequencial de H₂ e CH₄. Processos contínuos podem prevenir o acúmulo de ácidos orgânicos na fase acidogênica e, conseqüentemente, evitar a inibição da metanogênese devido à queda acentuada de pH.

Os valores de rendimento de H₂ e CH₄ referentes à codigestão de diferentes resíduos variam de 0,1 – 0,5 L H₂/g SV e 0,35 – 1,48 L CH₄/g SV. A Tabela 2.11 sumariza os rendimentos de H₂ e CH₄ obtidos por meio da codigestão de resíduos em um sistema de digestão em duas fases.

Tabela 2.11. Produção de hidrogênio e metano por um sistema de duas fases a partir da codigestão de resíduos.

Substrato	Modo de operação	Rendimento de H ₂ (L H ₂ /g SV)	Rendimento de CH ₄ (L CH ₄ /g SV)	Referências
Resíduos domésticos	Contínuo	0,043	0,5	LIU <i>et al.</i> (2006)
	Contínuo	290 ^a	240 ^a	HAN <i>et al.</i> (2005)
	Semicontínuo	65 ^a	546 ^a	WANG e ZHAO (2009)
Resíduos alimentares	Contínuo	0,205	0,464	CHU <i>et al.</i> (2010)
	Semicontínuo	117 ^a	311 ^a	CHINELLATO <i>et al.</i> (2013)
	Batelada	0,05	0,094	NATHAO, SIRISUKPOKA e PISUTPAISAL (2013)
FORSU	Semicontínuo	2,5 ^c	0,28 ^b	LEE <i>et al.</i> (2010)
Lodo de ETE	Batelada	0,038	0,097	CHENG <i>et al.</i> (2016)
Resíduos alimentares + Lodo de ETE	Batelada	0,13	0,617	SIDDIQUI, HORAN e SALTER (2011)
	Batelada	0,10	0,353	LIU <i>et al.</i> (2013b)
Lodo de ETE + Glicerol bruto (1%)	Batelada	0,5	1,48	RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014)
Torta de óleo de palma + Glicerol 0,75 e 1,5%	Contínuo/semicontínuo	23	44	KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017)

^aL/Kg SV, ^bL/g DQO, ^c mol H₂/ mol de hexose

Diante do que foi descrito é inegável a importância de pesquisas voltadas para a utilização de diferentes resíduos para a produção de bioenergia em forma de H_2 e CH_4 por meio de processos biológicos sustentáveis, capazes de contribuir para a diversificação da matriz energética.

Além disso, a dificuldade no gerenciamento e o descaso no tratamento de resíduos do setor de saneamento – resíduos orgânicos urbanos e de lodo de ETE (resíduo do tratamento de esgotos), bem como o aumento dos resíduos provenientes da produção de biodiesel, como é o caso do glicerol, é uma realidade no Brasil e em vários países do mundo. Tais fatos podem ser considerados como uma oportunidade para o desenvolvimento de técnicas alternativas (ex. codigestão anaeróbia) que possibilitem agregar valor a estes resíduos por meio da produção de biocombustível (H_2 e CH_4) e reduzir o potencial poluidor, estratégias totalmente inserida nos princípios da Política Nacional de Resíduos Sólidos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Ensaio do Potencial Bioquímico de Hidrogênio – Ensaio BHP e Ensaio do Potencial Bioquímico de Metano – Ensaio BMP foram realizados para avaliar a codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol a partir de diferentes misturas (binárias e ternárias) quanto à produção dos gases H_2 e CH_4 em condições mesofílicas ($35\text{ }^\circ\text{C}$).

A primeira fase do processo de digestão anaeróbia, conforme descrita anteriormente, consiste na fermentação anaeróbia. Essa etapa será doravante designada por fermentação acidogênica para melhor diferenciar da segunda fase, isto é, a metanogênese.

3.1 Substratos

3.1.1 Resíduos orgânicos

Os resíduos orgânicos utilizados como substrato foram coletados no restaurante universitário (RU) – Unidade central, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). As amostras de resíduos, provenientes das etapas de pré-preparo e pós-consumo das refeições, foram coletadas diariamente, durante cinco dias, para obter uma maior representatividade do cardápio oferecido pelo restaurante. Cada uma das amostras de resíduos orgânicos, contendo 10 kg, foi homogeneizada e submetida à quarteamento para obter uma fração final de 2,5 kg (ABNT, 2004) (Figura 3.1).

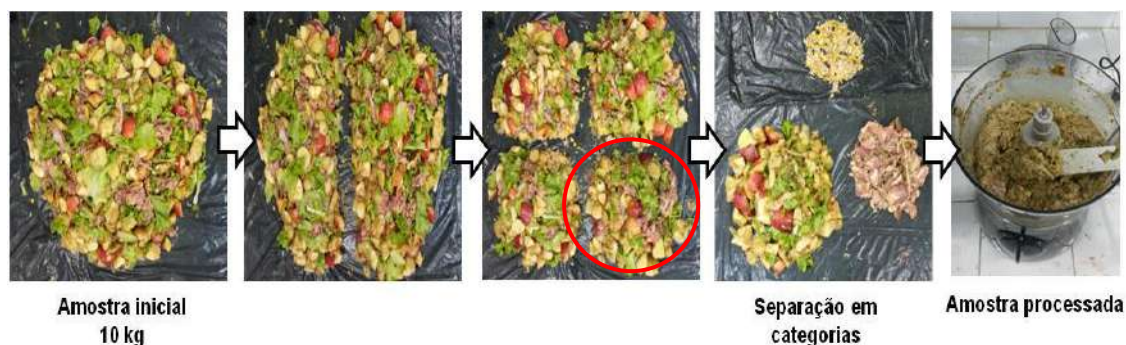


Figura 3.1. Esquema geral das etapas do quarteamento e processamento das amostras de resíduos orgânicos.

A fração final foi segregada e classificada manualmente em diferentes categorias: (a) Frutas e hortaliças (verduras e legumes); (b) Grãos (leguminosas e cereais); (c) Carnes, aves, peixes e (d) Outros (Baseado em CHEN *et al.*, 2006 e KIM e SHIN, 2008).

Posteriormente, após a etapa de separação em categorias, as amostras foram cortadas, trituradas em processador (Marca Philips Walita – R17630) para reduzir o tamanho do substrato e armazenadas em freezer a – 20 °C para minimizar a degradação biológica que ocorreria à temperatura ambiente (TYAGI *et al.*, 2014).

Concluída a etapa de caracterização, todas as amostras de resíduos foram misturadas para formar uma única amostra de trabalho e uma solução de estoque foi preparada. Para a solução de estoque, a amostra de resíduos orgânicos foi diluída com água e homogeneizada em liquidificador (Marca Philips Walita –R17630), de modo a reduzir a carga orgânica, facilitar a padronização da concentração inicial do substrato e a reprodutibilidade do processo de tratamento proposto (NTAIKOU, ANTONOPOULOU e LYBERATOS, 2010). A solução estoque apresentou uma concentração final de 135 g SV/L e foi armazenada em freezer para preservar as suas características físico-químicas.

A caracterização e composição química (teor de carboidratos e proteínas) da solução estoque foram realizadas de acordo com as normas recomendadas por métodos oficiais (APHA, 2005; BRADFORD, 1976; DUBOIS *et al.*, 1956).

3.1.2 Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto (Lodo primário)

O lodo primário (LP) foi coletado de um decantador primário localizado na Estação de Tratamento de Esgoto da Penha, da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE), localizada no município do Rio de Janeiro. A amostra de lodo foi armazenada em recipientes plásticos (bombonas de 20 L) e preservadas em câmara fria à 4° C (KIM *et al.*, 2011c). Antes de cada ensaio, o lodo era retirado da refrigeração e mantido à temperatura ambiente.

A caracterização e composição química (teor de carboidratos e proteínas) do lodo primário foram realizadas de acordo com as normas recomendadas por métodos oficiais, conforme citado anteriormente.

3.1.3 Glicerol bruto

O glicerol bruto (GL) utilizado como cosubstrato neste estudo foi oriundo da transesterificação de óleo de soja (60%) e gordura animal (40%) e fornecido pelo Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello – CENPES/PETROBRAS. A caracterização química do glicerol bruto foi realizada de acordo com as normas recomendadas por métodos oficiais.

3.2 Inóculo

Neste estudo, lodo anaeróbio coletado de um digestor da Estação de Tratamento de Esgoto da Penha, da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE), localizada no município do Rio de Janeiro, foi utilizado como inóculo. O lodo anaeróbio coletado foi armazenado em recipientes plásticos (bombonas de 20 L) e preservado em câmara fria à 4° C (KIM *et al.*, 2011c).

3.3 Sistema de digestão anaeróbia em duas fases - Produção de H₂ e CH₄

O sistema de digestão anaeróbia em duas fases consistiu na produção de H₂ na primeira fase (fermentação acidogênica), seguida pela produção de CH₄ na segunda fase (metanogênese). Ensaio do Potencial Bioquímico de Hidrogênio – Ensaio BHP (adaptado de LIN *et al.*, 2007) e Ensaio do Potencial Bioquímico de Metano – Ensaio BMP (HANSEN *et al.*, 2004 adaptado por ALVES, 2008) foram utilizados na etapa de fermentação acidogênica e de metanogênese, respectivamente.

Na primeira fase, para avaliar a influência do glicerol na codigestão de resíduos orgânicos e/ou lodo primário na produção de H₂, os ensaios foram realizados duas etapas: ensaios com misturas binárias (lodo primário e glicerol (LP+GL) e resíduo orgânico e glicerol (RO+GL)) e ensaios com misturas ternárias (resíduo orgânico, lodo primário e glicerol (RO+LP+GL)), as quais foram adicionados diferentes volumes de glicerol (1 e 3%), conforme descritos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Detalhamento das etapas, substratos e amostras utilizadas nos ensaios BHP e BMP.

Etapas	Substratos	Amostras
Mistura Binária	Lodo primário e Glicerol	LP+GL1%
		LP+GL3%
		LP
	Resíduos orgânicos e Glicerol	RO+GL1%
		RO+GL3%
		RO
Mistura Ternária	Resíduo orgânico, Lodo primário e Glicerol	RO+LP+GL1%
		RO+LP+GL3%
		RO+LP (2:1)

Para todos os ensaios foram utilizados os respectivos controles contendo apenas lodo primário (LP) e resíduo orgânico (RO) (no caso de misturas binárias) e a mistura entre desses dois substratos (RO+LP) (no caso de mistura ternária). Diferentes proporções entre a mistura de resíduos orgânicos e lodo primário (1:1, 2:1 e 3:1 (v/v)) também foram avaliadas com o objetivo de determinar a melhor relação entre estes resíduos quanto à produção de H₂ e utilizá-la como amostra controle (RO+LP). Lodo digerido pré-tratado termicamente foi utilizado como inóculo.

Na segunda fase, após a produção de H₂ ter cessado, os efluentes de cada mistura de resíduos foram utilizados como substratos para a produção de CH₄. O inóculo utilizado foi o mesmo da etapa anterior, porém sem pré-tratamento. Um esquema geral das etapas realizadas neste trabalho é apresentado na Figura 3.2.

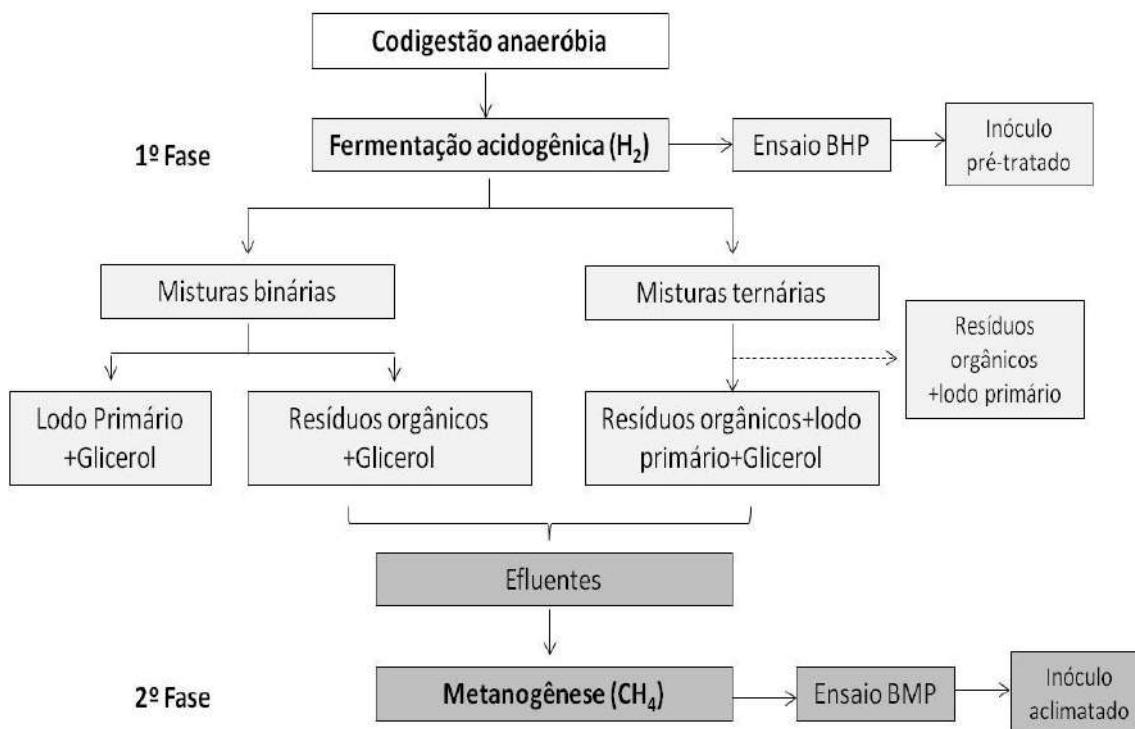


Figura 3.2. Etapas envolvidas no sistema de digestão anaeróbia em duas fases para produção de H_2 via fermentação acidogênica e produção de CH_4 via metanogênese.

3.3.1 Procedimentos experimentais para os ensaios de BHP e BMP

3.3.1.1 Produção de hidrogênio (Fermentação acidogênica) - Ensaio BHP

Os ensaios BHP foram realizados em frascos de vidro de 250 mL (tipo Duran[®]), fechados com tampas de náilon acopladas a manômetros de 1 kgf/cm^2 e válvulas para injeção de N_2 e saída de biogás (ALVES, 2008) (Figura 3.3). Os frascos foram parcialmente preenchidos com substrato e inóculo, totalizando um volume de trabalho de 120 mL, sendo utilizados 60 mL de substrato e 60 mL de inóculo (proporção de 1:1) (TYAGI *et al.*, 2014). O volume do *headspace* foi de 130 mL.



Figura 3.3. Aparato e procedimento experimentais utilizado para a realização dos Ensaios BHP e BMP.

As concentrações de substratos e a relação substrato/inóculo (S/I) foram padronizadas em todos os ensaios com base na concentração de sólidos voláteis (SV). Para isso, foram realizadas diluições tanto do inóculo quanto dos substratos (lodo primário e solução estoque de resíduo orgânico). A concentração inicial de todos os substratos e das misturas utilizadas, na etapa para produção de H_2 (sem a adição do inóculo), foi fixada em 10 g SV/L (ALIBARDI e COSSU, 2015 e FAVARO *et al.*, 2013). Para evitar uma possível sobrecarga e inibição do processo de fermentação anaeróbia, o glicerol (cosubstrato) também foi diluído a uma concentração de 10 g SV/L (adaptado de ATHANASOULIA, MELIDIS e AIVASIDIS, 2014), faixa considerada ideal para a produção de H_2 (PACHAPUR *et al.*, 2015).

A relação substrato/inóculo (S/I) nos ensaios BHP foi mantida em 1:2 (0,5 g SV/g SV). Estudos sugerem que o uso de relação S/I inferior a 1,0 g SV/g SV é suficiente para evitar a instabilidade do processo e atingir rendimentos elevados de H_2 e CH_4 durante a digestão anaeróbia de resíduos orgânicos (PAGLIACCIA *et al.*, 2015; RAFIEENIA *et al.*, 2017).

Nos ensaios de misturas binárias, duas combinações de substratos foram avaliadas: a primeira contendo lodo primário (LP) e glicerol (GL), e a segunda contendo resíduos orgânicos (RO) e glicerol (GL). A mistura ternária, por sua vez, consistiu na combinação de resíduo orgânico e lodo primário (RO+LP), à qual foram adicionados diferentes volumes de glicerol.

Previamente aos ensaios com mistura ternária, determinou-se a melhor relação entre a mistura de resíduos orgânicos e lodo primário (RO+LP). As proporções de 1:1, 2:1 e 3:1 (v/v) foram avaliadas em relação à produção de H₂, conforme sugerido por KIM *et al.* (2013). O lodo primário, antes de cada ensaio, foi submetido a um pré-tratamento térmico (100 °C por 30 minutos), com a finalidade de inibir a atividade das arqueas metanogênicas e favorecer o predomínio das bactérias produtoras de H₂ (adaptado de MASSANET-NICOLAU, DINSDALE e GUWY, 2008). Em seguida, a adição de glicerol na mistura desses substratos foi avaliada.

As misturas binária e ternária foram suplementadas com 1% e 3% de glicerol (v/v) em relação ao volume do substrato pré-estabelecido em cada experimento. A concentração de 1% (v/v) de glicerol foi adicionada aos resíduos tendo como base trabalhos anteriores (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009; RIVERO, SOLERA e PEREZ, 2014; ZAHEDI *et al.*, 2016). Já a concentração de 3% foi escolhida por não ter relatos na literatura acerca da produção de H₂. Nessas condições, apenas estudos voltados para a produção de CH₄ em sistema de digestão anaeróbia em fase única (FOUNTOULAKIS, PETOUSI e MANIOS, 2010; RAZAVIARANI *et al.*, 2013).

Amostras contendo resíduo orgânico (RO) e lodo primário (LP) e uma mistura de resíduo orgânico e lodo primário (RO+LP), sem adição de glicerol, foram utilizadas como controle dos ensaios de misturas binárias e ternária, respectivamente. O detalhamento das etapas, tipos de amostras e os volumes de cada substrato utilizado nos ensaios de codigestão encontram-se descritos na Tabela 3.2.

Nesta fase, em todas as misturas supracitadas, o inóculo foi pré-tratado a 100 °C durante 30 min e posteriormente resfriado à temperatura ambiente (DONG *et al.*, 2010; JAYALAKSHMI, JOSEPH e SUKUMARAN, 2009; PISUTPAISAL, NATHAO e SIRISUKPOKA, 2014), com a finalidade de inibir os microrganismos consumidores de H₂. Além disso, o pH inicial do meio, em cada tipo de amostra, foi ajustado para $5,5 \pm 0,1$ com auxílio de uma solução HCl 1M (ELBESHBISHY *et al.*, 2011). Nenhum meio nutricional foi adicionado às misturas e frascos controles contendo apenas inóculo foram utilizados para medir a quantidade de H₂ produzida pela biomassa.

Tabela 3.2. Detalhamento das etapas, tipos de amostras e respectivos volumes utilizados nos ensaios para produção de hidrogênio.

Etapas	Substratos	Amostras	Volumes das amostras
Misturas Binárias	Lodo primário + Glicerol	LP + GL1%	59,4 mL de LP + 0,6 mL de GL
		LP + GL3%	58,2 mL de LP + 1,8 mL de GL
		LP (controle)	60 mL de LP
	Resíduo Orgânico + Glicerol	RO + GL1%	59,4 mL de RO + 0,6 mL de GL
		RO + GL3%	58,2 mL de RO + 1,8 mL de GL
		RO (controle)	60 mL de RO
Misturas Ternárias	Lodo primário + Resíduo Orgânico + glicerol	RO+LP+GL 1%	59,4 mL de (RO+LP) + 0,6 mL de GL
		RO+LP+GL 3%	58,2 mL de (RO+LP) + 1,8 mL de GL
		RO+LP (Controle)	60 mL de RO+LP (2:1)

Todos os frascos, ao final dos procedimentos, foram purgados com nitrogênio gasoso (N₂) durante 2 min para a manutenção de condição de anaerobiose. Em seguida, os frascos foram incubados em agitador rotativo a 35 °C a 150 rpm de agitação (Marca Tecnal - TE-4200). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Os ensaios tiveram uma duração de 36 horas e a cada 4 horas as pressões de cada frasco foram monitoradas. Amostras de biogás e líquidas foram coletadas periodicamente para determinação do teor (%) de H₂ através de cromatografia em fase gasosa (CG) e das concentrações dos produtos metabólicos resultantes da fermentação acidogênica através de cromatografia em fase líquida (HPLC), respectivamente. Com base nos valores das pressões, foram obtidos os valores de volume acumulado (NmL) e taxa de produção (NmL/hora) nas Condições Normais de Temperatura e Pressão – CNTP.

3.3.1.2 Produção de metano (Metanogênese) – Ensaio BMP

Após a etapa destinada à produção de H₂ (36 horas de fermentação), os efluentes acidificados de cada mistura binária e ternária foram utilizados como substratos para produção de CH₄. Não houve separação das frações sólida e líquida dos efluentes.

Nos ensaios BMP foram mantidos os mesmos procedimentos experimentais utilizados nos ensaios BHP. As diferenças se referem ao ajuste de pH inicial para 7,0 por meio da adição de solução de NaOH 1M (ALIBARDI e COSSU, 2015), a relação substrato/inóculo, ao uso do inóculo sem pré-tratamento (*in natura*) e ao tempo de monitoramento.

Todas as amostras antes dos ensaios BMP foram equalizadas de forma a manter uma relação substrato/inóculo (S/I) de 1:3 (0,3 g SV/g SV). Alguns autores sugerem o aumento da concentração de biomassa (inóculo) em relação à concentração utilizada na etapa de BHP (MONLAU *et al.*, 2015; PEIXOTO *et al.*, 2012) para favorecer a produção de CH₄ na etapa de BMP, visto que o aumento da quantidade de inóculo garante uma alta atividade microbiana, baixo risco de sobrecarga e baixo risco de inibição (ANGELIDAKI *et al.*, 2009).

Amostras dos frascos contendo o efluente do resíduo orgânico (RO), lodo primário (LP) e da mistura de resíduo orgânico e lodo primário (RO+LP), sem adição de glicerol, foram utilizadas como controle.

Na fase de produção de CH₄, o inóculo foi utilizado *in natura*, ou seja, sem nenhum tipo de tratamento prévio. O inóculo foi apenas aclimatado às condições de operação (temperatura - 35 °C e rotação – 150 rpm) durante 5 dias (ANGELIDAKI *et al.*, 2009). Da mesma forma que nos ensaios BHP, nenhum meio nutricional foi suplementado às misturas e frascos controles contendo apenas inóculo foram utilizados para medir a quantidade de CH₄ produzida pela biomassa.

Os ensaios tiveram uma duração de 40 dias e, durante esse período, as pressões de cada frasco foram monitoradas diariamente. Amostras de biogás foram coletadas periodicamente para determinação do teor (%) de CH₄ através de cromatografia em fase gasosa. A coleta das amostras de biogás foi realizada no primeiro e no quinto dia e, posteriormente, a cada 5 dias, até o 40º dia. Com base nos valores das pressões, foram obtidos os valores de volume acumulado (NmL) e taxa de produção (NmL/dia) nas Condições Normais de Temperatura e Pressão – CNTP. Nesta etapa não foi possível determinar as concentrações dos produtos metabólicos resultantes da metanogênese através de cromatografia em fase líquida (HPLC). A Figura 3.4 mostra um fluxograma representativo do sistema de digestão anaeróbia em duas fases.

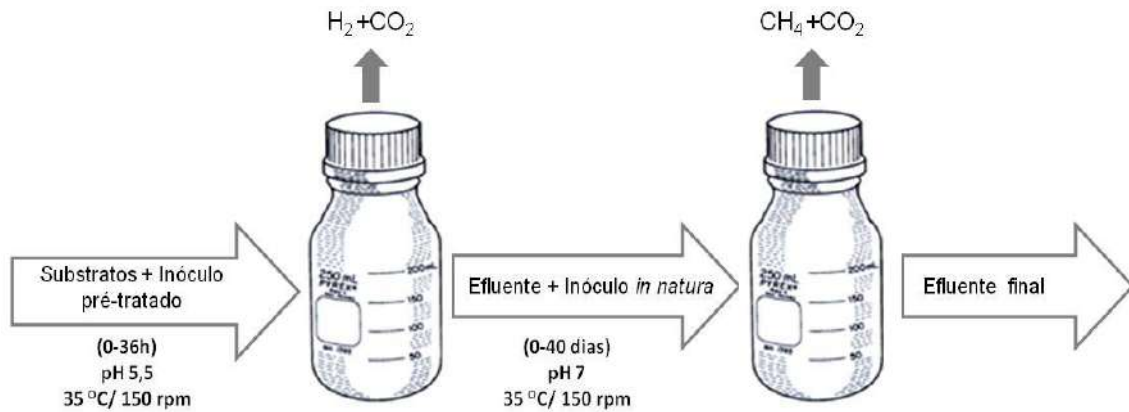


Figura 3.4. Fluxograma do sistema de digestão anaeróbia em duas fases.

3.4 Métodos analíticos

As análises de Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), amônia total (Nessler), fósforo total, pH, alcalinidade e ácidos graxos voláteis foram mensuradas de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Carboidratos totais foram analisados utilizando o método Dubois (DUBOIS *et al.*, 1956), utilizando glicose como padrão. O nitrogênio orgânico foi calculado pela diferença entre o NTK e o nitrogênio amoniacal. Proteínas totais foram determinadas pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão. O teor de umidade foi determinado com base na NBR 6457 (ABNT, 1986), na qual se mantém uma amostra de resíduo, com massa conhecida (massa inicial), em estufa a temperatura constante de 65°C até atingir uma massa final constante. Os parâmetros e os métodos de análises utilizados estão detalhados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Parâmetros e métodos utilizados para a caracterização das amostras.

Parâmetro	Unidade	Método	Referências
Ácidos orgânicos voláteis	mg CH ₃ COOH/L	Titulométrico	SMEWW ¹ 5560B
Alcalinidade	mg CaCO ₃ /L	Titulométrico	SMEWW ¹ 2320 B
Amônia	mg/L	Espectrofotométrico	SMEWW ¹ 4500 - NH ₃ C
Carboidratos totais	mg/L	Espectrofotométrico	DUBOIS <i>et al.</i> (1956)
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	mg/L	Espectrofotométrico	SMEWW ¹ 5220 C
Fósforo Total	mg/L	Espectrofotométrico	SMEWW ¹ 4500-P C
Nitrogênio total (NTK)	mg/L	Titulométrico	SMEWW ¹ 4500-Norg C
pH	--	Potenciométrico	SMEWW ¹ 4500 B
Proteínas totais	mg/L	Espectrofotométrico	BRADFORD (1976)
Série de Sólidos	mg/L	Gravimétrico	SMEWW ¹ 2540 B, 2540 C, 2540 D.
Umidade	%	-	Baseada na NBR 6457 ²

¹Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA (2005).

²Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (1986).

O conteúdo de H₂ no biogás, nas amostras de misturas binárias, foi determinado por cromatografia em fase gasosa utilizando um Micro CG (marca Agilent Technologies 3000A), equipado com dois canais e um detector de condutividade térmica (DCT). As colunas utilizadas foram a HP-PLOT U e a HP-PLOT (Peneira molecular 5A), com temperatura de 60 °C e 100 °C, respectivamente. A temperatura do injetor foi de 90 °C e a temperatura de entrada da amostra foi fixada em 110 °C. Hélio e nitrogênio foram utilizados como gases de arraste para as colunas HP-PLOT U e HP-PLOT Molecular sieve 5A, respectivamente (DE SÁ *et al.*, 2015).

Nas amostras de mistura ternária, o conteúdo de H₂ no biogás foi determinado por meio de um CG (marca Shimadzu GC2010) equipado com coluna Carboxen 1010 PLOT e um detector de condutibilidade térmica (DCT). A temperatura do injetor foi de 220 °C, temperatura do detector de 230 °C e a temperatura do forno de 130-135 °C (6 min). Argônio foi utilizado como gás de arraste (ADORNO e TOMITA, 2014). Vale ressaltar que a mudança em relação ao tipo de cromatógrafo e ao método de análise utilizado para as amostras de misturas binárias e ternárias foi decorrente apenas de problemas operacionais.

A determinação do conteúdo de CH₄ no biogás foi realizada por cromatografia em fase gasosa através de Micro CG (Varian CP 4900), acoplado a uma coluna PPQ (10 mesh). A temperatura da coluna e do detector de condutividade térmica de (DCT) foram de 50 °C e 250 °C, respectivamente, enquanto que a temperatura de injeção foi de 80 °C. Hélio foi utilizado como gás de arraste (SANTOS *et al.*, 2014). Ampolas gasométricas foram utilizadas para a coleta e armazenamento das amostras de biogás até o momento de injeção no cromatógrafo a gás (Figura 3.5).

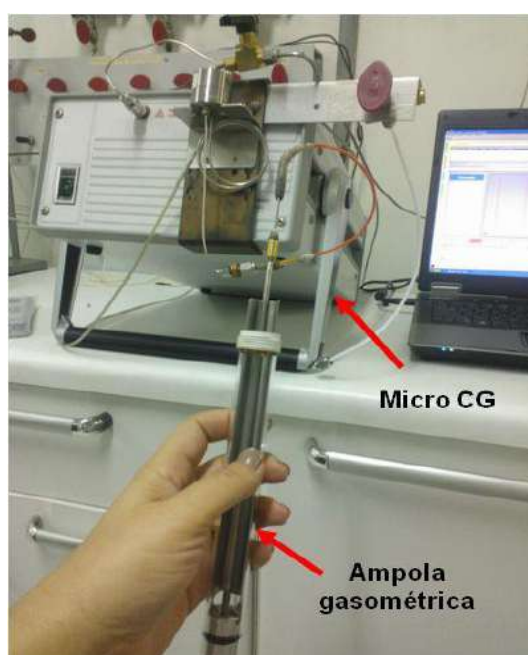


Figura 3.5. Ampola gasométrica para amostragem de gás conectada ao cromatógrafo a gás.

As concentrações de ácidos orgânicos voláteis (ácidos acético e butírico), glicerol e 1,3-propanodiol nas amostras líquidas coletadas foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High performance liquid chromatography – HPLC*) (Shimadzu Corporation, Japão), utilizando uma coluna HPX-87H Aminex a 55 °C. As análises foram realizadas a um fluxo de 0,7 mL/min, temperatura constante de 55 °C e a fase móvel consistiu de uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5mM. O glicerol foi analisado por um detector de índice de refração (RID). As amostras líquidas foram centrifugadas e os sobrenadantes foram filtrados em membrana de porosidade 0,22 µm Millipore antes de serem injetadas no sistema cromatográfico (FABER e FERREIRA-LEITÃO, 2016). Estes parâmetros foram determinados apenas nas amostras com

misturas binárias de resíduos orgânicos e glicerol durante a fase de produção de H₂ (fermentação acidogênica). Infelizmente, devido a problemas operacionais, não foi possível à realização dessas análises nos outros tipos de amostras avaliadas.

3.5 Análise de dados

O volume de biogás gerado nos ensaios do potencial bioquímico de H₂ (BHP) e metano (BMP) foi determinado por meio das Equações 3.1 a 3.4 (HARRIES, CROSS e SMITH, 2001). Para tanto, foram utilizados dados referentes à leitura das pressões de cada frasco e das pressões atmosféricas obtidas a partir do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (www.inmet.com.br).

- Volume de Biogás gerado entre T e T+1:

$$V_{\text{biogás gerado entre T e T+1}} = \left[\frac{P_F \times V_{UF} \times C}{R \times T_F} \right] \times 1000 \quad (\text{Equação 3.1})$$

Onde:

T: Tempo (horas ou dias)

P_F: Pressão interna do biogás no interior do frasco em milibar (mbar)

V_{UF}: Volume útil do frasco (L)

C: Volume molar (22,41 litros/mol)

R: Constante universal dos gases (83,14 litros.mbar/mol.k)

T_F: Temperatura do frasco em Kelvin

- Volume de Biogás Acumulado (mL):

$$\text{Volume Acumulado (mL)} = [\text{Gerado entre T e (T + 1)}] + V_{GA} \quad (\text{Equação 3.2})$$

Onde:

T: Tempo (horas ou dias)

V_{GA}: Volume de biogás acumulado do tempo anterior (mL)

- Volume de Biogás Acumulado CNTP (NmL):

$$\text{Volume de biogás gerado na CNTP} = \text{Volume acumulado} \times \left[\frac{273}{T_F} \right] \times \left[\frac{P_{atm} - 42}{760} \right]$$

Onde: (Equação 3.3)

P_{atm} : Pressão atmosférica em milibar (mbar)

T_F : Temperatura do Frasco em Kelvin (K)

- Taxa de produção de Biogás (NmL/hora ou NmL/dia):

$$\text{Taxa de Geração de Biogás} = \frac{\text{Vol. acumulado (T + 1)} - \text{Vol. acumulado (T)}}{(T + 1) - T}$$

(Equação 3.4)

O volume de biogás acumulado (mL) foi calculado e corrigido para as Condições Normais de Temperatura e Pressão – CNTP, sendo então obtido o volume de biogás em NmL. Este último, associado às horas ou dias corridos, forneceu a taxa de geração média de biogás.

Os percentuais de remoção de matéria orgânica (SV, DQO e carboidratos) foram calculados com base nas análises do conteúdo de cada parâmetro nos reatores antes e depois dos experimentos de codigestão (NATHAO, SIRISUKPOKA e PISUTPAISAL, 2013), conforme Equação 3.5.

- Remoção (%):

$$\text{Remoção}(\%) = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100$$

(Equação 3.5)

Onde:

C_i : Concentração inicial

C_f : Concentração final

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos substratos

4.1.1 Resíduos orgânicos

Os resultados médios da análise da composição física (caracterização gravimétrica) dos resíduos alimentares coletados no restaurante universitário após procedimento de triagem manual, estão apresentados na Figura 4.1. A caracterização gravimétrica permite correlacionar os tipos de frações com a composição química dos resíduos (teor de carboidratos, proteínas e lipídios), fornecendo informações quantitativas sobre a natureza dos resíduos essenciais no entendimento da geração de biogás (H_2 e CH_4) através do processo de digestão anaeróbia.

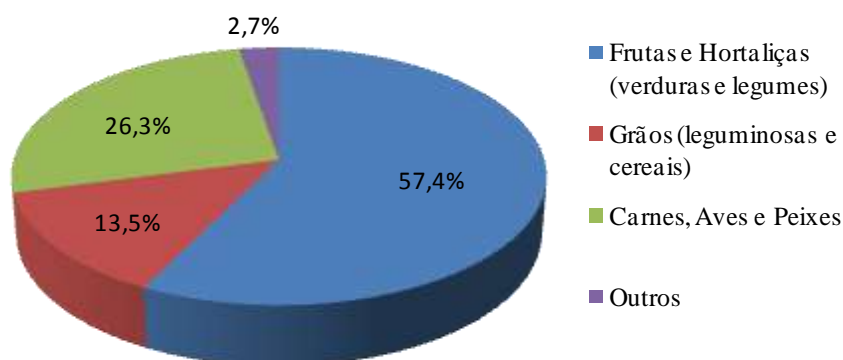


Figura 4.1. Caracterização gravimétrica dos resíduos orgânicos utilizados como substrato.

Os resíduos classificados em Frutas e hortaliças (verduras e legumes) e Grãos (leguminosas e cereais) equivaleram a 57,4% e 13,5% do total de resíduos coletados, respectivamente. Tais frações, somadas, representam 71% dos resíduos orgânicos em peso úmido e contribuem com a maior parte dos carboidratos, considerados os principais compostos biodegradáveis para a produção de H_2 (LAY *et al.*, 2003).

A fração contendo resíduos classificados como carnes, aves e peixes apresentou um percentual elevado (26,3%), sendo constituída basicamente por resíduos de gordura animal e peles provenientes do pré-preparo dos alimentos e dos restos de refeições. As carnes em geral contribuem com proteínas e lipídios, compostos orgânicos com baixo potencial de produção de H_2 , preferencialmente utilizados para a produção de CH_4

(KOBAYASHI *et al.*, 2012). Por fim, a fração designada como “outros” refere-se aos resíduos não identificados visualmente durante a triagem e de resíduos de difícil degradação, tais como ossos.

O resultado para a fração frutas e hortaliças, comumente denominada de vegetais, está em concordância com as composições descritas por SHIN e YOUN (2005), KIM e SHIN (2008) e CAPPAL *et al.* (2014), cujos trabalhos também apontam essa fração como a mais representativa dos resíduos alimentares. Por outro lado, os valores percentuais para as frações de carnes, aves e peixes e de grãos divergiram das reportadas na literatura, apresentando valores maiores e menores do que a faixas citadas, isto é, entre 5 a 17% e 35 a 61%, respectivamente (CHEN *et al.*, 2006; HAN *et al.*, 2005; SHIN e YOUN, 2005). A Tabela 4.1 mostra as diferentes composições e fontes de origem de resíduos orgânicos relatadas na literatura.

Tabela 4.1. Comparação entre a composição física dos resíduos alimentares obtida nesse estudo e a reportada na literatura com base em resíduos de diferentes origens.

Fontes	Composição (%)	Referências
Refeitório	Grãos (61,1%), vegetais (29,7%) e carnes (9,2 %)	HAN <i>et al.</i> (2005)
Refeitório	Grãos (35,7%), vegetais (47,1%) e carnes (17,2%)	SHIN e YOUN (2005)
Mercearias	Vegetais (38%); frutas (43%); carnes (5%); outros (pão, milho, ovo e queijo -14%)	CHEN <i>et al.</i> (2006)
Cafeteria	Grãos (36,3%), vegetais (45,8%), carnes (12,2%) e peixe (4,6%).	KIM e SHIN (2008)
Refeitório	Grãos, vegetais, carnes e peixes	CHU <i>et al.</i> (2008)
Refeitório	Arroz, vegetais, frutas e carnes	SREELA-OR <i>et al.</i> , (2011a)
Sintético	Carne (10%), frutas e vegetais (65%), pão (10%), macarrão cozido (15%)	CAPPAL <i>et al.</i> (2014)
Restaurante	Frutas, verdura e legumes (57,4%), carnes (26,3%), grãos (13,5%) e outros (2,7%)	Este estudo

Além da composição física, os resíduos orgânicos do restaurante universitário foram caracterizados quanto à composição química, conforme apresentado na Tabela 4.2. Segundo YASIN *et al.* (2013), resíduos alimentares apresentam bom potencial de

produção de energia através de fermentação acidogênica devido às suas características como pH ácido, elevados valores para umidade, concentração de sólidos voláteis e carboidratos, e relação (C/N) próximas ou superior a 20, características importantes para alcançar altos rendimentos de H₂.

Tabela 4.2. Caracterização química dos resíduos orgânicos utilizados nesse trabalho.

Parâmetros	Resíduos orgânicos
Umidade (%)	72,6
Ph	4,0
DQO (g/L)	93,91±0,01
ST (g/L)	140,3 ±3,87
SV (g/L)	135,9 ±0,09
SV/ST (%)	96,9
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	< L.d.*
Ácidos Voláteis Totais (mg CaCO ₃ /L)	2310
P-Total (mg/L)	939,1 ±4,7
Amônia (mg/L)	200,7 ±1,3
Nitrogênio Total Kjeldahl –NTK (mg/L)	4210
N orgânico (mg/L)	4009,3
Carboidratos (% SV)	43,5
Proteínas (% SV)	18,4
C (% SV)	53,3
N (% SV)	2,95
C/N	18

*Limite de detecção

O pH medido nos resíduos orgânicos foi ácido (4,0), típico de resíduos alimentares, cujos valores normalmente variam na faixa entre 4,1 a 6 (BONI *et al.*, 2013; PAN *et al.*, 2008; XIAO *et al.*, 2013; ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA, 2013).

Em relação ao conteúdo de umidade dos resíduos orgânicos, fator que influencia diretamente a atividade microbiana no processo de biodegradação anaeróbia, foi obtido um valor médio de 72,6%, em conformidade com os valores relatados por YASIN *et al.*, (2013) para resíduos de alimentos (entre 72 e 85%). Esse resultado encontra-se um pouco abaixo da faixa reportada em outros trabalhos, conforme apresentado na Tabela 4.3. De acordo com ZHANG *et al.* (2007), devido ao teor relativamente alto de umidade

dos resíduos alimentares, tecnologias de bioconversão como digestão anaeróbia são mais adequadas em comparação com tecnologias de conversão química, a exemplo da combustão e gaseificação.

As médias das concentrações de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) nos resíduos orgânicos foram de 140,3 g/L e 135,9 g/L, respectivamente. A fração volátil representou 96,9% do total de sólidos, valor semelhante ao descrito por BONI *et al.*(2013) para resíduos alimentares, indicando um alto conteúdo orgânico para ser biodigerido.

A DQO dos resíduos orgânicos foi de 93,9 g/L, um pouco abaixo da faixa encontrada na literatura para resíduos alimentares, que varia de 106,7 a 162 g/L (KIM e SHIN, 2008; SREELA-OR *et al.*, 2011a; ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA, 2013). Para NTK, o valor de 4,2 g/L é semelhante ao obtido por KIM e SHIN (2008) e acima dos valores descritos por BONI, SBAFFONI e TUCCINARDI, (2013) e ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA (2013).

A obtenção do valor do carbono (C) foi realizada conforme sugerido por LOURENÇO (2010), o qual considera que para estimar a correta relação carbono/nitrogênio (C/N) dos materiais, deverá ser assumido o carbono proveniente dos sólidos voláteis (SV). O autor afirma que para a grande maioria dos compostos de origem biológica, o conteúdo em carbono representa de 45 a 60% da fração de sólidos voláteis (SV). Para tanto, assumiu-se o percentual de 55%, de modo que o teor de carbono foi obtido multiplicando-se o percentual da fração volátil por 0,55. Assim, os resíduos orgânicos do restaurante universitário apresentaram um conteúdo de carbono de 53,3%, valor bastante similar aos encontrados em diversos trabalhos que variam na faixa de 41 a 51,4% (HAN e SHIN, 2004a; MING *et al.*, 2008; PAN *et al.*, 2008; XIAO *et al.*, 2013).

A relação C/N é outro parâmetro importante, uma vez que um conteúdo maior de carbono favorece a produção de H₂. Para os resíduos estudados, foi encontrada uma relação C/N de 18, valor situado dentro da faixa descrita na literatura, isto é, entre 14,7 e 22,1 (BONI, SBAFFONI e TUCCINARDI, 2013; HAN e SHIN, 2004a; PAN *et al.*, 2008). Os parâmetros da caracterização química dos resíduos alimentares descritos por diferentes autores estão apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Características químicas dos resíduos alimentares reportados na literatura.

Parâmetros físico-químicos dos resíduos alimentares											
pH	Conteúdo de umidade	ST (g/L)	SV (g/L)	NTK (g/L)	DQO total (g/L)	Carboidratos totais (g/L)	Proteínas	C (%)	N (%)	C/N	Referências
-	79,5	391,3	371,7	-	-	-	-	51,4 ^a	3,5 ^a	14,7	HAN e SHIN (2004)
5	82,5	-	-	-	-	25	-	51,2	2,8	18,3	SHIN e YOUN (2005)
4,89	-	19,2 ^a	17,8 ^a	-	-	-	-	48,4	2,83	17,1	PAN <i>et al.</i> (2008)
-	85,3	-	88,8	-	-	-	-	41,72 ^a	1,96	21,2	MING <i>et al.</i> (2008)
4,6	-	16,8 ^a	16,1 ^a	4	162,2	-	-	-	-	-	KIM e SHIN (2008)
-	-	-	10,1	-	110	64	-	-	-	-	SREELA-OR <i>et al.</i> (2011b)
4,1	82,8	-	-	-	-	-	-	50	2,8	17,8	XIAO <i>et al.</i> (2013)
4,6	89,7	10,3 ^a	96,7 ^b	3,2 ^a	-	42,9 ^b	34,4 ^b	-	-	-	BONI <i>et al.</i> (2013)
5,84	-	23,7 ^a	94,86 ^a	1,91 ^a	-	-	-	-	-	22,4	BONI, SBAFFONI e TUCCINARDI, (2013)
6	-	-	-	3,4	106,7	36,5	-	-	-	-	ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA, 2013

^a %

^b % ST

Em relação ao teor de carboidratos e proteínas, os resíduos orgânicos estudados apresentaram um conteúdo de carboidratos de 43,3%, valor inferior aos descritos na literatura para resíduos alimentares de diferentes origens, os quais variam de 55 a 78,2%, entretanto, o conteúdo de proteínas de 18,4% encontra-se dentro da faixa reportada em trabalhos anteriores (Tabela 4.4).

Os resíduos alimentares são substratos heterogêneos e a variabilidade nos resultados referentes à composição química é fortemente influenciada por fatores como origem dos resíduos (restaurantes, lanchonetes, entre outros), aspectos econômicos, entre outros. Além disso, a falta de uma padronização na composição dos resíduos orgânicos (análise gravimétrica) pode, muitas vezes, dificultar a comparação entre os resultados.

Tabela 4.4. Composição de resíduos alimentares provenientes de diferentes fontes de origem (base % peso seco) (IACOVIDOU, OHANDJA e VOULVOULIS, 2012).

Origem	Carboidratos	Proteínas	Lipídios
Domésticos	55 ^a	17	13
Domésticos	60,7	14,4	14,4
Urbanos (domésticos, supermercados, restaurantes)	78,2	16,9	4,9
Refeitórios universitários	64,5	14,9	17,5
Instalações militares	56,8	17,5	22
Restaurantes	63,9	21,3	12,4

^a Calculado como a diferença entre lipídios e proteínas, além da fração amido e açúcares

4.1.2 Lodo de ETE

O lodo de ETE é um resíduo de composição bastante complexa, cujas características físico-químicas variam de acordo com o processo de tratamento utilizado em cada estação. Os resultados da caracterização físico-química do lodo primário utilizado como substrato para a codigestão nesse estudo estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Caracterização química do lodo primário de ETE utilizado como substrato.

Parâmetros	Lodo Primário
pH	6,52
DQO (g/L)	38,7 ± 0,1
ST (g/L)	41,1 ±1,0
SV (g/L)	22,3 ±0,6
SV (%)	54,2
SSV (g/L)	21,7 ±0,9
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	960
Ácidos Voláteis Totais (mg CaCO ₃ /L)	2
P-Total (mg/L)	15,2 ±0,1
Amônia (mg/L)	83,7 ±0,4
NTK (mg/L)	476
Norg (mg/L)	392,3
Carboidratos (% SV)	28,4
Proteínas (% SV)	11
C (% SV)	29,8
N (% SV)	1,75
C/N	17

O lodo primário apresentou um pH de 6,5 e concentração de sólidos voláteis foi de 22,3 g/L. Valores considerados dentro da faixa de 5,9 a 7,7 para pH e de 10,4 a 24,2 g/L para SV (KIM *et al.*, 2011b, 2013b; XIAO e LIU, 2009; ZHU *et al.*, 2008).

A DQO do lodo foi de 38,7 g/L, valor em conformidade com a faixa encontrada na literatura, que varia entre 10 a 43,4 g/L (KIM *et al.*, 2011b, 2013b; ZHU *et al.*, 2008a). Segundo ZHU *et al.* (2008), a maior parte da fração volátil encontrada no lodo de ETE é composta de materiais proteicos que podem contribuir com mais de 50% da DQO total desse tipo de resíduo. A Tabela 4.6 mostra dados referentes à caracterização química do lodo de ETE reportados na literatura.

Tabela 4.6. Características físico-químicas de lodo de ETE reportados na literatura.

Parâmetros físico-químicos de lodo de ETE									Referências
pH	ST (g/L)	SV (g/L)	SSV (g/L)	Alcalinidade (g CaCO ₃ /L)	DQO total (g/L)	Carboidratos totais (g/L)	NTK (g/L)	Amônia (mg/L)	
7,5	-	-	-	4,7	31,9	5	2,3	-	KIM, HAN e SHIN (2004)
7,6	-	-	5,5	2,83	-	-	-	-	KIM, HAN e SHIN (2008)
5,9	30,6	19,8	-	19,6	35,9	0,12	1,23	-	ZHU <i>et al.</i> (2008)
7	14,3	10,4	-	-	11,5	-	-	-	XIAO e LIU (2009)
6,9	35,2	24,2	-	1,54	43,4	4	1,14	200	KIM <i>et al.</i> (2011b)
6,4	-	-	7,4	4,8	-	-	-	-	KIM <i>et al.</i> (2013a)
7,7	12,6	10,5	-	-	10,0	-	-	-	KIM <i>et al.</i> (2013b)
6	-	-	26,4	6,2	33,9	3,2	2,7	360	ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA (2013)

As concentrações de NTK, amônia e alcalinidade no lodo primário foram de 476 mg/L, 83,7 mg/L e 960 mg/L, respectivamente. Tais valores encontram-se abaixo das faixas encontradas na literatura para esses parâmetros (Tabela 4.6). Para NTK e amônia, os valores situam-se entre 1,14 a 2,7 g/L e 200 e 360 mg/L, respectivamente (KIM *et al.*, 2011b; ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA, 2013). A faixa de valores encontrada para alcalinidade foi de 2,83 a 19,6 g/L (KIM, HAN e SHIN, 2008; ZHU *et al.*, 2008). Vale lembrar, no entanto, que as caracterizações de lodo de ETE encontradas na literatura referem-se, normalmente, a lodo misto (mistura de lodo primário e lodo ativado), o que pode explicar a divergência entre os valores obtidos nessa pesquisa e aqueles reportados na literatura.

O lodo de ETE, após o processo de tratamento biológico, se apresenta na forma de fração orgânica rica em nitrogênio, o que lhe confere uma baixa relação C/N, de cerca de 7 (KIM *et al.*, 2013a). Na amostra de lodo primário avaliada, foram obtidos teores de C e N de 29,8% e 1,75%, conferindo uma relação C/N de 17. É possível que a presença de carboidratos complexos, na forma de celulose ou hemicelulose, tenha contribuído para o elevado teor de carbono presente na amostra de lodo primário (MASSANET-NICOLAU, DINSDALE e GUWY, 2008).

4.1.3 Glicerol

Os valores de caracterização química do glicerol bruto, utilizado como cosubstrato nos experimentos de codigestão, estão apresentados na Tabela 4.7. A pureza do glicerol bruto utilizado neste estudo foi de 70%, ele apresentou 4,76% de cinzas e 16,36% de umidade. O pH foi de 6,3.

De modo geral, os valores obtidos na caracterização do glicerol bruto estão em conformidade com as faixas descritas na literatura. O grau de pureza pode variar entre 60 a 81% de glicerol (RIVALDI *et al.*, 2007; ROSSI *et al.*, 2011), enquanto que os valores citados para o teor de cinzas variam entre 0,25 a 6,4% (ROSSI *et al.*, 2011; THOMPSON e HE, 2006). As cinzas contidas no glicerol bruto consistem principalmente de sódio, proveniente do catalisador (THOMPSON e HE, 2006). Quanto ao teor de umidade, ROSSI *et al.* (2011) obtiveram um valor de 11,6%, próximo ao encontrado neste estudo.

Valores de pH comumente variam entre 5 e 7,2 (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009; ROSSI *et al.*, 2011). Segundo RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014), o glicerol

apresenta um valor de pH adequado para ser usado como cosubstrato em processos anaeróbios.

O alto teor de matéria orgânica do glicerol bruto reflete na elevada DQO e alta proporção de SV em relação ao ST, cujos valores foram de 1023,3 g/L e 94,7%, respectivamente. Os valores encontrados estão próximos aos descritos na literatura que apontam valores de 1400 g/L para DQO (ZAHEDI *et al.*, 2016) e 91,7% para SV (MARONE *et al.*, 2014).

Tabela 4.7. Características químicas do glicerol bruto utilizado como cosubstrato nessa pesquisa.

Parâmetros	Glicerol
pH	6,3
Glicerol total (%)	70
Teor de água (%)	16,4
Teor de cinzas (%)	4,76
Cloretos (mg/L)	289,6
DQO (g/L)*	1023,3
ST (g/L)	1000,8
SV (g/L)	947,8
SV (%)	94,8

*Determinado para uma solução aquosa de 1 ml/L

4.2 Produção de Hidrogênio - Primeira fase (Fermentação acidogênica)

4.2.1 Mistura Binária de lodo de ETE e glicerol

Nos ensaios de produção de H₂ a partir da codigestão de lodo de ETE e diferentes concentrações de glicerol, em todas as amostras avaliadas (LP, LP+GL1% e LP+GL3%), não foi possível determinar o teor de H₂ devido a quantidade insuficiente desse gás no biogás produzido.

Dados referentes à caracterização físico-química das amostras de lodo primário puro (experimento controle) e com adição de 1 e 3% (v/v) de glicerol (experimentos com misturas binárias), no início e final da fermentação acidogênica, são irrelevantes devido à ausência de dados quantitativos de H₂.

A aplicação de lodo de ETE como substrato na produção de H_2 envolve várias dificuldades e a produção insignificante desse gás obtida por meio da codigestão de lodo primário e glicerol pode ser atribuída, principalmente, às características físico-químicas (baixo teor de carboidratos solúveis, elevada alcalinidade, entre outros) e microbiológicas (presença de microrganismos consumidores de H_2 resistentes ao tratamento térmico) desse tipo de substrato, como será discutido doravante no item 4.2.4. Neste estudo, é provável que as concentrações de glicerol adicionadas ao lodo primário, nas faixas determinadas, tenham sido insuficientes para equilibrar a relação C/N necessária para a produção de H_2 .

O pH final, após 36 horas de fermentação acidogênica, foi, em média, de 6,85 para as amostras LP, LP+GL1% e LP+GL3%. Não houve diferença significativa com a adição de glicerol. Os valores de pH ao longo da fermentação para todas as amostras estiveram acima da faixa considerada ideal para a produção de H_2 (entre 5 e 6) (FANG e LIU, 2002; GUO *et al.*, 2010), conforme comportamento ilustrado na Figura 4.2. Tais condições podem ter contribuído com a predominância de microrganismos consumidores de H_2 .

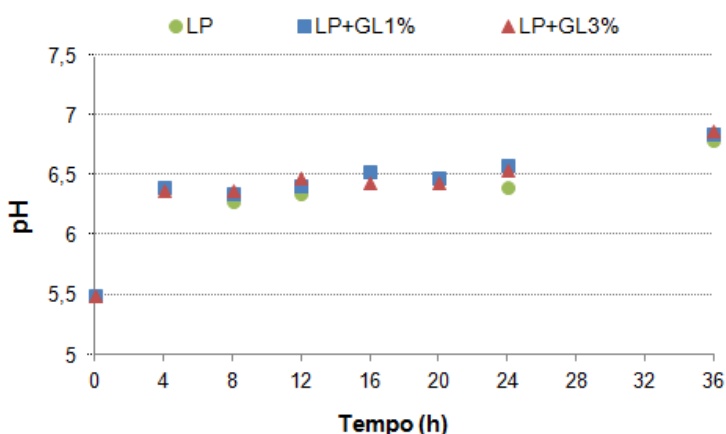


Figura 4.2. Comportamento do pH na codigestão de lodo de ETE e glicerol, durante 36 horas de fermentação acidogênica.

Os valores de pH, combinados às características físico-químicas do lodo de ETE, corroboram com a falta de dados quantitativos de H_2 . É possível que o uso de outras formas de pré-tratamento neste tipo de substrato ou mudanças nos procedimentos experimentais venham a favorecer a produção de H_2 a partir desse tipo de codigestão.

4.2.2 Mistura Binária de resíduos orgânicos e glicerol

A codigestão de resíduos orgânicos e glicerol bruto para produção de H₂ foi investigada. Na Tabela 4.8 estão apresentados os resultados referentes à caracterização físico-química das amostras contendo apenas resíduos orgânicos (experimento controle) e resíduos orgânicos adicionados de 1 e 3% (v/v) de glicerol (experimentos de misturas binárias), no início e no fim da fermentação acidogênica. Foram avaliados diversos parâmetros relacionados à matéria orgânica (demanda química de oxigênio - DQO, sólidos totais - ST, sólidos voláteis - SV e carboidratos totais) e à estabilidade do sistema anaeróbio (pH, alcalinidade total - AT e ácidos voláteis totais - AV).

As concentrações iniciais de glicerol adicionadas ao substrato e finais dos produtos metabólicos específicos (ácido acético - HAc, ácido butírico - HBu e 1,3 propanodiol - 1,3-PDO) também foram determinadas, conforme apresentado na Tabela 4.9.

A Figura 4.3 ilustra os percentuais de remoção de matéria orgânica, expressa na forma de DQO, SV e carboidratos, obtidos após 36 h de fermentação acidogênica no ensaio de codigestão com mistura binária de resíduos orgânicos e glicerol.

As amostras com adição de glicerol apresentaram inicialmente concentrações elevadas de matéria orgânica (expressa na forma de sólidos voláteis - SV e demanda química de oxigênio - DQO), porém, não foram observadas diferenças significativas nos valores de SV e DQO medidos após o processo de fermentação acidogênica (Tabela 4.8). De fato, em todas as amostras, a remoção de SV e DQO não ultrapassou 15% (Figura 4.3).

É possível verificar que a adição de 1 e 3% de glicerol acarretou no aumento da DQO inicial em relação à amostra controle. Considerando as 36 horas de fermentação, as cargas orgânicas para as amostras RO, RO+GL1% e RO+GL3% foram, respectivamente, 0,62, 0,70 e 0,83 gDQO/(L.h). A adição de glicerol nas amostras de mistura binária levou ao aumento de 11% e 32% da carga orgânica.

Tabela 4.8. Caracterização físico-química das amostras, no início e final dos experimentos, com resíduo orgânico e glicerol (mistura binária), utilizados na fermentação acidogênica. Dados do experimento controle realizado somente com resíduo orgânico estão mostrados para fins de comparação.

Parâmetros	Amostras			
		RO	RO+GL1%	RO+GL3%
DQO (g/L)	Inicial	22,60 ± 0,12	25,04 ± 0,08	29,8 ± 0,52
	Final	20,51 ± 0,05	22,33 ± 0,11	26,05 ± 0,03
ST (g/L)	Inicial	29,19 ± 0,43	30,53 ± 0,25	32,17 ± 0,03
	Final	25,13 ± 0,09	27,4 ± 0,05	25,78 ± 0,01
SV (g/L)	Inicial	15,98 ± 0,08	16,6 ± 0,04	16,25 ± 0,09
	Final	14,76 ± 0,02	14,55 ± 0,02	14,49 ± 0,11
Carboidratos (g/L)	Inicial	4,47 ± 0,04	8,03 ± 0,04	9,92 ± 0,09
	Final	3,58 ± 0,1	5,13 ± 0,2	6,06 ± 0,41
pH	Inicial	5,5 ± 0,02	5,5 ± 0,04	5,5 ± 0,01
	Final	5,1 ± 0,03	5,1 ± 0,06	5,2 ± 0,01
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ /L)	Inicial	168	134	115
	Final	629	408	384
Ácidos Voláteis totais (mg CH ₃ COOH/L)	Inicial	205	170	146
	Final	403	589	601

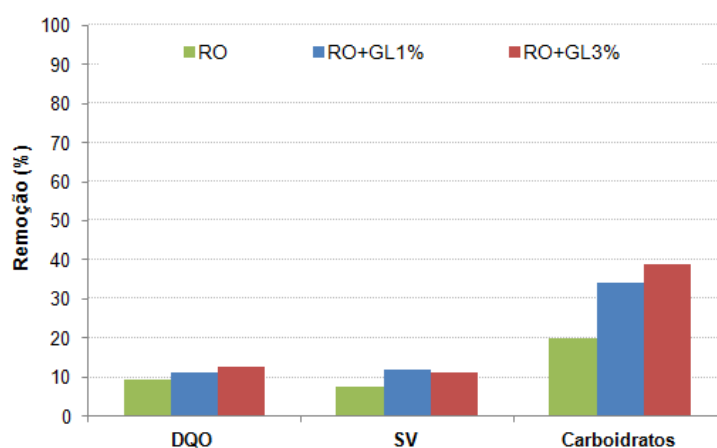


Figura 4.3. Remoção de matéria orgânica em termos de DQO, SV e carboidratos obtida na digestão de resíduos orgânicos sem e com a adição de glicerol após 36 horas de fermentação acidogênica.

A carga orgânica, com base nos SV, não foi enfatizada, pois conforme esperado, não houve diferença entre as amostras sem e com adição de glicerol, devido à concentração inicial de todos os substratos e misturas terem sido padronizadas em 10 g SV/L.

Em relação ao teor inicial de carboidratos, observou-se um aumento dele com a adição de 1 e 3% de glicerol em relação à amostra controle. Os percentuais de remoção de carboidratos obtidos após 36 horas de fermentação para as amostras RO, RO+GL1% e RO+GL3% foram de 20%, 35% e 39%, nesta ordem.

Durante a fermentação das misturas binárias, além dos parâmetros supracitados, a conversão de glicerol ao longo do tempo também foi mensurada. As concentrações iniciais para as amostras RO+GL1% e RO+GL3% foram de 48,4 e 118 mg/L, respectivamente. A eficiência de conversão de glicerol em H₂ e outros produtos metabólicos se mostrou bastante elevada nas primeiras horas da fermentação acidogênica. O glicerol foi totalmente consumido entre 8 e 12 horas para a amostra RO+GL1% e entre 16 e 20 horas para a amostra RO+GL3% (Figura 4.4). De acordo com a Figura 4.4, a concentração do glicerol diminuiu após 8 horas de fermentação em ambas as amostras, sendo a taxa de consumo de glicerol ao longo do tempo estimada por regressão linear do conjunto de dados disponíveis.

A taxa máxima de consumo de glicerol foi similar em ambos os experimentos com 1 e 3% desse substrato, a despeito das diferentes concentrações de glicerol utilizadas. No primeiro caso, a taxa foi em torno de 10 mg/(L.h), enquanto que no segundo foi de 8,0 mg/(L.h), Vale a ressalva que esses dados devem ser vistos com cautela, face à escassez de pontos experimentais, sobretudo no experimento com 1% de glicerol.

A Figura 4.5 mostra a evolução do pH para cada condição estudada. O pH inicial de todas as amostras foi ajustado para 5,5 de modo a facilitar a fermentação acidogênica. Durante o processo de fermentação, foi observada inicialmente uma diminuição gradual do pH e posterior estabilização do mesmo em valores próximos a 5.

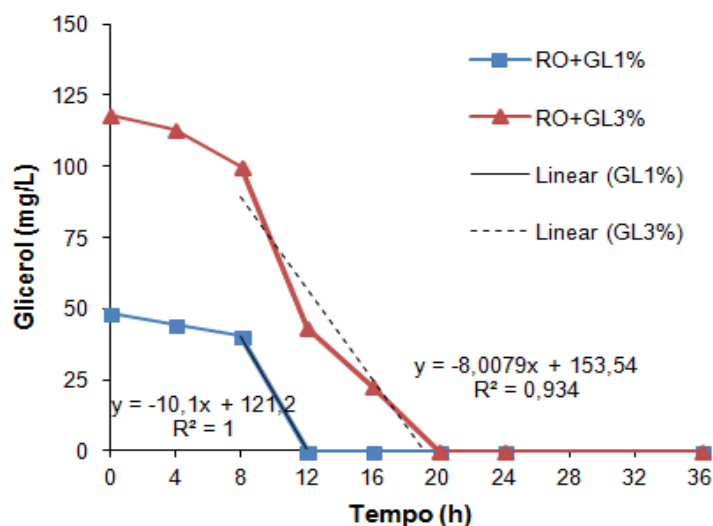


Figura 4.4. Concentração de glicerol nas amostras de codigestão binária durante 36 horas de fermentação acidogênica.

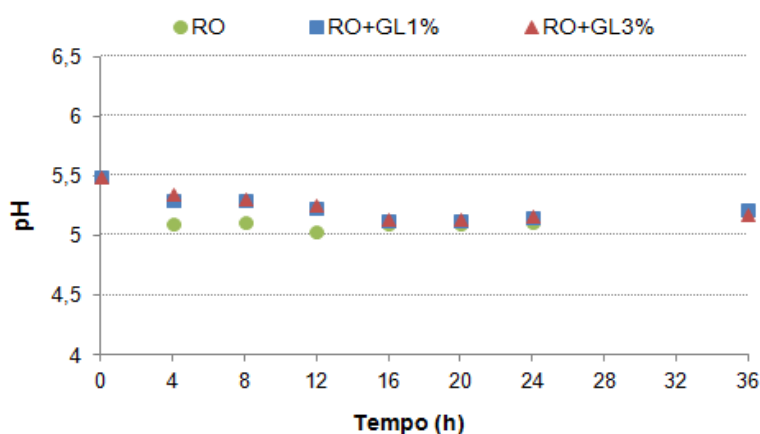


Figura 4.5. Comportamento do pH na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol durante a fermentação anaeróbia.

A produção de H₂ foi acompanhada da formação de quantidades significativas de ácidos orgânicos voláteis totais. Inicialmente, antes da incubação, é possível observar pequenas quantidades de ácidos, aumentando posteriormente devido à atividade acidogênica (Tabela 4.8).

A codigestão de resíduos orgânicos com 1 e 3% de glicerol proporcionou, respectivamente, um aumento de 246% e 311% na concentração de AV mensurada no final da fermentação acidogênica. Na amostra controle, o respectivo aumento foi de 96%. Como esperado, os ácidos voláteis totais aumentaram com o aumento da

concentração de glicerol no meio, da mesma forma que a produção de H₂, que foi maximizada.

Na Tabela 4.9 estão apresentadas as concentrações finais dos principais produtos metabólicos formados durante a fermentação acidogênica de resíduos orgânicos e glicerol, bem como os valores referentes à relação H_{Bu}/H_{Ac}.

Tabela 4.9. Concentração dos principais produtos metabólicos formados na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol, após 36 h de fermentação acidogênica.

Amostras	Metabólitos (mg/L)			
	Ácido acético	Ácido butírico	H _{Bu} /H _{Ac}	1,3 Propanodiol
RO (controle)	219,7 ± 0,01	335,4 ± 0,04	1,5	-
RO+GL1%	294,4 ± 0,09	407,5 ± 0,01	1,4	-
RO+GL3%	322,5 ± 0,2	341,6 ± 0,1	1,1	151,4

Entre as amostras, a maior concentração de ácido acético foi encontrada na amostra RO+GL3% (322,5 mg/L). Por outro lado, a mesma amostra apresentou a menor concentração de ácido butírico (341,6 mg/L), conseqüentemente, menor relação H_{Bu}/H_{Ac}. Tal fato pode ser atribuído à produção simultânea de 1,3-PDO (151,4 mg/L) devido à maior quantidade de glicerol no meio fermentativo. A proporção dos produtos metabólicos gerados na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol é apresentada na Figura 4.6.

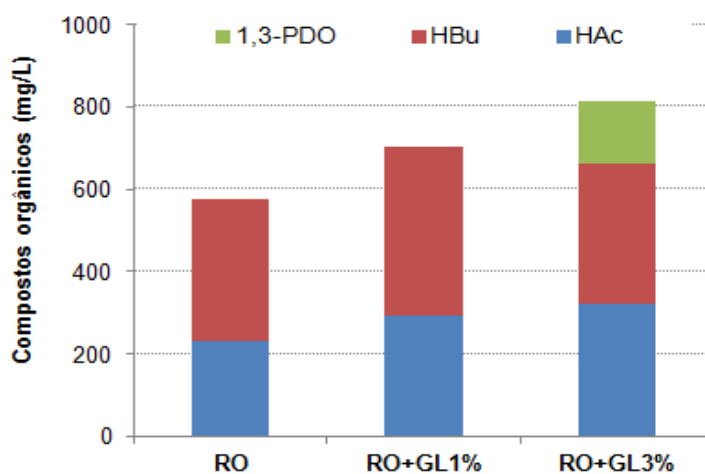


Figura 4.6. Proporção dos compostos orgânicos gerados na codigestão de resíduos orgânicos e glicerol.

A adição de glicerol promoveu um aumento no teor de H₂ no biogás, de 30 para 42% (no caso da adição 1% de glicerol) e 43,4% (no caso da adição de 3% de glicerol). O biogás produzido foi composto apenas de H₂ e CO₂ (isento de CH₄). Aumento também observado no volume acumulado de H₂ nas amostras RO+GL1% e RO+GL3% quando comparados ao volume da amostra controle (RO), entretanto, comparando as duas amostras contendo glicerol, praticamente não houve diferença entre os volumes acumulados de H₂. Em relação à taxa máxima de produção de H₂, a adição de 1% de glicerol promoveu um aumento de cerca de 3 vezes em comparação com o experimento controle, passando de 1,3 para 3,6 mL/h.

A máxima produção específica de H₂ para as amostras RO+GL1% e RO+GL3% foi de 140 NmLH₂/g SV e 179,2 NmLH₂/g SV, respectivamente, valores superiores aos obtidos para a amostra controle (87,3 NmLH₂/g SV). O aumento observado em relação ao experimento controle foi de 60,3% e 105,2%. A adição de 3% de glicerol dobrou a produção específica de H₂ no presente estudo.

O mesmo comportamento pode ser observado com as taxas máximas de produção específicas de H₂ (NmLH₂/(g SV.h)), as quais foram superiores para as amostras contendo 1 e 3% quando comparadas à amostra controle (RO). A adição de glicerol proporcionou aumento médio de 68,6% na taxa máxima, embora não tenha sido observada diferença nas taxas entre as amostras RO+GL1% e RO+GL3%.

A produção específica e taxa de produção específica de H₂ durante a fermentação acidogênica a partir da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol estão ilustradas na Figura 4.7.

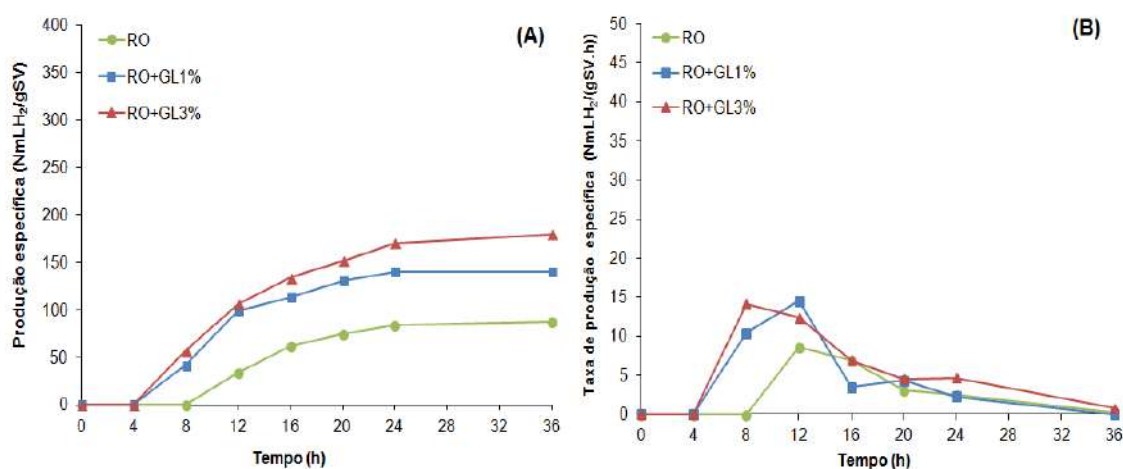


Figura 4.7. Comportamento da produção de hidrogênio durante a codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de hidrogênio.

A produção de H₂ foi monitorada a cada quatro horas durante 36 horas de fermentação, não sendo possível determinar, com exatidão, no período de amostragem, a duração da fase de adaptação (fase *Lag*) da microbiota nas amostras em estudo. Na Figura 4.7, entretanto, é possível observar que a produção de H₂ teve início após 4 horas de incubação nas amostras com adição de glicerol. Em contrapartida, no ensaio controle, a produção de H₂ iniciou após 8 horas de incubação. Desse modo, é possível inferir que a adição de glicerol aos resíduos orgânicos acelerou o crescimento bacteriano, reduzindo significativamente a duração da fase *lag* (em algumas horas). Após o período de adaptação microbiana, foi verificado um crescimento gradual da produção de H₂ em todas as amostras estudadas. A produção específica cumulativa máxima foi atingida após 24 horas, período após o qual a geração de H₂ foi praticamente nula.

As taxas máximas de produção específica de H₂ foram observadas imediatamente após a fase de adaptação (fase *lag*). Vale destacar que o período no qual ocorreu a taxa máxima não pode ser exatamente determinado em função do intervalo de 4 h existente entre a coleta de cada amostra. É possível observar que nos ensaios com 1% de glicerol e no experimento controle, as taxas máximas foram obtidas após 12 horas de fermentação acidogênica. Por outro lado, com 3% de glicerol, a taxa máxima foi obtida após 8 h de fermentação (Figura 4.7B). Possivelmente a adição de 3% de glicerol favoreceu a ação dos microrganismos anaeróbios, levando a um processo de fermentação mais rápido em comparação com as outras amostras.

Os resultados no que tange ao teor de H₂ no biogás (%), ao volume de H₂ acumulado (NmL), a produção específica (volume acumulado por grama de sólidos voláteis removidos – NmL/gSV) e as taxas de produção (NmLH₂/h) e de produção específica máximas de H₂ (NmLH₂/(gSV.h)) obtidos no ensaio de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol após 36 horas de fermentação, descritos anteriormente, encontram-se sumarizados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Produção de hidrogênio no ensaio BHP a partir da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1% e 3%).

Amostras	H ₂ (%)	Volume acumulado (NmL)	Taxa máxima de produção (NmLH ₂ /h)	Produção específica (NmLH ₂ /g SV*)	Taxa máxima de produção específica (NmLH ₂ /(gSV.h))	% **
RO (controle)	30,0	12,8	1,3	87,3	8,57	-
RO+GL1%	42,0	34,6	3,6	140,0	14,7	60,3
RO+GL3%	43,4	37,8	3,0	179,2	14,2	105,2

*Sólidos voláteis removidos

**Percentual de aumento em relação à máxima produção específica obtida na amostra controle.

4.2.3 Mistura Ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol

Inicialmente, foram avaliadas diferentes combinações entre os substratos, isto é, resíduos orgânicos (RO) e lodo primário (LP), a fim de determinar a melhor mistura para ser utilizada como amostra controle dos ensaios de codigestão com glicerol. As proporções de RO+LP avaliadas foram: 1:1, 2:1 e 3:1 (v/v).

Os resultados apresentados na Figura 4.8 indicam que a codigestão de diferentes misturas de RO e LP melhorou a produção de H₂, em termos de volume acumulado, produção específica (NmL H₂/g SV) e teor (%) de H₂ no biogás, quando comparada com a fermentação de tais resíduos isoladamente.

As combinações de resíduos orgânicos e lodo, em todas as proporções testadas, apresentaram rendimentos de H₂ superiores em comparação com as amostras controle (RO e LP). Entre as combinações de RO+LP, as proporções de 2:1 e 3:1 apresentaram os melhores resultados em termos de volume acumulado de H₂, produção específica de H₂ e teor de H₂ no biogás em comparação com a mistura na proporção 1:1, como ilustrado na Figura 4.8.

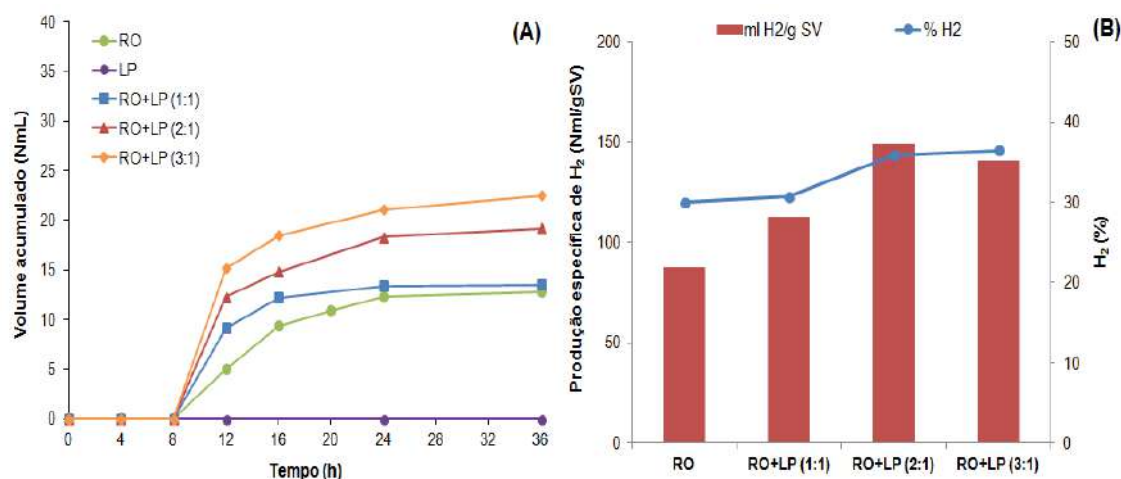


Figura 4.8. Produção de hidrogênio a partir de diferentes misturas de resíduos orgânicos e lodo de ETE. (A) Volume acumulado e (B) Produção específica e percentual de hidrogênio no biogás.

Em relação ao teor máximo de H₂ no biogás, foi obtido um valor de 36% em ambas as proporções de RO+LP de 2:1 e 3:1, porém, em termos de produção específica de H₂, o melhor resultado foi encontrado na proporção 2:1 (148,8 NmL H₂/g SV), para a qual um acréscimo de 70,3% em relação à amostra controle (RO) foi observado. Nas amostras cujas proporções de RO+LP foram de 1:1 e 3:1 a produção específica de H₂ foi de 112,8 NmL H₂/g SV e 140,6 NmL H₂/g SV, respectivamente. Na proporção de 1:1, a disponibilidade de matéria orgânica, principalmente na forma de carboidratos solúveis oriundos dos resíduos orgânicos, foi reduzida, resultando em uma menor produção de H₂.

A codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE, em todas as proporções testadas, se mostrou efetiva na produção de H₂, contudo, no que se refere à produção específica desse gás, a proporção de RO+LP de 2:1 forneceu os melhores resultados, sendo, portanto, empregada nos ensaios de codigestão com glicerol. Resultados similares foram obtidos por KIM *et al.* (2013b), os quais atribuíram o aumento da produção de H₂, observado quando a proporção RO+LP passou de 1:1 a 2:1, ao acréscimo proporcional da concentração de matéria orgânica dissolvida nessa última condição. No presente estudo, tal aumento não foi observado na proporção 3:1 na qual a produção de H₂ foi levemente diminuída, possivelmente devido aos efeitos adversos ocasionados pela produção excessiva de AOV.

Na Tabela 4.11 estão apresentados os resultados referentes à caracterização físico-química das amostras de resíduos orgânicos e lodo primário (proporção 2:1), sem

(experimento controle) e com adição de 1 e 3% (v/v) de glicerol (experimentos em misturas ternárias), no início e no fim da fermentação acidogênica. Nessa etapa, não foram determinadas as concentrações iniciais de glicerol adicionado ao substrato, tampouco as concentrações finais dos produtos metabólicos específicos (ácido acético - HAc, ácido butírico - HBu e 1,3 propanodiol – 1,3-PDO).

Tabela 4.11. Caracterização físico-química das amostras, no início e final da fermentação acidogênica com resíduo orgânico, lodo de ETE e glicerol (mistura ternária) e apenas resíduos orgânicos e lodo de ETE (experimento controle).

Parâmetros	Amostras			
		RO+LP (2:1)	RO+LP+GL1%	RO+LP+GL3%
DQO (g/L)	Inicial	25,74 ± 0,09	28,66 ± 0,07	34,72 ± 0,81
	Final	22,36 ± 0,17	24,29 ± 0,09	28,81 ± 0,03
ST (g/L)	Inicial	29,79 ± 0,43	32,08 ± 0,11	37,30 ± 0,04
	Final	26,93 ± 0,09	30,31 ± 0,06	34,08 ± 0,01
SV (g/L)	Inicial	15,8 ± 0,1	16,42 ± 0,08	16,62 ± 0,07
	Final	14,72 ± 0,02	15,04 ± 0,07	15,29 ± 0,11
Carboidratos (g/L)	Inicial	6,81 ± 0,01	7,92 ± 0,13	9,28 ± 0,08
	Final	4,64 ± 0,2	4,38 ± 0,02	4,74 ± 0,07
pH	Inicial	5,5 ± 0,02	5,5 ± 0,03	5,5 ± 0,02
	Final	5,0 ± 0,05	5,1 ± 0,02	5,0 ± 0,1
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ /L)	Inicial	115	65	60
	Final	456	245	242
Ácidos voláteis totais (mg CH ₃ COOH/L)	Inicial	118	108	116
	Final	304	352	387

A Figura 4.9 ilustra os percentuais de remoção de matéria orgânica, expressa na forma de DQO, SV e carboidratos, obtidos no ensaio de codigestão de mistura ternária contendo resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol, cuja duração foi de 36 horas.

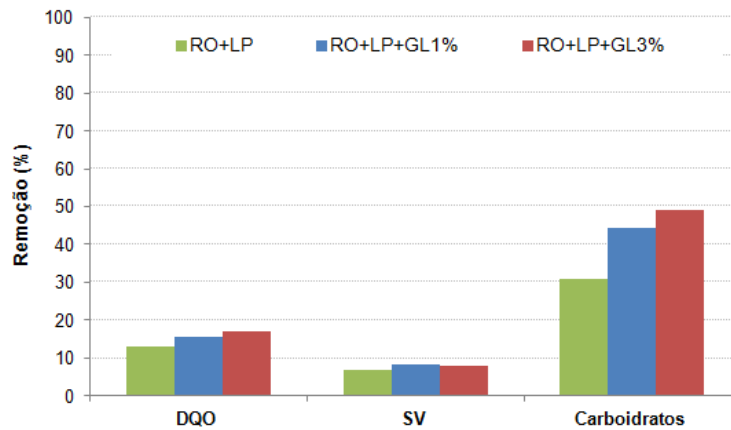


Figura 4.9. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e carboidratos obtida na codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE sem e com glicerol após 36 horas de fermentação acidogênica.

Assim como na mistura binária de resíduos orgânicos e glicerol, não foram observadas diferenças significativas entre os valores de SV e DQO no início e final do processo de fermentação acidogênica (Tabela 4.11). De fato, a remoção de SV para as amostras RO+LP, RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% não ultrapassou 10% (Figura 4.9). A remoção de DQO, por sua vez, ficou próxima a 20%.

É possível observar que a adição de 1 e 3% de glicerol acarretou no aumento da DQO inicial em relação à amostra controle. Considerando 36 horas de fermentação, as cargas orgânicas para as amostras RO+LP, RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% foram, respectivamente, 0,71, 0,79 e 0,96 gDQO/(L.h). A adição de glicerol nas amostras de mistura ternária representou um aumento de 11,3% e 34,8% na carga orgânica.

Da mesma forma que para os testes de mistura binária descritos anteriormente, não houve variação no teor de SV com a adição de glicerol em função da padronização da concentração inicial desse parâmetro em 10 g SV/L em todos os experimentos.

A adição de glicerol também ocasionou o aumento nas concentrações iniciais de carboidratos das amostras com 1 e 3% desse substrato em relação à amostra controle. Os percentuais de remoção de carboidratos obtidos após 36 horas de fermentação para as amostras RO+LP, RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% foram de 31%, 44,2% e 49%, respectivamente.

Ao longo da fermentação acidogênica, em todas as amostras, foi observada uma diminuição gradual inicial e posterior estabilização do pH em valores próximos a 5 (Figura 4.10), dentro da faixa ótima para produção de H₂. Esses resultados se assemelham aos obtidos nos ensaios de codigestão binária de resíduos orgânicos e

glicerol. Não houve variações bruscas de pH, o que evidencia boas condições de tamponamento do meio.

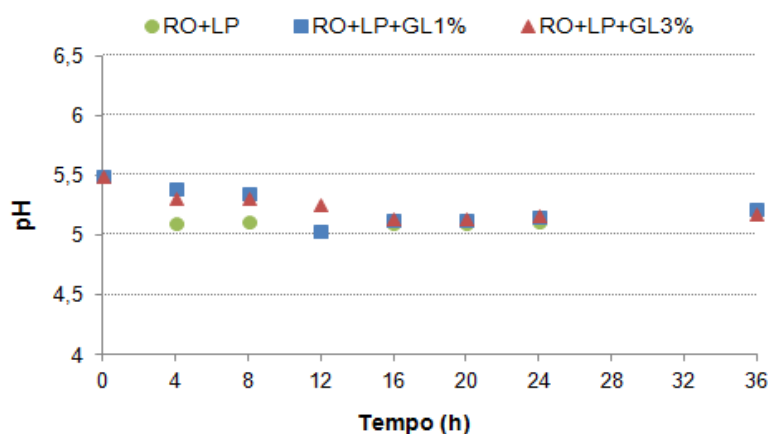


Figura 4.10. Comportamento do pH ao longo da codigestão anaeróbia de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol.

A produção de H_2 foi acompanhada pela formação de quantidades significativas de ácidos orgânicos voláteis totais (Tabela 4.11). A codigestão de resíduos orgânicos e lodo primário com 1 e 3% de glicerol proporcionou, respectivamente, um aumento de 226% e 233% na concentração de AV totais em relação àquela presente no início do experimento. Na amostra controle, o aumento da concentração de AV totais ao longo do experimento foi de 157%. Os ácidos totais aumentaram com a adição de 1% de glicerol no meio, porém na amostra com 3% desse substrato, o aumento foi um pouco menor. É possível que a presença de maior quantidade de glicerol no meio tenha favorecido a produção de 1,3-PDO, reduzindo a quantidade de ácidos butírico e acético, de modo semelhante ao observado no ensaio de codigestão de mistura binária de resíduos orgânicos, descrito no item 4.2.2.

A adição de glicerol promoveu um aumento significativo no teor de H_2 no biogás nos dois testes com diferentes concentrações de glicerol de 36 para 56,5% e 54%, provavelmente em função da maior atividade hidrolítica e acidogênica dos microrganismos. O biogás produzido foi composto apenas de H_2 e CO_2 .

Quanto ao volume acumulado de H_2 nas amostras RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3%, foi observado um aumento significativo de 81,7% e 115,6%, nesta ordem, quando comparados ao volume da amostra controle (RO). Já em relação à taxa máxima de geração de H_2 , houve um aumento de 45,7% e 59,3% com a adição de 1% e 3% de glicerol, em relação ao teste desprovido desse cosubstrato.

A produção específica máxima de H₂ para as amostras RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% foi de 210,6 NmL H₂/g SV e 260,5 NmL H₂/g SV, superiores àquela obtida com a amostra controle (148,8 NmL H₂/g SV). O percentual de aumento para os testes com 1 e 3% de glicerol corresponde a 41% e 74,7%, respectivamente.

O mesmo comportamento pode ser observado para a taxa máxima de produção específica de H₂ (NmL H₂/(g SV.h)), a qual foi superior para as amostras contendo 1 e 3% quando comparadas à amostra controle (RO). A adição de glicerol proporcionou aumento médio de 28,4%, havendo uma pequena diferença entre as taxas obtidas com as amostras RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3%.

A produção específica e a taxa de produção específica de H₂ durante a fermentação acidogênica a partir da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol, são ilustradas na Figura 4.11.

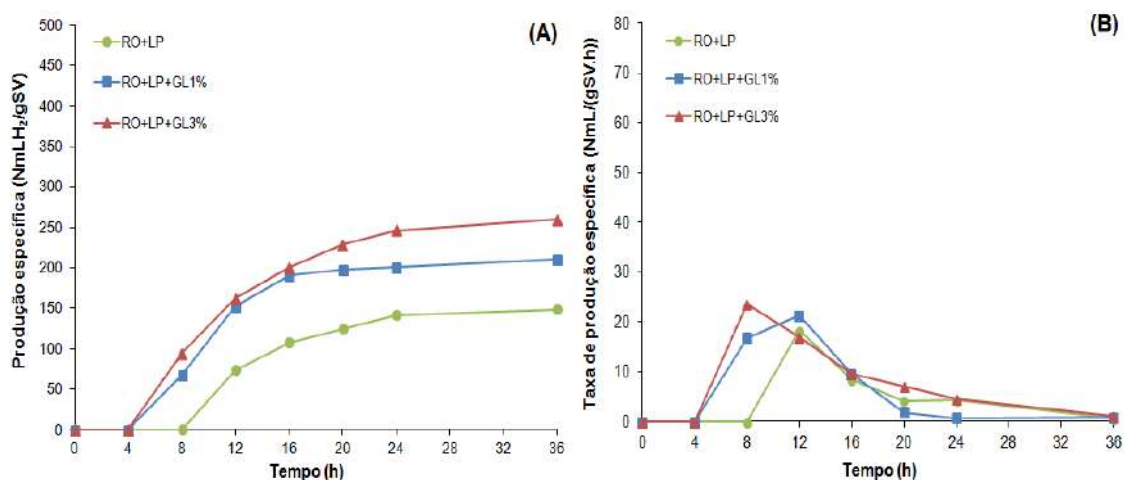


Figura 4.11. Comportamento da produção de hidrogênio durante a codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de hidrogênio.

Assim como nos ensaios de codigestão de mistura binária, não foi possível determinar, com exatidão, no período de amostragem, a duração da fase de adaptação (fase *Lag*) da microbiota nas amostras em estudo. O comportamento observado no início da produção de H₂ e o perfil da taxa específica máxima de produção de H₂ (Figura 4.11B) referentes ao ensaio de codigestão ternária foi bastante similar aos observados para o ensaio de codigestão de mistura binária (resíduos orgânicos e glicerol).

Os resultados da geração de H₂ obtidos no ensaio de codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol após 36 horas de fermentação, descritos anteriormente, encontram-se sumarizados Tabela 4.12.

Tabela 4.12. Produção de hidrogênio no ensaio BHP a partir da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1% e 3%).

Amostras	H ₂ (%)	Volume acumulado (NmL)	Taxa máxima de produção (NmLH ₂ /h)	Produção específica (NmLH ₂ /g SV*)	Taxa máxima de produção específica (NmLH ₂ /(g SV.h))	% **
RO +LP (controle)	36	19,2	2,36	148,8	18,3	-
RO+LP+GL1%	56	34,9	3,44	210,6	20,7	41,2
RO+LP+GL3%	54	41,4	3,76	260,5	23,6	74,7

*Sólidos voláteis removidos

**Percentual de aumento em relação à máxima produção específica obtida na amostra controle.

4.2.4 Análise da eficiência do uso de glicerol na fermentação acidogênica

4.2.4.1 Aspectos gerais

Os experimentos (BHP) de mistura binária de resíduos orgânicos e glicerol e de mistura ternária contendo resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol, evidenciaram o potencial uso desses resíduos para a produção de H₂ por meio de fermentação anaeróbia. O pré-tratamento térmico do inóculo e a manutenção de valores de pH baixo (5,5) consistiram em estratégias eficazes para a inibição da atividade das arqueas metanogênicas e, conseqüentemente, para o aumento da produção e do teor de H₂ no biogás (ALEMAHDI *et al.*, 2015; ROSSI *et al.*, 2011). Por outro lado, o emprego da mistura binária de lodo de ETE e glicerol não se mostrou promissor para a produção de H₂.

Os ensaios de codigestão de lodo de ETE e glicerol tiveram como base estudos prévios da literatura que demonstraram a possibilidade da produção de H₂ utilizando lodo primário pré-tratado termicamente, ainda que baixos rendimentos de H₂ tenham sido reportados. Embora esse tipo de pré-tratamento tenha sido indicado como uma estratégia para aumentar a hidrólise e a produção de H₂ (CAI, LIU e WEI, 2004;

MASSANET-NICOLAU, DINSDALE e GUWY, 2008; XIAO e LIU, 2009), neste estudo mostrou-se ineficaz para esse tipo de mistura.

Além disso, em outros trabalhos, tais como o realizado por RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014), bons resultados foram obtidos em relação à produção de H₂ por meio de codigestão de lodo misto de ETE (lodo primário + lodo ativado) e 1% de glicerol bruto em um processo de digestão de duas fases em um reator semicontínuo (escala laboratorial - 5L) submetido a condições mesofílicas. Os autores obtiveram um rendimento de 0,50 L H₂/g SV a partir de condições ideais de carga orgânica e TDH (7,92 gDQO/(L.d) e 3 dias, respectivamente). É possível inferir que a utilização de um lodo misto como substrato e de um pré-tratamento alcalino podem ter contribuído com a produção significativa de H₂ no referido estudo.

Em contrapartida, neste estudo, a falta de dados quantitativos de H₂ na amostra controle (LP) e nas amostras com adição do glicerol (LP+GL) pode ter ocorrido devido às características físico-químicas do lodo primário utilizado como substrato. Sabe-se que a elevada capacidade tampão, característica típica do lodo de ETE (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014), pode ter dificultado a produção de H₂ por fermentação acidogênica. A alcalinidade é a capacidade do meio de neutralizar os AOV gerados durante o processo e, portanto, atenuar as mudanças de pH (FONOLL *et al.*, 2015).

A elevada alcalinidade (entre 500-1500 mg CaCO₃/L) presente no lodo de ETE proporcionada pela presença de bicarbonato (BATISTA, 2015) contribuiu para o aumento do pH do meio para valores superiores à faixa considerada ideal para a produção de H₂ (entre 5 e 6) (LI e FANG, 2007; VALDEZ-VAZQUEZ e POGGI-VARALDO, 2009). Substratos (resíduos) com elevado teor de nitrogênio, isto é, ricos em proteínas, impedem a acidificação devido à sua elevada capacidade de tamponamento (BONI, SBAFFONI e TUCCINARDI, 2013).

O aumento do pH para valores superiores a 6,7 na fermentação anaeróbia de lodo de ETE também foi observado por CHENG *et al.* (2016). Os autores atribuíram o aumento do pH à menor concentração de AOV acumulada, ao tamponamento mais intenso devido à baixa relação C/N e à maior alcalinidade causada por minerais e metais abundantes. Valores de pH superiores à faixa ótima afetam negativamente a atividade da enzima hidrogenase e favorecem o consumo direto de H₂ pelos microrganismos metanogênicos e homoacetogênicos (TENCA *et al.*, 2011). Nos ensaios com misturas binárias, o pH final ao longo do processo de fermentação acidogênica foi de 6,85,

dentro da faixa ótima para produção de CH₄ (6,6 a 7,8) reportada por RAZAVIARANI *et al.* (2013) para processo anaeróbio estabilizado.

CHENG *et al.* (2016) também relataram um baixo rendimento de H₂ a partir de lodo de ETE e atribuíram os resultados pouco significativos aos baixos teores de carboidratos, em sua maioria constituídos por celulose, substrato de difícil degradação pelas bactérias fermentativas, bem como ao teor elevado de cinzas. O rendimento de H₂ é correlacionado positivamente com o aumento da concentração de carboidratos facilmente biodegradáveis e negativamente com o acréscimo de materiais celulósicos (KOBAYASHI *et al.*, 2012).

Além dos entraves causados pelo elevado valor de pH e baixos teores de carboidratos, o lodo de ETE contém uma população microbiana rica em espécies que, ou inibem a produção de H₂, ou o consomem diretamente antes que possa ser recuperado no processo de fermentação (MASSANET-NICOLAU, DINSDALE e GUWY, 2008). Segundo RODRIGUES *et al.* (2016), o tratamento térmico do inóculo impede o estabelecimento das arqueas metanogênicas, porém não evita o consumo de H₂ pelas bactérias homoacetogênicas, também formadoras de endosporos, e que podem sobreviver às condições extremas do pré-tratamento.

Dificuldades na produção de H₂ a partir de lodo de ETE, com amostra controle, foram descritos por KIM *et al.* (2011) e LIU *et al.* (2013b). Para KIM *et al.* (2011), a produção insignificante de H₂ foi devido às características naturais do lodo utilizado, de baixo teor de carboidratos e baixa biodegradabilidade. LIU *et al.* (2013b), por outro lado, relataram a produção simultânea de H₂ e CH₄ e o aumento gradual do teor de CH₄ no biogás durante todo o processo de fermentação. No presente estudo, metano também foi identificado em alguns pontos do monitoramento, indicando o consumo do H₂ pela microbiota metanogênica e interferindo diretamente na produção volumétrica do biogás. Todos os autores, entretanto, descreveram comportamento oposto quando o lodo de ETE foi codigerido com outros tipos de resíduos orgânicos.

O lodo de ETE pode ser facilmente combinado a substratos com grandes quantidades de matéria orgânica facilmente biodegradável e com valores baixos de alcalinidade, como é o caso de resíduos orgânicos, caracterizado também pela alta relação C/N, de modo a promover um equilíbrio nas características físico-químicas e, por conseguinte, ganhos na produção de biogás (ALVES, 2016).

Neste estudo, além do pH alcalino e da baixa biodegradabilidade do lodo primário, é possível que a adição de uma fonte extra de carbono (glicerol), nas

concentrações utilizadas (1 e 3%), tenha sido insuficiente para obter a relação de C/N necessária para a produção de H₂, resultando em produção insignificante desse gás. Alterações no tipo de pré-tratamento ou mudanças nos procedimentos experimentais podem vir a ser mais eficazes na produção de H₂ utilizando lodo primário como substrato.

Quando se compara todos os ensaios de produção de H₂, isto é, com a mistura binária (RO+GL) e a mistura ternária (RO+LP+GL), observa-se que, ao longo do período de fermentação acidogênica, os resultados foram muito semelhantes tanto em relação à remoção de matéria orgânica, quanto aos parâmetros de produção de biogás.

A remoção de DQO em todas as amostras estudadas, nos dois tipos de misturas, foi inferior a 20%, valor considerado típico para a fase acidogênica. De fato, durante a acidogênese os compostos orgânicos são convertidos principalmente em produtos metabólicos solúveis (AOV e alcoóis), o que reflete diretamente na manutenção da DQO do efluente após a produção de H₂ (AQUINO e CHERNICHARO, 2005; COONEY *et al.*, 2007). Os valores encontrados nesta pesquisa estão em conformidade ao relatados em estudos prévios. CHU *et al.* (2008) avaliou a fermentação acidogênica de resíduos alimentares em condições termofílicas e reportaram uma remoção de DQO de apenas 9,3%. ZHOU, ELBESHBISHY e NAKHLA (2013) relataram uma redução na DQO total de 6-12% na codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE em condições mesofílicas. Dessa maneira, uma etapa metanogênica subsequente pode ser utilizada para reduzir o teor de matéria orgânica remanescente e aproveitar o potencial energético do substrato não convertido em biogás.

A adição de 1 e 3% de glicerol promoveu um aumento na carga orgânica (gdQO/(L.h)) nas amostras com mistura binária e ternária, respectivamente, de 16% e 37% e de 11,3% e 34,8% em relação às amostras controle (RO e RO+LP). Esses aumentos refletiram positivamente na produção de H₂, fato também evidenciado por ZAHEDI *et al.* (2016), os quais avaliaram a codigestão de resíduos sólidos industriais com 1% de glicerol, com um aumento de 34% na carga orgânica. ZAHEDI *et al.* (2013) relataram, em um estudo com FORSU, que o aumento da atividade microbiana dentro do reator é diretamente proporcional à carga orgânica, por conseguinte, a produção de H₂ é dependente dessa última.

A remoção de SV nas amostras com e sem adição de glicerol foi baixa (inferior a 10%) nos dois ensaios citados. Esse resultado indica que a hidrólise foi incompleta, possivelmente em virtude da natureza complexa do material orgânico presente nos

resíduos, que pode afetar diretamente a composição química do meio (teor de carboidratos solúveis, proteínas, lipídeos).

Os resíduos alimentares utilizados neste estudo foram compostos, na sua maioria, por frações de frutas, verduras e legumes e carnes em geral (Figura 4.1). Restos de frutas e vegetais presentes nos resíduos alimentares são compostos por quantidades de carboidratos prontamente biodegradáveis que podem ser facilmente convertidos em H₂, porém, em sua composição, são também encontradas cascas, raízes e outras partes ricas em compostos orgânicos lentamente degradáveis (celulose e lignina). Além disso, os resíduos apresentaram uma quantidade elevada de proteínas e lipídios advindos dos resíduos de carnes. Contrariamente aos carboidratos, baixos rendimentos de H₂ por fermentação anaeróbia são obtidos a partir desses compostos orgânicos (ALIBARDI e COSSU, 2015; KOBAYASHI *et al.*, 2012). Isso pode ser atribuído à taxa de hidrólise mais lenta (quase 20 vezes) em comparação com carboidratos (LAY *et al.*, 2003).

Alguns autores sugerem que, para aumentar a biodegradabilidade e acelerar o processo de hidrólise, faz-se necessário que o substrato sofra primeiramente um pré-tratamento (ex. térmico) (KIM *et al.*, 2011b; LEE e CHUNG, 2010), ou que sejam aplicadas, na fermentação acidogênica, condições termofílicas ou termofílicas extremas de temperatura (TAHTI, KAPARAJU e RINTALA, 2013).

Assim como observado para a DQO, a adição de glicerol também ocasionou o aumento na concentração inicial de carboidratos das amostras com 1 e 3% em relação às amostras controles (RO e RO+LP), nos dois tipos de misturas estudadas (binária e ternária). Conforme dito anteriormente, os carboidratos produzem mais H₂ através da fermentação anaeróbia do que proteínas e lipídios, logo a taxa e a produção específica de H₂ aumentam com o aumento da concentração de carboidratos no substrato (CHU *et al.*, 2012). Isto explica porque a adição de 3% de glicerol proporcionou melhores resultados de H₂ quando comparada à adição de 1% (seção 4.2.4.2).

É possível que a presença de impurezas no glicerol bruto (material orgânico não-glicerol - MONG) tenha contribuído para o aumento na concentração de carboidratos nas amostras estudadas. THOMPSON e HE (2006) avaliaram amostras de glicerol bruto obtidas da transesterificação em batelada de sete tipos de óleos, utilizando metanol como álcool da reação e metilato de sódio como catalisador. Segundo os autores, os óleos são constituídos na sua maioria por lipídios e uma pequena quantidade de carboidratos e proteínas, enquanto que o glicerol bruto é composto, na sua maioria, por carboidratos (variando de 26,9 a 83,8%). Especificamente para o glicerol bruto usado

nessa pesquisa, proveniente de óleo de soja, a concentração de carboidratos foi de 76,2%. Logo, esse substrato possivelmente contribuiu para o aumento da concentração de carboidratos nas amostras estudadas.

Os resultados evidenciaram que, durante o período de consumo de glicerol (entre 8 e 12 h para a condição com 1% de glicerol e entre 8 e 20 h para o teste com 3% de glicerol), taxas elevadas de produção de H₂ foram obtidas (Figura 4.7 B). Apesar da suplementação com glicerol ter aumentado a produção de H₂ ao longo do período de fermentação, os resultados mostraram que a geração deste gás começou antes do consumo deste cosubstrato. Isto é claramente observado nos testes com 1% e 3% de glicerol em mistura binária, para os quais a taxa de produção de H₂ foi próxima a 15 mL H₂/(gSV.h) nas primeiras 8 h (Figura 4.7B), período no qual o teor de glicerol permaneceu praticamente inalterado (Figura 4.4). A hipótese é que a microbiota primeiro fermenta os carboidratos dos resíduos orgânicos, porém necessita de um curto período de adaptação ao meio contendo glicerol antes da utilização total deste cosubstrato.

Não foi possível determinar a concentração inicial e o comportamento de conversão do glicerol ao longo do tempo nas amostras contendo a mistura ternária RO+LP e glicerol a 1 e 3%, porém, com base na similaridade dos resultados, é possível inferir que o mesmo comportamento tenha ocorrido nesse tipo de mistura.

A presença de glicerol aumenta a disponibilidade do carbono e, conseqüentemente, a atividade de microrganismos hidrolíticos (ZAHEDI *et al.*, 2016). O aumento da concentração de glicerol no meio fermentativo foi proporcional à remoção de carboidratos nas amostras com 1 e 3% de glicerol em comparação às amostras controle (Figura 4.3 e 4.9).

Os resultados mais significativos em relação à remoção de carboidratos, aproximadamente 40% (para mistura binária) e 50% (para mistura ternária), foram obtidos na presença de 3% de glicerol. Este resultado evidencia que a codigestão ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol intensificou o potencial de degradação de carboidratos, conseqüentemente, a produção de H₂, em comparação com a mistura binária de resíduos orgânicos.

O glicerol apresenta elevado percentual de biodegradação (\cong 100%), por conseguinte, grandes quantidades de ácidos voláteis são disponibilizadas rapidamente para o meio (MATA-ALVAREZ, MACE e LLABRES, 2000). A produção de H₂ pode

decorrer por diferentes vias metabólicas, sendo os produtos metabólicos mais comuns na fermentação de carboidratos os ácidos butírico e acético (LI e FANG, 2007).

Concentrações elevadas desses ácidos durante o processo fermentativo são favoráveis à produção de H_2 e sugerem a presença de *Clostridium sp.* na microbiota dominante (NATHAO, SIRISUKPOKA e PISUTPAISAL, 2013). KIM *et al.* (2008) avaliaram a produção de H_2 , via degradação de resíduos alimentares, utilizando cultura pura de *Clostridium beijerinckii* em diferentes condições de pH inicial (5 a 8 – intervalo de 1) e temperatura (30 a 45 °C – intervalo de 5 °C), sendo que, para todas as condições estudadas, os autores observaram maiores concentrações de ácido butírico em relação ao ácido acético.

Nesta pesquisa, a produção de H_2 a partir da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol também foi acompanhada pela predominância de ácido butírico no meio fermentativo. Inúmeros estudos relatam que a predominância desse ácido é comum em diversos tipos de substratos, tais como lixiviado, palha de arroz, peptona, sorgo, efluente de mandioca, entre outros (AKUTSU *et al.*, 2009; ALEMAHDI *et al.*, 2015; ANTONOPOULOU *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2011; LUCAS *et al.*, 2015).

Além disso, as concentrações dos ácidos butírico e acético nos dois tipos de misturas com 1 e 3% de glicerol tenderam a aumentar com o aumento da concentração de glicerol bruto (Tabela 4.9). Fato também observado por KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017) ao codigerir torta de óleo de palma com glicerol variando de 0,75 a 1,5% em um sistema contínuo. O aumento da formação de metabólitos solúveis indica um microambiente favorável à atividade acidogênica, evidenciando a eficácia dos experimentos com adição de glicerol.

Segundo LAY *et al.* (2003), o sucesso operacional do processo de produção de H_2 em culturas de *Clostridium sp.* está diretamente relacionado ao pH, visto que a atividade da enzima hidrogenase é fortemente inibida em valores de pH abaixo de 5. Nos dois ensaios referentes à mistura binária e ternária, os valores de pH mantiveram-se dentro da faixa ótima para produção de H_2 (5 – 5,5). Não houve variações bruscas de pH, demonstrando que o sistema foi capaz de se autorregular para aumentar a atividade microbiana (ZAHEDI *et al.*, 2016) no que tange à formação de ácidos orgânicos e concomitantemente geração de H_2 .

A relação HBU/HAC tem sido considerada como um indicador para avaliar a eficiência da produção de H_2 (TAWFIK e EL-QELISH, 2012). No ensaio de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol, em todas as amostras, sem e com adição de

cosubstrato, a relação HBU/HAC foi superior a 1. Esse resultado está em conformidade com ZAHEDI *et al.* (2016), os quais obtiveram ácido butírico como produto predominante da fermentação de resíduos orgânicos industriais e glicerol (na concentração de 1%).

Em geral, a relação HBU/HAC observada ao longo da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol está de acordo com a literatura, na qual pode-se encontrar valores na faixa entre 0,4 a 2,1 (ANGERIZ-CAMPOY, ÁLVAREZ-GALLEGO e ROMERO-GARCÍA, 2015). ALIBARDI e COSSU (2016) relataram que substratos com o maior teor de carboidratos apresentaram uma relação HBU/HAC maior do que 0,8, enquanto substratos com maior conteúdo de proteínas e lipídios apresentaram HBU/HAC variando entre 0,36 e 0,7. Para os autores, o teor de carboidratos é o principal fator que influencia a concentração de butirato.

Entre as amostras de mistura binária, RO+GL3% apresentou a menor relação HBU/HAC, o que pode ser atribuído à produção de 1,3-PDO. Como mencionado na seção 2.4.5.3, o glicerol pode ser convertido por duas vias metabólicas competitivas: via oxidativa e via redutora. Na primeira, o glicerol é transformado em piruvato e posteriormente em H₂, CO₂, etanol e ácidos orgânicos. Na segunda, o glicerol é reduzido a 1,3-propanodiol (1,3-PDO) (YAZDANI e GONZALEZ, 2007).

SILVA *et al.* (2014) afirmam que elevadas concentrações de glicerol favorecem a via redutora de fermentação do glicerol, enquanto que baixas concentrações desse substrato direcionam a rota para a formação de produtos da via oxidativa. TEMUDO *et al.* (2008a), observaram que o aumento da concentração de glicerol no meio resulta em uma diminuição gradual do rendimento de etanol e H₂. Por outro lado, promove o aumento de 1,3-PDO e ácido acético.

A produção simultânea de H₂ e 1,3-PDO pode ser favorecida pela presença de uma cultura mista de microrganismos utilizada como inóculo, na qual diversas vias fermentativas podem ser utilizadas. Bactérias do gênero *Clostridium* produzem principalmente 1,3-PDO e ácido butírico a partir do glicerol (TEMUDO *et al.*, 2008a).

Os ácidos butírico e acético também são apontados como os principais produtos metabólicos em estudo de fermentação acidogênica a partir da codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE (KIM *et al.*, 2013b; SREELA-OR *et al.*, 2011a; TYAGI *et al.*, 2014; ZHU *et al.*, 2008a). Considerando os dados da literatura e os resultados de produção de H₂ obtidos nessa pesquisa, é possível que os ácidos butírico e acético

tenham sido predominantes também nas amostras referentes à codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (mistura ternária).

4.2.4.2 *Produção de Hidrogênio*

Os resultados evidenciam que a adição de glicerol na codigestão da mistura binária e ternária com glicerol teve um impacto positivo na produção de H₂ quando comparados com a fermentação sem esse cosubstrato.

O aumento da carga orgânica com adição de 1 e 3% de glicerol aumentou o teor de H₂ no biogás, a taxa de produção e a produção específica de H₂. Esses resultados estão relacionados ao aumento da carga orgânica advinda da adição de glicerol, com consequente acréscimo da disponibilidade de carbono orgânico para os microrganismos, o que estimulou a produção de H₂ por microrganismos acidogênicos. Por outro lado, cargas excessivas podem ser tóxicas devido ao acúmulo de AOV no sistema (KRISHNAN *et al.*, 2016).

No presente trabalho, o teor de H₂ no biogás nas amostras com 1% e 3% de glicerol alcançou valores de, respectivamente, 41% e 43% para misturas binárias, independente do cosubstrato, e de 56% e 54% para misturas ternárias. Com uma fermentação acidogênica de duração inferior a 2 dias, o teor de H₂ no biogás foi bastante significativo em relação aos valores relatados na literatura, variando tipicamente entre 18,7 e 60% (CHU *et al.*, 2010; HAN *et al.*, 2005; KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE, 2017; LEE e CHUNG, 2010; LIU *et al.*, 2006). Isso comprova que o glicerol utilizado é um cosubstrato em potencial para a produção de H₂. O TDH ótimo para a produção de H₂ a partir da fração orgânica de resíduos sólidos reportado na literatura é de aproximadamente 1 a 2 dias (LIU *et al.*, 2006).

Em geral, altas concentrações de H₂ estão relacionadas a altas taxas de produção de gás (ZHU *et al.*, 2008b). A redução no teor de H₂ nas amostras com a adição de 3% de glicerol pode ser justificada pela formação de 1,3-PDO, visto que tais produtos são formados por vias distintas e competidoras (LIU *et al.*, 2013a).

Resultados referentes às taxas de produção de H₂ obtidos nesse estudo foram semelhantes aos relatados por FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009), em um estudo de codigestão de fração orgânica sintética de resíduos sólidos urbanos e glicerol (mistura binária) e de resíduos de fabricação de azeite, efluente de abatedouro e glicerol (mistura ternária). Para os dois casos, foram utilizados 1% de glicerol (v/v) e inóculo pré-tratado

termicamente. Os autores reportaram um aumento na taxa de produção de H₂ com adição de glicerol de cerca de 113,6% e de 75% para a mistura binária e ternária, respectivamente.

Assim como no estudo de FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009), o aumento mais pronunciado nas taxas de produção de H₂ foi obtido nas amostras de mistura binária. Nessas amostras, o percentual de aumento foi superior a 100% em relação ao obtido nas amostras de mistura ternária (Tabela 4.13). É possível que esse resultado esteja relacionado à maior disponibilidade de carboidratos mais facilmente hidrolisáveis nas amostras contendo resíduos orgânicos como substrato principal.

Tabela 4.13. Comparação entre as taxas máximas de produção de hidrogênio para amostras dos ensaios de codigestão com mistura binária e ternária. O percentual de aumento em relação às amostras controles (desprovidas de glicerol) está igualmente indicado.

Amostras	Taxa máxima de produção (NmLH₂/h)	% de aumento
RO (controle)	1,26	-
RO+GL1%	3,65	189,6
RO+GL3%	2,99	137,3
RO +LP (controle)	2,36	-
RO+LP+GL1%	3,44	46,3
RO+LP+GL3%	3,76	59,3

A adição de glicerol permitiu reduzir o período de aclimação dos microrganismos (Fase *lag*), acelerando o crescimento microbiano, por conseguinte, a hidrólise dos substratos. Além disso, propiciou o aumento da quantidade de carbono simples e de elementos nutricionais (fósforo, nitrogênio, cálcio entre outros) facilmente assimiláveis pelos microrganismos, o que contribuiu para maximizar a produção de H₂ (THOMPSON e HE, 2006; ZAHEDI *et al.*, 2016). De acordo com THOMPSON e HE (2006), devido às características citadas anteriormente, o glicerol pode ser diretamente utilizado por bactérias e leveduras para o seu crescimento durante processos fermentativos.

Vale ressaltar que, além de ser uma substância facilmente biodegradável, o glicerol também pode ser facilmente armazenado durante um longo período de tempo sem que suas características sejam alteradas. Tais vantagens o tornam um cosubstrato ideal para o processo de digestão anaeróbia (FOUNTOULAKIS e MANIOS, 2009).

Neste estudo, a produção de H₂ nas amostras com 1 e 3% de glicerol foi de, respectivamente, 140 NmL H₂/g SV e 179,2 NmL H₂/g SV no ensaio de codigestão com resíduos orgânicos (mistura binária) e de 210,6 NmL H₂/g SV e 260,5 NmL H₂/g SV no ensaio de codigestão com resíduos orgânicos e lodo de ETE (mistura ternária). A geração mais expressiva de H₂ foi obtida a partir da codigestão de RO+LP.

Sugere-se que a adição de lodo de ETE, como cosubstrato, aos resíduos orgânicos, proporcionou uma boa capacidade de tamponamento em condições de pH baixo (5,5), bem como forneceu nutrientes que estimulam os microrganismos acidogênicos e permitem manter o equilíbrio da relação C/N, resultando no aumento da produção de H₂ (ZHU *et al.*, 2008a). Para ZHOU, ELBESHISHY e NAKHLA (2013), a adição de lodo de ETE aos resíduos alimentares teve um efeito positivo somente quando o percentual de lodo adicionado no substrato principal (RO) foi menor que 50%. A utilização de resíduos alimentares e lodo de ETE como substratos principal e secundário, respectivamente, parece ser a maneira mais promissora para maximizar a produção de H₂ (SHIN, KIM e PAIK, 2003).

Apesar do glicerol ser apontado como um substrato atraente para aumentar a produção de biogás por digestão anaeróbia (NGHIEM *et al.*, 2014), poucos estudos relatam o seu uso como cosubstrato para a produção de H₂. Em estudos de codigestão de misturas binárias, FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009) adicionaram glicerol bruto à fração orgânica sintética de resíduos sólidos urbanos, em condições mesofílicas, e obtiveram uma produção de 26 mL H₂/g SV. ZAHEDI *et al.* (2016) verificaram que a produção específica de H₂, em condições termofílicas, dobrou quando glicerol foi adicionado a resíduos urbanos industriais, passando de 25 L H₂/kg SV para 51 L H₂/kg SV. KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017), por meio de um sistema de digestão anaeróbia em duas fases para tratar torta de óleo de palma com a adição de diferentes cargas de glicerol variando de 0,75 a 1,5%, em condições termofílicas, relataram um rendimento de 23 L H₂/kg ST com adição máxima de glicerol.

Empregando misturas ternárias, FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009) estudaram a codigestão de uma mistura de diferentes efluentes industriais e glicerol em reatores em batelada. MARONE *et al.* (2014) investigaram a produção de H₂ por meio

da codigestão de esterco de búfalo com soro de queijo e glicerol bruto, misturados em proporções iguais (33%), utilizando um consórcio microbiano artificial (misturas de cepas puras) como inóculo. A produção específica de H₂ obtida nesses dois estudos foi de 15 mL H₂/g SV e 97 mL H₂/g SV, respectivamente.

Exceto no estudo de MARONE *et al.* (2014) e KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017), em todos as pesquisas supracitadas a codigestão foi avaliada com a adição de 1% de glicerol (v/v), utilizando cultura mista como inóculo. É possível que os trabalhos prévios mencionados tenham se baseado na pesquisa realizada por FOUNTOULAKIS, PETOUSI e MANIOS (2010), os quais recomendam a concentração de 1% (v/v) de glicerol na codigestão com lodo de ETE em processos anaeróbios. Até o momento, não foram encontrados relatos sobre a adição de maiores concentrações de glicerol para a produção de H₂, apenas estudos voltados à geração de CH₄ (fase única) (FOUNTOULAKIS, PETOUSI e MANIOS, 2010; RAZAVIARANI *et al.*, 2013).

Pode-se concluir que os rendimentos de H₂ observados no presente estudo para os dois tipos de misturas com 3% de glicerol foram mais significativos comparados aos resultados obtidos por outros autores utilizando diferentes substratos misturados com glicerol a 1%. Os resultados referentes à produção específica de H₂ obtida em estudos prévios reportados na literatura e na presente pesquisa são comparados na Tabela 4.14.

Observa-se uma variação considerável nos valores de produção de H₂ reportados na literatura. As diferenças entre os resultados podem estar relacionadas às condições de operação do fermentador, tipo de microrganismos empregados e às características da matéria orgânica utilizada como substrato.

Resíduos orgânicos consistem em um tipo de matéria-prima composta principalmente de carboidratos, portanto, um rendimento elevado de H₂ já era esperado com o uso desses substratos. Por outro lado, a codigestão com lodo de ETE proporcionou um acréscimo na produção de H₂, conforme pode ser observado pela comparação das amostras controle. A adição de carbono e nutrientes advindos do glicerol aumentou significativamente a quantidade de H₂ gerada por SV removidos, o que representa um passo importante quanto à viabilidade da produção de H₂ por meio de codigestão de diferentes resíduos combinados.

Tabela 4.14. Produção específica de hidrogênio obtida a partir da codigestão de diferentes resíduos em misturas binárias e ternárias (dados reportados na literatura e desse estudo).

Tipo de codigestão	Substratos	Inóculo	Temp. (°C)	Produção específica de H₂	Referências
Misturas binárias	Fração Orgânica de RSU + glicerol bruto (1%)	Lodo digerido	35	26 mL H ₂ /g SV*	FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009)
	Resíduos sólidos urbanos industriais + glicerol bruto (1%)	Efluente - digestor termofílico	-	51 mL H ₂ /g SV*	ZAHEDI <i>et al.</i> (2016)
	Torta de óleo de palma + glicerol bruto (1,5%)	-	55	23 mL H ₂ /g ST*	KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017)
	Resíduos alimentares + glicerol (1%)	Lodo digerido	35	140 mL H ₂ /g SV**	Este estudo
	Resíduos alimentares + glicerol (3%)	Lodo digerido	35	179,2 mL H ₂ /g SV**	Este estudo
Misturas ternárias	Mistura de efluentes (Indústria de azeite + matadouro) + glicerol (1%)	Lodo digerido	35	15 mL H ₂ /g SV*	FOUNTOULAKIS e MANIOS (2009)
	Esterco de búfalo + Soro de queijo + glicerol (33%)	Consórcio microbiano artificial	37	97 mL H ₂ /g SV*	MARONE <i>et al.</i> (2014)
	Resíduos alimentares + lodo de ETE+ glicerol (1%)	Lodo digerido	35	210,6 mL H ₂ /g SV**	Este estudo
	Resíduos alimentares + lodo de ETE+ glicerol (3%)	Lodo digerido	35	260,5 mL H ₂ /g SV**	Este estudo

*Sólidos adicionados

**Sólidos removidos

4.3 Produção de Metano - Segunda fase (Metanogênese)

4.3.1 Mistura binária de resíduos orgânicos e glicerol

Ao final do processo de produção de H_2 na primeira fase do sistema digestão anaeróbia (após 36 horas de fermentação), os efluentes dos frascos contendo as misturas binárias (RO+GL) e dos frascos controle (RO) foram utilizados diretamente como substratos para produção de CH_4 na segunda fase da digestão anaeróbia (metanogênese), a qual foi monitorada durante 40 dias.

Na Tabela 4.15 estão apresentados os resultados referentes à caracterização das amostras de misturas binárias (RO+GL1% e RO+GL3%) e da amostra controle (RO) no início e no fim da etapa metanogênica. Foram avaliados parâmetros relacionados à matéria orgânica (DQO, SV e proteínas totais) e à estabilidade do sistema anaeróbio (pH e relação AV/AT).

A Figura 4.12 ilustra os percentuais de remoção de DQO, SV e carboidratos obtidos nos ensaio de codigestão das amostras oriundas da fase acidogênica (após 40 dias). Comparando os valores de DQO e SV iniciais e finais (Tabela 4.15), é possível verificar que houve diminuição do conteúdo de matéria orgânica em todas as amostras testadas. Os percentuais de remoção de DQO e SV nas amostras RO, RO+GL1% e RO+GL3% foram semelhantes, variando entre 44 a 53% e 38 a 48%, respectivamente. A eficiência de remoção de proteínas atingiu valores entre 58 e 65%. Estes dados sugerem que os resíduos após a fase de geração de H_2 foram favoráveis para produzir CH_4 .

Considerando os valores de DQO e a duração da fase metanogênica (40 dias), as cargas orgânicas aplicadas nos experimentos com RO, RO+GL1% e RO+GL3% foram de 0,87, 0,92 e 1 gDQO/(L.dia), respectivamente.

Tabela 4.15. Caracterização físico-química das amostras de misturas binárias (RO+GL1% e RO+GL3%) e da amostra controle (RO) no início e final da fase metanogênica.

Parâmetros	Amostras			
		RO	RO+GL1%	RO+GL3%
DQO (g/L)	Inicial	34,90 ± 0,09	36,87 ± 0,08	39,86 ± 0,06
	Final	18,23 ± 0,16	14,97 ± 0,12	20,13 ± 0,09
ST (g/L)	Inicial	43,73 ± 0,25	41,89 ± 0,15	41,32 ± 0,48
	Final	31,84 ± 0,55	26,53 ± 0,54	32,57 ± 0,12
SV (g/L)	Inicial	23,41 ± 0,04	22,76 ± 0,15	22,33 ± 0,17
	Final	14,39 ± 0,21	12,23 ± 0,54	13,10 ± 0,43
Proteínas (mg/L)	Inicial	645,5 ± 0,11	715 ± 0,44	693,9 ± 0,654
	Final	247,8 ± 1,6	165,8 ± 0,13	340 ± 0,66
pH	Inicial	7,0 ± 0,1	7,1 ± 0,08	7,1 ± 0,1
	Final	7,2 ± 0,05	7,3 ± 0,02	7,3 ± 0,05
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ /L)	Inicial	1008	1018	1032
	Final	1512	1488	1286
Ácidos voláteis totais (mg CH ₃ COOH/L)	Inicial	327	369	381
	Final	108	96	109

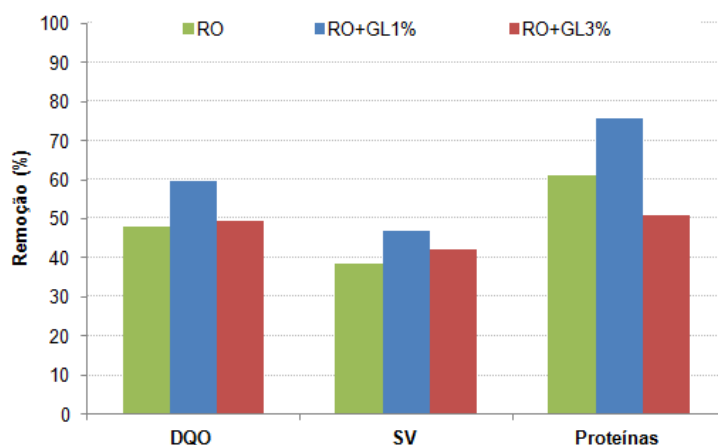


Figura 4.12. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e proteínas por meio da codigestão de resíduos orgânicos sem e com a adição de glicerol, após 40 dias da fase metanogênica.

Considerando os parâmetros de estabilidade, o pH manteve-se na faixa entre 7 e 7,3. Um pequeno aumento foi observado nas primeiras horas de monitoramento, concomitantemente à formação de metano (Figura 4.13). A relação ácidos voláteis/alcalinidade (AV/AT) para todas as amostras, no início e no final do experimento (Tabela 4.15), se manteve igual ou inferior a 0,40, dentro da faixa reportada para digestores estáveis.

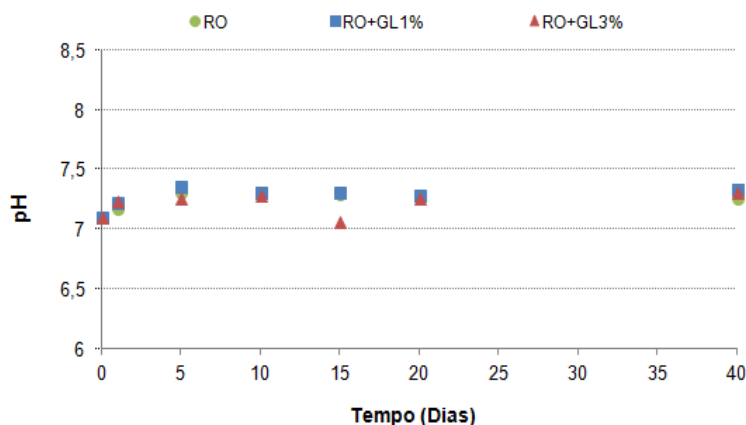


Figura 4.13. Comportamento do pH durante a digestão anaeróbia dos efluentes da fase acidogênica da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol.

O teor máximo de CH_4 no biogás manteve-se entre 75 e 80%. Já em relação aos volumes máximos de CH_4 acumulados, o experimento realizado com as amostras adicionadas de 1% de glicerol apresentou um maior volume gerado desse gás em relação ao experimento com 3% de glicerol. O mesmo comportamento foi observado para a taxa máxima de geração diária de CH_4 (NmL/dia), de modo que a adição de 1% de glicerol aumentou cerca de 2 vezes a taxa em relação àquela obtida no experimento controle.

A Figura 4.14 ilustra o comportamento da produção específica de metano e da taxa específica de produção desse gás durante os 40 dias de teste. Observou-se um aumento na produção específica de metano (volume acumulado por grama de sólidos voláteis removidos – NmL/gSV) de 77,4% e de 19% nas amostras RO+GL1% e RO+GL3% em relação à amostra controle, sendo alcançados valores de 301,2 NmL CH_4 /g SV e 215,7 NmL CH_4 /g SV, respectivamente. Em relação à taxa máxima de produção específica de metano (NmL CH_4 /(gSV.d)), foi obtido um aumento de 66% na amostra contendo 1% de glicerol em relação ao experimento controle. A geração de

CH₄ obtida na fase metanogênica com as diversas amostras está sumarizada na Tabela 4.16.

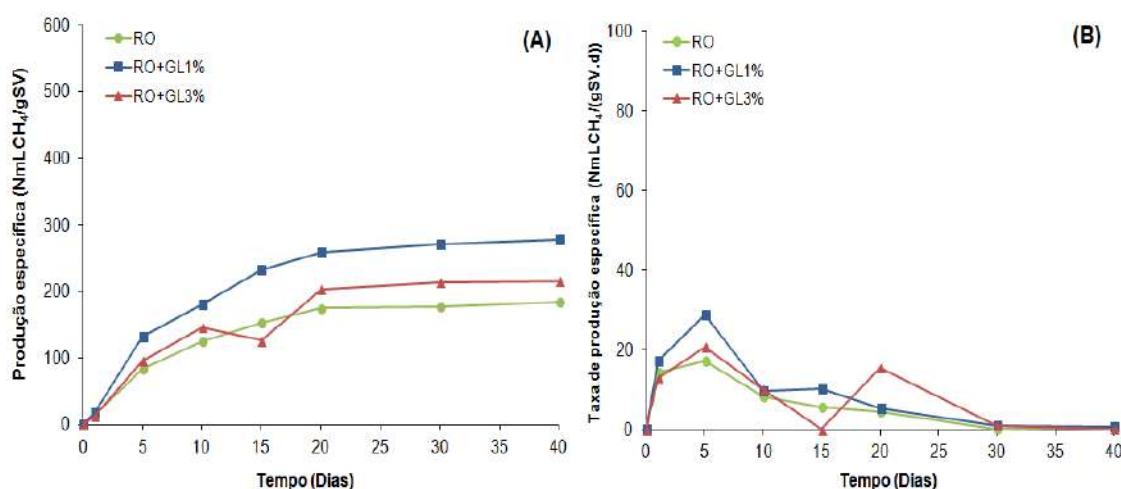


Figura 4.14. Produção de metano ao longo do tempo a partir dos efluentes da etapa acidogênica da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa de produção específica de metano.

Tabela 4.16. Produção de metano no ensaio BMP a partir dos efluentes da etapa acidogênica de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%).

Amostras	CH ₄ %	Volume acumulado (NmL)	Taxa máxima de produção (NmLCH ₄ /d)	Produção específica (NmLCH ₄ /g SV*)	Taxa máxima de produção específica (NmLCH ₄ /(g SV.d))	%**
RO (controle)	80	199,5	18,6	184,0	17,2	-
RO+GL1%	80	354	37,5	301,2	31,2	77,5
RO+GL3%	75	273,3	22,8	215,7	20,8	19

*Sólidos voláteis removidos

**Percentual de aumento em relação à máxima produção específica obtida na amostra controle.

4.3.2 Mistura ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol

Na Tabela 4.17 estão apresentados os resultados referentes à caracterização das amostras de misturas ternárias (RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3%) e do experimento controle (RO+LP) oriundos da fase acidogênica no início e final da etapa metanogênica.

Tabela 4.17. Caracterização físico-química das amostras de misturas ternárias (RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3%) e do experimento controle (RO+LP) no início e fim da fase de metanogênese.

Parâmetros	Amostras			
		RO+LP	RO+LP+GL1%	RO+LPGL3%
DQO (g/L)	Inicial	32,54 ± 0,12	34,39 ± 0,17	37,15 ± 0,05
	Final	16,01 ± 0,11	13,28 ± 0,08	18,94 ± 0,09
ST (g/L)	Inicial	40,37 ± 0,28	42,05 ± 0,41	44,04 ± 0,31
	Final	26,89 ± 0,23	29,37 ± 0,16	26,03 ± 0,68
SV (g/L)	Inicial	25,12 ± 0,14	24,49 ± 0,18	24,05 ± 0,27
	Final	14,59 ± 0,09	12,92 ± 0,15	13,45 ± 0,63
Proteínas (mg/L)	Inicial	961,1 ± 0,33	892,3 ± 0,99	858 ± 0,87
	Final	358,8 ± 0,67	233,8 ± 0,88	340,8 ± 0,54
pH	Inicial	7,0 ± 0,05	7,1 ± 0,05	7,1 ± 0,05
	Final	7,2 ± 0,1	7,2 ± 0,04	7,1 ± 0,03
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ /L)	Inicial	1020	936	852
	Final	1608	1248	1205
Ácidos voláteis totais (mg CH ₃ COOH/L)	Inicial	201	232	255
	Final	62	51	50

A Figura 4.15 ilustra os percentuais de remoção de matéria orgânica, expressa na forma de DQO, SV e carboidratos, obtidos na fase metanogênica (40 dias) de codigestão de mistura ternária. Comparando os valores de DQO e SV iniciais e finais (Tabela 4.17), é possível verificar que houve diminuição do conteúdo de matéria orgânica ao final do experimento para todas as amostras avaliadas. Os percentuais de remoção de DQO e SV para as amostras RO+LP, RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% variaram na faixa de 45 a 58% e 41 a 47%, respectivamente.

As cargas orgânicas iniciais nos experimentos com as amostras RO+LP, RO+LP+GL1% e RO+LP+GL3% foram de, respectivamente, 0,81, 0,86 e 0,92 gDQO/(L.dia). Esses valores são bastante similares aos obtidos nos experimentos com mistura binária. A eficiência de remoção de proteínas variou de 58 a 67% nas amostras com adição de 1 e 3% de glicerol, respectivamente.

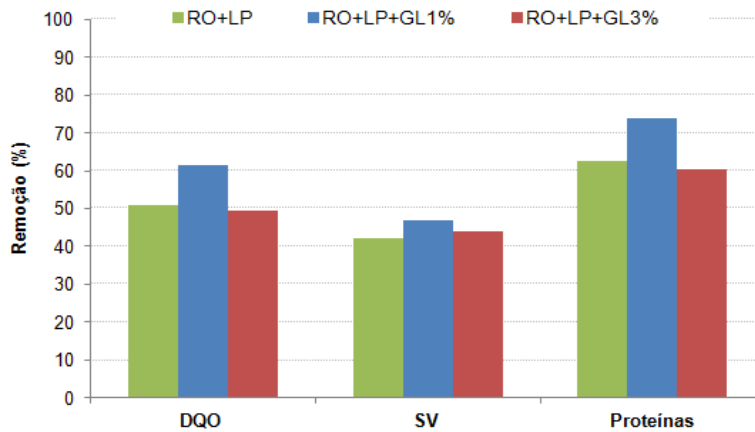


Figura 4.15. Remoção do conteúdo orgânico em termos de DQO, SV e proteínas obtida por meio da codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE sem e com glicerol após 40 dias de fase metanogênica.

Considerando os valores de pH, não houve alterações nas amostras avaliadas. Esse parâmetro permaneceu estável e próximo a 7,5 ao longo de quase todo o período de monitoramento, exceto na amostra RO+LP+3%, a qual apresentou uma diminuição no valor do pH no 15º dia de monitoramento para 6,6 (Figura 4.16). Tal decréscimo brusco refletiu diretamente no comportamento da produção de CH₄ (Figura 4.17). Em geral, a relação AV/AT para todas as amostras, no início e no final do experimento (Tabela 4.15), se manteve inferior a 0,40.

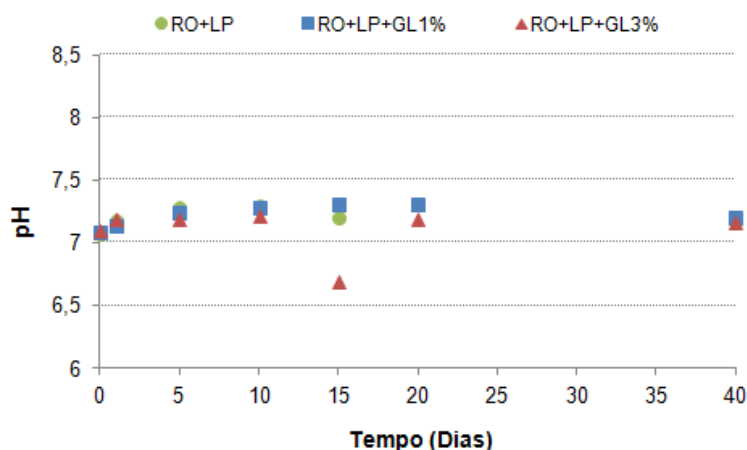


Figura 4.16. Comportamento do pH durante a digestão anaeróbia dos efluentes da codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE com e sem a adição de glicerol advindos do estágio acidogênico.

O teor de CH_4 no biogás manteve-se acima de 70%, assim como nos testes com misturas binárias. Foi observado um aumento no volume de CH_4 acumulado e na taxa máxima de produção desse gás de 59% e 14%, respectivamente, quando comparado à amostra controle (RO+LP) (Tabela 4.18).

A produção específica (volume acumulado por grama de sólidos voláteis removidos – NmL/gSV) e a taxa específica de produção de CH_4 ($\text{NmLCH}_4/(\text{gSV.d})$) durante os 40 dias de teste para a amostra com 1% de glicerol teve um acréscimo de 51% e 14%, respectivamente, sendo alcançados valores de 377,4 $\text{NmL CH}_4/\text{g SV}$ e 38 $\text{NmL CH}_4/(\text{g SV.d})$. Em contrapartida, na amostra RO+LP+GL3%, foi constatado uma possível inibição no 15º dia de monitoramento, não sendo identificado teor de CH_4 através da análise de cromatografia a gás. Após esse período, uma possível adaptação da comunidade microbiana refletiu no crescimento da produção de metano (Figura 4.17). Os dados de geração de CH_4 obtidos na fase metanogênica a partir dos efluentes da codigestão de resíduos orgânicos e glicerol estão sumarizados na Tabela 4.18.

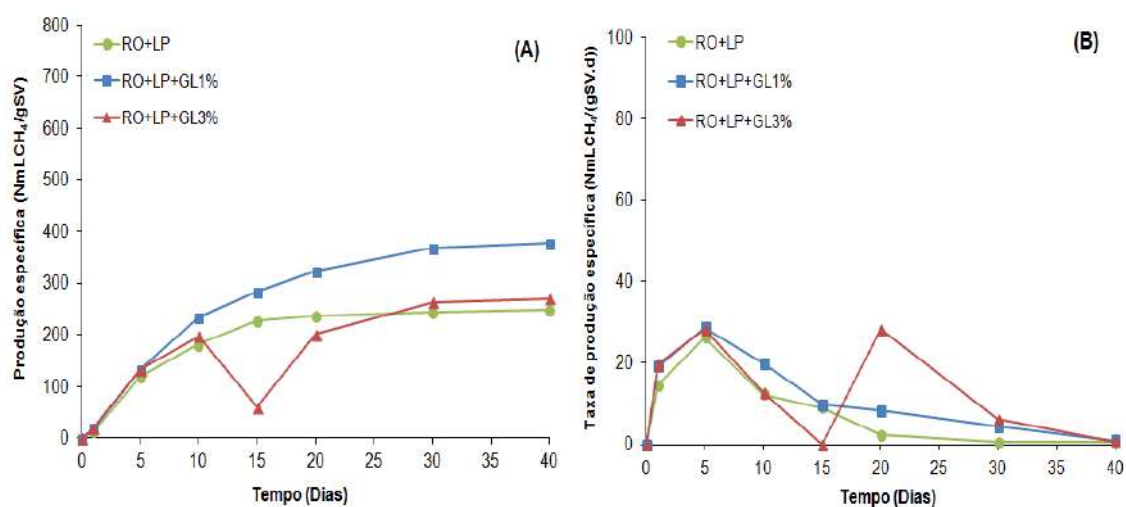


Figura 4.17. Comportamento da produção de metano a partir dos efluentes da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (1 e 3%). (A) Produção específica e (B) Taxa específica de produção de metano.

Tabela 4.18. Produção de metano no ensaio BMP a partir dos efluentes da etapa acidogênica de codigestão de resíduos orgânicos e glicerol (1 e 3%).

Amostras	CH ₄ %	Volume acumulado (NmL)	Taxa máxima de produção (NmLCH ₄ /d)	Produção específica (NmLCH ₄ /g SV*)	Taxa máxima de produção específica (NmLCH ₄ /(gSV.d))	% **
RO+LP (controle)	78,8	313,1	33,2	248,1	27,6	-
RO+LP+GL1%	79,4	498,1	37,9	377,4	38,0	51
RO+LP+GL3%	71,9	341,9	35,7	269,2	28,1	8,5

*Sólidos voláteis removidos

**Percentual de aumento em relação à produção específica comparados a RO+GL3%.

4.3.3 Desempenho do sistema de duas fases na produção de metano

4.3.3.1 Aspectos gerais

Ao final do processo de produção de H₂, primeira fase da digestão anaeróbia, os efluentes foram utilizados diretamente como substrato para produzir CH₄. Nesta fase metanogênica, foi possível observar a diminuição do teor de matéria orgânica em todos os efluentes, evidenciando a ocorrência de hidrólise de compostos orgânicos oriundos da codigestão com glicerol.

Os valores de DQO das amostras de misturas binárias e ternárias oriundas da primeira fase da digestão anaeróbia apresentaram valores elevados (Tabelas 4.15 e 4.17), tendo em vista a baixa remoção de matéria orgânica obtida em sistemas acidogênicos. De fato, dependendo do tipo de substrato utilizado, a DQO do efluente resultante do estágio de produção de H₂ pode ser tão alta quanto a DQO original do substrato devido à formação de diferentes produtos metabólicos (SARMA *et al.*, 2015).

As eficiências de remoção de SV e DQO das misturas binárias e ternárias após a fase metanogênica foram superiores a 40% e 50%, respectivamente. Isso significa que aproximadamente metade da matéria orgânica remanescente foi convertida ou estabilizada durante a metanogênese. Comparando as amostras com adição de 1 e 3% de glicerol, a maior remoção de DQO (60% em média) foi observada para as amostras com menor adição de glicerol. Esse valor é compatível com aqueles comumente relatados na literatura para tratamento de resíduos orgânicos em sistemas de digestão anaeróbia em

duas fases, os quais se situam entre 40 a 95% (CHU *et al.*, 2008; HAN e SHIN, 2004b; LIU *et al.*, 2013c; WANG e ZHAO, 2009). Os resultados, portanto, sugerem que a matéria orgânica solúvel e remanescente da fase acidogênica foi eficientemente utilizada para produzir CH₄.

A codigestão com glicerol também foi eficiente na remoção de proteínas, uma vez que mais de 70% desse componente foi removido nas amostras contendo 1% de glicerol. De acordo com FORSTER-CARNEIRO *et al.* (2007), lipídios e proteínas são substratos ideais para a produção de metano, uma vez que são capazes de gerar biogás com maior teor de metano quando comparado com carboidratos.

Os valores de pH em todas as amostras de efluente, de maneira geral, se mantiveram dentro da faixa ótima para produção de CH₄ ao longo do período de monitoramento, variando entre 7 e 7,3. A literatura reporta que a metanogênese em digestor anaeróbio ocorre de forma eficiente em valores de pH compreendidos entre 6,5 e 7,8 (RAZAVIARANI *et al.*, 2013). Vale ressaltar que, para manter as condições de pH propícias para a produção de metano, foi necessário proceder à neutralização inicial dos efluentes acidogênicos. Essa etapa de correção de pH deve, portanto, integrar o sistema de digestão de duas fases.

Durante a fase metanogênica, na amostra de mistura ternária (RO+LP+GL3%) foi observada uma redução abrupta do pH de 7,2 para 6,6 no 15º dia de teste. O mesmo comportamento foi verificado na amostra binária RO+GL3%, porém, para esse último caso, a queda do pH foi menor. Tal fato indica sinais de instabilidade que pode ter ocorrido em virtude do acúmulo de produtos metabólicos formados a partir da adição da maior quantidade de glicerol, refletindo diretamente na produção de CH₄ (item 4.3.3.2). Altas concentrações de AOV no digestor diminuem a atividade metanogênica e potencialmente causam uma falha no processo de digestão anaeróbia (KIM *et al.*, 2013a). De fato, o teor de CH₄ mensurado no 15º dia de monitoramento através da análise de cromatografia a gás foi menor que 50% na mistura binária e inferior a 20% na mistura ternária.

Em estudos de codigestão de diferentes resíduos e glicerol reportados por FOUNTOULAKIS, PETOUSI e MANIOS (2010), ATHANASOULIA, MELIDIS e AIVASIDIS (2014) e ALVES (2016), em sistemas de digestão em fase única, foi identificada a inibição ou instabilidade da produção de CH₄ pela adição de concentrações elevadas de glicerol (ex. 3 ou 4% (v/v)), devido ao aumento da concentração de ácido propiônico, acarretando alterações bruscas no pH do meio. A

degradação do glicerol em sistemas metanogênicos ocorre com a conversão do 1,3 propanodiol a ácido propiônico (WATANABE, 2013). Segundo KIM *et al.* (2013a), alguns estudos relatam que a concentração de ácido propiônico no processo de digestão anaeróbia em fase única (CH_4) é maior do que no processo de digestão anaeróbia em duas fases (H_2 e CH_4). Após o período inicial de inibição, uma possível adaptação da comunidade microbiana refletiu no crescimento gradual da produção de metano nos dias seguintes de monitoramento (Figura 4.17). Em sistemas de digestão anaeróbia em fase única, JENSEN *et al.* (2014) relataram que, em alguns casos, a capacidade de tamponamento do lodo pode ser suficiente para absorver os ácidos voláteis adicionais produzidos durante a codigestão com glicerol.

Além do pH, outra forma de avaliar a estabilidade da digestão anaeróbia é através da razão entre ácidos voláteis totais e alcalinidade total (AV/AT). A relação AV/AT para todas as amostras, no início e no final do experimento (Tabelas 4.15 e 4.17), foram inferiores a 0,30-0,40, indicando que o processo aconteceu de forma estável, sem o risco de acidificação (FONOLL *et al.*, 2015; SILES *et al.*, 2010). As condições ambientais estiveram adequadas, dentro do recomendado por FONOLL *et al.* (2015), o qual pondera que $\text{AV/AT} \leq 0,40$ representa digestor estável, $0,40 < \text{AV/AT} < 0,80$ indica alguns sinais de instabilidade e $\text{AV/AT} \geq 0,80$ representa instabilidade significativa.

As concentrações de AV totais na digestão anaeróbia em duas fases diminuíram consideravelmente após 40 dias de experimento (Tabelas 4.15 e 4.17). KIM *et al.* (2013a) relataram a alta eficiência de conversão de AV de efluentes acidificados em CH_4 . Em geral, a rápida diminuição da concentração de AV derivada da produção de H_2 coincide com o aumento da produção de biogás e, por conseguinte, de CH_4 .

4.3.3.2 Produção de metano

A produção de CH_4 em todos os experimentos (BMP) começou logo após a incubação, indicando uma fase *lag* curta (Figuras 4.14 e 4.17). O teor máximo de CH_4 no biogás manteve-se entre 75 e 80% em todos os efluentes avaliados. Valores percentuais de CH_4 no biogás na faixa de 47 a 80% são reportados na literatura para digestão de resíduos orgânicos e para a codigestão de resíduos orgânicos e lodo de ETE em sistemas de digestão em duas fases sob condições mesofílicas (HAN *et al.*, 2005;

LEE e CHUNG, 2010; NATHAO, SIRISUKPOKA e PISUTPAISAL, 2013; SIDDIQUI, HORAN e SALTER, 2011).

Neste estudo, os valores de produção de CH₄ para as amostras com 1 e 3% de glicerol apresentaram um aumento de 77,4% e 19% no ensaio de codigestão com mistura binária e 51% e 8,5% no ensaio de codigestão com mistura ternária, respectivamente, quando comparados as amostras controle. Os resultados indicam que, nas amostras com menor percentual de glicerol, a produção sequencial de H₂ e CH₄ em dois estágios proporcionou uma melhor degradação dos resíduos orgânicos e, conseqüentemente, um melhor desempenho em relação à produção específica e ao teor de CH₄ comparado ao obtido com adição de 3% de glicerol.

Resultados semelhantes foram descritos por KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE, (2017) para produção de CH₄ a partir dos efluentes acidificados da codigestão de torta de óleo de palma e glicerol (0,75% e 1% v/v) em um sistema semicontínuo. Os autores verificaram que a amostra com menor percentual de glicerol apresentou maior produção de CH₄ quando comparada com aquela com maior quantidade desse cosubstrato, alcançando uma produção máxima de 71% de CH₄ e 44 L CH₄/kg ST.

Alguns autores descreveram que substratos orgânicos com os quais se obteve maior conversão em H₂ resultaram em uma conversão em CH₄ inferior em sistemas de digestão anaeróbia em duas fases e vice-versa. Desse modo, as condições que maximizam a produção de H₂ podem não atingir o mesmo efeito na produção de CH₄ (ALIBARDI e COSSU, 2015; CHU *et al.*, 2012; KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE, 2017; RAFIEENIA *et al.*, 2016).

Por outro lado, a formação de 1,3-PDO durante a fermentação acidogênica nas amostras com maior concentração de glicerol (3%) pode ter contribuído com a maior presença de ácido propiônico nas amostras. É possível que a presença desse tipo de ácido tenha influenciado na produção de CH₄, especificamente na amostra de mistura ternária com 3% de glicerol. De acordo com SUNYOTO *et al.* (2016), a energia para oxidar anaerobicamente ácido propiônico a acetato (+76,1 KJ/mol) é quase o dobro daquela requerida para a formação de butirato (+48,1 KJ/mol). IZUMI *et al.* (2010), em um estudo de digestão anaeróbia com resíduos alimentares, observaram que as concentrações de todos os AOV diminuíram acentuadamente dentro de 6 dias de experimento, com exceção do ácido propiônico, que levou cerca de 16 dias para ser consumido devido à sua degradação lenta. Desse modo, a taxa de formação de acetato a

partir de ácido propiônico se torna reduzida, e, como consequência, uma menor taxa de produção de CH₄ é alcançada.

A codigestão de resíduos mistos proporciona uma maior disponibilidade de substratos diversos que, por sua vez, aumenta a diversidade de bactérias e arqueas, levando a uma maior diversidade metabólica. Logo, é possível sugerir que a biomassa metanogênica teve uma melhor adaptação aos produtos finais da etapa acidogênica nas amostras com 1% de glicerol, o que poderia também explicar os melhores resultados de produção de CH₄. Além disso, o crescimento lento dos microrganismos metanogênicos é o entrave cinético para a produção de metano, devido, por exemplo, a possíveis efeitos inibitórios de certos compostos ou à ausência de compostos necessários para o metabolismo microbiano (ABELLEIRA-PEREIRA *et al.*, 2015).

O valor de produção de CH₄, neste estudo, utilizando os efluentes com 1 % de glicerol foi maior no ensaio de codigestão com resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol (mistura ternária) comparado ao obtido no ensaio de codigestão com resíduos orgânicos e glicerol (mistura binária). RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014), utilizando uma mistura de lodo de ETE com 1% de glicerol em um processo semicontínuo de digestão de duas fases, reportaram um efeito positivo na produção de H₂ e CH₄ ao variar a carga orgânica aplicada ao processo. A melhor condição operacional foi encontrada para uma carga inicial de 1,01 g SV/(L.d), com rendimentos de H₂ e CH₄ de 0,5 L H₂/g SV e 1,48 L CH₄/g SV, respectivamente e remoções de SV de 89%.

SIDDIQUI, HORAN e SALTER (2011) e ZHU *et al.* (2011) realizaram estudos de codigestão binária com resíduos orgânicos e lodo de ETE em sistema operado em batelada. Os rendimentos de H₂ e CH₄ obtidos nos diferentes estudos foram de 129 mL H₂/g SV e 617,6 mL CH₄/g SV e de 32-48 mL H₂/g SV e 522 mL CH₄/g SV, respectivamente. Os resultados mencionados referentes à produção de CH₄ foram superiores aos resultados obtidos neste estudo com os efluentes da fase acidogênica com adição de glicerol. Por outro lado, os rendimentos de H₂ foram inferiores. Para tais autores, a produção de CH₄ na segunda etapa foi significativamente melhorada pela produção inicial de H₂.

LIU *et al.* (2013b) reportaram um rendimento de 353,5 ml CH₄/g SV na codigestão de lodo ativado e resíduos alimentares em um sistema de duas fases e observaram um aumento de cerca de 2,0-3,3 vezes maior no rendimento desse gás quando comparado ao obtido na digestão de apenas lodo ativado.

Os estudos anteriores, os quais podem ser comparados na Tabela 4.19, corroboram os resultados do presente trabalho, demonstrando a viabilidade do uso de efluentes oriundos da etapa acidogênica de digestão anaeróbia de misturas binárias e ternárias com glicerol bruto como substrato para a produção de CH₄, com boa eficiência de remoção de DQO e SV.

Tabela 4.19. Produção específica de hidrogênio e metano a partir da codigestão de diferentes resíduos em misturas binárias e ternárias por um sistema de duas fases (dados reportados na literatura e neste estudo).

Tipo de codigestão	Substratos	Inóculo	Temp. (°C)	Produção específica de H₂	Produção específica de CH₄	Referências
Codigestão Binária	Resíduos alimentares+ lodo de ETE	Lodo digerido	37	129mL H ₂ /g SV**	617,6 mL CH ₄ /g SV**	SIDDIQUI, HORAN e SALTER (2011)
	Resíduos alimentares+ lodo de ETE	Lodo digerido	37	32-48 mL H ₂ /g SV*	522 mL CH ₄ /g SV*	ZHU <i>et al.</i> (2011)
	Resíduos alimentares+ lodo de ETE	Lodo ativado/lodo digerido	37	106,4 mL H ₂ /g SV*	353,5 mL CH ₄ /g SV*	LIU <i>et al.</i> (2013b)
	Lodo de ETE + glicerol (1%)	Lodo digerido	-	0,5 L H ₂ /g SV**	1,48 L CH ₄ /g SV**	RIVERO, SOLERA e PEREZ (2014)
	Torta de óleo de palma + glicerol bruto (1,5%)	-	55	3,8 L H ₂ /Kg ST*	44 L CH ₄ /g ST*	KANCHANASUTA e SILLAPARASSAMEE (2017)
	Resíduos alimentares + glicerol (1%)	Lodo digerido	35	140 mL H ₂ /g SV**	301,2 mL CH ₄ /g SV**	Este estudo
	Resíduos alimentares + glicerol (3%)	Lodo digerido	35	179,2 mL H ₂ /g SV**	215,7 mL CH ₄ /g SV**	Este estudo
Codigestão ternária	Resíduos alimentares + lodo de ETE + glicerol (1%)	Lodo digerido	35	210,6 mL H ₂ /g SV**	377,4 mL CH ₄ /g SV**	Este estudo
	Resíduos alimentares + lodo de ETE + glicerol (3%)	Lodo digerido	35	260,5 mL H ₂ /g SV**	269,2 mL CH ₄ /g SV**	Este estudo

*Sólidos adicionados

**Sólidos removidos

4.4 Análise comparativa dos ensaios de codigestão a partir do sistema de digestão anaeróbia em duas fases

Os resultados indicam que a estabilização da produção de H₂, na primeira fase, e CH₄, segunda fase, ocorreu com 1 dia e com 20 a 30 dias de monitoramento, respectivamente. LIU *et al.* (2006b), a partir da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos, relataram TDH para a primeira fase de 1-2 dias e na segunda fase de 10-15 dias, respectivamente. O aumento do tempo de estabilização na fase metanogênica, neste estudo, pode ter ocorrido em função das características dos resíduos ou das condições operacionais empregadas.

A digestão anaeróbia em duas fases, avaliada por meio de ensaios de BHP e BMP empregando resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol, apresentou remoções de matéria orgânica variando entre 6 - 49% e 38 - 75%, para a fase de produção de H₂ e CH₄, respectivamente (Tabela 4.20). Os resultados mostraram que os efluentes após a produção de H₂ podem ser utilizados diretamente como substrato na etapa subsequente de produção de CH₄. De acordo com PISUTPAISAL, NATHAO e SIRISUKPOKA (2014), a separação da hidrólise combinada à acidogênese, na primeira fase, da metanogênese, na segunda fase de digestão anaeróbia, pode ser mais vantajosa para o tratamento de resíduos complexos e remoção simultânea de material orgânico recalcitrante.

Tabela 4.20. Resumo dos percentuais médios de remoção de matéria orgânica (em termos de DQO, SV e carboidratos) obtidos por digestão anaeróbia em duas fases.

Adição de glicerol	Amostras	Acidogênese - H ₂			Metanogênese - CH ₄		
		SV (%)	DQO (%)	Carb. (%)	SV (%)	DQO (%)	Prot. (%)
Controle	RO	7,6	9,2	20	38,5	47,7	61,6
	RO+LP	6,7	13,1	31	41,8	51	62,6
1%	RO+GL1%	12	11	34	46	59,5	75,7
	RO+LP+GL1%	8,4	15,5	44,2	47	61,3	74
3%	RO+GL3%	11	12,6	39	41	49,5	51
	RO+LP+GL3%	7,8	16,9	49	44	49,3	60

Nos itens anteriores, a partir dos resultados apresentados, foi possível constatar o aumento da produção específica de H_2 com o acréscimo do teor de glicerol. A adição de 3% de glicerol proporcionou o aumento de 105% e 75% na produção de H_2 em misturas binárias e ternárias, respectivamente, em comparação com as amostras controle (apenas RO e RO+LP). O aporte extra de carbono e nutrientes advindo do glicerol melhorou significativamente a hidrólise de carboidratos e, conseqüentemente, a produção de H_2 sem causar instabilidade no processo de fermentação anaeróbia. Por outro lado, as amostras acidificadas com 1% de glicerol apresentaram resultados mais satisfatórios quanto à produção de CH_4 , atingindo 77% e 51% de aumento para mistura binária e ternária, respectivamente, em relação ao experimento controle.

Uma visão geral da produção específica de H_2 e CH_4 por digestão anaeróbia em duas fases encontra-se ilustrada na Figura 4.18. As amostras estão separadas de acordo com a ausência ou presença de glicerol (nas proporções de 1 e 3% v/v). Os resultados mais significativos em termos de produção conjunta de H_2 e CH_4 foram obtidos para as amostras com adição de 1% de glicerol.

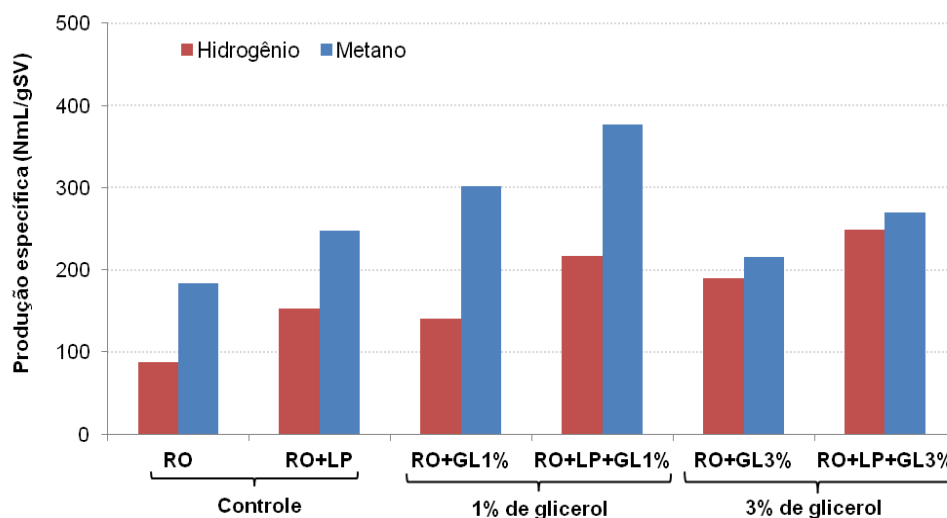


Figura 4.18. Visão geral da produção de hidrogênio e metano por meio de um sistema de digestão anaeróbia em duas fases.

A presença de lodo primário junto aos resíduos orgânicos (proporção 2:1) aumentou a produção de H_2 e CH_4 nos ensaios com e sem adição de glicerol. Por ser um substrato com características complementares aos resíduos orgânicos, permitiu manter o equilíbrio da relação C/N e da alcalinidade, favorecendo o aumento da produção específica de ambos os gases. O lodo primário, no entanto, quando utilizado como

substrato principal, não permitiu a obtenção de dados quantitativos de H₂, devido principalmente às suas características físico-químicas e microbiológicas. Na verdade, a presença de lodo primário na codigestão inviabilizou a produção de H₂ mesmo após a adição de glicerol.

Nos experimentos com as amostras adicionadas de 1% de glicerol foi observada uma produção estável de H₂ e CH₄ durante todo o período de monitoramento, ao contrário dos experimentos nos quais foram adicionados de 3% desse cosubstrato. Nessa condição, uma redução abrupta nos teores de CH₄ (Figura 4.19) foi observada. Os sinais de instabilidade podem ter ocorrido em virtude dos produtos metabólicos formados a partir da adição de maior quantidade de glicerol (3%).

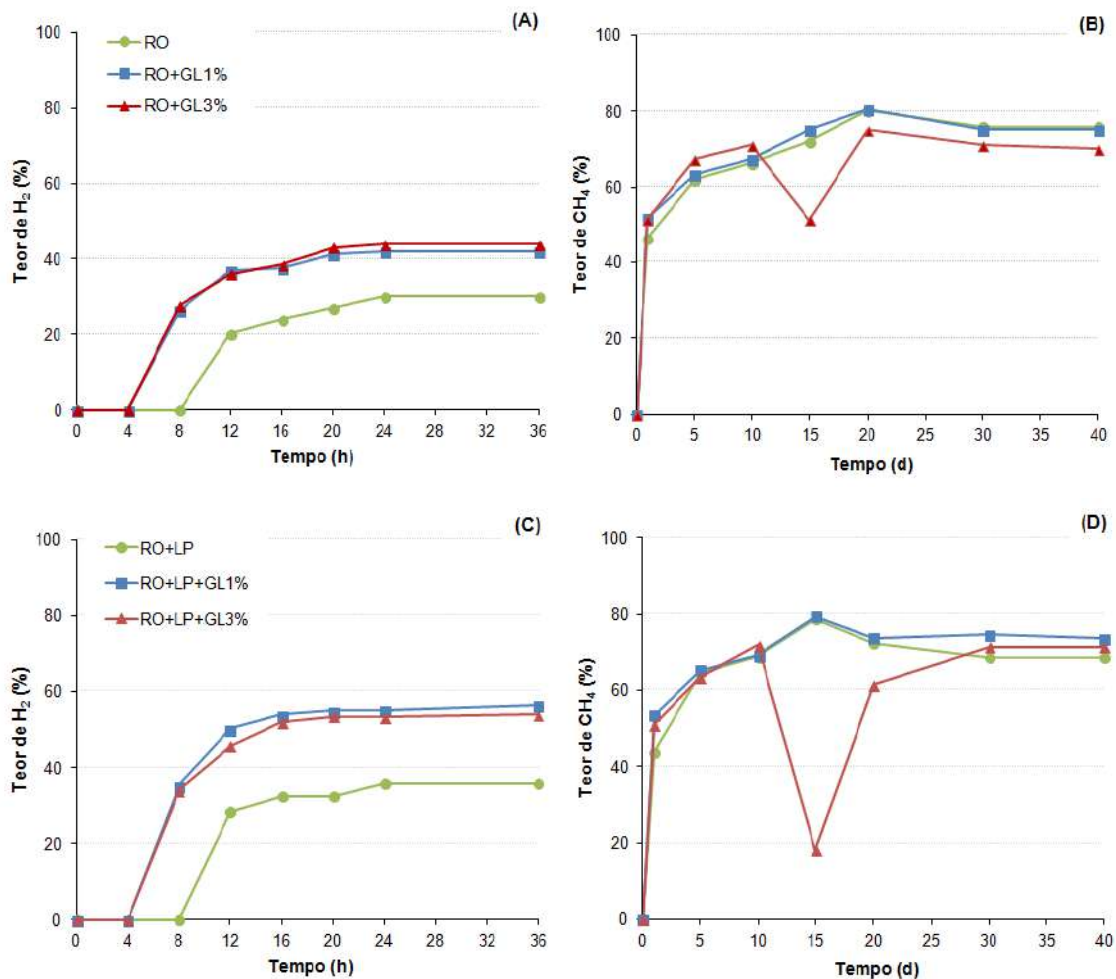


Figura 4.19. Comportamento do teor de hidrogênio e metano produzidos nos experimentos de codigestão binária e ternária por digestão anaeróbica em duas fases. (A e C) Hidrogênio - 36 horas de fermentação acidogênica e (B e D) Metano – 40 dias de metanogênese.

Com base nos resultados de produção específica de H₂ e CH₄ obtidos nos experimentos de codigestão com adição de glicerol, foram calculados os rendimentos energéticos correspondentes a cada grama de SV removidos. A eficiência de conversão em energia foi calculada baseada na densidade e no poder calorífico dos gases H₂ e CH₄, isto é, 0,09 kg/m³ e 0,72 kg/m³ e 142 KJ/g e 55,6 KJ/g, respectivamente (PEIXOTO *et al.*, 2012). Os resultados de conversão em energia em termos de H₂ e CH₄ para cada grama de SV removidos encontram-se descritos na Tabela 4.21.

Tabela 4.21. Eficiência de conversão em energia em termos de H₂ e CH₄ obtida no processo de digestão em duas fases.

Amostras	Produção específica de H ₂ (mL/g SV)	Produção específica CH ₄ (mL/g SV)	Energia em H ₂ (KJ/g SV)	Energia em CH ₄ (KJ/g SV)	Energia total (KJ/g SV)
RO (controle)	87,3	184	1,1	7,3	8,4
RO+LP (controle)	149	248,1	1,9	9,9	11,8
RO+GL1%	140	301,2	1,8	12,0	13,8
RO+LP+GL1%	210,6	377,4	2,7	15,1	17,8
RO+GL3%	179,2	215,7	2,2	8,6	10,8
RO+LP+GL3%	260,5	269,2	3,2	10,7	13,9

O rendimento energético do H₂ é notavelmente mais baixo do que do CH₄, uma vez que oferece menos energia por volume. Logo, é possível dizer que, em termos energéticos, a produção de H₂ não é competitiva com a de CH₄. A mesma observação foi feita por ZHU *et al.* (2008b), os quais empregaram resíduos de batata em um sistema mesofílico de digestão anaeróbia em duas fases para geração de hidrogênio e metano.

De acordo com as Tabelas 4.20 e 4.21, todas as possíveis combinações de substratos mostraram potencial de recuperação de energia e remoção de matéria orgânica por meio do processo de digestão em duas fases. No entanto, o melhor desempenho foi obtido na codigestão de RO+LP+GL1%, constatando o efeito positivo gerado pela combinação dos três substratos. O rendimento energético total nessa amostra foi de 17,8 KJ/g SV, dos quais apenas 15% foram provenientes da produção de H₂.

A padronização da concentração inicial de todas as amostras em 10 g SV/L, em todos os ensaios de codigestão (conforme descrito no capítulo 3), possibilitou realizar uma comparação da eficiência da produção sequencial de H₂ e CH₄, em duas fases, com os resultados de produção de CH₄ em fase única descritos por ALVES (2016) (Tabela 4.22). A produção de CH₄ em fase única também foi obtida a partir da codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol, usando misturas com 10 g SV/L, em condições operacionais semelhantes ao presente estudo. ALVES (2016), da mesma forma que observado nesse estudo, obteve os maiores rendimentos de CH₄ nas misturas de resíduos com adição de 1% de glicerol. A produção específica de metano atingiu 238,4 NmL CH₄/g SV e 352,2 NmL CH₄/g SV para codigestão em mistura binária (RO+GL1%) e ternária (RO+LP+GL1%), respectivamente, resultando em 54% e 45,4% de aumento quando comparados às amostras controle desprovidas de glicerol.

Tabela 4.22. Comparação entre as eficiências de conversão em energia obtidas no processo de digestão em duas fases (presente estudo) e em fase única (Alves, 2016)..

Amostras	Energia em duas fases (H₂+CH₄) (KJ/g)	Energia em fase única (CH₄) (KJ/g)*
RO+GL1%	13,8	9,5
RO+LP+GL1%	17,8	14,0

*Resultados calculados com base nos dados descritos por Alves, 2016.

O rendimento energético obtido pela digestão anaeróbia em duas fases (somando a energia oriunda de H₂ e CH₄) para a mistura ternária de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol foi 27% maior do que o obtido pela digestão anaeróbia em fase única (energia somente do CH₄) descrita por ALVES (2016). Estudos anteriores já haviam demonstrado que mais bioenergia pode ser obtida pelo processo de digestão em duas fases. NATHAO, SIRISUKPOKA e PISUTPAISAL (2013) reportaram um rendimento energético 18% maior do que o obtido por digestão em fase única. KIM *et al* (2013a) obtiveram um rendimento energético de 59,6% maior ao codigerir palha de arroz e lodo de esgoto bruto um sistema de digestão anaeróbia em duas fases em condições anaeróbias termofílicas.

A fase acidogênica pode ter favorecido a etapa de hidrólise e, conseqüentemente, a produção de CH₄ na fase posterior. Assim, os resultados sugerem que a biodegradação a partir da codigestão ternária com 1% de glicerol ocorreu de forma mais eficiente por meio de um sistema de duas fases. No entanto, embora promissora, a digestão anaeróbia em duas etapas em experimentos em batelada para a produção de H₂ e CH₄ usando culturas mistas pode ser aprimorada em reatores contínuos, os quais são considerados meios práticos e econômicos para a produção de biocombustíveis gasosos em escala comercial (HAWKES *et al.*, 2007).

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos durante este estudo permitiram extrair as seguintes conclusões:

A adição de glicerol em misturas binárias e ternárias de resíduos orgânicos e lodo de ETE aumentou de forma eficiente a produção específica e o rendimento energético de hidrogênio e metano por meio do processo de digestão anaeróbia em duas fases.

O aumento da concentração de glicerol de 1% a 3% nas misturas binárias (RO+GL) e ternárias (RO+LP+GL) resultou em uma geração de hidrogênio mais elevada, além de ter reduzido a fase *lag* em cerca de 4 h em comparação com os testes sem adição desse cosubstrato. A codigestão das misturas RO+GL e RO+LP+GL com a adição de 3% de glicerol atingiu um aumento de 105% e 75%, respectivamente, em comparação com as amostras controle (apenas RO e RO+LP).

O teor de glicerol acima de 1% aumentou a taxa de produção de hidrogênio sem causar inibição ou instabilidade do processo de fermentação. Além disso, a codigestão de resíduos alimentares com glicerol também aumentou a geração de AOV e favoreceu a produção de 1,3-propanodiol.

A mistura com lodo primário, dentro das condições experimentais empregadas, não produziu dados quantificáveis de hidrogênio nos experimentos com e sem a adição do glicerol, sugerindo que as características físico-químicas e microbiológicas típicas desse tipo de substrato (como a presença de organismos metanogênicos) podem ter impossibilitado o processo de fermentação anaeróbia.

Com relação à segunda fase do sistema de digestão anaeróbia (metanogênese), os resultados mais expressivos quanto à produção de metano foram obtidos a partir das misturas oriundas da fase acidogênica contendo menor teor de glicerol (1%). Nessas condições, observou-se um aumento na produção desse gás de 77,5% para mistura binária e de 51% para ternária em relação aos respectivos ensaios controle (sem adição de glicerol).

As amostras com adição de 1% de glicerol apresentaram estabilidade na produção de H₂ e CH₄ durante todo o período de monitoramento, ao contrário dos experimentos com a adição de 3% desse cosubstrato. Os resultados enfatizam que quantidades elevadas de glicerol podem acarretar instabilidade em virtude do acúmulo

de produtos metabólicos formados durante a digestão anaeróbia, tal como o 1,3 propanodiol.

Os resultados desta pesquisa enfatizam que a codigestão de resíduos orgânicos, lodo de ETE e glicerol em duas fases favorece a produção sequencial de H_2 e CH_4 . O uso da mistura ternária de resíduos, nessa configuração de digestão, proporcionou maior eficiência de remoção de matéria orgânica, indicando que os resíduos da etapa de produção de H_2 podem ser utilizados diretamente na fase posterior para produção de CH_4 e conseqüentemente, aumentar o rendimento energético em comparação com a digestão anaeróbia em fase única.

Ao final do processo de digestão em duas fases, a remoção de matéria orgânica foi satisfatória, indicando que a separação entre as fases acidogênica e metanogênica pode ser vantajosa para o tratamento e aproveitamento energético de resíduos complexos. Estes resultados indicam a viabilidade de aplicação de uma técnica inovadora no tratamento de três resíduos de elevado potencial poluidor com possibilidade de uso energético dos gases produzidos.

É inegável que, na conjuntura atual, a produção e a utilização de H_2 enfrenta inúmeras barreiras econômicas e tecnológicas, tais como a concorrência com um mercado dependente de combustíveis fósseis e questões relacionadas ao armazenamento desse gás. Por outro lado, a possibilidade de utilizar matérias-primas de menor custo e maior disponibilidade pode tornar o processo de duas fases mais eficiente e rentável. Esforços de pesquisa e desenvolvimento são, portanto, imprescindíveis para o progresso dessa área de estudo.

6 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

- ✓ Avaliar a adição de maiores concentrações de glicerol, bem como a aplicação de diferentes métodos de pré-tratamento no lodo primário, visando à produção de H_2 ;
- ✓ Avaliar a produção de H_2 e CH_4 sob condições termofílicas de temperatura, visando aumentar a eficiência da hidrólise principalmente na primeira fase do sistema de digestão anaeróbia (etapa acidogênica);
- ✓ Monitorar ao longo do tempo a produção de ácidos orgânicos voláteis em todas as etapas da produção de H_2 e CH_4 , permitindo, assim, melhor entendimento do processo de codigestão, em especial no indicativo de sinais de instabilidade.
- ✓ Avaliar a produção de H_2 e CH_4 por meio de sistema de digestão anaeróbia em duas fases em sistemas contínuos, proporcionando assim uma melhor adaptação da microbiota às concentrações de glicerol adicionadas, e comparar os resultados com a produção de CH_4 em fase única nas mesmas condições.
- ✓ Avaliar a produção de H_2 e CH_4 em escala piloto, para determinação do efeito escalonamento e a possível aplicação em campo de um sistema de codigestão binária e/ou ternária contendo glicerol como cosubstrato.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELLEIRA-PEREIRA, J. M. et al. Enhancement of methane production in mesophilic anaerobic digestion of secondary sewage sludge by advanced thermal hydrolysis pretreatment. **Water Research**, v. 71, p. 330–340, 2015.

ADORNO, M. A. T.; TOMITA, I. **Desenvolvimento e validação de método para determinação de nitrogênio , hidrogênio , metano e gás carbônico por CG/DCT**. 37a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Natal/RN: 2014

AKUTSU, Y. et al. Hydrogen production potentials and fermentative characteristics of various substrates with different heat-pretreated natural microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 13, p. 5365–5372, jul. 2009.

ALEMAHDI, N. et al. Enhanced mesophilic bio-hydrogen production of raw rice straw and activated sewage sludge by co-digestion. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 46, p. 16033–16044, 2015.

AL-HAMAMRE, Z. et al. Wastes and biomass materials as sustainable-renewable energy resources for Jordan. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 67, p. 295–314, 2017.

ALIBARDI, L.; COSSU, R. Composition variability of the organic fraction of municipal solid waste and effects on hydrogen and methane production potentials. **Waste Management (New York, N.Y.)**, v. 36, p. 147–55, 2015.

ALIBARDI, L.; COSSU, R. Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products. **Waste Management**, v. 47, p. 69–77, 2016.

ALVES, I. R. F. S. **Análise Experimental do potencial de geração de biogás em resíduos sólidos urbanos**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, 118 p., 2008.

ALVES, I. R. F. S. **Avaliação da codigestão na produção de biogás**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ/COPPE, Rio de Janeiro, 153 p., 2016.

ALZATE-GAVIRIA, L. M. et al. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 15, p. 3141–3146, 2007.

AMARAL, P. F. F. et al. Glycerol valorization: New biotechnological routes. **Food and**

Bioproducts Processing, v. 87, p. 179–186, 2009.

ANEEL - AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. **Atlas de energia elétrica do Brasil**. 3. ed. – Brasília : Aneel, 236 p., 2008.

ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops : a proposed protocol for batch assays. **Water Science & Technology**, v. 59, n. 5, p. 927–934, 2009.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Disponível em: <www.anp.gov.br>. Acesso em: agosto de 2016.

ANGERIZ-CAMPOY, R.; ÁLVAREZ-GALLEGO, C. J.; ROMERO-GARCÍA, L. I. Thermophilic anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with food waste (FW): Enhancement of bio-hydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 291–296, 2015.

ANTONOPOULOU, G. et al. Influence of pH on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 5, p. 1921–1928, mar. 2010.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21st ed. American Public Health Association, America Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.2005.

AQUINO, S.; CHERNICHARO, C. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVS) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6457 – amostras de solo: preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização**. Rio de Janeiro, 1986.

_____ NBR 10007 – Amostragem de resíduos. Rio de Janeiro, 2004.

ATHANASOULIA, E.; MELIDIS, P.; AIVASIDIS, A. Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol from biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 62, p. 73–78, fev. 2014.

BAGHCHEHSARAEI, B. et al. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 15, p. 4064–4073, 2008.

BARTACEK, J.; ZABRANSKA, J.; LENS, P. N. L. Developments and constraints in fermentative hydrogen. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 1, p. 201–214, 2007.

BATISTA, L. F. **Lodos gerados nas estações de tratamento de esgotos no distrito federal: um estudo de sua aptidão para o condicionamento, utilização e disposição final**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília - UnB, Brasília, 197 p., 2015.

BAYARD, R. et al. **Organic matters stabilization of sorted MSW under leachate recirculation**. Proceedings Sardinia, Tenth International Waste Management and Landfill Symposium S. Margherita di Pula. Cagliari, Italy: 2005.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306–319, 2011.

BONI, M. R. et al. Development and calibration of a model for biohydrogen production from organic waste. **Waste Management**, v. 33, n. 5, p. 1128–1135, 2013.

BONI, M. R.; SBAFFONI, S.; TUCCINARDI, L. The influence of slaughterhouse waste on fermentative H₂ production from food waste: Preliminary results. **Waste Management**, v. 33, n. 6, p. 1362–1371, 2013.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRASIL. **POLÍTICA NACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS. Decreto-Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências.** Disponível em: << http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/112305.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

BRASIL. **LEI Nº 13.263, DE 23 DE MARÇO DE 2016 - Altera a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2016/lei/L13263.htm>. Acesso em: 30 mar. 2017a.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: diagnóstico do manejo de resíduos sólidos urbanos – 2014**. Brasília: SNSA/MCIDADES, 154 p., 2016.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2014**. Brasília: SNSA/MCIDADES, 212 p., 2016,

BRENTNER, L. B.; PECCIA, J.; ZIMMERMAN, J. B. Challenges in developing biohydrogen as a sustainable energy source: implications for a research agenda. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 7, p. 2243–54, 1 abr. 2010.

CAI, M.; LIU, J.; WEI, Y. Enhanced Biohydrogen Production from Sewage Sludge with Alkaline Pretreatment. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 11, p. 3195–3202, 2004.

CAPPAL, G. et al. An experimental study on fermentative H₂ production from food waste as affected by pH. **Waste Management**, v. 34, n. 8, p. 1510–1519, 2014.

CAVINATO, C. et al. Optimization of two-phase thermophilic anaerobic digestion of biowaste for hydrogen and methane production through reject water recirculation. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8605–11, 2011.

CHAUBEY, R. et al. A review on development of industrial processes and emerging techniques for production of hydrogen from renewable and sustainable sources. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 23, p. 443–462, 2013.

CHEN, W. et al. Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 15, p. 2170–2178, 2006.

CHENG, J. et al. Physicochemical characterization of typical municipal solid wastes for fermentative hydrogen and methane co-production. **Energy Conversion and Management**, v. 117, p. 297–304, 2016.

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

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias - reatores anaeróbios**. Belo Horizonte (MG), DESA/UFMG. V. 5, 246 p. 1997.

CHINELLATO, G. et al. Biohydrogen production from food waste in batch and semi-continuous conditions: Evaluation of a two-phase approach with digestate recirculation for pH control. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 11, p. 4351–4360, 2013.

CHOOKAEW, T.; PRASERTSAN, P.; REN, Z. J. Two-stage conversion of crude

glycerol to energy using dark fermentation linked with microbial fuel cell or microbial electrolysis cell. **New Biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 179–84, 2014.

CHRISTY, P. M.; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 167–173, 2014.

CHU, C.-F. et al. A pH- and temperature-phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 18, p. 4739–4746, 2008.

CHU, C.-F. et al. Characterization of microbial community in the two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 15, p. 8253–8261, 2010.

CHU, C.-F. et al. Hydrogen and methane potential based on the nature of food waste materials in a two-stage thermophilic fermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 14, p. 10611–10618, 2012.

COONEY, M. et al. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 14, p. 2641–51, 2007.

DANKO, A. S. et al. Effect of methanogenic inhibitors, inocula type, and temperature on biohydrogen production from food components. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 7, n. 5, 2008.

DAS, D. Advances in biohydrogen production processes: An approach towards commercialization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7349–7357, 2009.

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

DE GIOANNIS, G. et al. A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions. **Waste Management (New York, N.Y.)**, v. 33, n. 6, p. 1345–61, 2013.

DE SÁ, L. R. V. et al. Fermentative biohydrogen production using hemicellulose fractions: Analytical validation for C5 and C6-sugars, acids and inhibitors by HPLC. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 40, p. 13888–13900, 2015.

DONG, L. et al. Hydrogen production characteristics of the organic fraction of municipal solid wastes by anaerobic mixed culture fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 812–820, 2009.

DONG, L. et al. Evaluation of pretreatment methods on harvesting hydrogen producing seeds from anaerobic digested organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 15, p. 8234–8240, 2010.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EHSAN, S.; WAHID, M. A. Hydrogen production from renewable and sustainable energy resources : Promising green energy carrier for clean development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 57, p. 850–866, 2016.

EIA - U.S. ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. **International Energy Outlook 2016**. 276 p., 2016. Disponível em < <http://www.eia.gov/outlooks/ieo/>>. Acesso em: agosto de 2016.

ELBESHISHY, E. et al. Single and combined effect of various pretreatment methods for biohydrogen production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 17, p. 11379–11387, 2011.

FABER, M. DE O.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Optimization of biohydrogen yield produced by bacterial consortia using residual glycerin from biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 365–370, 2016.

FALOYE, F. D.; GUEGUIM KANA, E. B.; SCHMIDT, S. Optimization of hybrid inoculum development techniques for biohydrogen production and preliminary scale up. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 27, p. 11765–11773, 2013.

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

FAVARO, L. et al. Effects of inoculum and indigenous microflora on hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 27, p. 11774–11779, 2013.

FERNANDES, B. S. et al. Potential to produce biohydrogen from various wastewaters. **Energy for Sustainable Development**, v. 14, n. 2, p. 143–148, 2010.

FERNÁNDEZ, A.; SÁNCHEZ, A.; FONT, X. Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. **Biochemical Engineering Journal**, v. 26, n. 1, p. 22–28, 2005.

FONOLL, X. et al. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and fruit wastes : Evaluation of the transitory states when the co-substrate is changed. **Chemical**

Engineering Journal, v. 262, p. 1268–1274, 2015.

FORSTER-CARNEIRO, T. et al. Dry-thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste : Focusing on the inoculum sources. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3195–3203, 2007.

FOUNTOULAKIS, M. S.; MANIOS, T. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 12, p. 3043–7, 2009.

FOUNTOULAKIS, M. S.; PETOUSHI, I.; MANIOS, T. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. **Waste Management (New York, N.Y.)**, v. 30, n. 10, p. 1849–53, 2010.

GARLAPATI, V. K.; SHANKAR, U.; BUDHIRAJA, A. Bioconversion technologies of crude glycerol to value added industrial products. **Biotechnology Reports**, v. 9, p. 9–14, 2016.

GHIMIRE, A. et al. Dark fermentation of complex waste biomass for biohydrogen production by pretreated thermophilic anaerobic digestate. **Journal of Environmental Management**, v. 152, p. 43–48, 2015.

GÓMEZ, X. et al. The production of hydrogen by dark fermentation of municipal solid wastes and slaughterhouse waste: A two-phase process. **Journal of Power Sources**, v. 157, n. 2, p. 727–732, 2006.

GUO, X.; LIU, J.; XIAO, B. Bioelectrochemical enhancement of hydrogen and methane production from the anaerobic digestion of sewage sludge in single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 1342–1347, 2013.

GUO, X. M. et al. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p. 10660–10673, 2010.

GUPTA, M. et al. Co-fermentation of glucose, starch, and cellulose for mesophilic biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 36, p. 20958–20967, 2014.

HALLENBECK, P. C. Fermentative hydrogen production: Principles, progress, and prognosis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7379–7389, set. 2009.

HAN, S. et al. Pilot-scale two-stage process: a combination of acidogenic hydrogenesis and methanogenesis. **Water Science & Technology**, p. 131–138, 2005.

HAN, S.; SHIN, H. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 569–577, 2004a.

HAN, S.-K.; SHIN, H.-S. Performance of an innovative two-stage process converting food waste to hydrogen and methane. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 54, n. 2, p. 242–249, 2004b.

HARRIES, C. R.; CROSS, C. J.; SMITH, R. **Development of a biochemical methane potential (BMP) test and application to testing of municipal solid waste samples**. Proceedings Sardinia, Eighth International Waste Management and Landfill Symposium. Cagliari, Italy. Cagliari: CISA. 2001.

HAWKES, F. et al. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 2, p. 172–184, fev. 2007.

HAWKES, F. R. et al. Sustainable fermentative hydrogen production: Challenges for process optimisation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1339–1347, 2002.

HONG, C.; HAIYUN, W. Optimization of volatile fatty acid production with co-substrate of food wastes and dewatered excess sludge using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5487–93, 2010.

IACOVIDOU, E.; OHANDJA, D.-G.; VOULVOULIS, N. Food waste co-digestion with sewage sludge--realising its potential in the UK. **Journal of Environmental Management**, v. 112, p. 267–74, 2012.

IZUMI, K. et al. Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 7, p. 601–608, 2010.

JAYALAKSHMI, S.; JOSEPH, K.; SUKUMARAN, V. Bio hydrogen generation from kitchen waste in an inclined plug flow reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 21, p. 8854–8858, 2009.

JENSEN, P. D. et al. Anaerobic codigestion of sewage sludge and glycerol , focusing on process kinetics , microbial dynamics and sludge dewaterability. **Water Research**, v. 7, n. 60, p. 355–366, 2014.

KANCHANASUTA, S.; SILLAPARASSAMEE, O. Enhancement of hydrogen and methane production from co-digestion of palm oil decanter cake and crude glycerol using two stage thermophilic and mesophilic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, p. 1–7, 2017.

KANG, J.-H.; KIM, D.; LEE, T.-J. Hydrogen production and microbial diversity in sewage sludge fermentation preceded by heat and alkaline treatment. **Bioresource Technology**, v. 109, p. 239–43, 2012.

KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 569–582, 2006.

KHALID, A. et al. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, p. 1737–1744, 2011.

KIM, D. et al. Bioresource Technology Effect of initial pH independent of operational pH on hydrogen fermentation of food waste. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8646–8652, 2011a.

KIM, D.-H. et al. Sewage sludge addition to food waste synergistically enhances hydrogen fermentation performance. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8501–6, set. 2011b.

KIM, D.-H.; KIM, S.-H.; SHIN, H.-S. Hydrogen fermentation of food waste without inoculum addition. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, n. 3, p. 181–187, set. 2009.

KIM, J. K. et al. Hydrogen production conditions from food waste by dark fermentation with *Clostridium beijerinckii* KCTC 1785. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 13, n. 4, p. 499–504, 2008.

KIM, M. et al. Hydrogen production by anaerobic co-digestion of rice straw and sewage sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 3142–3149, 2011c.

KIM, M. et al. Hydrogen and methane production from untreated rice straw and raw sewage sludge under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 8648–8656, 2013a.

KIM, M.-S.; LEE, D.-Y. Fermentative hydrogen production from tofu-processing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium. **Bioresource Technology**, v. 101 Suppl, n. 1, p. S48–S52, 2010.

KIM, S. et al. Biological hydrogen production by anaerobic digestion of food waste and sewage sludge treated using various pretreatment technologies. **Biodegradation**, v. 24, p. 753–764, 2013b.

KIM, S.-H.; HAN, S.-K.; SHIN, H.-S. Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge. **International Journal of**

Hydrogen Energy, v. 29, n. 15, p. 1607–1616, dez. 2004.

KIM, S.-H.; HAN, S.-K.; SHIN, H.-S. Optimization of continuous hydrogen fermentation of food waste as a function of solids retention time independent of hydraulic retention time. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 2, p. 213–218, fev. 2008.

KIM, S.-H.; SHIN, H.-S. Effects of base-pretreatment on continuous enriched culture for hydrogen production from food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 5266–5274, out. 2008.

KIRAN, E. U. et al. Bioconversion of food waste to energy: A review. **Fuel**, v. 134, p. 389–399, 2014.

KOBAYASHI, T. et al. Evaluation of hydrogen and methane production from municipal solid wastes with different compositions of fat, protein, cellulosic materials and the other carbohydrates. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p. 15711–15718, 2012.

KOTAY, S. M.; DAS, D. Biohydrogen as a renewable energy resource—Prospects and potentials. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 1, p. 258–263, 2008.

KOTAY, S. M.; DAS, D. Microbial hydrogen production from sewage sludge bioaugmented with a constructed microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p. 10653–10659, 2010.

KOTHARI, R.; BUDDHI, D.; SAWHNEY, R. L. Comparison of environmental and economic aspects of various hydrogen production methods. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, p. 553–563, 2008.

KOTHARI, R. ET AL. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174–195, 2014.

KOUTROULI, E. C. et al. Hydrogen and methane production through two-stage mesophilic anaerobic digestion of olive pulp. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 15, p. 3718–3723, 2009.

KRAEMER, J. T.; BAGLEY, D. M. Improving the yield from fermentative hydrogen production. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 5, p. 685–95, 2007.

KRISHNAN, S. et al. Energy for Sustainable Development Effect of organic loading rate on hydrogen (H₂) and methane (CH₄) production in two-stage fermentation under thermophilic conditions using palm oil mill effluent (POME). **Energy for Sustainable Development**, v. 34, p. 130–138, 2016.

KUMAR, G. et al. Enhancement of biofuel production via microbial augmentation: The case of dark fermentative hydrogen. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 57, p. 879–891, 2016.

KYAZZE, G. et al. Performance characteristics of a two-stage dark fermentative system producing hydrogen and methane continuously. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, n. 4, p. 759–770, 2007.

LAGES, F.; SILVA-GRAC, M.; LUCAS, C. Active glycerol uptake is a mechanism underlying halotolerance in yeasts: a study of 42 species. **Microbiology**, v. 145, p. 2577–2585, 1999.

LAY, J. et al. Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 28, p. 1361–1367, 2003.

LAY, J.-J.; LEE, Y.-J.; NOIKE, T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. **Water Research**, v. 33, n. 11, p. 2579–2586, 1999.

LEE, C. S. et al. A review: Conversion of bioglycerol into 1,3-propanediol via biological and chemical method. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 235–244, 2015.

LEE, D. et al. Effect of organic loading rate on continuous hydrogen production from food waste in submerged anaerobic membrane bioreactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 30, p. 16863–16871, 2014.

LEE, D.-Y. et al. Continuous H₂ and CH₄ production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. S42–7, 2010.

LEE, Y.-W.; CHUNG, J. Bioproduction of hydrogen from food waste by pilot-scale combined hydrogen/methane fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 21, p. 11746–11755, 2010.

LEVIN, D. B. et al. Potential for hydrogen and methane production from biomass residues in Canada. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 3, p. 654–660, 2007.

LEVIN, D. B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 2, p. 173–185, 2004.

LI, C.; FANG, H. H. P. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid

wastes by mixed culture. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1–39, 2007.

LIN, C.-Y. et al. Fermentative hydrogen production from wastewaters: A review and prognosis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p. 15632–15642, 2012.

LIN, P.-Y. et al. Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: Metabolic study and mathematical model simulation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 1728–1735, 2007.

LIN, Y.; WU, S.; WANG, D. Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic–thermophilic anaerobic co-digestion. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 35, p. 15055–15062, 2013.

LIU, B. et al. Optimizing the production of hydrogen and 1,3-propanediol in anaerobic fermentation of biodiesel glycerol. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 8, p. 3196–3205, 2013a.

LIU, D. et al. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Research**, v. 40, p. 2230–2236, 2006.

LIU, D. et al. Enhanced hydrogen and methane production from sewage sludge by addition of cornstalk in two-stage fermentation process. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 6535–6539, 2013b.

LIU, D.; MIN, B.; ANGELIDAKI, I. Biohydrogen production from household solid waste (HSW) at extreme-thermophilic temperature (70°C) – Influence of pH and acetate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 23, p. 6985–6992, 2008.

LIU, Q. et al. Optimization of fermentative biohydrogen production by response surface methodology using fresh leachate as nutrient supplement. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8661–8, set. 2011.

LIU, X. et al. Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process: substrate conversion and energy yield. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 317–23, 2013c.

LÔBO, I.; FERREIRA, S.; CRUZ, R. Biodiesel: quality parameters and analytical methods. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596–1608, 2009.

LUCAS, S. D. M. et al. Energy recovery from agro-industrial wastewaters through biohydrogen production: Kinetic evaluation and technological feasibility. **Renewable**

Energy, v. 75, p. 496–504, 2015.

LUCIA, U. Overview on fuel cells. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 164–169, 2014.

MANGAYIL, R. et al. Improved bioconversion of crude glycerol to hydrogen by optimizing selected media components : A statistical approach. **Renewable Energy**, v. 75, p. 583–589, 2015.

MAO, C. et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2015.

MARONE, A. et al. Optimization of substrate composition for biohydrogen production from buffalo slurry co-fermented with cheese whey and crude glycerol , using microbial mixed culture. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 1, p. 209–218, 2014.

MARTÍN, M. A et al. Semi-continuous anaerobic co-digestion of orange peel waste and residual glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Waste Management (New York, N.Y.)**, v. 33, n. 7, p. 1633–9, 2013.

MARU, B. T. et al. Biohydrogen Production from Glycerol using *Thermotoga* spp. **Energy Procedia**, v. 29, p. 300–307, 2012.

MARU, B. T. et al. Glycerol fermentation to hydrogen by *Thermotoga maritima*: Proposed pathway and bioenergetic considerations. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 5563–5572, 2013.

MASSANET-NICOLAU, J. et al. Production of hydrogen from sewage biosolids in a continuously fed bioreactor: Effect of hydraulic retention time and sparging. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 2, p. 469–478, 2010.

MASSANET-NICOLAU, J.; DINSDALE, R.; GUWY, A. Hydrogen production from sewage sludge using mixed microflora inoculum: effect of pH and enzymatic pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p. 6325–31, 2008.

MATA-ALVAREZ, J. et al. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412–427, 2014.

MATA-ALVAREZ, J.; MACE, S.; LLABRES, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 74, 2000.

MDA, M. DO D. A. **Progressão do biodiesel: mistura B8 é lei para 2017**. Disponível em: <<http://www.mda.gov.br/sitemda/noticias/progress%C3%A3o-do-biodiesel-mistura-b8-%C3%A9-lei-para-2017>>. Acesso em: 30 mar. 2017.

METCALF, B.; EDDY, I. N. C. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. McGraw-Hill, New York: USA. 3^a ed., 1334 p. 1991.

MING, L. et al. Bio-hydrogen production from food waste and sewage sludge in the presence of aged refuse excavated from refuse landfill. **Renewable Energy**, v. 33, n. 12, p. 2573–2579, 2008.

MME - Ministério de Minas e Energia. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel>>. Acesso em: Setembro de 2016.

MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 4, p. 506–515, 2007.

MONLAU, F. et al. Alkaline pre-treatment to enhance two-stage H₂ batch / CH₄ continuous production from sunflower stalks. **Chemical Engineering Journal**, v. 260, p. 2–5, 2015.

MOREIRA, R. . et al. Patentes depositadas em âmbito nacional como indicador de desenvolvimento das tecnologias de produção de hidrogênio. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 748–751, 2013.

NAKAZAWA, M. M. **Aproveitamento de glicerol para a produção de biogás ou 1,3-propanodiol em reator uasb**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

NASR, N. et al. Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 122–126, 2012.

NATHAO, C.; SIRISUKPOKA, U.; PISUTPAISAL, N. Production of hydrogen and methane by one and two stage fermentation of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 35, p. 15764–15769, 2013.

NAZLINA, H. M. Y. et al. Effect of different temperature, initial pH and substrate composition on biohydrogen production from food waste in batch fermentation. **Asian Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 42–50, 2009.

NGHIEM, L. D. et al. Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol for on-demand biogas production. **International Biodeterioration Biodegradation**, v. 95, p. 160–166, 2014.

NTAIKOU, I.; ANTONOPOULOU, G.; LYBERATOS, G. Biohydrogen Production from Biomass and Wastes via Dark Fermentation: A Review. **Waste and Biomass Valorization**, v. 1, n. 1, p. 21–39, 2010.

OH, S.-E.; VAN GINKEL, S.; LOGAN, B. E. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 22, p. 5186–90, 2003.

PACHAPUR, V. L. et al. Biohydrogen production by co-fermentation of crude glycerol and apple pomace hydrolysate using co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum*. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 297–306, 2015.

PAGLIACCIA, P. et al. Single stage anaerobic bioconversion of food waste in mono and co-digestion with olive husks: Impact of thermal pretreatment on hydrogen and methane production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 2, p. 905–915, 2015.

PALMISANO, A. C.; BARLAZ, M. A. **Microbiology of Solid Waste**. New York: CRC Press, 224 p., 1996.

PAN, J. et al. Effect of food to microorganism ratio on biohydrogen production from food waste via anaerobic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 23, p. 6968–6975, 2008.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. 1 ed. ed. Fortaleza: Tecbio, 2003.66p.

PATEL, S. K. S.; KUMAR, P.; KALIA, V. C. Enhancing biological hydrogen production through complementary microbial metabolisms. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 14, p. 10590–10603, 2012.

PEIXOTO, G. et al. Hydrogen and methane production, energy recovery, and organic matter removal from effluents in a two-stage fermentative process. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 168, n. 3, p. 651–671, 2012.

PENDYALA, B. et al. Using a food and paper-cardboard waste blend as a novel feedstock for hydrogen production: Influence of key process parameters on microbial diversity. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 15, p. 6357–6367, 2013.

PISUTPAISAL, N.; NATHAO, C.; SIRISUKPOKA, U. Biological hydrogen and methane production in from food waste in two-stage CSTR. **Energy Procedia**, v. 50, p. 719–722, 2014.

QUISPE, C. A. G.; CORONADO, C. J. R.; CARVALHO JR., J. A. Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 475–493, 2013.

RAFIEENIA, R. et al. Effect of aerobic pre-treatment on hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion process using food waste with different compositions. **Waste Management**, 2016.

RAHMAN, S. N. A. et al. Overview biohydrogen technologies and application in fuel cell technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 66, p. 137–162, 2016.

RAZAVIARANI, V. et al. Pilot scale anaerobic co-digestion of municipal wastewater sludge with biodiesel waste glycerin. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 206–212, 2013.

REDONDAS, V. et al. Hydrogen production from food wastes and gas post-treatment by CO₂ adsorption. **Waste Management**, v. 32, n. 1, p. 60–66, 2012.

REN, N. et al. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 15, p. 2147–2157, 2006.

RIO - Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro, Secretaria Municipal de Meio Ambiente. **Diagnóstico Preliminar de Resíduos Sólidos da Cidade do Rio de Janeiro - Relatório executivo**. Rio de Janeiro, p. 51, 2015.

RIVALDI, J. D. et al. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biociência, Ciência e Desenvolvimento**, v. 37, p. 44–51, 2007.

RIVERO, M.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge with glycerol: Enhanced biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 6, p. 2481–2488, 2014.

RODRIGUES, C. V. et al. Crude glycerol by transesterification process from used cooking oils: Characterization and potentialities on hydrogen bioproduction. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, p. 14641–14651, 2016.

ROMERO AGUILAR, M. A. et al. Effect of HRT on hydrogen production and organic matter solubilization in acidogenic anaerobic digestion of OFMSW. **Chemical Engineering Journal**, v. 219, p. 443–449, 2013.

ROSSI, D. M. et al. Comparison of different pretreatment methods for hydrogen production using environmental microbial consortia on residual glycerol from biodiesel. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 8, p. 4814–4819, 2011.

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

SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M.; BUSTAMANTE, M. Residual glycerol from biodiesel manufacturing, waste or potential source of bioenergy: a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 71, p. 469–475, 2011.

SANTOS, N. O. et al. Methane production from marine microalgae *Isochrysis galbana*. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 60–67, 2014.

SARMA, S. J. et al. Microbial hydrogen production by bioconversion of crude glycerol: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 8, p. 6473–6490, 2012.

SARMA, S. J. et al. Hydrogen biorefinery : Potential utilization of the liquid waste from fermentative hydrogen production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 942–951, 2015.

SEIFERT, K. et al. Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 9, p. 3671–3678, 2009.

SEKOAI, P. T.; GUEGUIM KANA, E. B. Semi-pilot scale production of hydrogen from Organic Fraction of Solid Municipal Waste and electricity generation from process effluents. **Biomass and Bioenergy**, v. 60, p. 156–163, 2014.

SELEMBO, P. A. et al. Enhanced Hydrogen and 1,3-Propanediol Production From Glycerol by Fermentation Using Mixed Cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 104, n. 6, p. 1098–1106, 2009.

SHIN, H. .; YOUN, J. .; KIM, S. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 13, p. 1355–1363, 2004.

SHIN, H.; YOUN, J. Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis. **Biodegradation**, v. 16, n. 1, p. 33–44, 2005.

SHIN, H. S.; KIM, S. H.; PAIK, B. C. Characteristics of hydrogen production from food waste and waste activated sludge. **Journal of Water and Environment Technology**, v. 1, n. 2, p. 177–187, 2003.

SIDDIQUI, Z.; HORAN, N. J.; SALTER, M. Energy optimisation from co-digested waste using a two-phase process to generate hydrogen and methane. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 8, p. 4792–4799, 2011.

SILES, J. A et al. Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 16, p. 6315–21, 2010.

SILVA, G. P. DA et al. 1,3-propanodiol: produção, aplicações e potencial biotecnológico. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 527–534, 2014.

SILVA, G. P. .; MACK, M. .; CONTIERO, J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 30–39, 2009.

SITTIJUNDA, S.; REUNGSANG, A. Biohydrogen production from waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 18, p. 13789–13796, 2012a.

SITTIJUNDA, S.; REUNGSANG, A. Media optimization for biohydrogen production from waste glycerol by anaerobic thermophilic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p. 15473–15482, 2012b.

SIVAGURUNATHAN, P. et al. A critical review on issues and overcoming strategies for the enhancement of dark fermentative hydrogen production in continuous systems. **International Journal of Hydrogen Energy**, p. 1–17, 2016.

SOSNOWSKI, P. et al. Kinetic investigations of methane co-fermentation of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5731–7, 2008.

SREELA-OR, C. et al. Co-digestion of food waste and sludge for hydrogen production by anaerobic mixed cultures: Statistical key factors optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 21, p. 14227–14237, 2011a.

SREELA-OR, C. et al. Optimization of key factors affecting hydrogen production from food waste by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 21, p. 14120–14133, 2011b.

SUNYOTO, N. M. S. et al. Effect of biochar addition on hydrogen and methane production in two-phase anaerobic digestion of aqueous carbohydrates food waste. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 29–36, 2016.

TAHTI, H.; KAPARAJU, P.; RINTALA, J. Hydrogen and methane production in extreme thermophilic conditions in two-stage (upflow anaerobic sludge bed) UASB

reactor system. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 12, p. 4997–5002, 2013.

TAWFIK, A; EL-QELISH, M. Continuous hydrogen production from co-digestion of municipal food waste and kitchen wastewater in mesophilic anaerobic baffled reactor. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 270–4, 2012.

TAWFIK, A.; EL-QELISH, M. Key factors affecting on bio-hydrogen production from co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and kitchen wastewater. **Bioresource Technology**, 2014.

TEMUDO, M. F. et al. Glycerol fermentation by (open) mixed cultures: a chemostat study. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, n. 6, p. 1088–98, 2008a.

TEMUDO, M. F. et al. Diversity of microbial communities in open mixed culture fermentations: impact of the pH and carbon source. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 6, p. 1121–30, 2008b.

TENCA, A et al. Biohydrogen from thermophilic co-fermentation of swine manure with fruit and vegetable waste: maximizing stable production without pH control. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8582–8, 2011.

THI, N. B. D.; LIN, C. Y.; KUMAR, G. Waste-to-wealth for valorization of food waste to hydrogen and methane towards creating a sustainable ideal source of bioenergy. **Journal of Cleaner Production**, v. 122, p. 29–41, 2016.

THOMPSON, J. C.; HE, B. B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 22, n. 2, p. 261–265, 2006.

TORTORA, G. J. .; FUNKE, B. R. .; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 894 p., 2005.

TYAGI, V. K. et al. Enhancement in hydrogen production by thermophilic anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and sewage sludge--optimization of treatment conditions. **Bioresource Technology**, v. 164, p. 408–15, 2014.

UENO, Y.; FUKUI, H.; GOTO, M. Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 4, p. 1413–9, 2007.

VALDEZ-VAZQUEZ, I. et al. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime. **International**

Journal of Hydrogen Energy, v. 30, n. 13-14, p. 1383–1391, 2005.

VALDEZ-VAZQUEZ, I.; POGGI-VARALDO, H. M. Hydrogen production by fermentative consortia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 5, p. 1000–1013, 2009.

VAN GINKEL, S.; SUNG, S.; LAY, J. J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 24, p. 4726–30, 2001.

VARRONE, C. et al. Statistical optimization of biohydrogen and ethanol production from crude glycerol by microbial mixed culture. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 21, p. 16479–16488, 2012.

VENETSANEAS, N. et al. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 15, p. 3713–7, 2009.

VIJAYARAGHAVAN, K.; AHMAD, D.; SONING, C. Bio-hydrogen generation from mixed fruit peel waste using anaerobic contact filter. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 4754–4760, 2007.

VON SPERLING, M.; ANDREOLI, C. V. Lodo de esgotos: tratamento e disposição final. In: **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**, v. 6. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais,. 484 p., 2001.

WANG, Z.; YANG, S. T. Propionic acid production in glycerol/glucose co-fermentation by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 116–123, 2013.

WANG, C. et al. Sequential Production of Hydrogen and Methane from Wastewater Sludge Using Anaerobic Fermentation. **Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers**, v. 34, n. 6, p. 683–687, 2003.

WANG, X.; ZHAO, Y. A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 1, p. 245–254, 2009.

WATANABE, R. ET AL. Enhancing methane production during the anaerobic digestion of crude glycerol using Japanese cedar charcoal. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 387–392, 2013.

WEI, Y. et al. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 37, p. 4453–4467, 2003.

WENDISCH, V. F.; LINDNER, S. N.; MEISWINKEL, T. M. Use of Glycerol in Biotechnological Applications. **Biodiesel – Quality, Emissions and By-Products**, p. 305–340, 2011.

WONG, Y. M. et al. High efficiency bio-hydrogen production from glucose revealed in an inoculum of heat-pretreated landfill leachate sludge. **Energy**, v. 72, p. 628–635, 2014.

WONG, Y. M.; WU, T. Y.; JUAN, J. C. A review of sustainable hydrogen production using seed sludge via dark fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 471–482, 2014.

WU, L. J. et al. Improved biogas production from food waste by co-digestion with de-oiled grease trap waste. **Bioresource Technology**, v. 201, p. 237–244, 2016.

XIA, A.; CHENG, J.; MURPHY, J. D. Innovation in biological production and upgrading of methane and hydrogen for use as gaseous transport biofuel. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 451–472, 2016.

XIAO, B.; LIU, J. Biological hydrogen production from sterilized sewage sludge by anaerobic. **Journal of Hazardous Materials**, v. 168, p. 163–167, 2009.

XIAO, L. et al. Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 13907–13913, 2013.

YASIN, N. H. M. et al. Food waste and food processing waste for biohydrogen production: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 130, p. 375–85, 2013.

YAZDANI, S. S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, p. 213–219, 2007.

ZAHEDI, S. et al. Hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste in anaerobic thermophilic acidogenesis: influence of organic loading rate and microbial content of the solid waste. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 85–91, 2013.

ZAHEDI, S. et al. Effect of the addition of glycerol on hydrogen production from industrial municipal solid waste. **Fuel**, v. 180, p. 343–347, 2016.

ZHANG, M. et al. Effect of energy grass on methane production and heavy metal fractionation during anaerobic digestion of sewage sludge. **Waste Management**, v. 58,

p. 316–323, 2016.

ZHANG, R. et al. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 4, p. 929–935, 2007.

ZHOU, P.; ELBESHBISHY, E.; NAKHLA, G. Optimization of biological hydrogen production for anaerobic co-digestion of food waste and wastewater biosolids. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 710–8, 2013.

ZHU, H. et al. Biohydrogen production by anaerobic co-digestion of municipal food waste and sewage sludges. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 14, p. 3651–3659, 2008a.

ZHU, H. et al. Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 5078–84, 2008b.

ZHU, H. et al. Eliminating methanogenic activity in hydrogen reactor to improve biogas production in a two-stage anaerobic digestion process co-digesting municipal food waste and sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 14, p. 7086–92, jul. 2011.