

PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO A PARTIR DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS, LACTOSE ISOLADA E SORO DE QUEIJO EM REATORES ANAERÓBIOS EM BATELADA EM TEMPERATURA TERMOFÍLICA¹

WILLIANE VIEIRA MACÊDO², RODRIGO MAIA VALENÇA³, EDUARDO
LUCENA CAVALCANTE DE AMORIM⁴

¹Aceito para Publicação no 1º Trimestre de 2017.

²Mestranda em Engenharia Hidráulica e Saneamento na Universidade de São Paulo-
USP. willianevmacedo@gmail.com

³Mestrando em Engenharia Química na Universidade Federal de São Carlos- UFSCar.
rmaiavalenca@gmail.com

⁴Professor Adjunto do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária e Pesquisador do
Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas- UFAL.
eduardo.lucena@ctec.ufal.br

Resumo

A busca por fontes de energias renováveis que substituam os combustíveis fósseis é uma necessidade do mundo moderno. Neste cenário, o hidrogênio surge como uma alternativa de energia limpa. Os resíduos agroindustriais apresentam grande concentração de matéria orgânica e o seu lançamento indiscriminado pode comprometer a qualidade ambiental. Nesse sentido, a bioprodução de hidrogênio tem sido uma alternativa para o tratamento de resíduos agroindustriais. O objetivo deste trabalho foi produzir biohidrogênio, a partir do resíduos de laticínios, dos resíduos sintéticos de lactose e do soro do queijo, utilizando reatores anaeróbios em batelada, sob temperatura termofílicas. O efluente sintético de lactose mostrou melhor desempenho, com taxa de produção máxima e rendimento específico de hidrogênio de $28,1 \text{ mmolH}_2/\text{dia}$ e $1,84 \text{ molH}_2/\text{mol glicose}$, respectivamente, seguido do efluente sintético do soro do queijo ($21,65 \text{ mmolH}_2/\text{dia}$ e $1,49 \text{ molH}_2/\text{mol glicose}$) e do efluente real de laticínios ($8,92 \text{ mmolH}_2/\text{dia}$ e

0,58 molH_2/mol *glucose*. Etanol e ácido acético foram os metabólitos solúveis de maior concentração, o que indica que a rota da produção de hidrogênio foi a do etanol. A produção a partir do efluente bruto de laticínios mostrou-se satisfatória, segundo a literatura

Palavras-chave: hidrogênio, reatores anaeróbios, efluentes de laticínios.

Biohydrogen production from dairy industry wastewater, lactose and cheese whey in anaerobic batch reactors under thermophilic temperature

Abstract

The energy demand is increasing in the modern world and hydrogen is an alternative source of clean and renewable energy. Wastewater from agroindustrial processes has high concentration of organic compounds and they can be environmentally harmful if disposed inappropriately. In this sense, the biological production of hydrogen has been identified as an alternative for the treatment of these wastewaters. The purpose of this study was to evaluate hydrogen production from dairy industry wastewater and synthetic wastewater with isolated lactose and cheese whey in anaerobic batch reactors under thermophilic temperature. The bioproduction of hydrogen using lactose as substrate showed better performance with maximum production rate and specific hydrogen yield of, respectively, 21,65 $\text{mmolH}_2/\text{day}$ and 1,84 molH_2/mol *glucose*, followed by cheese whey (21,65 $\text{mmolH}_2/\text{day}$ e 1,49 molH_2/mol *glucose*), and the dairy wastewater (8,92 $\text{mmolH}_2/\text{day}$ e 0,58 molH_2/mol *glucose*). Ethanol and acetic acid were the soluble metabolites with higher concentration, indicating that the ethanol pathway of hydrogen production was predominant. The production from dairy industry wastewater was satisfactory.

Keywords: hydrogen, anaerobic reactors, dairy wastewater.

Introdução

A busca pela substituição dos combustíveis fósseis por energias renováveis é um dos grandes pilares da sustentabilidade. Em benefício, se tem a integridade e qualidade ambiental, eficiência tão boa quanto ou melhor em rendimento energético e o não esgotamento destas fontes. O uso de combustíveis fósseis têm se tornado uma das maiores preocupações da sociedade, pois possuem fonte esgotável e sua combustão gera gases causadores do efeito estufa. Diante desse cenário, o hidrogênio surge como uma

excelente fonte alternativa de energia em substituição aos combustíveis fósseis pois na sua combustão é gerado principalmente vapor d'água e seu conteúdo energético é aproximadamente 2,5 vezes maior do que qualquer combustível fóssil. Além disto, o hidrogênio pode ser produzido a partir de fontes renováveis, tais como os diversos tipos de resíduos industriais e domésticos, ricos em carboidratos (AMORIM, 2012).

As empresas de laticínio tem significativo impacto no setor industrial e econômico no Brasil, pois o leite é um dos produtos mais presentes da dieta brasileira. A produção de leite, no entanto, causa grande impacto ambiental por sua grande produção de efluentes poluentes nas indústrias de laticínio. Por isso, para o tratamento de efluentes de laticínios, os processos biológicos são os mais utilizados devido a composição destes efluentes que são geralmente ricos em matéria orgânica biodegradável (SILVA, 2010). O interesse da utilização de processos anaeróbios como forma de tratamento se deve, em grande parte, à crise energética, devido ao aumento do preço dos combustíveis fósseis, associadas ao aumento da demanda por energia, além disso, houve o crescimento de uma consciência ambiental e do desenvolvimento de modelos de biodigestores mais avançados e mais eficientes (ZEMPULSKI et al., 2014).

Desta forma, este trabalho teve por objetivo avaliar a produção de hidrogênio como uma fonte de energia renovável, a partir do resíduo obtido em uma indústria de laticínios e dos efluentes sintéticos de lactose e soro de queijo em temperaturas termófilas, a fim de comparar a produtividade a partir de cada substrato com as mesmas condições de concentração e meio reacional.

Materiais e Métodos

Resíduo real de laticínio

A água residuária real, utilizada nesse estudo, foi fornecida pela fábrica de laticínios, localizada no município de Palmeira dos Índios – AL, coletada na saída direta da lavagem dos maquinários e refrigerada à temperatura de -20°C.

Efluentes sintéticos de lactose isolada e soro de queijo

Após a caracterização por análises físico-químicas do efluente real de laticínios, foram produzidos efluentes sintéticos de lactose isolada e de soro de queijo com a mesma concentração de carboidratos quantificada no efluente de laticínios. Esta produção se deu a partir da pesagem dos compostos e posteriormente sua diluição para que a concentração de carboidratos disponíveis da solução final em gramas por litro fosse a mesma da encontrada no efluente real. Após a elaboração destas soluções com concentrações teóricas de 2 g de carboidratos/L foram determinadas de acordo a Dubois (1956) as concentrações reais de carboidratos para os três efluentes estudados. Estes valores podem ser encontrados na Tabela 02.

Inóculo

Para a inoculação desenvolvida neste estudo, foi utilizado o resíduo de suinocultura, coletado no Centro de Ciências Agrárias – CECA – UFAL na saída direta de um biodigestor anaeróbio operado a um tempo de detenção hidráulica de 5 dias e à temperatura ambiente. A coleta foi realizada 5 dias após a alimentação do biodigestor e o inóculo foi tratado termicamente, segundo Maintinguer e colaboradores (2008) com o objetivo da inativação de bactérias metanogênicas. Assim, o resíduo foi aquecido à temperatura de 90 °C, por 15 minutos e posteriormente foi resfriado em banho de gelo até que atingisse à temperatura de 20 °C.

Reatores anaeróbios em batelada e operação

A produção de hidrogênio ocorreu em 6 reatores de 2L de volume total, onde 1L compunha o meio reacional e 1L o *headspace*. O meio reacional foi composto em 90% pela água residuária e em 10% pelo inóculo utilizado. Estes reatores foram mantidos à temperatura constante ao longo de todo o experimento (45°C). Após o condicionamento

do meio reacional, um fluxo de nitrogênio foi aplicado no sistema para que o meio fosse mantido inerte e não houvesse presença de oxigênio no reator, garantido o bom desenvolvimento do processo anaeróbio.

Caracterização físico-química

Para obter a caracterização físico-química da efluente, as seguintes análises foram realizadas: pH, Carboidrato, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo total, Nitrogênio total, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Suspensos Fixos. A análise de carboidratos foi desenvolvida pela extração em fenol segundo Dubois et al. (1956), e todas as outras análises foram realizadas de acordo ao Standard Methods (EATON, 1998).

Análises físico-químicas e cromatográficas

O desempenho dos reatores foi avaliado por meio de análises físico-químicas que foram realizadas no início do experimento, no instante da partida dos reatores, e no encerramento da operação. Foram avaliados as seguintes variáveis: Demanda química de oxigênio (DQO), pH, sólidos suspensos totais (EATON, 1998) e carboidratos totais (DUBOIS et al., 1956). Durante 50 dias consecutivos numa frequência de 5 vezes por semana, foram feitas a análise da composição do gás por cromatografia gasosa, a fim de determinar composição dos produtos gasosos (H_2 , CH_4 e CO_2), em conformidade com o método aplicado por Maintinguer e colaboradores (2008). Foi utilizado um cromatógrafo Shimatzu modelo GC 2010 (software *GC Solution*), com um detector de condutividade térmica e como gás de transporte o argônio. As temperaturas do injetor, detector e coluna foram mantidas a 30 °C, 200 °C e 230 °C, respectivamente. Os metabólitos solúveis (ácidos orgânicos voláteis e álcoois) produzidos durante a produção fermentativa dos reatores foram determinados também ao fim do experimento por meio da técnica de cromatografia gasosa (cromatógrafo Shimatzu modelo GC 2010, software *GC Solution*) com detector de ionização de chama (FID) e coluna HP-INNOWAX de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, com hidrogênio como gás de arraste, de acordo com o método descrito por

Adorno *et al.* (2014). O objetivo da análise dos metabólitos solúveis é a identificação da rota fermentativa tomada no processo de produção de hidrogênio.

Resultados e discussão

Caracterização do efluente real de laticínios

As características físico-químicas do efluente produzido pela indústria de laticínios variam constantemente, pois dependem do produto gerado naquele momento e das características do leite utilizado, condições de lavagem de maquinários, e outros fatores. Desta forma, os valores expostos na caracterização deste efluente real podem apresentar variabilidade em comparação aos valores dispostos na literatura. Os do resíduo bruto de laticínios utilizado está disposta na Tabela 01, bem como as características do inóculo utilizado.

Tabela 01 – Caracterização do efluente de laticínio e do inóculo.

Parâmetro	Efluente real de laticínios	Inóculo
pH	4,67	7,25
Carboidratos (mg/L)	2200	7603
DQO (mg/L)	6392,94	37815,08
Fósforo (mg/L)	63,5	62
Nitrogênio (mg/L)	5,08	15,8
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	490	1550
Sólidos Suspensos Fixos (mg/L)	90	128

Carboidratos e Demanda Química de Oxigênio (DQO)

As concentrações de carboidratos dos efluentes foram analisadas no momento da partida do reator e no seu último dia de operação. Abaixo, na Tabela 02, são demonstrados as concentrações de entrada e saída de cada substrato analisado, bem como sua eficiência de remoção de carboidratos e DQO. Observa-se que a remoção de

carboidratos foi semelhante para todos os substratos, o que indica que o processo de hidrólise ocorreu de forma semelhante para todos os sistemas e que não foi fator limitante para a acidogênese e, conseqüentemente, para a produção de hidrogênio.

Conforme pode ser visto na tabela 2 os teores de DQO e suas respectivas remoções foram distintas para cada substrato analisado. O substrato onde houve maior eficiência em remoção de DQO foi o soro do queijo enquanto o que obteve menor foi o laticínio. Os reatores onde o substrato foi a lactose, foi removido o que se esperava no processo de acidogênese segundo a literatura (von SPERLING, 2005) (entre 20 e 30%), enquanto os reatores de soro de queijo obtiveram uma remoção maior, 51,2%. É provável que o elevado valor de eficiência média de remoção de DQO para este substrato esteja associado à geração de metano na primeira semana de operação.

Tabela 02 – Concentrações de entrada e saída de carboidratos e DQO e eficiência de remoção.

	Lactose		Soro de Queijo		Laticínios	
	DQO	Carboidratos	DQO	Carboidratos	DQO	Carboidratos
Entrada	9427,7	2341,07	9535,15	2386,85	9582,8	2742,2
(mg/L)	8				8	
Saída	6513,2	279,64	4657,34	293,27	8998,7	399,5
(mg/L)	0					
Eficiência (%)	30,1	88,05	51,2	87,7	6,1	85,4

Composição de biogás

A composição do biogás está expressa nos gráficos abaixo, nas Figuras 01, 02 e 03. Observa-se que a presença de metano (CH₄) nos sistemas se comporta de forma semelhante, com produção volumétrica mais expressiva na primeira semana experimental, mas no total, há uma baixa produtividade. Os máximos percentuais de metano para os sistemas lactose, soro e laticínio foram 6,2%, 7,4% e 6,6%,

respectivamente, O percentual de remoção de DQO de 51.2% para o soro do queijo pode ser justificado pela presença de metano no sistema na primeira semana operacional. As baixas concentrações deste gás durante todo o processo de digestão evidenciam a eficiência do tratamento térmico aplicado ao inóculo para a eliminação das arqueas metanogênicas. Além disto, a produção volumétrica de metano é reduzida para percentuais iguais ou inferiores a 3% após a primeira semana operacional, o que indica o estabelecimento das condições acidogênicas e eficiência hidrolítica com a produção de ácidos, uma vez que o pH final dos sistemas foram reduzidos.

Os reatores mostraram rápida tendência de estabilização as quais foram 37,5, 34,3 e 35,3 dias de operação para lactose, soro de queijo e lactínios, respectivamente.

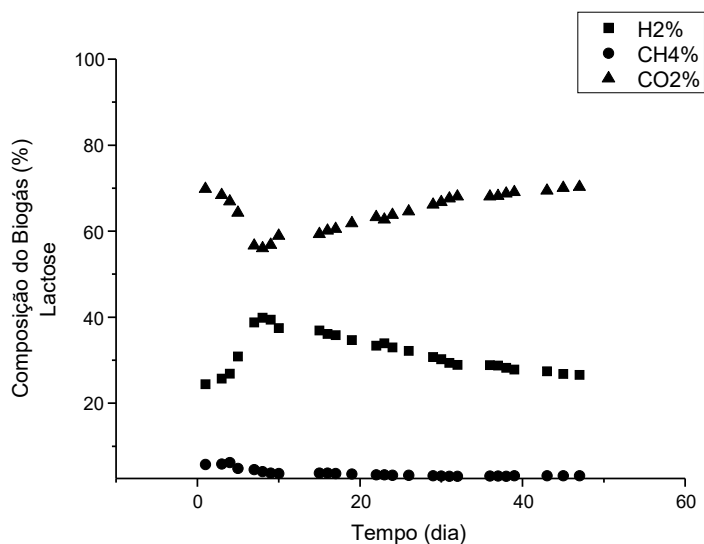


Figura 01 – Composição do biogás no tratamento do efluente sintético de lactose isolada

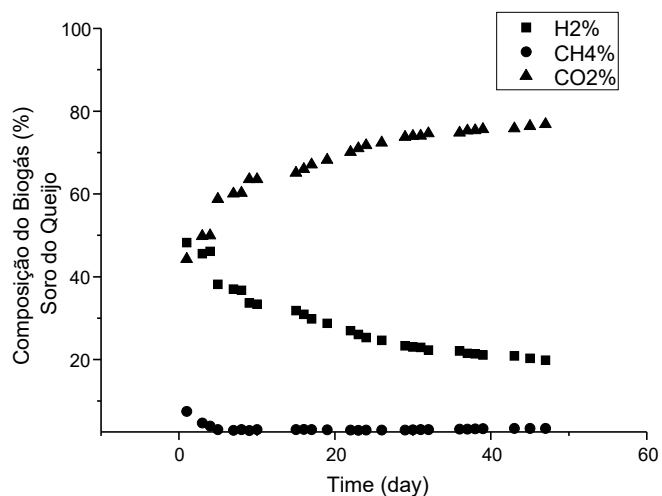


Figura 02 – Composição do biogás no tratamento do efluente sintético de soro do queijo

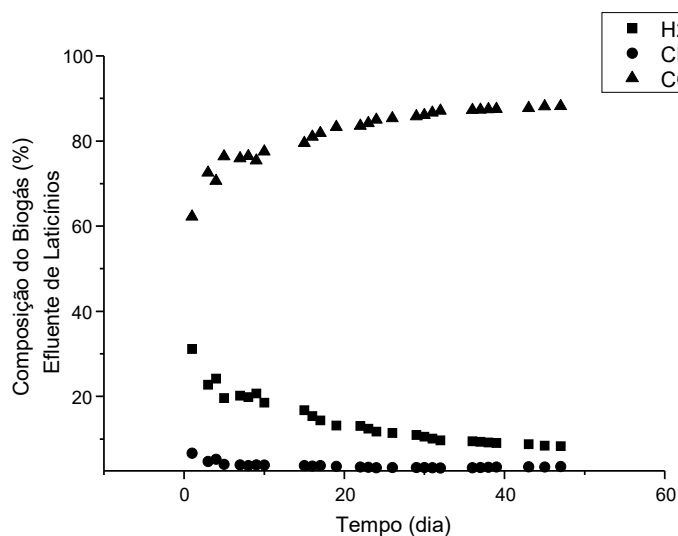


Figura 03 – Composição do biogás no tratamento do efluente real de laticínios.

Produção e rendimento específico de hidrogênio

A Figura 04 abaixo mostra a produção de hidrogênio acumulado durante a operação dos reatores para cada substrato analisado. Para a produção de hidrogênio na digestão de lactose, soro de queijo e laticínios obteve-se taxa máxima de produção de, respectivamente, 28,1, 21,65 e 8,92 $mmolH_2/dia$. Desta forma, os efluentes sintéticos de

lactose e soro mostram comportamento semelhante e produtividade superior ao efluente bruto oriundo da indústria de laticínios. Quanto ao rendimento específico de hidrogênio (HY) obteve-se para os efluentes sintéticos de lactose, de soro do queijo e para o efluente bruto de laticínios, respectivamente, 1.84, 1.49 e 0.58 $molH_2/mol\text{ glicose}$. Sabe-se que a produção máxima de hidrogênio por mol de glicose é de 4 mols (Amorim, 2012), desta forma, o rendimento máximo foi observado para o substrato de lactose isolada sendo 46%, seguido pelo de soro de queijo, 37,5%. O menor HY (14,5%) bem como a menor taxa de produção foram obtidos para o efluente bruto de laticínios. Karadag e Puhakka (2010) obtiveram máximo HY de 1.71 $molH_2/mol\text{ glicose}$ em reator de mistura completa operado a 45°C e com concentração inicial do substrato de 9g/L de glicose e TDH de 6h. Este foi o melhor rendimento obtido pelo autor quando analisadas diferentes temperaturas de operação. Ao analisar a influência do pH e de diferentes concentrações em seu experimento, Davila-Vazquez e colaboradores. (2008) também obteve maior HY para lactose quando comparado ao soro do queijo e glicose isolada com experimentos em batelada. Por sua vez, Macário (2016), ao analisar os mesmos três substratos em reatores anaeróbios de leito fluidificado, obteve maiores HY para lactose e soro de queijo (1.07 e 1.06 $molH_2/mol\text{ glicose}$) comparado ao efluente de laticínios bruto (0.36 $molH_2/mol\text{ glicose}$). A baixa produtividade de hidrogênio a partir do efluente bruto de laticínio pode ser justificada pelas altas concentrações de gorduras e óleos neste tipo de efluente que irá reduzir a taxa de conversão de substrato, limitando o transporte de substratos solúveis para células microbianas; Desta forma, pré-tratamentos hidrolíticos que quebrem estes compostos podem melhorar a produtividade de hidrogênio (KARADAG *et al.*, 2014).

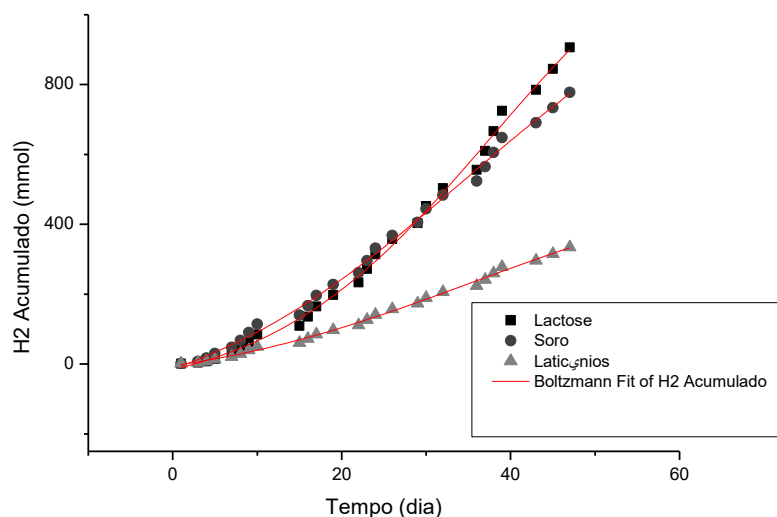


Figura 04 – Produção acumulada de hidrogênio a partir de efluentes sintéticos de lactose, soro de queijo e efluente bruto de laticínios a mesma concentração.

Metabólitos Solúveis

Os principais metabólitos solúveis quantificados pela metodologia adotada neste experimento estão expressos abaixo, na Tabela 03. O etanol, que é um subproduto da digestão anaeróbia, com considerável valor agregado, foi encontrado em maiores concentrações nos estudos conduzidos a partir dos três substratos analisados, seguido do ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico. Os demais metabólitos se apresentaram em concentrações não representativas. Em seu estudo para a produção de hidrogênio, Zhu e colaboradores (2009) observou maiores concentrações de etanol em comparação com outros metabólitos solúveis estudados para pH entre 4.5-5.5, o que corrobora com os resultados deste estudo.

Tabela 03 – Porcentagem dos Metabolitos Solúveis para cada substrato.

	EtOH/SMP %	HPr/SMP %	HAc/SMP %	HBr/SMP %	HCa/SMP %
Lactose	58.72	0.43	26.20	14.41	0.24
Soro	42.70	2.15	41.07	13.56	0.52
Laticínios	73.14	2.22	22.36	1.93	0.35

EtOH: Etanol; HPr: Ácido Propiônico; HAc: Ácido acético; HBr: Ácido Butírico; HCa: Ácido Capróico; SMP: metabólitos totais produzidos.

Conclusões

Os reatores anaeróbios em batelada para todos os substratos analisados tiveram a taxa de conversão de carboidratos muito semelhante, em torno de 85%. Nos reatores operados com o efluente sintético do soro do queijo a taxa de remoção de DQO foi de 49%, o que pode ser explicado pela presença de metano no biogás durante a primeira semana de operação. O efluente sintético de lactose isolada mostrou melhor desempenho/ comparado aos outros substratos analisados na produção de biohidrogênio, com taxa de produção máxima e rendimento específico de hidrogênio de $21,65 \text{ mmolH}_2/\text{dia}$ e $1,84 \text{ molH}_2/\text{mol glicose}$.. Este fato pode ser atribuído à maior homogeneidade do substrato e menor concentração de óleos e gorduras presentes nos efluentes reais e do soro do queijo. Com a melhor eficiência do efluente de lactose isolada, sugere-se um pré-tratamento aplicado ao efluente real para otimização do processo. A porcentagem de gás metano na composição do biogás foi de baixa relevância, estando presente no biogás apenas na primeira semana de operação com volume inferior a 10% do biogás. A produção de hidrogênio a partir de águas residuárias é um processo sustentável e econômico, pois trata-se de um processo biológico. Temperaturas termofílicas provaram ser viáveis à esta produção, porém as condições ideais devem ser aprofundadas.

Referências

- ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). *American Journal of Analytical Chemistry*, v.5, p.406-414, 2014.
- AMORIM, N. C. produção de hidrogênio a partir da manipueira em reator anaeróbio de leite fluidificado. Universidade Federal de Alagoas. Maceió, AL, 2012.
- DAVILA-VAZQUEZ, G. et al. Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH. *International Journal of Hydrogen Energy*, n. 33, 4989 – 4997, 2008.
- DUBOIS, S. M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, FRED. Colorimetric Methods for determination of sugar and related substance. *Analytical Chemistry*, v. 228, p. 13-21. 1956.
- EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; RICE, E. W.; GREENBERG, A. E.; FRANSON, M. A. H. (Eds.). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005
- KARADAG, D.; PUHAKKA, J. A. Effect of changing temperature on anaerobic hydrogen production and microbial community composition^[1] in an open-mixed culture bioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, n. 35, 10954 – 19959, 2010.
- KARADAG, D. et al. A review on fermentative hydrogen production from dairy industry wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 89, n. 11, p. 1627-1636, 2014.
- MACÁRIO, S. C. A. Influência do inóculo na produção de hidrogênio a partir do soro de queijo em pó, lactose isolada e efluente da indústria de laticínios em reator anaeróbio de leite fluidificado. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2016.
- MAINTINGUER, S.I.; FERNANDES, B.S.; DUARTE, I.C.S.; SAAVEDRA, N.C.; ADORNO, M.A.T.; VARESCHE, M.B. Fermentative Hydrogen Production by Microbial Consortium. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 33, p.4309-4317, 2008.
- SILVA, A.C.F.M. Tratamento de resíduos líquidos de laticínios em reator anaeróbio compartimentado seguido de leitos cultivados. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.
- VON SPERLING, M. *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto*. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.

ZEMPULSKI, D. A. et al. Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação anaeróbia de manipueira e de permeado de soro de queijo. ENGEVISTA, v. 16, n. 4, p. 431-447, 2014.

ZHU, H., PARKER, W., BASNAR, R., PRORACKI, A., FALLETTA, P., BÉLAND M., SETO, P. Buffer requirements for enhanced hydrogen production in acidogenic digestion of food wastes. Bioresource Technology, v. 100, p. 5097-5102.