



XI-149 - PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO USANDO ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE LATICÍNIOS, SORO DE QUEIJO E LACTOSE ISOLADA EM REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIFICADO

Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim⁽¹⁾

Possui graduação em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Alagoas-UFAL (2005), mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo-USP (2007) e doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (2009). Atualmente é professor Associado III dos cursos de Engenharias e pesquisador do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Schayanna Costa de Almeida Macário⁽²⁾

Doutoranda em Engenharia Hidráulica e Saneamento na Universidade de São Paulo (EESC/USP) desde 2017. Possui Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento pela Universidade Federal de Alagoas (2016). Graduada em Engenharia Ambiental pela Uninassau, Recife-PE (2012).

Fernanda Santana Peiter⁽³⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pela Universidade Federal de Alagoas (2012). Mestre e Doutora em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP) (2018). Pós-Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento na UFAL.

Norma Candida dos Santos Amorim⁽⁴⁾

Possui graduação em Engenharia de Agrimensura pela Universidade Federal de Alagoas (2007), mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento pela Universidade Federal de Alagoas (2012) e doutorado em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (2018). Atualmente é professora do Instituto Federal de Alagoas - Campus Satuba. É pesquisadora e líder do Grupo de Pesquisa Grupo de pesquisa multidisciplinar em Educação e Meio Ambiente (CNPq-IFAL).

Endereço⁽¹⁾: Campus A. C. Simões - Av. Lourival Melo Mota, s/n, Cidade universitária, Maceió - AL - CEP: 57072-900 - Brasil - Tel: (82) 3214-1863 - e-mail: eduardo.lucena@ctec.ufal.br

RESUMO

Este trabalho avaliou o rúmen ovino (Reator R1) e a autofermentação da água residuária da indústria de laticínios (Reator R2) como inoculantes no processo de produção de hidrogênio. Os dois reatores anaeróbios de leite fluidificado de mesma configuração foram alimentados com água residuária (real), soro de queijo em pó (sintético) e lactose isolada (sintético). Na etapa de adaptação avaliou-se a variação do tempo de detenção hidráulica (6 e 4h) a partir da água residuária. Em seguida, comparou-se o substrato real com os substratos sintéticos (HRT = 2h). A autofermentação foi mais favorável durante a adaptação, produzindo 0.32 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO no TDH de 4h. Na comparação dos diferentes substratos, R1 e R2 apresentaram maiores rendimentos de hidrogênio (1,10 e 0,76 mmol-H₂/g-DQO, respectivamente) usando o soro de queijo em pó. Em geral, os dois inóculos foram eficientes na produção de biohidrogênio, entretanto, a autofermentação resultou em maior produção de metabólitos que podem ser recuperados como compostos de maior valor agregado.

PALAVRAS-CHAVE: Biohidrogênio, Inóculo, Rúmen ovino, Autofermentação, Resíduos industriais lácteos.

INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados fazem parte da dieta de milhões de pessoas, movimentando uma fração da economia global. sendo produtos de extrema importância para a economia global. A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD/FAO, 2022) verificou um aumento de 0,4 a 2% no consumo per capita de produtos lácteos em 2023, principalmente aqueles com baixo processamento ou frescos.



Durante o processo produtivo de leite e derivados são geradas grandes quantidades de resíduos que são ricos em matéria orgânica, chegando a apresentar até 61 g-DQO/L, 20 g-DBO5/L e pH entre 4 e 11. Para cada litro de leite processado são originados de 1 a 6 litros de efluentes, os quais caso sejam descartados sem tratamento prévio podem causar grandes impactos ambientais, como a eutrofização e a diminuição do oxigênio dissolvido em corpos de água (Tabelini et al., 2023).

Anualmente, a indústria láctea lança aproximadamente entre 4 e 11 milhões de toneladas de resíduos sem tratamento no ambiente. Soro de queijo e águas residuárias das etapas de processamento e limpeza são os principais resíduos gerados pelo setor. Além das altas concentrações de DQO e DBO5, os níveis de nutrientes e compostos inorgânicos também são abundantes. Processos biológicos anaeróbios são bastante utilizados no tratamento desses efluentes devido à grande quantidade de matéria orgânica facilmente biodegradável presentes em sua composição e do bom custo-benefício (Ahmad et al., 2019).

Dentre os processos biológicos, a fermentação escura de resíduos agroindustriais é bastante conhecida por seu baixo gasto de energia e baixo custo. Neste caso, além do tratamento da água residuária tem-se a produção de biohidrogênio a ser utilizado como fonte energética limpa e eficiente. Assim, aliado ao tratamento do resíduo é promovida a produção de energia renovável e a redução da demanda por combustíveis fósseis (Chaves et al., 2021).

Perna et al. (2013), Rosa et al. (2014) e Lima et al. (2016) são alguns dos estudos que utilizaram resíduos da indústria láctea, mais especificamente o soro de queijo, para a produção fermentativa de hidrogênio. A pesquisa de Perna et al. (2013) foi realizada em reator anaeróbio de leito empacotado de fluxo ascendente operado no tempo de detenção hidráulica (TDH) fixo em 24 h, sob variação da taxa de carregamento orgânico (22, 33 e 37 g-COD/L/d). Rosa et al. (2014) verificaram o efeito do TDH (4, 2 e 1 h) e de duas fontes de inóculo (lodo de um reator de tratamento de esgoto de suínos e lodo de um reator que tratava efluentes de abatedouro de aves) na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidizado (AFBR). Por sua vez, Lima et al. (2016) utilizaram um biorreator anaeróbio de bateladas sequenciais (AnSBBR), avaliando o efeito da concentração inicial do substrato (4.250, 6.350 e 5.400 mg-DQO/L), do tempo de alimentação (10 e 90 minutos) e da temperatura (15, 30 e 45 °C).

De acordo com Rosa et al. (2014), o consumo do substrato fonte de alimentação bem como a produção de metabólitos solúveis durante a digestão anaeróbia é altamente influenciada pelo uso de diferentes tipos de inóculo. Sistemas mais eficientes são possibilitados pela utilização de inóculos provenientes de lodo de digestores que tenham características semelhantes aos resíduos aplicados como substratos do processo fermentativo (Cremones et al., 2021). Mansour et al. (2022) ressaltam que o inóculo é importante não apenas para o start do desenvolvimento dos microrganismos, mas, para a estabilização do processo uma vez que promove a melhora na taxa de biodegradação e diminui a fase lag.

Alguns exemplos de fontes de inóculo utilizados visando a produção de hidrogênio a partir de resíduos lácteos são: cultura pura de bactérias (Kothari et al., 2017), lodos de digestores de águas residuais de fábrica de doces (Davila-Vazquez et al., 2009), de efluentes de suíno e de abatedouro de aves (Rosa et al., 2014), consórcio microbiano de reator acidogênico que digere lactose (Lima et al., 2016) e autofermentação (Antonopoulou et al., 2008). A autofermentação consiste na utilização de inóculo proveniente da fermentação natural do próprio substrato fonte de matéria orgânica por alguns dias em contato com o ambiente. Por isso, facilita a partida do processo e dispensa a busca externa por inóculos (Gavazza et al., 2021).

Além do inóculos previamente citados, Rabee et al. (2022) destacam o rúmen de ovinos como uma fonte adequada de cultura bacteriana com um grande potencial para melhorar a utilização de substrato agroindustrial na produção de biocombustíveis. Os microrganismos contidos em rúmen de animais produzem diversas enzimas extracelulares hidrolíticas, sendo, portanto, uma boa fonte de inóculo para o processo fermentativo. Entretanto, estudos avaliando a aplicação de rúmen ovino como inóculo na fermentação escura são bastante escassos, principalmente quando se trata de substratos provenientes do setor lácteo.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi comparar o uso do rúmen ovino e da autofermentação como inóculos no processo de produção de hidrogênio a partir de diferentes substratos da indústria láctea. Para isso, utilizou-se dois reatores anaeróbios de leito fluidificado (RALF), os quais já possuem viabilidade comprovada para produção de hidrogênio por diversos autores.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa utilizou dois RALFs para avaliar os diferentes inóculos. O Reator 1 (R1) foi inoculado com rúmen ovino e no Reator 2 (R2) foi adotada a autofermentação com água residuária da indústria láctea. Cada reator foi alimentado com os seguintes substratos: lactose isolada (sintético), soro de queijo em pó (sintético) e água residuária (real) proveniente de uma indústria de laticínios localizada no município de Palmeira dos Índios, no estado de Alagoas, Brasil.

A água residuária real apresentou pH igual a 5,94, 3,55 g/L de sólidos totais, 3,23 g/L de sólidos voláteis, 2,00 g/L de carboidratos totais, 33,63 g-COD/L, 5,0 mg/L de nitrogênio total, e 63,97 mg/L de fósforo.

Os dois reatores anaeróbios de leite fluidificado foram projetados com 125,5 cm de altura, diâmetro interno de 6 cm e volume útil de 1950 cm³. O material suporte para aderência microbiana utilizado em ambos os reatores foi o pneu triturado, seguindo a metodologia aplicada por Chaves et al. (2021). Em cada reator foi adicionado um volume de 800 mL de pneu triturado.

INÓCULOS

O rúmen ovino foi coletado no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio Largo, Alagoas, Brasil. Foi adotado o pré-tratamento ácido para inativação dos microrganismos metanogênicos. O procedimento foi realizado através do controle do pH, adicionando ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) com concentrações de 1,0 mol/L até que o pH atingisse o valor de 6,8 (Penteado et al., 2013).

A inoculação da biomassa obtida de fermentação natural seguiu o procedimento utilizado por Silva et al. (2019), de modo que a água residuária coletada na indústria ficou exposta ao ambiente por 48 horas, visando promover o desenvolvimento dos microrganismos próprios do daquele meio.

OPERAÇÃO DOS REATORES

Inicialmente, os inóculos foram bombeados para os reatores e recirculados durante 48 horas (durante esse tempo o reator não foi alimentado). A velocidade de recirculação do inóculo foi determinada como sendo 30% maior que a velocidade mínima de fluidificação do material suporte (pneu triturado: 1,18cm/s) (Chaves et al., 2021).

Posteriormente, a operação dos reatores foi contínua e dividida em cinco fases (Tabela 1). Na fase de adaptação (F1 e F2) houve variação do tempo de detenção hidráulica (TDH) de 6 para 4 h com o intuito de aumentar progressivamente a carga orgânica.

Tabela 1: Fase de operação dos reatores.

Fase		Substrato	TDH (h)	Duração (dias)
Adaptação	F1	Água residuária de laticínio real + 1 g glicose/L	6	15
	F2	Água residuária de laticínio real	4	15
Estabilização	F3	Água residuária de laticínio real	2	10
	F4	Lactose isolada (1,3 g/L)	2	20
	F5	Soro de queijo em pó (1,5 g/L)	2	23

Glicose na concentração de 1 g/L foi adicionada junto com a água residuária em F1 para aumentar a quantidade de matéria orgânica dissolvida não complexa e promover a hidrólise e estabilização mais rápida do



sistema, visto que os carboidratos presentes no efluente de laticínios estão disponíveis em formas mais complexas (Silva et al., 2019).

Na fase de estabilização (F3, F4 e F5), o TDH foi mantido em 2 h, por ser considerado o TDH mais eficiente na produção de hidrogênio quando utilizado RALF's (Amorim et al., 2014). A diminuição progressiva do TDH entre 6 e 2 h deu-se quando o estado estacionário de cada fase foi alcançado, considerando uma variação da taxa de produção de hidrogênio entre 5 e 10% (Chaves et al., 2021).

Foram utilizadas bombas dosadoras para alimentação e para recirculação dos reatores. Os reatores foram mantidos em temperatura ambiente durante a operação, apresentando uma variação de 25.4 a 38.8°C no Reator 1 e 25.2 a 39.9°C no Reator 2.

MONITORAMENTO DOS REATORES

O monitoramento consistiu na análise de amostras do efluente líquido e do biogás dos reatores. As análises de pH, Demanda química de oxigênio (DQO) e a série de sólidos (sólidos totais – ST, sólidos suspensos totais – SST e sólidos suspensos voláteis – SSV) foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2017).

A concentração de carboidrato foi determinada através da metodologia descrita por Dubois et al. (1956). A produção volumétrica de hidrogênio foi realizada através do Medidor MilliGascounter (Ritter). A análise do biogás foi feita por cromatografia gasosa através de um detector por condutividade térmica (TCD) e coluna Carboxen#1010 PLOT de 30m x 0,53mm (Maintinguer et al., 2008).

A determinação de ácidos orgânicos foi realizada por cromatografia pelo método de extração com éter etílico, enquanto a determinação do etanol utilizou o método de extração por headspace. Em ambos os métodos foi utilizado um detector de ionização de chama (FID, Flame Ionization Detector) em cromatógrafo SHIMADZU GC-2010 Plus e coluna SUPELCO WAX 10, de 30 m x 0,25 mm x 0,25µm, com hidrogênio como gás de arraste (Adorno et al., 2014).

RESULTADOS

INFLUÊNCIA DO TDH NA FASE DE ADAPTAÇÃO

A redução do TDH (Figura 1) promoveu uma diminuição no rendimento da produção de hidrogênio (HY) na condição experimental R1 (inoculação a partir de rúmen ovino) na fase de adaptação. O maior HY obtido no TDH de 6 h (F1: 0.17 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO) pode ter ocorrido devido à suplementação do substrato com glicose (1 g/L).

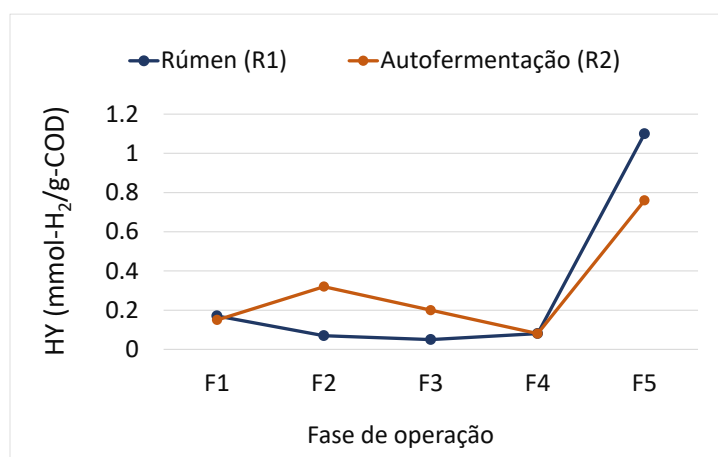


Figura 1: Produção de hidrogênio.

Em F2 e F3 (TDH de 4 e 2 h, respectivamente) não houve suplementação com glicose, ou seja, a produção de hidrogênio ocorreu exclusivamente a partir da água residuária real de uma indústria de laticínios. Nessas condições houve pequena redução no HY de 0.07 ± 0.02 para 0.05 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO, com o decréscimo do TDH.

Na condição experimental R2 (autofermentação), as fases F2 e F3 (TDH de 4 e 2 h, respectivamente) apresentaram maiores HY (F2: 0.32 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO; F3: 0.20 ± 0.10 mmol-H₂/g-DQO) do que a fase F1 (TDH de 6 h, HY = 0.15 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO), em que foi adotada suplementação do substrato com glicose (1 g/L). Porém, da mesma forma que na condição R1, a redução do TDH de 4 para 2 h (F2 e F3, respectivamente) promoveu redução do HY. Esse resultado está em desacordo com o reportado na literatura (Amorim et al., 2014), que aponta que valores de TDH mais baixos favorecem a produção de hidrogênio.

Para Chen et al. (2001), o TDH em torno de 2 horas impede a reprodução ou desestabiliza o equilíbrio dos microrganismos metanogênicos consumidores de hidrogênio, eliminando-os do reator. Já para Tavares et al. (2022), TDH muito baixos podem sobrecarregar o sistema e diminuir o acesso de microrganismos ao substrato. Ao promoverem a fermentação de água residuária de mandioca em RALF no TDH de 2 horas, os autores verificaram remoção baixa de carboidratos, entre 22 e 27%.

Chaves et al. (2021) também relataram a diminuição do HY com a redução do TDH (6 a 3 horas) ao realizarem a digestão de melaço de cana-de-açúcar em RALF. Os autores verificaram que os TDH de 4 e 3 horas, por resultarem em maiores taxas de carregamento orgânico, promoveram a sobrecarga do reator. Nesse caso, o substrato é utilizado para o crescimento bacteriano ou manutenção celular, ao invés de seguir as rotas metabólicas favoráveis à produção de hidrogênio.

Os resultados desse estudo podem ser explicados pela concentração de carboidratos (Figura 2) mais baixa (R1: 1.361 mg/L; R2: 1.170 mg/L) no lote de água residuária utilizado na alimentação dos reatores no TDH 2 h (F3) em relação às fases de TDH 6 e 4 h (F1 e F2, respectivamente). Além disso, a eficiência da conversão de carboidrato foi menor no TDH de 2 h, em torno de 30%. Os resultados indicam que possivelmente o TDH de 2 h não seja o mais adequado para garantir a conversão de carboidratos desse tipo de água residuária e, consequentemente, aumentar o HY, sendo necessários mais estudos para confirmar esta hipótese.

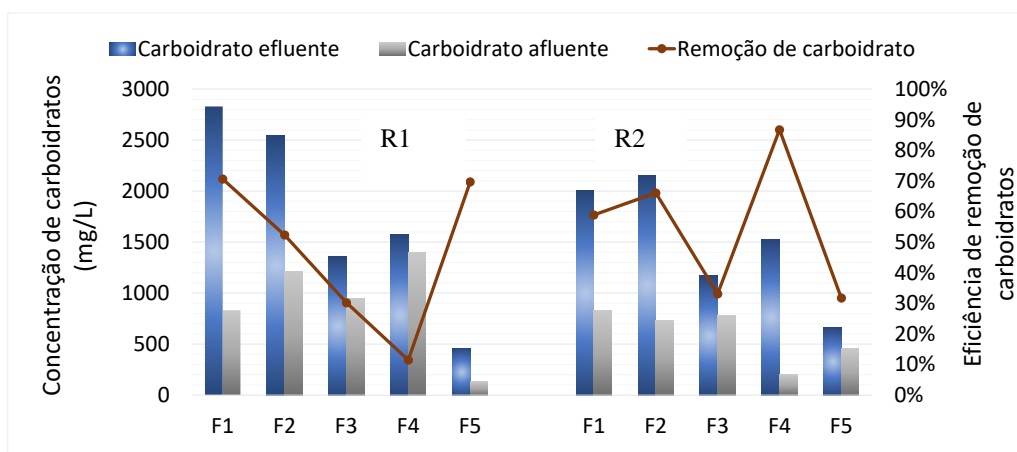


Figura 2: Remoção de carboidratos.

COMPARAÇÃO DOS SUBSTRATOS

O HY a partir da água residuária real da indústria de laticínio (fase F3) (Figura 1) na fase de estabilização (R1: 0.05 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO; R2: 0.20 ± 0.10 mmol-H₂/g-DQO) foi menor em relação à fase de adaptação. O uso da lactose isolada (fase F4) resultou em pequena variação do HY nas condições experimentais avaliadas (0.08 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO em R1 e 0.08 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO em R2). Dentre os substratos testados,



os maiores HY foram alcançados quando utilizado o soro do queijo em pó (fase F5) (1.10 ± 0.41 mmol-H₂/g-DQO em R1 e 0.76 ± 0.56 mmol-H₂/g-DQO em R2).

Grande parte das pesquisas relacionadas à produção de hidrogênio a partir de águas residuárias de laticínios se concentra na utilização do soro de queijo em pó como substrato, resultando em rendimentos da produção de hidrogênio que variam de 0.014 a 0.064 m³-H₂/kg-COD (Azbar et al., 2009; Carrillo-Reyes et al., 2012; Perna et al., 2013; Yang et al., 2014).

Assim, os resultados desta pesquisa para o soro de queijo em pó (F5) (R1: 0.0274 ± 0.0103 m³-H₂/kg-COD; R2: 0.0188 ± 0.0139 m³-H₂/kg-COD) estão de acordo com o HY observado na literatura. Para Kargi e Ozmihci (2006), a utilização do soro de queijo em pó, apresenta algumas vantagens quando comparado com o soro do queijo in natura, principalmente com relação ao volume reduzido, maior estabilidade em longo prazo e maior facilidade de armazenamento e transporte.

Por outro lado, estudos anteriores apontam o mesmo desempenho, em termos de rendimento (HY), da utilização do soro de queijo em pó em relação ao soro do queijo in natura como substrato para produção de hidrogênio (Antonopoulou et al., 2008), tornando o soro do queijo in natura mais vantajoso pela praticidade e economia já que dispensa a etapa de processamento para obtenção do soro em pó.

Alguns autores (Antonopoulou et al., 2008; Venetsaneas et al., 2009) investigaram o potencial de hidrogênio a partir do soro de queijo in natura em condições operacionais similares: reator de agitação contínua (CSTR) operado num tempo de detenção hidráulica de 24 h sob temperatura de 35°C, utilizando microrganismos indígenas como inóculo, e obtiveram HY de 0.016 e 0.041 m³-H₂/kg-COD, respectivamente.

Davila-Vazquez et al. (2009) observaram que, variando a temperatura e o tipo de inóculo, foi possível potencializar a produção de hidrogênio a partir do soro de queijo em CSTR. Os autores adotaram lodo anaeróbio granular pré-tratado termicamente sob temperatura termofílica (55°C) e avaliaram a produção de hidrogênio em três tempos de detenção hidráulica (10, 6 e 4 h) e quatro taxas de carregamento orgânicas (TCO's) para um TDH fixo de 6h (92.4; 115.5; 138.6; 184.4 g-lactose/L/d). Sob essas condições operacionais, os autores conseguiram potencializar a produção de hidrogênio, atingindo um HY que variou de 0.117-0.493 m³-H₂/kg-COD.

Kothari et al. (2017) avaliaram a produção sequencial de hidrogênio e metano a partir de água residuária real da indústria de laticínio em reatores em batelada. Para produção de hidrogênio, a inoculação foi feita a partir de cultura pura de bactérias da espécie *Enterobacter aerogens* e foram testadas diferentes concentrações de substrato (25, 50, 75 e 100%). Foi observado que o aumento da concentração do substrato de 25% para 75% resultou em aumento do HY de 79 para 105 mL-H₂/g COD. Enquanto a concentração do substrato de 100% provocou uma queda no HY, atingindo 45 mL-H₂/g COD. Para os autores, esses resultados podem ser explicados a partir do estudo do crescimento das bactérias que revelou que a concentração inicial do nutriente favorece o crescimento da biomassa. A concentração ótima de substrato dentre as analisadas foi de 75%, com produção máxima de biomassa de 2.5 g/L. Enquanto a concentração de substrato de 100% promoveu inibição do crescimento de bactéria.

No presente estudo, foi utilizado reator de fluxo contínuo (RALF) e a inoculação foi realizada a partir de cultura mista (rúmen ovino, R1, e fermentação natural da água residuária real da indústria de laticínio, R2), o que pode ter contribuído para diferença entre os HY obtidos em relação à literatura. Porém, observa-se a necessidade de avanço nos estudos com esse tipo de água residuária em condições experimentais que envolvam reatores de fluxo contínuo, que seriam os mais adequados para atender a demanda da indústria de laticínios.

INFLUÊNCIA DO INÓCULO EM HY

O rendimento da produção de hidrogênio máximo foi de 1.10 ± 0.41 mmol-H₂/g-DQO, observado na condição experimental R1-F5 (Rúmen ovino como inóculo e soro do queijo em pó como substrato). Nessa mesma fase (F5), a inoculação por fermentação natural do substrato (autofermentação, R2) promoveu HY aproximadamente 30% inferior (0.76 ± 0.56 mmol-H₂/g-DQO). Neste caso, o rúmen ovino pode ter agido



também como co-substrato fermentativo além de ser a fonte de inóculo do processo. Situação semelhante foi observada no estudo de Ghimire et al. (2017), em que a produção de hidrogênio a partir de soro de queijo foi melhorada com a adição de esterco de búfala, que tinha a função inicial de agente tamponante apenas, mostrando-se ao final do processo como excelente co-substrato. Além disso, conforme enfatizado por Rabee et al. (2022), a digestão de substratos complexos pode ser potencializada com a utilização de comunidades bacterianas de ovinos.

Porém, quando adotada águas residuárias reais da indústria de laticínios (F1 a F3) como substrato, a autofermentação (R2) apresentou desempenho melhor em relação a inoculação com rúmen ovino (R1), atingindo HY de 0.32 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO e 0.20 ± 0.10 mmol-H₂/g-DQO nas fases F2 e F3, respectivamente, cerca de 4 vezes superior ao observado na condição experimental R1 (F2: 0.07 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO; F3: 0.05 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO). Na fase F1, os HY foram similares, sendo observado o HY de 0.17 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO e 0.15 ± 0.01 mmol-H₂/g-DQO, nas condições R1 e R2, respectivamente. Ao adotar a lactose isolada como substrato (F4), o HY foi de 0.08 ± 0.02 mmol-H₂/g-DQO em ambas as condições experimentais (R1 e R2).

No geral, os resultados demonstraram a fermentação natural (autofermentação - R2) com grande potencial para ser utilizada na inoculação de reatores anaeróbios para produção de hidrogênio a partir de águas residuárias provenientes da indústria de laticínios. Para Gavazza et al. (2021) a inoculação por autofermentação é uma alternativa interessante, uma vez que dispensa a etapa de pré-tratamento do inóculo. Além disso, facilita a partida do processo, já que utiliza do próprio substrato, dispensando a busca por inóculos que podem não estar facilmente disponíveis.

A adoção da autofermentação para produção de hidrogênio também foi avaliada por outros autores. Penteadó et al. (2013), ao utilizar água residuária sintética a base de sacarose (DQO inicial de 2 g/L), avaliaram o desempenho da autofermentação em relação ao uso de inóculos anaeróbios provenientes de reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) que tratavam resíduos de abatedouro de aves e resíduos da suinocultura. Os autores adotaram os pré-tratamentos de choque térmico e ácido no inóculo a fim de promover a inibição da metanogênese. Como resultado, os autores observaram HY similares ao adotar a autofermentação (HY = 2.1 mol H₂/mol sacarose) e o lodo de reator anaeróbio pré-tratado termicamente (HY = 2.0 mol-H₂/mol-sacarose).

Gavazza et al. (2021) avaliaram autofermentação para co-produção de hidrogênio e ácido caproico a partir da manipueira, água residuária do processamento da mandioca, em reatores em batelada. Segundo os autores, o rendimento da produção de hidrogênio (HY) obtido foi extremamente satisfatório, considerando que não foi adotado nenhum tipo de inóculo, atingindo o valor máximo de 1.98 mol-H₂/mol-glicose, que correspondem a 50% da produção teórica máxima.

PRODUÇÃO DE METABÓLITOS

A distribuição dos metabólitos nas condições experimentais avaliadas pode ser observada na Figura 3. O ácido acético (HAc) (> 50% dos metabólitos analisados) na maioria das fases operacionais (F1, F3, F4 e F5) em R1. A rota fermentativa do ácido acético está associada à produção de hidrogênio (Saady, 2013). As concentrações do ácido acético mais altas ocorreram nas fases F1 e F3, quando foi utilizado o efluente de laticínio real como substrato (4.86 mM e 5.71 mM, respectivamente).

Na fase F2, houve predominância do etanol (EtOH) (85% dos metabólitos analisados), sendo observada a maior concentração deste metabólito (13.52 mM). A predominância do etanol pode indicar o consumo de substrato para produção desse metabólito ao invés de outros vinculados à produção de hidrogênio, como é o caso dos ácidos acético e butírico (Saady, 2013). Essa hipótese pode justificar a redução do HY na fase F2 (HY = 0.07 ± 0.02 mmol-H₂/g-COD).

Os ácidos butírico (HBu) e propiônico (HPr), ainda que em baixas concentrações, estiveram presentes durante praticamente toda a condição experimental R1, com exceção da fase P2, onde não foi observada a presença do ácido propiônico.

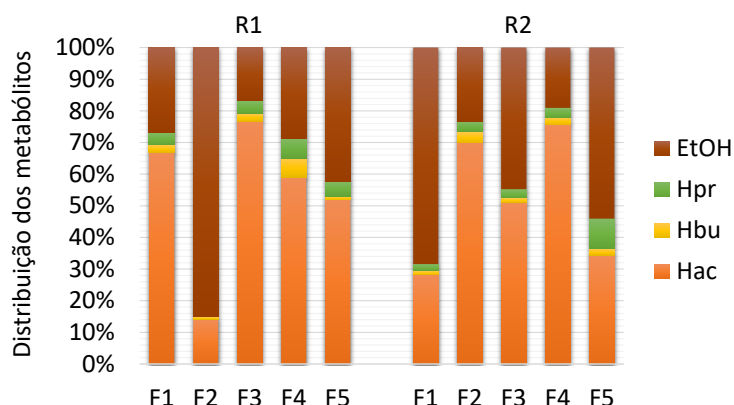


Figura 3: Distribuição dos metabólitos.

Na fase F5 (soro de queijo em pó), onde foi obtida o maior HY (1.10 ± 0.41 mmol- H_2 /g-COD), o ácido acético e o etanol corresponderam a 94% dos metabólitos analisados, com concentração de 1.46 mM e 1.19 mM, respectivamente.

Na condição experimental R2 (Figura 3), o ácido acético (HAc) foi o metabólito predominante nas fases operacionais F2, F3 e F4, variando entre 51 e 76% dos metabólitos analisados. No geral, a concentração de ácido acético foi maior na condição R2 (variando de 1.52 a 12.11 mM) em comparação à R1 (variando de 1.46 a 5.71 mM), o que pode indicar que a autofermentação favoreceu a produção deste metabólito (Tabela 3). Esse comportamento pode justificar o maior HY observado nas fases F2 e F3 na condição operacional R2 (F2: 0.32 ± 0.02 mmol- H_2 /g-COD; F3: 0.20 ± 0.10 mmol- H_2 /g-COD) em relação à R1 (P2: 0.07 ± 0.02 mmol- H_2 /g-COD; P3: 0.05 ± 0.01 mmol- H_2 /g-COD).

A predominância do etanol nas fases F1 e F5 na condição R2 pode justificar o menor HY na condição R2 (F1: 0.15 ± 0.01 mmol- H_2 /g-COD; F5: 0.76 ± 0.56 mmol- H_2 /g-COD) em relação à R1 (F1: 0.17 ± 0.01 mmol- H_2 /g-COD; P5: 1.10 ± 0.41 mmol- H_2 /g-COD), já que a rota metabólica do etanol não está vinculada à produção de hidrogênio. Os ácidos butírico (Hbu) e propiônico (HPr) foram observados em todas as fases da condição experimental R2 e em concentrações maiores do que a R1 (Tabela 3).

Os resultados deste trabalho apontam o desempenho satisfatório da autofermentação como opção de inoculação de reatores anaeróbios visando a produção de hidrogênio. O etanol e os ácidos acético, butírico e propiônico foram observados nas duas condições experimentais analisadas (R1 e R2). A autofermentação (R2) resultou em maiores concentrações de metabólitos em relação ao rúmen ovino (R1). A predominância do etanol e ácido acético em todas as fases, sugere a possibilidade da adoção de uma etapa posterior à produção de hidrogênio (acidogênese), visando a produção de ácidos carboxílicos de cadeia média (ácidos caprílico e caprílico, por exemplo) através do alongamento da cadeia de carbono, de forma a promover a recuperação de bioenergia e de compostos químicos com valor agregado associado a partir do tratamento anaeróbio de água residuária oriundas da indústria de laticínios.

CONCLUSÕES

Este trabalho avaliou a influência da inoculação de reatores anaeróbio de leiteo fluidificado (RALF) a partir de rúmen ovino (R1) e da fermentação natural (autofermentação, R2) na produção de hidrogênio a partir de água residuária real da indústria de laticínios, do soro de queijo em pó e da lactose isolada. Na fase de adaptação, a redução do TDH de 6 para 2 h, ao contrário do que indica a literatura, promoveu uma redução no rendimento da produção de hidrogênio (HY). Maiores valores para a produção de hidrogênio foram alcançados quando adotado o soro de queijo em pó como substrato para ambos os tipos de inoculação. Entretanto, a autofermentação resultou numa maior produção de metabólitos, que podem ser recuperados ou convertidos em compostos químicos de maior valor agregado associado numa etapa posterior através do alongamento da

cadeia de carbono. O ácido acético e o etanol foram os metabólitos predominantes em todas as condições experimentais avaliadas. Assim, a autofermentação se apresenta como uma opção eficiente de inoculação de reatores anaeróbios visando a produção de hidrogênio, trazendo vantagens econômicas e de logística, já que não necessita a adoção de pré-tratamento e dispensa a busca por inóculos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OECD/FAO (2022) OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031. OECD
2. Tabelini DB, Lima JPP, Borges AC, Aguiar A (2023) A review on the characteristics and methods of dairy industry wastewater treatment in the state of Minas Gerais, Brazil. *Journal of Water Process Engineering* 53:103779. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.103779>
3. Ahmad T, Aadil RM, Ahmed H, et al (2019) Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends Food Sci Technol* 88:361–372. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003>
4. Chaves TC, Gois GNSB, Peiter FS, et al (2021) Biohydrogen production in an AFBR using sugarcane molasses. *Bioprocess Biosyst Eng* 44:307–316. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02443-0>
5. Perna V, Castelló E, Wenzel J, et al (2013) Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. *Int J Hydrogen Energy* 38:54–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.10.022>
6. Rosa PRF, Santos SC, Silva EL (2014) Different ratios of carbon sources in the fermentation of cheese whey and glucose as substrates for hydrogen and ethanol production in continuous reactors. *Int J Hydrogen Energy* 39:1288–1296. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.11.011>
7. Lima DMF, Lazaro CZ, Rodrigues JAD, et al (2016) Optimization performance of an AnSBBR applied to biohydrogen production treating whey. *J Environ Manage* 169:191–201. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.12.032>
8. Cremonese PA, Teleken JG, Weiser Meier TR, Alves HJ (2021) Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *J Environ Manage* 281:111854. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111854>
9. Mansour MN, Lendormi T, Drévillon L, et al (2022) Influence of substrate/inoculum ratio, inoculum source and ammonia inhibition on anaerobic digestion of poultry waste
10. Kothari R, Kumar V, Pathak V V., Tyagi V V. (2017) Sequential hydrogen and methane production with simultaneous treatment of dairy industry wastewater: Bioenergy profit approach. *Int J Hydrogen Energy* 42:4870–4879. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2016.11.163>
11. Davila-Vazquez G, Cota-Navarro CB, Rosales-Colunga LM, et al (2009) Continuous biohydrogen production using cheese whey: Improving the hydrogen production rate. *Int J Hydrogen Energy* 34:4296–4304. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2009.02.063>
12. Antonopoulou G, Stamatelatos K, Venetsaneas N, et al (2008) Biohydrogen and Methane Production from Cheese Whey in a Two-Stage Anaerobic Process. *Ind Eng Chem Res* 47:5227–5233. <https://doi.org/10.1021/IE071622X>
13. Gavazza S, Amorim NCSS, Kato MT, et al (2021) Caproic Acid Formation by Carbon Chain Elongation During Fermentative Hydrogen Production of Cassava Wastewater. *Waste Biomass Valorization* 12:2365–2373. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01174-3>
14. Rabee AE, Sayed Alahl AA, Lamara M, Ishaq SL (2022) Fibrolytic rumen bacteria of camel and sheep and their applications in the bioconversion of barley straw to soluble sugars for biofuel production. *PLoS One* 17:e0262304. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0262304>
15. Penteado ED, Lazaro CZ, Sakamoto IK, Zaiat M (2013) Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. *Int J Hydrogen Energy* 38:6137–6145. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2013.01.067>
16. Silva AN da, Macêdo WV, Sakamoto IK, et al (2019) Biohydrogen production from dairy industry wastewater in an anaerobic fluidized-bed reactor. *Biomass Bioenergy* 120:257–264. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.025>
17. Amorim NCS, Alves I, Martins JS, Amorim ELC (2014) Biohydrogen production from cassava wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 31:603–612. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20140313s00002458>
18. APHA (2017) Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 23rd ed. American Public Health Association, 2nd kiln 103012, Washington, DC



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO
DE ENGENHARIA SANITÁRIA
E AMBIENTAL



19. Maintinguer SI, Fernandes BS, Duarte ICSS, et al (2008) Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *Int J Hydrogen Energy* 33:4309–4317. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.053>
20. Adorno MAT, Hirasawa JS, Varesche MBA (2014) Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and liquid-liquid extraction (LLE). *Am J Analyt Chem* 05:406–414. <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.57049>
21. Chen C-C, Lin C-Y, Chang J-S (2001) Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. *Appl Microbiol Biotechnol* 57:56–64. <https://doi.org/10.1007/S002530100747/METRICS>
22. Tavares T de GA, Peiter FS, Chaves TC, et al (2022) Effect of thermophilic temperatures on hydrogen and ethanol production in anaerobic fluidized bed reactor from cassava wastewater. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. <https://doi.org/10.1007/s43153-022-00222-w>
23. Yang L, Ge X, Wan C, et al (2014) Progress and perspectives in converting biogas to transportation fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 40:1133–1152. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.008>
24. Azbar N, Çetinkaya Dokgöz FT, Keskin T, et al (2009) Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions. *Int J Hydrogen Energy* 34:7441–7447. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.04.032>
25. Carrillo-Reyes J, Celis LB, Alatraste-Mondragón F, Razo-Flores E (2012) Different start-up strategies to enhance biohydrogen production from cheese whey in UASB reactors. *Int J Hydrogen Energy* 37:5591–5601. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.01.004>
26. Kargi F, Ozmihci S (2006) Utilization of cheese whey powder (CWP) for ethanol fermentations: Effects of operating parameters. *Enzyme Microb Technol* 38:711–718. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2005.11.006>
27. Venetsaneas N, Antonopoulou G, Stamatelatou K, et al (2009) Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresour Technol* 100:3713–3717. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.01.025>
28. Ghimire A, Luongo V, Frunzo L, et al (2017) Continuous biohydrogen production by thermophilic dark fermentation of cheese whey: Use of buffalo manure as buffering agent. *Int J Hydrogen Energy* 42:4861–4869. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.11.185>
29. Saady NMC (2013) Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation : Unresolved challenge. *Int J Hydrogen Energy* 38:13172–13191. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.07.122>