



PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE Lodos DE DIFERENTES SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS

BIOLOGICAL PRODUCTION OF HYDROGEN FROM SLUDGE OF DIFFERENT SEWAGE TREATMENT SYSTEMS

Lilian Danielle de Moura Torquato⁽¹⁾

Renan Pachiega⁽²⁾

Caroline Varella Rodrigues⁽³⁾

Marisa Spirandeli Crespi⁽⁴⁾

Sandra I. Maintinguer⁽⁵⁾

Resumo

Os processos biológicos fermentativos de geração de hidrogênio podem ser uma alternativa promissora para o reaproveitamento de resíduos orgânicos como o lodo de esgoto, para a geração de energia. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de produção de H₂ de consórcios bacterianos anaeróbios, advindos de lodos obtidos em diferentes sistemas de tratamento de efluentes sanitários. Amostras de lodo granular anaeróbio (UASB), lodo ativado biodigerido, assim como de lodo anaeróbio de lagoa de sedimentação foram submetidas a etapas prévias de tratamento térmico (100°C/15 min), reativação e enriquecimento celular. Três ensaios em duplicatas com reatores anaeróbios operados em batelada foram montados para cada inóculo, com substrato sintético contendo 2,0 g L⁻¹ de sacarose, pH 5,5 a 37 °C. O inóculo granular apresentou maior rendimento na geração de hidrogênio (2.0 mol H₂ mol⁻¹ sacarose), resultado confirmado pela maior produção associada de ácido acético e butírico, assim como pela predominância de bactérias anaeróbias totais neste resíduo. As condições empregadas se mostraram eficientes, favorecendo as rotas de maior produção de H₂ a partir de substratos com concentrações reduzidas de sacarose, o que pode representar uma possibilidade de reaproveitamento de efluentes agroindustriais, com concentrações de açúcares próximas às testadas.

¹ Doutoranda em Química pelo Instituto de Química de Araraquara-UNESP. Endereço eletrônico: [lilianatorquato@yahoo.com.br].

² Graduando em Licenciatura em Química pelo Instituto de Química de Araraquara-UNESP. Endereço eletrônico: [renanpachiega@gmail.com].

³ Mestranda em Química pelo Instituto de Química de Araraquara-UNESP. Endereço eletrônico: [carolvr61@hotmail.com].

⁴ Pesquisadora e Docente pelo Instituto de Química de Araraquara-UNESP. Endereço eletrônico: [crespims@iq.unesp.br].

⁵ Pesquisadora e Docente do Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN-UNESP), Rio Claro. Endereço eletrônico: [mainting2008@gmail.com].



Palavras-chave: Biohidrogênio. Lodos de tratamento biológico. Esgoto. Reaproveitamento energético.

Abstract

The fermentative biological processes of hydrogen production may be a promising alternative for the reuse of organic residues such as sewage sludge for power generation. The aim of this study was to evaluate the H₂ production potential of anaerobic bacterial consortia from sludge obtained in different wastewater treatment systems. Samples of anaerobic granular sludge (UASB), biodigested activated sludge as well as anaerobic sludge from settling pond were subjected to preliminary heat treatment step (100 °C for 15 min), reactivation and cell enrichment. Three batch tests with anaerobic reactors, performed in duplicate, were realized with each inoculum, using synthetic substrate containing 2.0 g L⁻¹ of sucrose, in pH 5.5 at 37 °C. Inoculum from granular sludge demonstrated greater efficiency in hydrogen generation (2.0 mol H₂ mol⁻¹), result confirmed by the increase in production of acetic and butyric acid, as well as for the prevalence of total anaerobic bacteria in the residue. The conditions employed were effective, favoring the metabolic pathways of higher H₂ production from substrates with low concentrations of sucrose. This may represent a new possibility for reuse of agroindustrial effluents, composed by similar sugar concentrations.

Keywords: Biohydrogen. Sludge from biologic treatment. Sewage. Energetic reuse.

1 Introdução

O tratamento de esgotos, apesar de se tratar de uma solução para o tratamento dos efluentes sanitários pode trazer sérias consequências ao meio ambiente e à saúde pública, devido não somente à enorme quantidade de resíduos sólidos gerados, que são intrínsecos a cada processo, mas também no que diz respeito à destinação e disposição final desse material, que pode vir a se tornar uma fonte de poluição, caso não haja gerenciamento e tratamento adequados.

Uma ampla variedade de recursos naturais e resíduos orgânicos têm sido usados como fontes de inóculo para a produção biológica de gases combustíveis com alto poder calorífico como metano (CH₄) e hidrogênio (H₂), dentre as quais pode-se citar: lodos de esgotos, solos, sedimentos de rios, estrume de gado digerido por compostagem (HAWKES et al., 2007).

Os processos fermentativos de produção de H₂ a partir de culturas mistas são mais práticos do que aqueles que utilizam culturas puras, tanto do ponto de vista operacional,



quanto econômico e neste caso, deve-se destacar a disponibilidade e o baixo custo das matérias-primas (WANG; WAN, 2009).

A fim de favorecer a geração de H_2 pela inibição da atividade das arqueias metanogênicas (KAPDAN; KARGI, 2006) estes resíduos são usualmente submetidos a etapas prévias de tratamento físico (choque térmico, ultrassonicação, irradiação por luz ultravioleta) ou químico (controle de pH e reativação dos consórcios em meio nutritivo adequado) (WONG; WU; JUAN, 2014). É de fundamental importância a escolha, tanto da fonte de inóculo, quanto do método de pré-tratamento mais adequado para garantir o sucesso da produção de H_2 nas condições de interesse (substrato, temperatura e reator anaeróbio).

Os reatores anaeróbios em batelada são muito utilizados quando se pretende avaliar as necessidades nutricionais de um determinado consórcio, assim como sua capacidade produtiva em diferentes condições: concentrações de substrato, pH do meio nutricional, e temperatura (HAWKES et al., 2007).

Após serem escolhidas as melhores condições para o desenvolvimento do processo de geração de H_2 , este pode ser aplicado para o tratamento de águas residuárias, garantindo não apenas seu manejo adequado, mas transformando esses efluentes em matéria-prima para a produção de energia limpa e renovável (SALERMO et al., 2006).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação da potencialidade de produção de energia limpa (H_2), empregando como fontes de inóculos lodo anaeróbios de diferentes sistemas de tratamento de efluentes sanitários, os quais são usados em cidades do interior de São Paulo.

2 Material e Métodos

2.1 Amostras: origem e pré-tratamento

Para a realização dos ensaios voltados à produção de H_2 , foram empregadas como fonte de inóculo amostras de lodos anaeróbios de diferentes sistemas de tratamento de efluentes sanitários (STES). A primeira delas (I), de lodo granular proveniente de reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), aplicados para o tratamento dos efluentes



sanitários da cidade de São José do Rio Preto. A segunda amostra de lodo (II) foi obtida no STES (Sistema de Tratamento de Esgoto Sanitário) da cidade de Ribeirão Preto, após a digestão anaeróbia do lodo ativado em biodigestores. A terceira amostra (III) foi obtida na lagoa de sedimentação do STES da cidade de Araraquara.

Para a avaliação da potencialidade de geração de H_2 das amostras de lodo, inicialmente alíquotas contendo 20% (v/v) dos inóculos (I), (II) e (III) foram ativadas em reatores anaeróbios de 100 mL, preenchidos com 50 mL de meio nutritivo PYG (glicose, 10 g L^{-1} ; peptona, 5 g L^{-1} , extrato de levedura, 5 g L^{-1} e carne extrato, 5 g L^{-1}) e 50 mL de N_2 (100 % de pureza) no *headspace*. Estes sistemas foram mantidos a 37 °C (pH 7,0) por 7 dias e, em seguida, foram submetidos a tratamento térmico (100 °C /15 min, seguido de banho de gelo por 5 min) a fim de inibir a atividade metanogênica (MAINTINGUER et al., 2008).

Após este procedimento, os inóculos foram submetidos a diluições seriadas em reatores contendo meio PYG, em pH 5,5, para enriquecimento celular e purificação dos consórcios bacterianos.

Confirmada a ausência de atividade metanogênica, os inóculos (I), (II) e (III) enriquecidos foram reativados separadamente em reatores anaeróbios (2L), contendo 1L de meio de cultivo Del Nery (DEL NERY, 1987) pH 5,5, com a seguinte composição: soluções (A, B, C e D) em mg L^{-1} : **A**-NiSO₄.6H₂O (0,50); FeSO₄.7H₂O (2,5); FeCl₃.6H₂O (0,25); CoCl₂.2H₂O (0,04); **B**-CaCl₂.6H₂O (2,06); **C**- SeO₂ (0,14); **D**- KH₂PO₄ (5,36); K₂HPO₄ (1,3); Na₂HPO₄.H₂O (2,76); além das soluções de vitamina, em mg L^{-1} : **(1)** Ácido *p*-aminobenzóico (40,0); biotina (10,0); **(2)** vitamina B12 (40,0) (LAZARO et al., 2012). O *headspace* (1L) foi preenchido com N_2 (100% de pureza). Posteriormente, os reatores foram mantidos a 37 °C, durante 72 h.

A biomassa celular contida em cada reator foi separada por centrifugação (9000 rpm, por 10 minutos a 4 °C) e posteriormente, cada inóculo foi introduzido (em volumes iguais) nos reatores para os ensaios em batelada.

2.2 Ensaios com reatores anaeróbios operados em batelada

Realizou-se um ensaio para cada inóculo, em duplicata, com substrato sintético Del Nery (pH 5,5) contendo 2 g L^{-1} de sacarose. Para a montagem dos ensaios, os reatores (2L)



foram preenchidos com 1L do meio nutritivo e o *headspace* (1 L) foi preenchido com N₂ (100%). Posteriormente estes foram lacrados e mantidos a 37°C, durante todo o período de monitoramento dos ensaios, no qual se avaliou a geração de H₂, crescimento celular, consumo de sacarose, produção de ácidos graxos voláteis, além da contagem de bactérias produtoras de hidrogênio e bactérias anaeróbias totais, por meio da técnica de Número Mais Provável (NMP).

Tanto o substrato sintético, quanto as soluções de vitamina foram submetidas à esterilização prévia por filtração em membrana de 0,22 µm de porosidade, em condições assépticas.

2.3 Análises cromatográficas

Foram efetuadas leituras para determinação do gás hidrogênio, em reatores pressurizados, por meio da retirada de 1,0 mL de amostra da fase gasosa, utilizando seringa *gastight* com trava. Foi utilizado cromatógrafo a gás, Thermo Trace GC Ultra, equipado com injetor *split/splitless*, detector de condutividade térmica (TCD) e detector de ionização por chama (FID). Foram utilizadas duas colunas analíticas Carboxen 1006 plot (30 m x 0,53 mm i.d.) e Rt-MSieve 5A (30 m x 0,53 mm i.d.). As condições utilizadas foram as seguintes: Injetor TCD a 150 °C e detector FID a 250 °C, sendo a programação de temperatura do forno: 50 °C (4,5 min), seguido de aquecimento a 40°C min⁻¹, até 180 °C (1,5 min) e resfriamento a 50 °C min⁻¹, até 50 °C (3,15 min). O gás de arraste utilizado foi o argônio (1,5 mL min⁻¹ e fluxo de split a 60 mL min⁻¹).

A geração dos ácidos orgânicos foi determinada por meio de cromatografia gasosa, em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2010, equipado com detector de ionização de chama e amostrador automático para *headspace* COMBI-PAL, modelo AOC 5000 e coluna HP-INNOWAX, de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme, de acordo com Adorno et al. (2014).

2.4 Análises químicas



Os consumos de sacarose foram determinados pelo método de Dubois *et al.* (1956), adaptado por Herbert, Philipps e Strange (1971). O pH inicial foi mantido em 5,5, valor adequado para evitar a metanogênese (FANG; LIU, 2002), com adições de HCl ou NaOH. As medidas foram efetuadas no início e no final dos ensaios (AMERICAN..., 2005).

O crescimento celular foi verificado através da análise de absorvância da cultura a 600 nm (AMERICAN..., 2005) e expresso como sólidos suspensos voláteis (SSV, g L⁻¹), de acordo com a equação 1 (MAINTINGUER *et al.*, 2015):

$$VSS = 0,7436 * ABS_{600nm} + 0,0146 \quad (1)$$

2.5 Contagem de Bactérias por NMP (Número mais Provável)

Os ensaios de NMP foram montados ao final da operação dos reatores anaeróbios com os inóculos I, II e III, separadamente, empregando-se diluições sucessivas (três replicatas) em meio de cultivo PYG com pH 7,0, sob condições estéreis. Foram realizadas contagens de bactérias anaeróbias totais através de turvação do meio de cultivo (células/100 mL) e bactérias produtoras de H₂ por detecção deste gás no *headspace* dos frascos incubados, por meio de cromatografia gasosa. A leitura foi realizada utilizando-se a Tabela Padrão de Probabilidade (AMERICAN..., 2005).

2.6 Ajuste de dados experimentais

Os dados (valores médios) referentes à produção de H₂ durante os ensaios realizados para cada inóculo foram ajustados empregando a função Gompertz modificada (equação 2) (LAY; LI; NOIKE, 1998), com o auxílio do software Statística[®] (versão 8):

$$H = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_{m,s}}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$



sendo P o potencial de produção de hidrogênio (mmol L^{-1} cultura), R_m a taxa máxima de produção deste gás, expressa em mmol/L cultura. h e λ a fase *lag* (h) que antecede a geração de H_2 em cada ensaio.

3 Resultados e Discussão

Todos os inóculos provenientes dos diferentes sistemas de tratamento de esgotos apresentaram potencial para produção de H_2 , após serem submetidos ao pré-tratamento térmico, purificação e enriquecimento celular.

O inóculo (I) apresentou o melhor desempenho, apesar de necessitar de um período maior de adaptação (fase *lag* de 22h), nas mesmas condições operacionais, com a máxima produção de H_2 ($8,0 \text{ mmol H}_2 \text{ L}^{-1}$ de substrato), em período menor de ensaio, 49,0 h (Tabela 1), o que representa uma produção 50% maior em relação ao inóculo (II) e 74% maior em relação ao inóculo (III). Além disso, seu crescimento celular também foi mais elevado nesse período.

Tabela 1 - Resultados obtidos nos ensaios com os inóculos (I), (II) e (III), com reatores operados em batelada, contendo substrato sintético com 2 g L^{-1} de sacarose.

Parâmetros	Ensaio		
	Inóculo (I)	Inóculo (II)	Inóculo (III)
Sacarose (g L^{-1})	2,0	2,0	2,0
Tempo de ensaio (h)	173,5	160,0	186,0
Crescimento máximo (g L^{-1}) ^a	0,4	0,3	0,17
Período (h) ^b	49,0	66,4	95,0
Consumo sacarose (%)	75,0	47,5	65,2
P ($\text{mmol H}_2 \text{ L}^{-1}$) ^{c*}	8,0	5,4	4,6
R_m ($\text{mmol H}_2 \text{ L}^{-1}$ cultura. h^{-1}) ^{d*}	0,4	0,1	0,05
Fase <i>lag</i> (h)*	22,0	10,0	18,0
Período (h) ^e	49,0	71,0	90,0
Rendimento ($\text{mol H}_2 \text{ mol}^{-1}$ sacarose)	2,0	1,8	1,3



Rendimento (%)	25,0	22,0	16,3
pH final	3,3	4,1	4,4

^a Expresso como VSS, sólidos suspensos voláteis

^b Período para alcançar o crescimento máximo

^c Produção máxima

^d Taxa máxima de produção

^e Período do ensaio para se atingir a máxima produção de H₂

* Parâmetros calculados a partir da função Gompertz modificada

Maintinguer et al. (2008) operaram reatores anaeróbios com inóculo de reator UASB usado no tratamento de resíduos de suinocultura e aplicaram as mesmas condições de pré-tratamento. Nos ensaios com concentração de sacarose próxima a testada no presente estudo, os autores acima mencionados obtiveram a máxima produção de H₂ de 1,2 mol H₂ mol⁻¹ sacarose, correspondente a uma eficiência de 15% na conversão da sacarose. Apesar de empregarem um inóculo com origem predominantemente anaeróbia, os resultados reportados se assemelham aos obtidos para o inóculo (III) no presente estudo.

Fang e Liu (2002) também observaram rendimentos próximos (2,1 mols H₂ mol⁻¹ glicose) aos obtidos neste trabalho, empregando glicose como substrato em condições semelhantes: culturas anaeróbias mistas, pH 5,5, a 36 °C.

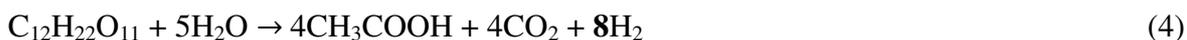
Baghchehsaraee et al. (2010) obtiveram rendimento semelhante (2,18 mols H₂) para a produção de H₂, empregando lodo digerido anaerobicamente como inóculo, em condições mesofílicas e glicose como substrato.

A eficiência energética na conversão da sacarose, ou seja, o rendimento total do processo fermentativo pode ser calculado levando-se em consideração a relação entre consumo de carboidratos e a produção de H₂, de acordo com a equação 3 (GIOANNIS et al., 2013)

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\frac{\text{mol H}_2}{\text{massa de substrato}}}{\frac{\text{máxima produção teórica de H}_2}{\text{massa de substrato}}} \right) \times 100 \quad (3)$$



Para a conversão 1 mol de sacarose, a máxima produção teórica de H₂ é de 8 mols, com a geração de 4 mols de ácido acético e 4 mols de dióxido de carbono como subprodutos. Essa relação pode ser expressa pela equação 4 (KHANAL et al., 2004):



Considerando-se a relação expressa por meio da equação (2), rendimento mais elevados na conversão energética da sacarose neste trabalho foi obtido nos ensaios com o inóculo (I) e foram de 25 % (Tabela 1).

A maior produção teórica de hidrogênio prevê ácido acético como produto final da fermentação (KHANAL et al., 2004). Na prática, porém, a produção elevada de hidrogênio está associada a uma mistura dos produtos da fermentação, como ácido acético e ácido butírico (equação 5). Por outro lado, uma produção reduzida de hidrogênio é decorrente da formação de ácido propiônico e outros produtos finais como álcoois e ácido láctico (LEVIN et al., 2004), uma vez que estas vias metabólicas ocorrem a partir do consumo de H₂.

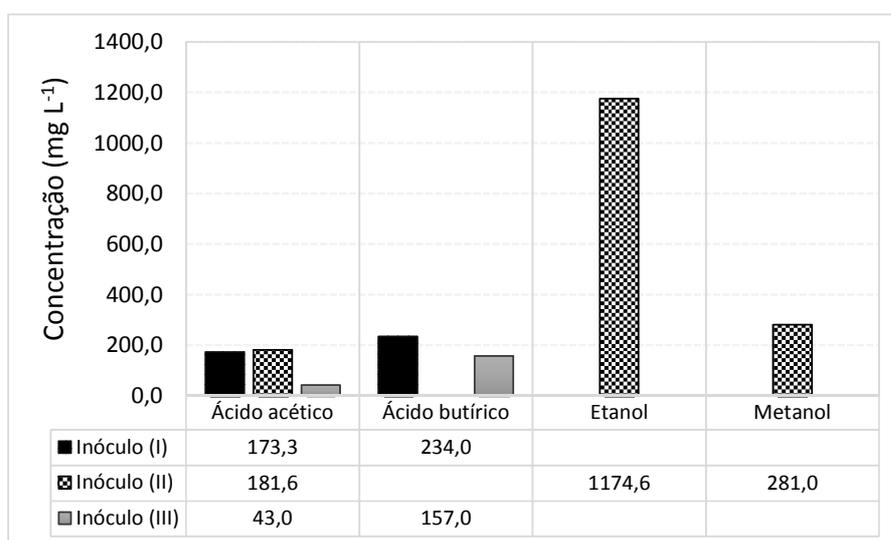
Considerando a produção de etanol durante o processo fermentativo de produção de H₂, esta pode ocorrer tanto a partir do consumo de H₂ e ácido acético dissolvidos no substrato, equação (6) (ANGENENT et al., 2004), quanto por meio do consumo de carboidrato, sem produção de H₂, conforme representado na equação 7. Neste último caso, além de não contribuir para a produção de H₂ no processo, essa via metabólica leva a uma diminuição do substrato disponível para os organismos produtores de H₂.



Na Figura 1 são apresentados os principais subprodutos gerados durante os processos fermentativos de produção de H₂, com os diferentes inóculos avaliados. Os ácidos acético e butírico foram os principais subprodutos obtidos na produção de H₂ com os inóculos (I) e (III).

Já no caso do inóculo (II), a maior produção de ácido acético ($181,6 \text{ mg L}^{-1}$) observada deveria vir acompanhada de maior produção de H_2 , conforme anteriormente expresso pela equação (3). No entanto, concomitantemente à produção de ácido acético houve uma produção expressiva de metanol (281 mg L^{-1}) e etanol ($1174,0 \text{ mg L}^{-1}$). Tendo em vista que estes subprodutos podem ser gerados por meio de consumo de H_2 , isso pode explicar o menor rendimento na produção H_2 em relação ao inóculo (I).

Figura 1 - Principais subprodutos gerados (em mg L^{-1}) durante a produção de H_2 pelos inóculos (I), (II) e (III).



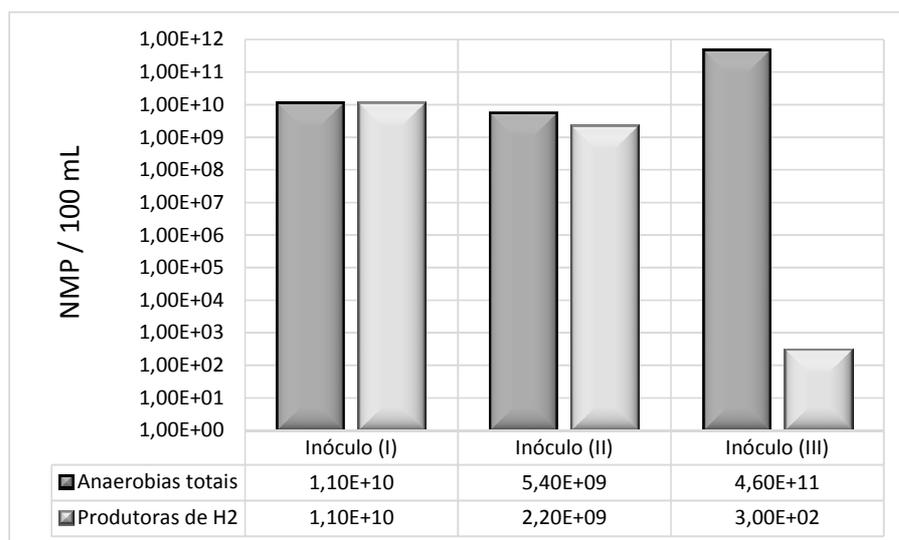
Segundo Kapdan e Kargi (2006) avaliações acerca da diversidade microbiana de consórcios bacterianos produtores de H_2 revelaram a predominância das espécies Clostridia (64,3%), após tratamento térmico do inóculo seguido de reativação em condições ambientais adequadas. Estas espécies produzem H_2 e ácidos voláteis (acético, butírico e propiônico) durante a fase exponencial de seu crescimento celular e, durante a operação em batelada seu metabolismo pode ser alterado para a produção de solventes (solventogênese) como álcoois, quando a população bacteriana atinge a fase estacionária de crescimento, assim como pelo acúmulo de subprodutos no meio de cultura.

De acordo com Lay (2000), esta mudança no metabolismo das bactérias produtoras de H_2 para a solventogênese pode ocorrer quando o pH do meio de cultura atinge 4,1, devido ao acúmulo dos ácidos produzidos. Como pode ser observado na Tabela 1, verificou-se que o pH

final do meio nos ensaios com o inóculo (II) chegou a 4,1. Entretanto, apesar de o pH final dos outros ensaios chegar valores de pH próximos (inóculo (II)), ou até mais baixos (inóculo (III)) não foi verificada a produção de álcoois nesses ensaios, conforme relatado anteriormente.

A quantificação de bactérias totais e bactérias geradoras de H₂, realizada por meio dos testes de NMP (Figura 2) revelou a predominância de bactérias geradoras de H₂ no inóculo (I) (1,10. 10¹⁰ NMP 100 mL⁻¹), resultado 5 vezes maior em relação ao inóculo (II) (2,2. 10⁹ NMP 100 mL⁻¹).

Figura 2 - Contagem de bactérias anaeróbias totais e bactérias produtoras de hidrogênio (NMP/100 mL) para os ensaios com os inóculos (I), (II) e (III).



Por outro lado, o inóculo (III) apresentou quantidade muito maior de bactérias anaeróbias totais em relação às outras amostras de lodo (cerca de 42 vezes maior que o inóculo (I) e 85 vezes maior que o inóculo (II)), no entanto, somente 3,0. 10² NMP 100 mL⁻¹ deste total era composto por bactérias produtoras de H₂. Pelo exposto, esses resultados confirmam a maior potencial de produção de H₂ observado para o inóculo (I).

4 Conclusões



*I CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA,
AGRÍCOLA E AMBIENTAL (CBMAAA)*

09 a 12 de maio de 2016 - Centro de Convenções da UNESP,
Câmpus de Jaboticabal, SP



Os diferentes consórcios bacterianos avaliados apresentaram potencial para geração de H₂ nas condições avaliadas. Tais resultados abrem novas possibilidades para o reaproveitamento dos lodos provenientes do tratamento de efluentes sanitários, que além de resolver o problema da disposição destes resíduos sólidos gerados em abundância, transformam-nos em fonte de energia limpa. Além disso, tais inóculos podem ser aplicados para a produção de H₂ empregando como substrato resíduos agroindustriais que contêm concentrações de sacarose próximas às testadas.

5 Agradecimentos / Apoio financeiro

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), à Fundação para o Desenvolvimento da Unesp (Fundunesp) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro concedido, assim como ao CEMPEQC (Centro de Monitoramento e Pesquisa de Qualidade de Combustíveis, Biocombustíveis, Petróleo e Derivados) na realização das análises cromatográficas, ao SeMae (São José do Rio Preto), ao DAERP (Ribeirão Preto) e ao DAAE (Araraquara) pela concessão das amostras de lodo.

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.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington DC, USA, 2005.

ANGENENT, L. T.; KARIM, K.; AL-DAHAN, M. H.; WRENN, B. A.; DOMÍGUEZ-ESPINOSA, R. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. **TRENDS in Biotechnology**, v. 22, n. 9, p. 477-485, 2004.



BAGHCHEHSARAE, B.; NAKHLA, G.; KARAMANEV, D.; MARGARITIS, A. Fermentative hydrogen production by diverse microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 10, p. 5021-5027, 2010.

DEL NERY, V. Utilização de lodo anaeróbico imobilizado em gel no estudo da partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo. 1987. 215 p. Tese de Mestrado (Engenharia) –Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1987.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, 350-56, 1956.

FANG, H. H. P.; LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresouce Technology**, v. 82, n.1, p. 87-93, 2002.

GIOANNIS, G. De; MUNTONI, A.; POLETTINI, A.; POMI, R. A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions. **Waste Management**, v. 33, n. 6, p. 1345-1361, 2013.

HAWKES, F. R.; HUSSY, I.; KYAZZE, G.; DINSDALE, R.; HAWKES, D. L. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 2, p. 172-84, 2007.

HERBERT, D.; PHILIPPS, P. J.; STRANGE, R. E. Carbohydrate analysis. **Methods in Enzymology**, v. 5B. New York: Academic Press, 1971. p. 265-277.

KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, vol. 38, n. 5, p. 569-582, 2006.

KHANAL, S. K.; CHEN, W-H.; LI, L.; SUNG, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 11, p. 1123-1131, 2004.

LAY, J. Y.; LI, Y. Y.; NOIKE, T. Developments of bacterial population and methanogenic activity in a laboratory-scale landfill bioreactor. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3673-3679, 1998.

LAY, J. J. Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 68, n. 3, p. 269-78, 2000.

LAZARO, C. Z.; VICK, D. V.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Hydrogen production and consumption of organic acids by a phototrophic microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 16, p. 11691-11700, 2012.



*I CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA,
AGRÍCOLA E AMBIENTAL (CBMAAA)*

09 a 12 de maio de 2016 - Centro de Convenções da UNESP,

Câmpus de Jaboticabal, SP



LEVIN, B. D.; 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.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. T.; VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 16, p. 4309-4317, 2008.

MAINTINGUER, S. I.; SAKAMOTO, I. K.; ADORNO, M. A.T.; VARESCHE, M. B. A. Bacterial diversity from environmental sample applied to bio-hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 8, p. 3180-3190, 2015.

SALERMO, M. B.; PARK, W.; ZUO, Y.; LOGAN, B. E. Inhibition of biohydrogen production by ammonia. **Water research**, v. 40, p. 1167-1172, 2006.

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p.799-811, 2009.

WONG, Y. M.; WU, Y. T; 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.