

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

GABRYEL PONTES LIMA

**Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores
anaeróbios em batelada**

Maceió
2020

GABRYEL PONTES LIMA

Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores anaeróbios em batelada

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Maceió

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

L732p Lima, Gabryel Pontes.

Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores anaeróbios em batelada / Gabryel Pontes Lima. – 2020.

74 f. : il., graf., tabs. color.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 62-68.

Apêndices: f. 69-74.

1. Fermentação anaeróbica. 2. Bio-hidrogênio. 3. Resíduos orgânicos. 4. Reatores em batelada. I. Título.

CDU: 662.767.2

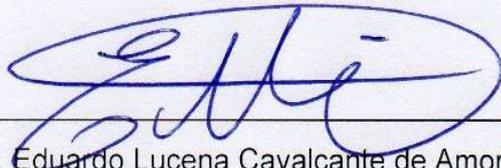
Gabryel Pontes Lima

**Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais
residuais em reatores anaeróbios em batelada**

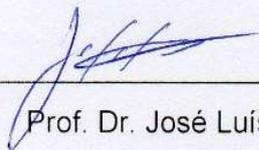
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em: Maceió, 28 de Fevereiro de 2020.

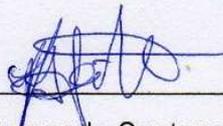
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim (PPGEQ/UFAL - Orientador)



Prof. Dr. José Luís Gomes Marinho (PPGEQ/UFAL)



Prof^a. Dr^a. Fernanda Santana Peiter (UNINASSAU)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Eudes Lima e Rita de Cássia Pontes Lima, que proporcionaram todas as condições possíveis para que eu pudesse obter o título de mestre em engenharia química pela Universidade Federal de Alagoas. Obrigado pela atenção, carinho, companheirismo e educação. Saibam que sem vocês esta conquista seria muito mais difícil.

Ao meu irmão, Matheus Lima, com quem pude aprender e compartilhar conhecimentos oriundos dos cursos de engenharia.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Lucena de Amorim, pelos ensinamentos, paciência, compreensão e pela confiança em abrir as portas do Laboratório de Controle Ambiental para que eu pudesse desenvolver minha dissertação.

À Prof.^a Dr.^a Daniela Vich pelo incentivo, auxílio e contribuição para o meu aperfeiçoamento profissional.

À Emmanuelle Balbino por todo o apoio nos momentos bons e ruins dentro e fora do ambiente acadêmico, sendo imprescindível na discussão dos dados e revisão do trabalho.

Aos professores, Daniele Vich, Lucas Meili, Fernanda Peiter e José Luis Marinho, que contribuíram com conhecimento e sugestões nas bancas de qualificação e de defesa do mestrado.

Ao pós-doutorando, Mozart Bispo, pelos ensinamentos, auxílio, suporte técnico e manutenção do cromatógrafo gasoso.

À técnica, Nadjane Telles, pelos ensinamentos, auxílio e suporte técnico na realização de ensaios e práticas de segurança laboratoriais.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas pela contribuição na minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro.

Manners maketh man.

KINGSMAN: The Secret Service, 2015.

RESUMO

LIMA, G. P. **Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores anaeróbios em batelada.** 2020. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2020.

A quantidade de alimento desperdiçada tem se tornado um problema ambiental, econômico e social. O consumo sustentável e o reaproveitamento podem ser alternativas para solucionar estes problemas. A fermentação anaeróbia surge como uma alternativa de baixo custo para reaproveitar o resíduo, obtendo produtos de valor agregado. Este estudo investigou o efeito do pré-tratamento ácido (1,6-6,4 % v/v), pH inicial (4,00-7,00) e volume de inóculo (25-75% v/v) na produção anaeróbia de bio-hidrogênio por culturas mistas aclimatada (50% v/v de substrato e 50% v/v de lodo tratado termicamente) em reatores em batelada, utilizando um planejamento fatorial completo. A fermentação foi realizada em reatores com 42 mL de volume útil, mantidos sob uma temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$ e rotação de 120 rpm. O modelo de Gompertz modificado pode descrever o progresso da produção acumulada de hidrogênio nos ensaios em batelada deste estudo com sucesso. O experimento mostrou que o pH inicial e o volume de inóculo influenciaram significativamente na produção de bio-hidrogênio individual e interativamente. O rendimento máximo de hidrogênio de 646,7 mL/g carboidrato consumido durante a fermentação foi obtido com o pré-tratamento ácido de 6,4% v/v. Enquanto a taxa máxima de produção de hidrogênio de 2,3 mL/h foi obtida com o pré-tratamento ácido de 1,6% v/v. Em ambos os casos, o pH inicial foi 4,00 e o volume de inóculo foi igual a 75% v/v. De um modo geral, os resultados mostraram o potencial de produção de hidrogênio com as condições aplicadas.

Palavras-chave: pH inicial, pré-tratamento ácido, rendimento de hidrogênio, superfície de resposta, volume de inóculo.

ABSTRACT

LIMA, G. P. **Biohydrogen production from residual fruits and vegetables in anaerobic batch reactors**. 2020. 74 p. Dissertation (Master's in Chemical Engineering) – Federal University of Alagoas, Maceió, AL, 2020.

The amount of food losses has become an environmental, economic and social problem. Sustainable consumption and reuse can be alternatives to solve these problems. Anaerobic fermentation emerges as a low-cost alternative to reuse the residue, obtaining value-added products. This study investigated the effect of acid pretreatment (1,6-6,4% v/v), initial pH (4,00-7,00) and inoculum size (25-75% v/v) on fermentative biohydrogen production by acclimatized mixed cultures (50% v/v of substrate in 50% v/v heat-treated anaerobic sludge) was investigated in batch tests, using a full factorial design. An anaerobic fermentation was conducted in serum bottle with 42 mL working volume incubated at $35\pm 1^\circ\text{C}$ and 120 rpm. Modified Gompertz model could describe the progress of cumulative hydrogen production in the batch tests of this study successfully. The experiment showed that initial pH and inoculum size significantly influenced biohydrogen production individually and interactively. The maximum hydrogen yield of 646.7 mL/g of carbohydrate consumed during the fermentation was estimated at the acid pretreatment of 6.4% v/v. While the maximum hydrogen production rate of 2.3 mL/h was estimated at the acid pretreatment of 1.6% v/v. In both cases, the initial pH was 4.00 and the inoculum size was 75% v/v. In general, the results showed the potential for hydrogen production under the applied conditions.

Keywords: Initial pH, acid pretreatment, hydrogen yield, response surface, inoculum size.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Emissões de gases de efeito estufa por setores econômicos.	18
Figura 2 – Tecnologias de conversão de resíduos em energia.	19
Figura 3 – Comparação de desempenho entre as produções de hidrogênio.	21
Figura 4 – Caminhos microbianos para produção e consumo de H₂.	22
Figura 5 – Fluxograma das atividades desenvolvidas durante o estudo.	36
Figura 6 – Frutas e vegetais coletados no CEASA (a) e frutas e vegetais após o processamento no liquidificador.	37
Figura 7 – Composição do substrato coletado no CEASA.	37
Figura 8 – Aquecimento do lodo até 90°C por 10 minutos (a), resfriamento instantâneo do lodo até 25°C (b) e inóculo aclimatizado (c).	39
Figura 9 – Agitador vortex (a), balança analítica (b), digestor (c), espectrofotômetro (d) e soluções de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e de ácido sulfúrico e sulfato de prata (e).	42
Figura 10 – Agitador magnético (a), medidor de pH (b) e soluções padrões de pH iguais a 7,0 e 4,0 (c).	43
Figura 11 – Balança analítica (a), dessecador (b), estufa (c) e forno mufla (d).	43
Figura 12 – Agitador vortex (a), balança analítica (b), espectrofotômetro (c) e solução de fenol e ácido sulfúrico concentrado (d).	44
Figura 13 – Cromatógrafo gasoso Shimadzu® modelo GC-2010 (a), coluna Carboxen™ 1010 PLOT e injeção da amostra gasosa com o auxílio de uma seringa GASTIGHT® (c).	46
Figura 14 – Concentração de carboidratos totais de acordo com o pré-tratamento aplicado.	52
Figura 15 – Variação da resposta com os níveis dos três fatores.	54
Figura 16 – Gráfico das respostas médias em função dos fatores B e C.	55
Figura 17 – Gráfico de superfície de resposta para o rendimento de hidrogênio.	55
Figura 18 - Variação da resposta com os níveis dos três fatores.	58
Figura 19 – Gráfico das respostas médias em função dos fatores B e C.	59
Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para a taxa de produção de hidrogênio... 	59
Figura 21 - Produção acumulada de hidrogênio (a), rendimento de hidrogênio (b) e taxa de produção de hidrogênio (c) obtidos experimentalmente.	70

Figura 22 – Curvas de produção acumulada de H₂ ajustadas pelo modelo de Gompertz modificado.....71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação das principais propriedades do hidrogênio e outros combustíveis.	17
Tabela 2 – Comparação de diferentes processos de conversão de biomassa de resíduos em hidrogênio.	19
Tabela 3 – Comparação entre três tecnologias de produção de bio-hidrogênio.	20
Tabela 4 – Comparação entre pré-tratamentos do inóculo aplicados na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.	24
Tabela 5 – Comparação entre as faixas de pH aplicadas e o pH ótimo obtido na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.	25
Tabela 6 – Comparação entre os pré-tratamentos do substrato aplicados na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.	26
Tabela 7 – Comparação entre parâmetros na produção de H₂ a partir de resíduos alimentares em reatores anaeróbios em batelada.	33
Tabela 8 – Caracterização do substrato.	38
Tabela 9 – Caracterização do lodo.	38
Tabela 10 – Caracterização do lodo tratado termicamente e inóculo aclimatado.	39
Tabela 11 – Efeitos e níveis escolhidos no planejamento fatorial aplicado.	40
Tabela 12 – Matriz experimental para planejamento 2³.	40
Tabela 13 – Parâmetros físico-químicos analisados com seus respectivos equipamentos, métodos, reagentes, vidrarias e referências.	41
Tabela 14 – Significância Estatística, conforme o valor de P.	48
Tabela 15 – Parâmetros cinéticos para produção de hidrogênio calculado a partir do Modelo de Gompertz Modificado.	49
Tabela 16 – Resultados do planejamento fatorial 2³.	50
Tabela 17 – Análise da variância para o ajuste do modelo linear aos dados da Tabela 16.	51
Tabela 18 – Coeficientes codificados.	51
Tabela 19 – Efeito do pH inicial no valor do pH final.	53
Tabela 20 – Resultados do planejamento 2³.	56
Tabela 21 – Análise da variância para o ajuste do modelo linear aos dados da Tabela 21.	57
Tabela 22 – Coeficientes codificados.	57

Tabela 23 – Produção acumulada de H₂ (mL) obtida experimentalmente.69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CHO	Quantidade de carboidrato consumida durante a fermentação
CEASA	Centro de Abastecimento
CHT	Carboidratos totais
DQO	Demanda química de oxigênio
ETE	Estação de tratamento de esgoto
H	Produção acumulada
HY	Rendimento de hidrogênio
LCA	Laboratório de Controle Ambiental
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
P	Potencial de produção de hidrogênio
pH	Potencial hidrogeniônico
R _m	Taxa de produção de hidrogênio
ST	Sólidos totais
STF	Sólidos totais fixos
STV	Sólidos totais voláteis
t	Tempo
UASB	Reator anaeróbico de fluxo ascendente de manta de lodo
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
λ	Fase lag

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Geral	16
2.2	Específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Hidrogênio com Combustível Ecológico	17
3.2	Geração de Energia a partir de Hidrogênio	18
3.3	Fermentação anaeróbia	21
3.3.1	Rotas fermentativas e metabólicas	22
3.3.2	Fatores que influenciam a produção de bio-hidrogênio	23
3.4	Produção de bio-hidrogênio a partir de resíduo alimentar	27
4	MATERIAS E MÉTODOS	36
4.1	Substrato	36
4.2	Inóculo	38
4.3	Procedimento experimental	39
4.4	Métodos analíticos e cálculos	41
4.4.1	Análises físico-químicas	41
4.4.2	Cromatografia gasosa	45
4.4.3	Bio-hidrógeno produzido	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Efeito do pré-tratamento ácido, pH inicial e volume de inóculo no rendimento de hidrogênio (HY)	50
5.1.1	Efeito do pré-tratamento (HCl)	51
5.1.2	Efeito do pH inicial	52
5.1.3	Efeito do volume de inóculo	53
5.1.4	Efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo	53

5.1.5	Superfície de resposta.....	55
5.2	Efeito do pré-tratamento ácido, pH inicial e volume de inóculo na taxa de produção de hidrogênio (R_m).....	56
5.2.1	Efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo.....	57
5.2.2	Superfície de resposta.....	59
6	CONCLUSÃO.....	60
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	61
	REFERÊNCIAS	62
	APÊNDICE A - Curvas de produção de hidrogênio ajustadas pelo Modelo de Gompertz Modificado	69

1 INTRODUÇÃO

O desperdício de alimentos tem se tornado uma ameaça à sustentabilidade global. Cerca de um terço do alimento mundial adequado ao consumo humano, aproximadamente 1,3 bilhão de toneladas, é perdido ou não é consumido. Frutas e vegetais apresentam as maiores taxas de desperdício após o processo de produção, cerca de 45%, entre diferentes categorias de alimentos (FAO, 2012).

O aproveitamento de alimentos desperdiçados em processos que viabilizem a obtenção de fontes limpas e renováveis de energia acarretaria em reduções: de dinheiro e recursos perdidos, contaminação de águas subterrâneas e solo, bem como no consumo de combustíveis fósseis que contribuem com a emissões de gases do efeito estufa (NI et al., 2006; GUO et al., 2010; RAVANDI e JOVANOVIC, 2019).

Com relação aos resíduos alimentares, estes apresentam uma natureza heterogênea, possuindo composição variável dependendo da sua fonte, alto teor de umidade e baixo poder calorífico. Apesar destes fatores, processos de cunho químico, enzimático e biotecnológico são aplicados, de maneira ecológica e econômica, para obtenção de produtos de valor agregado utilizando este tipo de resíduo. Dentre estes produtos podemos citar: ácidos orgânicos, antioxidantes, bioativos, bioetanol, biobutanol, biodiesel, biogás, bioeletricidade, biopolímero, carvão ativado, enzimas industriais, inibidores de corrosão, pigmentos etc. (SINDHU et al., 2019).

O hidrogênio gasoso, como produto de valor agregado na geração de bioenergia, é caracterizado como uma fonte limpa, contendo uma capacidade energética superior ao dos combustíveis fósseis. Entretanto, sua aplicação ainda apresenta entraves, tais como as dificuldades de armazenagem. Este combustível pode ser obtido através de processos biológicos, físicos ou químicos.

Os processos de obtenção de hidrogênio a partir de combustíveis fósseis são considerados caros, demandam grande gasto energético e na maioria das vezes não são amigáveis do ponto de vista ambiental. Com o propósito de mitigar estes impactos, os processos biológicos ganham destaque por promoverem um método alternativo para produção de hidrogênio, realizado em condições brandas, apresentando baixo consumo energético e custo de processo, aliado à exploração ilimitada de recursos energéticos renováveis (WANG e WAN, 2009).

A fermentação anaeróbia, ou digestão anaeróbia, é um processo biológico que consiste na transformação de compostos orgânicos complexos em produtos mais simples através de um consórcio de microrganismos. A ampla variedade de fontes de carboidratos utilizada como substrato, bem como a formação de metabólitos intermediários de valor agregado, são alguns dos fatores positivos do processo. Teoricamente, 4 mols de H_2 são obtidos a partir de 1 mol de glicose quando o ácido acético é produto no efluente. Entretanto, rendimentos mais baixos são relatados devido a limitações microbianas.

A produção de bio-hidrogênio, via fermentação anaeróbia a partir de diversos resíduos alimentares em reatores em batelada, vem sendo amplamente estudada. Ismael et al. (2009) avaliou o efeito de quatro parâmetros, aplicando a metodologia de superfície de resposta, no resíduo oriundo de refeitório universitário. Kim, Kim e Shin (2009) e Elbeshbishy et al. (2011) investigaram o efeito de diferentes pré-tratamentos no resíduo coletado de um restaurante e uma planta de processamento orgânico, respectivamente. Basak et al. (2019) investigaram o efeito de diferentes pré-tratamentos aplicados no inóculo. Turhal, Turanbaev e Argun (2019) estudaram adição de inóculo na mistura de melancia e melão obtidos de um mercado local.

O presente estudo propõe a avaliação da produção de bio-hidrogênio, via fermentação anaeróbia, a partir de frutas e vegetais residuais oriundos de um centro de abastecimento através da investigação do efeito das variáveis pré-tratamento ácido (1,6-6,4% v/v), pH inicial (4,0-7,0) e volume de inóculo (25-75% v/v), aplicando o planejamento fatorial 2^3 .

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

O objetivo principal deste estudo foi avaliar as variáveis de processo envolvidas na produção de bio-hidrogênio em reatores anaeróbios em batelada a partir de frutas e vegetais residuais oriundos de um centro de abastecimento.

2.2 Específicos

- Aplicar a técnica de planejamento fatorial completo na análise do efeito das variáveis pré-tratamento ácido (1,6-6,4% v/v), pH inicial (4,0-7,0) e volume de inóculo (25-75% v/v) no processo de produção anaeróbia de bio-hidrogênio.
- Aplicar o modelo de Gompertz modificado para descrever a produção de hidrogênio e obter os parâmetros cinéticos: potencial de produção de hidrogênio (P), taxa de produção de hidrogênio (R_m) e fase lag (λ).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hidrogênio como Combustível Ecológico

A busca por novas fontes energéticas limpas e renováveis tem se intensificado ao longo dos anos, com o intuito de mitigar a crise energética e a degradação ambiental, fatores que prejudicam o desenvolvimento sustentável. O consumo dos combustíveis fósseis não apenas contribui com as mudanças climáticas, como também está limitado à questão do esgotamento das fontes naturais energéticas (NI et al., 2006; GUO et al., 2010).

Com o propósito de aliviar a dependência de combustíveis, como gasolina e diesel, a primeira geração de biocombustíveis; oriunda de culturas alimentares, como milho, cana-de-açúcar, e óleo de palma; tornou-se atrativa do ponto de vista ambiental. Entretanto, a competição com a alimentação ocasiona um aumento nos preços dos alimentos. A segunda geração de biocombustíveis; oriunda de plantas e resíduos agrícolas; apresenta-se como uma solução para sanar este impasse (GUO et al., 2010).

O hidrogênio gasoso é considerado uma fonte de energia limpa e apresenta uma alta densidade energética. Pode ser aplicado diretamente em motores a combustão ou, após purificação, em células a combustível para produção de eletricidade, pois apresenta uma capacidade energética superior ao dos combustíveis fósseis, tendo um teor energético por unidade de peso de 142 kJ/g, conforme disposto na Tabela 1. Além disto, como produto de sua combustão é gerado apenas água, o que o torna uma alternativa ambientalmente amigável (GUO et al., 2010; RAHMAN et al., 2016, ZHANG et al., 2020).

Tabela 1 – Comparação das principais propriedades do hidrogênio e outros combustíveis.

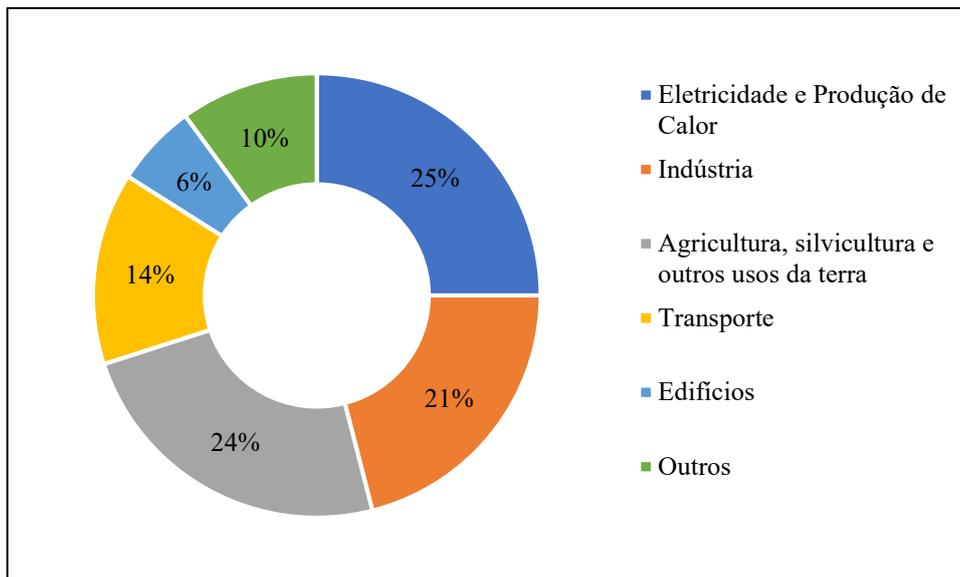
Combustível	Energia por unidade de massa (J/kg)	Energia por unidade de volume (J/m ³)	Emissão específica de carbono (kg C/kg combustível)
H ₂ (l)	142	10	0
H ₂ (g)	142	0	0
Óleo combustível	46	39	1
Gasolina	46	35	1
Metanol	22	18	1
Etanol	30	24	1
Biodiesel	37	33	1
Gás Natural	50	0	1

Fonte – Adaptado de Kothari, Tyagi & Pathak (2010).

3.2 Geração de Energia a partir de Hidrogênio

A extrema dependência dos combustíveis fósseis e à dificuldade de extração de petróleo contribuem para o aumento nos preços do petróleo bruto. Além disso, essa dependência em diferentes setores resulta na emissão de gases do efeito estufa (Figura 1). Portanto, o incentivo para o desenvolvimento de fontes energéticas limpas e renováveis ganha destaque no cenário atual.

Figura 1 – Emissões de gases de efeito estufa por setores econômicos.



Fonte – Adaptado de IPCC (2014).

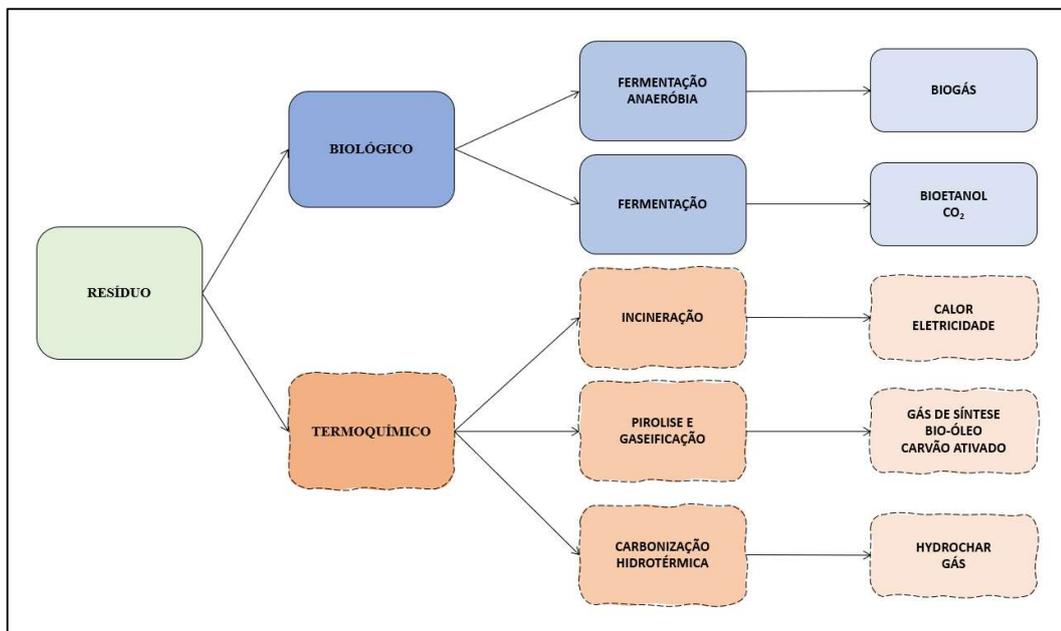
Apesar de sua abundância na Terra, o hidrogênio não é encontrado em sua forma elementar, mas sim em diversos compostos químicos ou em sua forma molecular. Está presente em aplicações químicas e petroquímicas, além de poder ser usado como combustível em ônibus, navios e submarinos (SINGH e WAHID, 2015; ŁUKAJTIS et al., 2018).

Aproximadamente 98% do hidrogênio é oriundo de combustíveis fósseis. Em todo o mundo, 40% do hidrogênio é produzido a partir de gás natural ou vaporização de hidrocarbonetos, 30% de óleo lubrificante (principalmente consumido nas refinarias), 18% do carvão e os 4% restante via eletrólise da água (MARBÁN e VALDÉS-SOLÍS, 2007; SINHA e PANDEY, 2011).

Várias tecnologias são aplicadas com o objetivo de converter resíduos alimentares em energia (Figura 2). A obtenção de hidrogênio gasoso pode ser dada através de processos biológicos, físicos ou químicos a partir de combustíveis fósseis, água e biomassa. Alguns destes métodos exigem alto consumo energético, tornando-os ainda não rentáveis, como por exemplo,

eletrólises de água, reforma a vapor de hidrocarbonetos e processos autotérmicos (KOTHARI, TYAGI E PATHAK, 2010; BHARATHIRAJA et al., 2016). Na Tabela 2 são apresentados diferentes processos de geração de hidrogênio, com suas respectivas vantagens e desvantagens.

Figura 2 – Tecnologias de conversão de resíduos em energia.



Fonte – Adaptado de Pham et al. (2015).

Tabela 2 – Comparação de diferentes processos de conversão de biomassa de resíduos em hidrogênio.

Processo	Vantagens	Desvantagens
Gaseificação termoquímica	A conversão máxima pode ser alcançada.	É necessário condicionamento significativo de gás; A remoção de alcatrão é importante.
Pirólise rápida	Produz bio-óleo.	Chances de desativação do catalisador.
Gaseificação Solar	Bom rendimento de hidrogênio.	Requer placas coletoras efetivas.
Conversão supercrítica	Pode processar lodo de esgoto, que é difícil de gaseificar.	Seleção de meio supercrítico.
Conversão microbiana	O resíduo, de origem sólida ou líquida, pode acarretar na geração de alguns metabólitos secundários.	Seleção de micróbios adequados.

Fonte – Adaptado de Kothari, Tyagi e Pathak (2010).

Os processos biológicos ganham destaque na produção de H₂ por empregarem recursos renováveis em condições normais de temperatura e pressão. Eles podem ser realizados na presença de luz (biofotólise ou fotofermentação), utilizando algas verdes, bactérias fotossintéticas e cianobactérias, ou na ausência de luz (fermentação anaeróbia) utilizando bactérias heterotróficas, como *Clostridium* (Tabela 3). Entre os processos biológicos citados, a fermentação anaeróbia é a mais atrativa pela quantidade de resíduos que podem ser utilizados na produção de H₂ (SARATALE et al., 2008; GHIMIRE et al. 2015; SILVA et al., 2018)

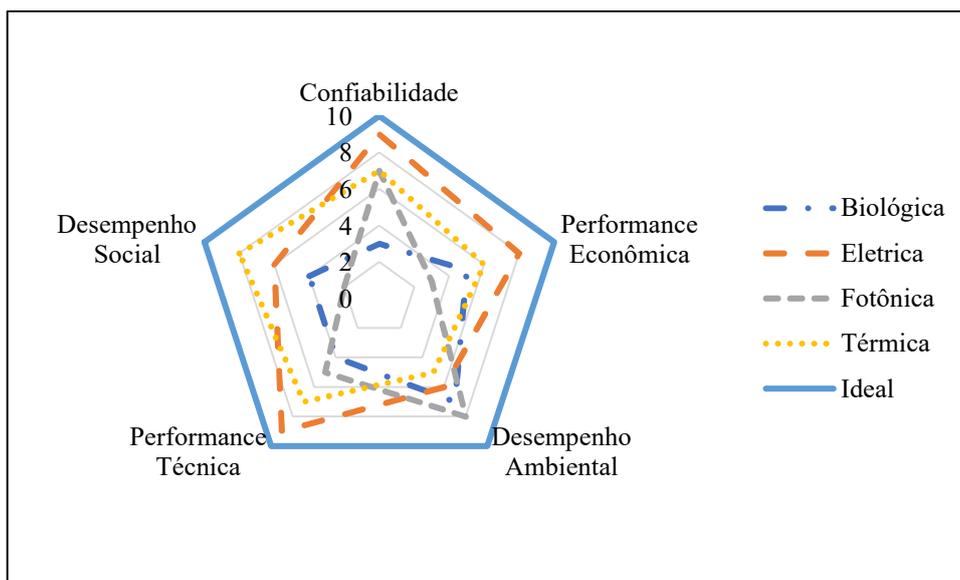
Tabela 3 – Comparação entre três tecnologias de produção de bio-hidrogênio.

Processo	Vantagens	Desvantagens	Organismos envolvidos
Biofotólise	Produção direta de H ₂ a partir do uso de água e luz;		
$2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$	Água abundante como substrato;	Baixa eficiência de conversão de luz, causando baixos rendimentos de H ₂ ;	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
Fotofermentação	Não há necessidade de substrato como nutriente. As bactérias podem utilizar o amplo espectro de energia luminosa;	Necessidade de fornecer energia luminosa.	
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2$	Compostos orgânicos são completamente convertidos em H ₂ e CO ₂ . Produz maior rendimento de H ₂ em comparação com outros processos de produção de bio-hidrogênio.		<i>Rhodobacter sphaeroides</i>
Fermentação escura	Não há necessidade de luz que H ₂ pode produzir durante todo o dia; Uma variedade de fontes de carbono pode ser usada, no processo.	Custo adicional ao processo devido à separação unidade para separar a mistura de produtos de CO ₂ e H ₂ .	<i>Clostridium sp.</i>

Fonte – Adaptado de Rahman et al. (2016).

O estudo realizado por Acar e Dincer (2019) compara o desempenho da produção de hidrogênio entre diferentes processos. Como podemos observar (Figura 3), os processos biológicos apresentam um alto desempenho ambiental, entretanto, apresentam baixos índices nos outros fatores. Em virtude disto, é importante investigar soluções para que os outros índices também atinjam um patamar mais próximo do ideal.

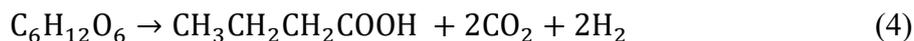
Figura 3 – Comparação de desempenho entre as produções de hidrogênio.



Fonte – Adaptado de Acar e Dincer (2019).

3.3 Fermentação anaeróbia

A fermentação anaeróbia ocorre em etapas sequenciais, englobando processos metabólicos complexos, na presença de três grupos de microrganismos: bactérias fermentativas ou acidogênicas que convertem, por hidrólise e fermentação, os compostos orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídeos) em outros compostos mais simples (ácidos orgânicos, além de hidrogênio e dióxido de carbono); bactérias sintróficas ou acetogênicas que convertem compostos orgânicos intermediários (propionato e butirato) em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono; e microrganismos metanogênicos que convertem o acetato e hidrogênio em metano e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 2007) (Figura 4).



3.3.2 Fatores que influenciam a produção de bio-hidrogênio

A complexidade da fermentação anaeróbia, decorrente da dependência de vários fatores envolvidos, afeta o rendimento de hidrogênio. Dentre estes fatores podemos citar: os elementos tóxicos, método de tratamento de inóculo, pH, substrato, taxa de carregamento orgânico, temperatura, tipo de reator etc.

3.3.2.1 Inóculo

A produção de hidrogênio pode ser realizada por intermédio de culturas microbianas mistas, derivadas de ambientes naturais, ou culturas puras, com microrganismos previamente selecionados. As culturas puras são sensíveis à contaminação, o que implica, na maioria dos casos, o emprego de condições assépticas e o consequente aumento do custo global do processo. Portanto, a aplicação de culturas mistas torna-se mais favorável. Apesar disto, os microrganismos consumidores de hidrogênio presentes nas culturas puras (arqueias metanogênicas, as bactérias homoacetogênicas e as bactérias sulfato e nitrato redutoras) precisam ser inibidos. O pré-tratamento é um método empregado com o objetivo de selecionar as bactérias acidogênicas e inibir as metanogênicas. Esta seleção acontece devido às bactérias acidogênicas possuírem a capacidade de se protegerem em condições adversas, através da formação de esporos, enquanto as metanogênicas não. Os pré-tratamentos podem ser classificados em: físico (irradiação eletromagnética e térmico), mecânico (ultrassom), químico (acetileno, iodopropano e ácido 2-bromoetano sulfônico (BESA)) e biológico (bactérias e enzimas) (ZHU e BELAND, 2006; SRIKANTH et al., 2010; SÁ, CAMMAROTA E FERREIRA-LEITÃO, 2014; PREETHI et al., 2019).

Nazlina et al. (2008) utilizaram como inóculo uma composição proporcional entre o lodo anaeróbio tratado termicamente e meio Clostridial, enquanto Ramos et al. (2012) também fizeram uso desta técnica, mas sendo o inóculo composto proporcionalmente por lodo anaeróbio tratado termicamente e substrato. Este procedimento chamado de aclimatação do inóculo tem como objetivo promover a adaptação das bactérias produtoras de hidrogênio sob condições anaeróbias.

Basak et al. (2019) aplicaram seis pré-tratamentos no inóculo com o intuito de avaliar o melhor rendimento de hidrogênio. A inibição dos microrganismos consumidores de H₂ foi mais efetiva nos pré-tratamentos com 2-bromoetano (1,66 mmol H₂/g DQO), térmico (1,22 mmol H₂/g DQO) e ácido (1,39 mmol H₂/g DQO). Isto se deve ao fato dos microrganismos metanogênicos serem submetidos a condições adversas, como pH abaixo de 6,3 e choque térmico, não sendo capazes de esporular, e por consequência, as chances de sobrevivência são diminuídas.

Na Tabela 4 são apresentados os pré-tratamentos comumente aplicados no inóculo para produção de hidrogênio em reatores anaeróbios em batelada.

Tabela 4 – Comparação entre pré-tratamentos do inóculo aplicados na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.

Inóculo [Origem]	Pré-tratamento	Referência
Lodo de esgoto [Digestor anaeróbico]	Térmico (10 min a 90°C)	Kim, Han e Shin (2004)
Cultura acidogênica [CSTR]	Lavagem com meio anaeróbio	Shin, Youn e Kim (2004)
Grama biodigerida anaerobicamente	Térmico (2 a 8 h e 60 a 120°C)	Lay et al. (2005)
Lodo de esgoto [Digestor anaeróbico]	Térmico (15 min a 80°C)	Ming et al. (2008)
Lodo anaeróbio [Tanque de decantação]	Térmico (20 min a 80°C)	Ismail et al. (2009)
Inóculo aclimatado (50 mL de lodo anaeróbio [Digestor anaeróbio] tratado termicamente + 50 mL de meio Clostridial)	Térmico (30 min a 80°C)	Nazlina et al. (2009)
Lama de rio	Térmico (Fervido por 15 min)	Wang et al. (2010)
Lodo anaeróbio	Térmico (20 min a 90°C/2 h a 550°C)	Kim et al. (2011)
Inóculo aclimatado (50% m/v) de lodo anaeróbio tratado termicamente + 50% m/v) de substrato)	Térmico (30 min a 80°C)	Yasin et al. (2011)
Lodo granular anaeróbio	Térmico (24 h a 104°C)	Ramos et al. (2012)

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

3.3.2.2 pH

A concentração de íons hidrônio afeta o rendimento de hidrogênio, pois é responsável por alterações nas rotas metabólicas, morfologia e estrutura celular de enzimas e microrganismos envolvidos no processo. Apesar do baixo pH inibir o consumo de hidrogênio pelos microrganismos metanogênicos, seu controle e manutenção são essenciais, pois, a produção de hidrogênio é acompanhada pela formação de ácidos orgânicos (acético, láctico, butírico e propiônico) que diminuem o pH do meio inibindo assim a atividade das enzimas responsáveis pela produção de hidrogênio. Um pH abaixo de 5 também limita a capacidade dos microrganismos de manterem o pH intracelular em uma faixa apropriada. A faixa de pH relatada para produção de hidrogênio está entre 5 e 7, sendo o pH ótimo em torno de 5,5, mas o tipo de substrato utilizado também pode afetar o pH ótimo (WANG e WAN, 2009; VASCONCELOS et al., 2016; ŁUKAJTIS et al., 2018).

Na Tabela 5 são apresentadas as faixas de pH aplicadas em experimentos para produção de hidrogênio em reatores anaeróbios em batelada.

Tabela 5 – Comparação entre as faixas de pH aplicadas e o pH ótimo obtido na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.

Substrato [Composição]	Faixa pH	pH _{ótimo}	Controle de pH	Referência
Restos de comida	4,5; 5,5 e 6,5	5,5	Sim	Shin, Youn e Kim (2004)
Resíduo de vegetais em forma de folha	5,5; 6,0; 6,5 e 7,0	7,0	Sim	Lee et al. (2008)
Resíduo refeitório	5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0	7,5	NR	Ismael et al. (2009)
Restos de comida	1,0 e 13,0; 7,0	NR	Sim	Kim, Kim e Shin (2009)
Restos de comida [Carboidrato:proteína:fibra (2:2:1)]	5,0; 6,0; 7,0 e 8,0	7,0	NR	Nazlina et al. (2009)
Restos de comida [Arroz, vegetais e peixe (2:1:1)]	5,0; 5,5 e 6,0	5,5	Sim	Yasin et al. (2011)
Restos de comida	5,5; 6,0 e 7,0	7,0	Sim	Ramos et al. (2012)
NR, não reportado.				

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

3.3.2.3 Composição e tratamento do substrato

A variedade e concentração de nutrientes disponíveis no meio é importante para que ocorra o crescimento microbiano. Neste contexto, os resíduos alimentares se apresentam como uma boa alternativa de substrato para a fermentação anaeróbia devido ao alto teor de carboidratos, proteínas, lipídios e energia. Apesar disto, técnicas são aplicadas para aumentar a quantidade de matéria orgânica disponível no meio facilitando a assimilação pelos microrganismos, e com isto, melhorando a performance do processo de fermentação. Dentre elas podemos citar os pré-tratamentos mecânicos, térmicos, químicos ou biológicos (DEEPANRAJ, SIVASUBRAMANIAN e JAYARAJ 2017; JIA et al., 2019; PREETHI et al. 2019).

Na Tabela 5 são apresentados os pré-tratamentos comumente aplicados no substrato para produção de hidrogênio em reatores anaeróbios em batelada.

Tabela 6 – Comparação entre os pré-tratamentos do substrato aplicados na produção de H₂ em reatores anaeróbios em batelada.

Substrato [Origem]	Pré-tratamento	Referência
Restos de comida [Refeitório]	Térmico (2 h a 160°C)	Ming et al. (2008)
Restos de comida [Refeitório]	Térmico, ácido e base	Kim, Kim e Shin (2009)
Bagaço de maçã [Fábrica de suco]	Ultrassom e ácido; térmico e ácido; e amônia	Wang et al. (2010)
Resíduo alimentar [Planta de processamento orgânico]	Ultrassom; aquecimento; ácido; base; ultrassom e aquecimento; ultrassom e ácido; e ultrassom e base	Elbeshbishy et al. (2011)
Restos de comida [Refeitório]	Térmico (20 min a 90°C)	Kim et al. (2011)
Frutas e vegetais (5,71% rabanete, 5,06% pimenta, 7,02% romã, 3,33% pera, 4,06% maçã, 2,06% abóbora, 1,68% tangerina, 7,45% tomate, 6,20% cebola, 12,90% pêsego, 2,28% limão, 11,34% barinjela, 8,68% cenoura, 2,59% laranja, 6,80% pepino, 4,13% repolho and 2,68% uvas) [Salão principal da prefeitura]	Secagem; e autoclavação	Abubackar et al. (2019)
	Secagem	Keshin et al. (2019)
Melão e melancia [Bazar]	Térmico (Fervido por 1 h)	Turhal, Turanbaev e Argun (2019)

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

3.4 Produção de bio-hidrogênio a partir de resíduo alimentar

Kim, Han e Shin (2004) produziram bio-hidrogênio a partir da co-digestão de resíduo alimentar de um refeitório e lodo de esgoto por fermentação em reatores anaeróbios em batelada. O experimento foi realizado em 32 frascos de soro (415 mL) sob várias concentrações de STV (0,5-5%) e taxas de misturas de dois substratos com base nos valores de STV (0:100-100:0). O lodo foi pré-tratado termicamente sob uma temperatura de 90°C por 10 min. Em todos os frascos foram adicionados: 200 mg de KH_2PO_4 ; 14 mg de $\text{MgCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2 mg de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; e 10 mg de FeCl_2 . Empregou-se em todos os frascos NaHCO_3 com a finalidade de ajustar a relação carboidrato/alcalinidade total para $1,0 \pm 0,1$. Além disso, foram preenchidos com 200 mL de água destilada e o pH do meio foi corrigido para 6,0 utilizando 1 M de HCl ou 1 M de KOH. O experimento ocorreu sob agitação de 120 rpm a 36°C. O potencial máximo de produção específica de hidrogênio foi de 122,9 ml H_2 /g STV quando a razão resíduo alimentar/lodo de esgoto foi de 87:13 e concentração a 3,0% de STV.

Shin, Youn e Kim (2004) estudaram a produção de hidrogênio a partir de resíduo alimentar oriundo de um refeitório por fermentação em reatores anaeróbios em batelada sob condições mesofílica e termofílica. O experimento foi conduzido em reatores em bateladas (715 mL) operados a 35 ou 55°C sob agitação de 100 rpm. Os reatores foram inoculados com culturas mesofílica ou termofílica e posteriormente pré-tratados com um meio anaeróbio de acordo com a metodologia de Shelton e Tiedge (1984). Foram adicionados nos reatores: 250 mL de meio anaeróbio; 150 mL de uma mistura de resíduo alimentar e água desionizada com 2,5 g de NaHCO_3 ; e 50 mL de inóculo. O pH do meio foi corrigido para as faixas de estudo (4,5; 5,5 e 6,5) com 2 N de KOH ou 2 N de HCl antes da adição do inóculo e durante o experimento. Posteriormente, variou-se a concentração de STV (3-10 g/L) para a melhor cultura acidogênica. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 0,1 mol H_2 /mol hexose para reator com concentração de STV de 6 g/L, cultura acidogênica termofílica e pH de 5,5.

Lay et al. (2005) investigaram os fatores que afetam a produção de hidrogênio a partir de resíduo alimentar (41% carboidratos, 26% proteínas, 15% lipídios e 18% outros) por compostos ricos em *Clostridium* via fermentação em biorreatores de alto teor de sólidos (HSBR) em batelada. O experimento foi conduzido em 32 reatores (120 mL) operados a 37°C sob agitação de 1,5 rpm. Os reatores foram inoculados com grama biodigerida anaerobicamente pré-tratada por choque térmico utilizando várias temperaturas e tempos de 60 a 120°C e de 2 e 8 h, respectivamente. Foi adicionada uma solução nutritiva em 1 L de água destilada contendo: 80 g de NH_4HCO_3 ; 40 g de KH_2PO_4 ; 4,0 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,4 g de NaCl; 0,4 g de

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,4 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,6 g de $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; e 0,11 g de FeCl_2 . O pH do meio foi corrigido para 7,0 utilizando 1 N de KOH. Além disto, diferentes concentrações de FeCl_2 (0 a 250 mg/L), NH_4HCO_3 (0 a 750 mg/L) e KH_2PO_4 (1.250 a 5.000 mg/L) foram aplicadas, com o auxílio da metodologia de superfície de resposta. O potencial máximo de produção específica de hidrogênio foi de 77 mL H_2 /g STV com concentrações de Fe^{2+} , NH_4^+ e PO_4^{3-} iguais a 132, 537, e 1.331 mg/L, respectivamente.

Lee et al. (2008) investigaram o efeito do pH na produção de hidrogênio a partir de resíduo vegetal sob condição termofílica (55°C) via fermentação anaeróbia. O experimento foi conduzido em reatores em bateladas (1,0 L) operados a 55°C sob agitação de 600 rpm. O pH foi mantido constante pela utilização de um controlador de pH acoplado a uma bomba peristáltica adicionando 2,5 N de NaOH. Os reatores foram inoculados com compostagem de resíduos de cozinha. Em cada reator foi adicionada uma solução nutritiva contendo: 0,175 mg/L de resazurina; 32,32 mg/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 232,26 mg/L de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 167,81 mg/L de KCl; 63,87 mg/L de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 3,87 mg/L de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,74 mg/L de H_3BO_3 ; 0,35 mg/L de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,33 mg/L de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,27 mg/L de ZnCl_2 ; 10,62 mg/L de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 217,35 mg/L de tioglicolato de sódio; e 119 mg/L de KH_2PO_4 . Na faixa de pH estudada (5,5-7,0), a máxima taxa de produção específica de hidrogênio foi de 0,48 mmol H_2 /g SSV/h em pH igual a 6,0 e o maior rendimento de hidrogênio foi de 0,57 mmol H_2 /g DQO em pH igual a 7,0.

Ming et al. (2008) aumentaram a produção de bio-hidrogênio adicionando rejeito de aterro sanitário ao resíduo alimentar oriundo de um refeitório universitário por fermentação em reatores anaeróbios em batelada. O experimento foi conduzido em 13 frascos de soro (250 mL), divididos em dois testes: exploratório e de pasteurização. No teste exploratório, foram utilizados 7 frascos, sob agitação de 120 rpm a 36°C, sendo 5 deles com diferentes razões em peso de rejeito de aterro sanitário/resíduo alimentar (5:100, 15:100, 25:100 e 50:100 g/g), 1 com carvão ativado em grânulos (GAC) e 1 carvão ativado em pó (PAC), ambos com razão de 15:100 g/g, e 1 apenas com lodo de esgoto. Empregou-se em todos os frascos NaHCO_3 com a finalidade de ajustar a relação carboidrato/alcalinidade total para 1,0 e inoculação do sistema com lodo de esgoto pré-tratado por aquecimento de 15 min a 80°C. No teste de pasteurização, foram utilizados 6 frascos com razão em peso de rejeito de aterro sanitário/resíduo alimentar constante (50:100 g/g), exceto um frasco que apenas continha 10 g de rejeito de aterro sanitário, em que foi aplicado um tratamento de esterilização a alta temperatura de 160°C por 2 h. Em ambos os testes foram adicionados 4,9 g de lodo de esgoto em todos os frascos. A concentração de hidrogênio aumentou 26,6% com a adição de rejeito de aterro sanitário (50:100 g/g), ocorrendo um aumento do pH de 4,5 para 6. O potencial máximo de produção de hidrogênio avaliado foi

de 193,85 mL H₂/g STV no frasco contendo tratamento de esterilização a alta temperatura do resíduo alimentar e do lodo de esgoto, com razão de rejeito de aterro sanitário/resíduo alimentar 50:100 g/g.

Pan et al. (2008) estudaram o efeito da razão entre substrato oriundo de resíduos domésticos e diferentes culturas microbianas para produção de bio-hidrogênio via fermentação em reatores anaeróbios em batelada (1 L), sob temperaturas de 35 e 50°C e sem agitação. Os reatores foram inoculados com culturas mesofílica ou termofílica e não ocorreu correção de pH do meio. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 57 mL H₂/g STV para o reator com razão substrato/cultura microbiana de 7, contento uma cultura microbiana termofílica.

Ismail et al. (2009) investigaram as melhores condições operacionais para a produção de bio-hidrogênio a partir da fermentação utilizando a metodologia de superfície de resposta, em reatores anaeróbios em batelada (160 mL). Entre os quatro parâmetros estudados, pH e temperatura foram aqueles que influenciaram significativamente na produção de bio-hidrogênio. Resíduos alimentares oriundos de um restaurante foram utilizados como substrato no experimento. O pH inicial em cada reator foi ajustado utilizando 1 M NaOH ou 1 M H₂SO₄. Além disso, adicionou-se 0,01 g/mL de NaHCO₃ como tampão para reduzir a variação de pH no meio. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 120 mL H₂/g CHO, encontrada sob um pH igual a 7,5 e temperatura de 55,7°C.

Kim, Kim e Shin (2009) avaliaram a produção de hidrogênio via fermentação sem a adição de inóculo a partir de resíduos alimentares aplicando três tipos de pré-tratamentos: aquecimento (90°C por 20 min); ácido (pH 1,0 por 1 d); e alcalino (pH 13,0 por 1 d). Foram realizados três testes: no primeiro e segundo foram conduzidos em reatores com volume de 635 mL; já no terceiro, o volume dos reatores foram de 7,5 L. Em todos os testes os reatores foram operados a 35°C e sob agitação de 100 rpm. O pH inicial foi corrigido para 7,0 utilizando 6N de HCl ou 6N de KOH, e durante o experimento o pH foi controlado para que estivesse acima de 5,0 pela adição de 3N de KOH. Além disso, a temperatura de pré-tratamento variou de 60 a 90°C (intervalo de 10°C) com o mesmo tempo de aquecimento de 20 min. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 0,1 mol H₂/mol hexose a 90°C.

Nazlina et al. (2009) avaliaram os efeitos de diferentes temperaturas, pH inicial e composição de substrato na produção de bio-hidrogênio a partir de resíduos alimentares por meio de fermentação em batelada. O substrato foi composto por resíduos alimentares (carboidrato:proteína:fibra na razão de 2:1:1) coletados de vários restaurantes. A proporção de água adicionada foi de 2 vezes maior do que a massa de substrato. Além disso, para controlar a razão de carboidrato/alcalinidade em 1,0, adicionou-se 0,84 g de NaH₂CO₃/100 mL de

substrato. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (150 mL) operados sob diferentes temperaturas (35-60°C), pH (5,0-8,0) e razão inóculo/substrato (10:90, 20:80, 30:70 e 40:60% v/v). Realizou-se uma aclimação em que foi promovida a mistura entre 50 mL de lodo anaeróbio tratado termicamente com 50 mL de Meio Clostridial Reforçado (RCM). Posteriormente, o lodo aclimado foi submetido a condições de temperaturas pré-definidas durante um período de 24 h. O máximo rendimento de hidrogênio foi 593 mL H₂/g CHO, sendo observada sob as condições de 55°C, pH igual a 7,0 e razão inóculo/substrato de 30/70% v/v.

Wang et al. (2010) produziram bio-hidrogênio via fermentação anaeróbia a partir de diferentes pré-tratamentos do bagaço de maçã. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (150 mL) operados a 37°C e sob agitação de 120 rpm. O bagaço de maçã, obtido de uma fábrica de suco, foi embebido em várias concentrações de solução diluída de HCl (0,0-0,8% v/v) com razão sólido/líquido igual a 1:10. Esta mistura foi aquecida sob uma temperatura de 70°C por 2 h, e posteriormente, o pH dela foi ajustado para 7,0 utilizando uma solução diluída de NaOH. O bagaço de maçã foi hidrolisado pela catálise da celulase num pH fixo de 5,0. Os reatores foram inoculados com lama de rio, que foi previamente fervida por 15 min. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 134,04 mL H₂/g ST para o reator com enzima hidrolisada na concentração de substrato fermentado de 15 g/L.

Elbeshbishy et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes pré-tratamentos aplicados aos resíduos alimentares, coletados de uma planta de processamento orgânico, através do processo de fermentação anaeróbia para produção de bio-hidrogênio. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (200 mL) operados a 37°C e sob agitação de 180 rpm, sendo os pré tratamentos aplicados: ultrassom, aquecimento, ácido, base, ultrassom/aquecimento, ultrassom/ácido e ultrassom/base. Não houve adição de inóculo e o pH inicial foi ajustado para 5,5 utilizando 1 N NaOH ou 1 N HCl. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 118 mL H₂/g STV e ocorreu quando foi utilizado o tratamento combinado entre ultrassom e ácido.

Kim et al. (2011) investigaram o efeito da adição de lodo de esgoto ao substrato, oriundo de um refeitório, na produção de bio-hidrogênio. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (200 mL) operados a 35°C e sob agitação de 100 rpm, sendo variadas as proporções de lodo tratado termicamente (0-40% da DQO do substrato). O pH foi mantido em 6,0 utilizando 3 N de KOH. No total, foram realizadas 3 bateladas: apenas com substrato; substrato com lodo tratado termicamente; e substrato com cinzas de lodo de esgoto. As composições entre substrato e lodo tratado termicamente apresentaram um rendimento médio de hidrogênio de 2,11 mol H₂/mol hexose, cerca de 13% maior do que o composto apenas por substratos.

Yasin et al. (2011) investigaram o efeito do pH na produção de hidrogênio a partir de resíduos alimentares sob condição termofílica (55°C) por meio da digestão anaeróbia. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (500 mL) operados a 55°C e sob agitação de 100 rpm. O substrato foi coletado de várias cafeterias, e apresentava composição na proporção de 2:1:1 de arroz, vegetais e peixe. 60 mL de lodo aclimado, contendo 50% m/v de lodo anaeróbio tratado termicamente e 50% m/v de substrato, foi utilizado como inóculo nos reatores. O pH do meio foi corrigido para as faixas de estudo (5,0-6,0) com 5 N de NaOH ou 5 N de H₂SO₄ no início e durante o experimento. O máximo rendimento hidrogênio foi de 79 mmol H₂/L/d para o reator com pH igual a 5,5.

Ramos et al. (2012) avaliaram os efeitos da concentração de sólidos totais e pH iniciais na produção de bio-hidrogênio utilizando resíduos alimentares através da fermentação anaeróbia. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (300 mL) operados a 36°C e sob agitação de 150 rpm. Os reatores foram inoculados com 4 g de lodo granular anaeróbio oriundo de reator UASB. As concentrações de sólidos totais utilizadas foram de 1, 5, 10, 40 e 90 g/L e a faixa de pH estudada foi de 5,5-7,0, sendo ajustado no início do experimento com 0,1 N de NaOH ou 0,1 N de HCl. Além disso, foi adicionado 0,5 mL de solução nutritiva em cada um dos reatores contendo: 200 g/L de NH₄HCO₃; 100 g/L de KH₂PO₄; 10 g/L de MgSO₄·7H₂O; 1,0 g/L de NaCl; 1,0 g/L de Na₂MoO₄·2H₂O; 1,0 g/L de CaCl₂·2H₂O; 1,5 g/L de MnSO₄·7H₂O; e 0,278 g/L de FeCl₂. A maior taxa de degradação específica foi de 192,2 mL H₂/g STV/d e ocorreu com a menor concentração de ST e um pH inicial de 7,0.

Basak et al. (2019) investigaram o efeito de diferentes pré-tratamentos no inóculo na produção de hidrogênio, utilizando a co-digestão de resíduos de frutas e vegetais e soro de queijo cottage. Também foram avaliados fatores como pH inicial, composição entre substrato e inóculo, e razão C/N. Os melhores rendimentos de hidrogênio foram encontrados nos pré-tratamentos 2-bromoetano (1,66 mmol H₂/g DQO), térmico (1,22 mmol H₂/g DQO) e ácido (1,39 mmol H₂/g DQO). O melhor rendimento (1,66 mmol H₂/g DQO) foi obtido com os seguintes parâmetros: pré-tratamentos do inóculo com 2-bromoetano, pH igual a 7, 35°C, composição substrato e inóculo de 10,6 g DQO/g STV e razão C/N igual a 26,8.

Keskin et al. (2019) investigaram o efeito da frequência de percolação enquanto Abubackar et al. (2019) investigaram o efeito do tamanho e autoclavagem na produção de hidrogênio a partir de restos de frutas e vegetais utilizando um sistema de fermentação seca. Os rendimentos de hidrogênio encontrados para o experimento de Keskin et al. (2019) foram de 57, 53 e 68 mL H₂/g STV/d para uma frequência de 2 vezes a percolação por dia, 1 vez a percolação por dia e 1 vez a percolação por 2 dias, respectivamente. Abubackar et al. (2019)

obtiveram o melhor rendimento de hidrogênio (23,53 mL H₂/g STV/d) quando o substrato foi autoclavado com um tamanho > 5 cm.

Turhal, Turanbaev e Argun (2019) avaliaram a produção de hidrogênio, via fermentação anaeróbica, da mistura entre melão e melancia com adição ou não de inóculo. O experimento foi conduzido em reatores em batelada (310 mL) operados a 36°C e sob agitação de 120 rpm. O lodo anaeróbio foi fervido por um intervalo de tempo de 1 h na presença de um meio de crescimento, e posteriormente utilizado como inóculo. O pH inicial ficou entre 5,5 e 6,0. Além disto, o efeito da concentração de substrato foi estudado (0,74-37 g ST/L). Apesar dos reatores sem inoculação produzirem hidrogênio, a inoculação aumentou a produtividade significativamente.

Esta revisão teve como objetivo apresentar diversos estudos relacionados à produção de hidrogênio a partir de restos de comida pelo processo biológico da fermentação anaeróbia, destacando os principais fatores de influência. Através dela, foi obtido o melhor entendimento destes fatores, ampliando o conhecimento sobre o processo e auxiliando nas discussões dos resultados obtidos. No cenário atual, o desenvolvimento de sistemas alternativos que contribuam com a geração de fonte de energia limpa e renovável são importantes para promover a diminuição do desgaste ambiental.

Tabela 7 – Comparação entre parâmetros na produção de H₂ a partir de resíduos alimentares em reatores anaeróbios em batelada.

Substrato [Origem]	Pré-tratamento substrato	V _{Reator}		Rotação (rpm)	pH	HY	Referência
		[V _{Reacional}] (mL)	T (°C)				
Co-digestão de restos de comida [Refeitório] e lodo de esgoto [Espessador por gravidade]	NA	415 [200]	35	100	6	NR	Kim, Han e Shin (2004)
Restos de comida [Refeitório]	NA	715 [500]	35 e 55	100	4,5; 5,5 e 6,5	0,1 ^a	Shin, Youn e Kim (2004)
Restos de comida (41% carboidratos, 26% proteínas, 15% lipídios e 18% outros)	NA	120	37	1,5	7	NR	Lay et al. (2005)
Resíduo de vegetais em forma de folha [Fábrica de coleta de resíduos]	NA	[1.000]	55	600	5,5; 6,0; 6,5 e 7,0	0,57 ^b	Lee et al. (2008)
Restos de comida [Refeitório]	Térmico (2 h a 160°C)	250	36	120	5	NR	Ming et al. (2008)
Restos de comida [Residências]	NA	1.000 [500]	35 e 50	Apenas manual antes da medição de hidrogênio	NR	57 ^c	Pan et al. (2008)
Resíduo refeitório [Refeitório universitário]	NA	160 [100]	45; 50; 55; 60 e 65	NA	5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0	120 ^d	Ismael et al. (2009)

^a mol H₂/mol hexose; ^b mmol H₂/g DQO; ^c mL H₂/g STV; ^d mL H₂/g CHO; ^e mL H₂/g ST; ^f mmol H₂/L/d; NA, não aplicado; NR, não reportado.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Tabela 7 – Comparação entre parâmetros na produção de H₂ a partir de resíduos alimentares em reatores anaeróbios em batelada (continuação).

Substrato [Origem]	Pré-tratamento substrato	V _{Reator} [V _{Reacional}] (mL)	T (°C)	Rotação (rpm)	pH	HY	Referência
Restos de comida [Refeitório]	Aquecimento, ácido e base	635 [200]; 7.500 [3000]	35	100	1,0 e 13,0; 7,0	2,05 ^a	Kim, Kim e Shin (2009)
Restos de comida (carboidrato:proteína:fibra (2:2:1)) [Restaurantes]	NA	150 [100]	35; 40; 50; 55 e 60	NR	5,0; 6,0; 7,0 e 8,0	593 ^d	Nazlina et al. (2009)
Bagaço de maçã [Fábrica de suco]	Ultrassom e ácido; térmico e ácido; e amônia	150 [100]	37	120	7,0	134,04 ^e	Wang et al. (2010)
Resíduo alimentar [Planta de processamento orgânico]	Ultrassom; aquecimento; ácido; base; ultrassom e aquecimento; ultrassom e ácido; e ultrassom e base	[200]	37	180	5,5	118 ^c	Elbeshbishy et al. (2011)
Restos de comida [Refeitório]	Térmico (20 min a 90°C)	[200]	35	100	6,0	2,11 ^a	Kim et al. (2011)
Restos de comida (arroz, vegetais e peixe (2:1:1)) [Restaurantes]	NA	500 [200]	55	100	5,0; 5,5 e 6,0	79 ^f	Yasin et al. (2011)
Restos de comida [Refeitório]	NA	300 [150]	36	150	5,5; 6,0 e 7,0	NR	Ramos et al. (2012)

^a mol H₂/mol hexose; ^b mmol H₂/g DQO; ^c mL H₂/g STV; ^d mL H₂/g CHO; ^e mL H₂/g ST; ^f mmol H₂/L/d; NA, não aplicado; NR, não reportado.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Tabela 7 – Comparação entre parâmetros na produção de H₂ a partir de resíduos alimentares em reatores anaeróbios em batelada (continuação).

Substrato [Origem]	Pré- tratamento substrato	V _{Reator} [V _{Reacional}] (mL)	T (°C)	Rotação (rpm)	pH	HY	Referência
Frutas e vegetais (5,71% rabanete, 5,06% pimenta, 7,02% romã, 3,33% pera, 4,06% maçã, 2,06% abóbora, 1,68% tangerina, 7,45% tomate, 6,20% cebola, 12,90% pêssego, 2,28% limão, 11,34% berinjela, 8,68% cenoura, 2,59% laranja, 6,80% pepino, 4,13% repolho e 2,68% uvas) [Salão principal da prefeitura]	Secagem; autoclavação	[8.000]	37	250	5,5-6,75	23,53 ^c	Abubackar (2019)
Frutas, vegetais [Restaurante] e soro de queijo cottage [Fábrica]	NA	3.000 [2500]	37	NR	4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0	1,66 ^b	Basak et al. (2019)
Frutas e vegetais (5,71% rabanete, 5,06% pimenta, 7,02% romã, 3,33% pera, 4,06% maçã, 2,06% abóbora, 1,68% tangerina, 7,45% tomate, 6,20% cebola, 12,90% pêssego, 2,28% limão, 11,34% berinjela, 8,68% cenoura, 2,59% laranja, 6,80% pepino, 4,13% repolho e 2,68% uvas) [Salão principal da prefeitura]	Secagem	[8.000]	NR	250	5,0	68 ^c	Keshin et al. (2019)
Melão e melancia [Bazar]	Térmico (Fervido por 1 h)	310 [80]	36	120	5,5-6,0	NR	Turhal, Turanbaev e Argun (2019)

^a mol H₂/mol hexose; ^b mmol H₂/g DQO; ^c mL H₂/g STV; ^d mL H₂/g CHO; ^e mL H₂/g ST; ^f mmol H₂/L/d; NA, não aplicado; NR, não reportado.

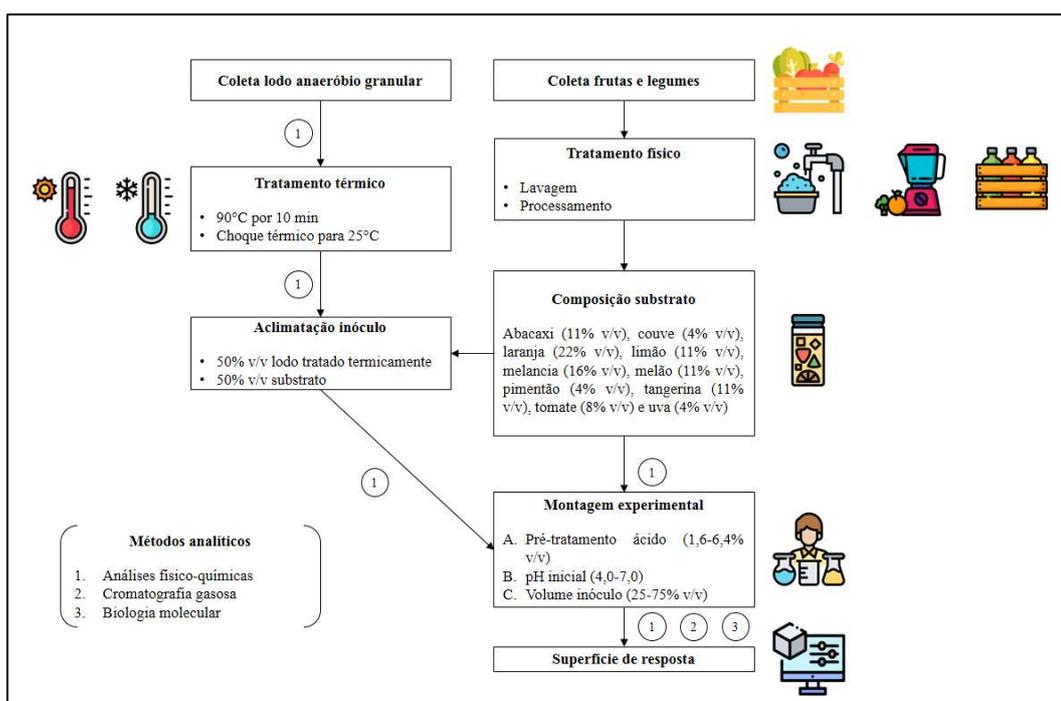
Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

4 MATERIAS E MÉTODOS

A produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais descartados foi monitorada no Laboratório de Controle Ambiental (LCA) e no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA), ambos localizados no Centro de Tecnologia da UFAL.

Durante o experimento, 16 reatores em batelada, com volume reacional igual a 42 mL mantidos sob uma temperatura de $35\pm 1^\circ\text{C}$ e rotação de 120 rpm, foram operados com o intuito de investigar três variáveis do processo de geração de bio-hidrogênio via fermentação anaeróbia: pré-tratamento ácido (HCl), pH inicial e volume de inóculo (Figura 5).

Figura 5 – Fluxograma das atividades desenvolvidas durante o estudo.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

4.1 Substrato

Frutas e vegetais descartados foram coletados no Centro de Abastecimento (CEASA), localizado no bairro Santos Dumont, em Satuba, Alagoas (Figura 6a). As frutas e vegetais foram cortados separadamente em pequenos pedaços, incluindo as cascas, e posteriormente, triturados por um liquidificador alta rotação industrial 2 L METVISA modelo LAR2220CC5 (Figura 6b). Para cada processamento, 250 mL de água foram adicionados, seguindo instruções do fabricante do liquidificador.

Figura 6 – Frutas e vegetais coletados no CEASA (a) e frutas e vegetais após o processamento no liquidificador.



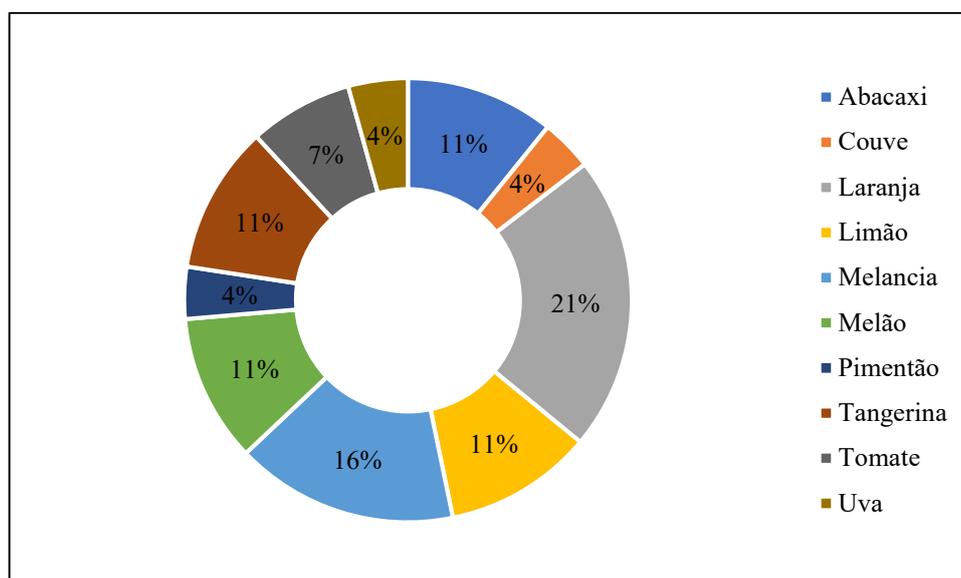
(a)

(b)

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

O substrato constituído por abacaxi, couve, laranja, limão, melancia, melão, pimentão, tangerina, tomate e uva foi armazenado em um freezer a -20°C e usado quando necessário. Sua composição foi determinada através do volume processado de cada tipo de fruta e vegetal, como mostra a Figura 7. Antes do experimento, o substrato foi fervido na presença do seu respectivo pré-tratamento ácido por um intervalo de tempo de 10 minutos. Este procedimento tem o objetivo de permitir a liberação de açúcares fermentáveis (ARGUN e DAO, 2018).

Figura 7 – Composição do substrato coletado no CEASA.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

A mistura, que constitui os diferentes tipos de fruta e vegetal, utilizada como substrato no experimento foi caracterizada quanto a DQO, pH, ST, STF, STV e CHT. A caracterização está resumida na Tabela 8.

Tabela 8 – Caracterização do substrato.

Parâmetros	Unidade	Valores
DQO	g/L	78
pH		3,67
ST	g/L	70
STF	g/L	4
STV	g/L	66
CHT	g/L	73

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

4.2 Inóculo

O lodo granular oriundo de um reator UASB foi coletado de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de um condomínio residencial, localizado no bairro Tabuleiro do Martins, em Maceió, Alagoas. A caracterização do lodo está resumida na Tabela 9.

Tabela 9 – Caracterização do lodo.

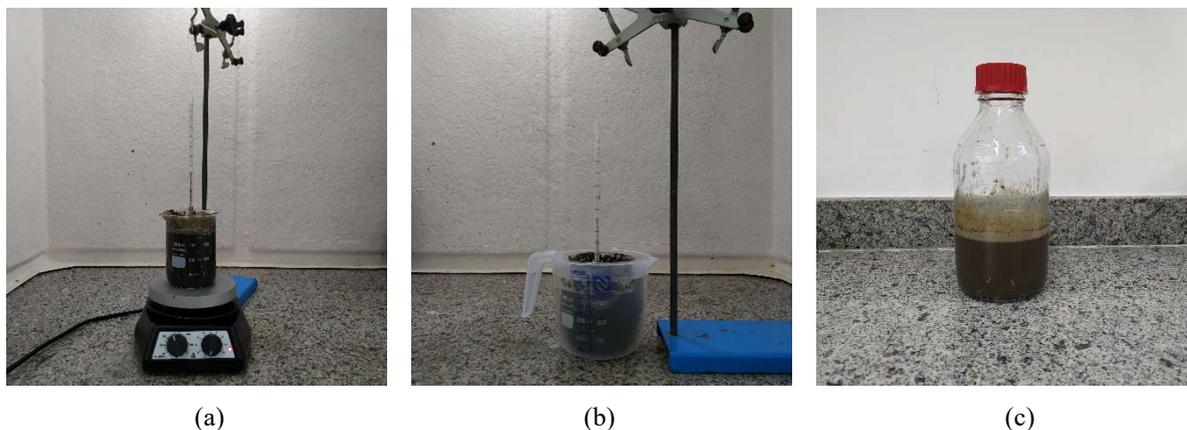
Parâmetros	Unidade	Valores
pH		6,38
ST	g/L	30
STF	g/L	6
STV	g/L	24

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

O lodo passou por um tratamento térmico que consistia em seu aquecimento até 90°C por 10 minutos (Figura 8a), e posteriormente resfriamento instantâneo até atingir a temperatura de 25°C (Figura 8b). Após este procedimento, o processo de aclimatização foi realizado adicionando 50% v/v de substrato e 50% v/v do lodo tratado termicamente, ajustado manualmente para 5,50 o pH do meio utilizando 1 M NaOH e 1 M HCL, em um reator nas condições de temperatura e rotação propostas no experimento, durante 24 h (Figura 8c). Além disto, adicionou-se 0,02 g/mL de NaHCO₃, o dobro da concentração adotada por Ismail et al. (2009), a fim de evitar variações no pH. Os processos aplicados tiveram como objetivo inibir o crescimento dos microrganismos consumidores de hidrogênio e promover a adaptação das

bactérias produtoras de hidrogênio sob condições anaeróbias, respectivamente (MAINTINGUER et al., 2008; SKONIECZNY e YARGEAU, 2009).

Figura 8 – Aquecimento do lodo até 90°C por 10 minutos (a), resfriamento instantâneo do lodo até 25°C (b) e inóculo aclimatizado (c).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

A caracterização do lodo tratado termicamente e do inóculo aclimatado estão resumidas nas Tabela 10.

Tabela 10 – Caracterização do lodo tratado termicamente e inóculo aclimatado.

Amostra	pH _{Final}	ST (g/L)	STF (g/L)	STV (g/L)
Lodo tratado termicamente	7,86	32	6	26
Inóculo aclimatado	4,05	54	25	29

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

4.3 Procedimento experimental

O planejamento experimental foi aplicado com o objetivo de extrair o máximo de informação do sistema em estudo, fazendo uso de princípios estatísticos, realizando o mínimo de experimentos possíveis e assim determinando a interação entre variáveis de forma racional e econômica (BARROS, SCARMINO e BRUNS, 2001).

O estudo das variáveis foi realizado por um planejamento fatorial 2³. Neste planejamento foram consideradas três variáveis (pré-tratamento ácido no substrato, pH inicial e volume de inóculo) resultando em 8 experimentos distintos, que foram realizados em duplicata totalizando 16 reações (Tabela 11).

Tabela 11 – Efeitos e níveis escolhidos no planejamento fatorial aplicado.

	Efeitos estudados	Unidade	-1	+1
A	Pré-tratamento ácido no substrato	% v/v	1,6	6,4
B	pH		4,00	7,00
C	Volume de inóculo	% v/v	25	75

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

O intervalo das variáveis foi determinado com base na revisão bibliográfica realizada. Os valores utilizados foram: pré-tratamento ácido no substrato de 1,6 e 6,4% v/v; pH inicial de 4,0 e 7,0; e volume de inóculo de 25 e 75% v/v. A Tabela 12 apresenta a matriz experimental para o planejamento fatorial. Nesta tabela, o nível -1 representa o limite inferior, enquanto o nível +1 representa o nível superior de cada variável. Além disso, A representa o pré-tratamento ácido aplicado no substrato; B o pH inicial; e C o volume de inóculo.

Tabela 12 – Matriz experimental para planejamento 2³.

Ensaio	Valores codificados			Valores não codificados		
	A (Pré-tratamento ácido)	B (pH inicial)	C (Volume de inóculo)	A (Pré-tratamento ácido)	B (pH inicial)	C (Volume de inóculo)
		% (v/v)	% (v/v)		% (v/v)	% (v/v)
1	-1	-1	-1	1,6	4,00	25
2	+1	-1	-1	6,4	4,00	25
3	-1	+1	-1	1,6	7,00	25
4	+1	+1	-1	6,4	7,00	25
5	-1	-1	+1	1,6	4,00	75
6	+1	-1	+1	6,4	4,00	75
7	-1	+1	+1	1,6	7,00	75
8	+1	+1	+1	6,4	7,00	75

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

A geração de bio-hidrogênio, através da fermentação anaeróbia, foi realizada em reatores de 106 mL, com volume reacional igual a 42 mL, sob uma temperatura de 35±1°C e rotação de 120 rpm mantidas por uma câmara incubadora refrigerada com agitação orbital (shaker) MARCONI modelo MA830. O pré-tratamento do substrato foi realizado com solução diluída de HCl (1,6-6,4% v/v) numa proporção de 1:3 (25% v/v de solução ácida diluída e 75% v/v de substrato). Essa mistura foi fervida por um intervalo de tempo de 10 minutos, sendo o inóculo aclimatado adicionado após o término do tempo predeterminado. O pH inicial foi ajustado manualmente utilizando 1 M NaOH e 1 M HCl. Além disto, adicionou-se em cada

reator 0,02 g/mL de NaHCO₃, o dobro da concentração adotada por Ismail et al. (2009), a fim de evitar variações no pH. Posteriormente, o headspace dos reatores foi borbulhado N_{2(g)} por um período de 3 minutos, sendo hermeticamente vedados com lacre de plástico e septos de borracha.

4.4 Métodos analíticos e cálculos

4.4.1 Análises físico-químicas

Os parâmetros físico-químicos analisados foram: demanda química de oxigênio (DQO), potencial hidrogeniônico (pH), série de sólidos (ST, STF, STV) e carboidratos totais (CHT) (Tabela 13).

Tabela 13 – Parâmetros físico-químicos analisados com seus respectivos equipamentos, métodos, reagentes, vidrarias e referências.

Análise	Unidade	Equipamentos	Método	Referência
DQO	mg/L	(1), (3), (4) e (5)	Espectrométrico	APHA, AWWA e WEF (2012)
pH		(2) e (9)	Potenciométrico	
Série de sólidos	mg/L	(3), (5), (7) e (8)	Gravimétrico	Dubois et al. (1956)
CHT	mg/L	(1) e (3)	Espectrométrico	

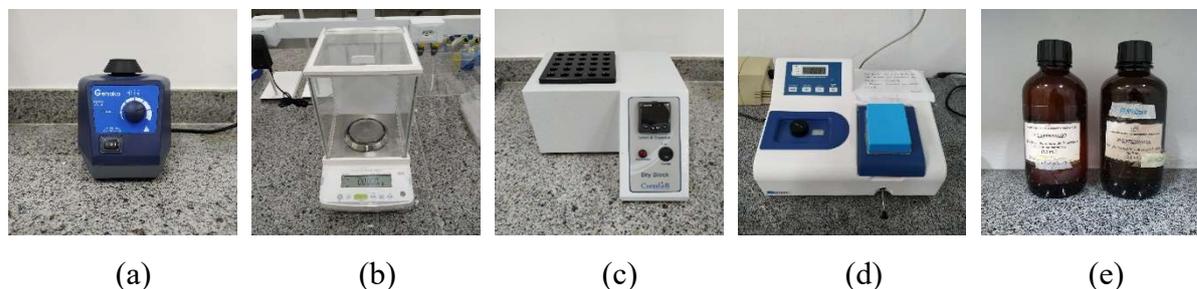
Equipamentos: Agitador de tubos tipo Vortex Gehaka® modelo AV-2 (1); Agitador magnético com aquecimento Fisatom® modelo 752A (2); Balança analítica Shimadzu® modelo ATX224 (3); Digestor CienlaB® modelo CE-350/30 (4); Dessecador (5); Espectrofotômetro KASUAKI® modelo IL-226 (6); Estufa Ethik Technology® modelo 400-2ND 200°C (7); Forno mufla Quimis® modelo Q318m24 (8); e Medidor de pH MS TECNOPON® modelo mPA210 (9).

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

4.4.1.1 Demanda química de oxigênio (DQO)

A demanda química de oxigênio (DQO) foi determinada pelo método espectrométrico de acordo com APHA, AWWA e WEF (2012). Os equipamentos utilizados durante a análise são apresentados na Figura 9, e o protocolo de análise está descrito no Quadro 1.

Figura 9 – Agitador vortex (a), balança analítica (b), digestor (c), espectrofotômetro (d) e soluções de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e de ácido sulfúrico e sulfato de prata (e).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Quadro 1 – Protocolo para determinação da DQO.

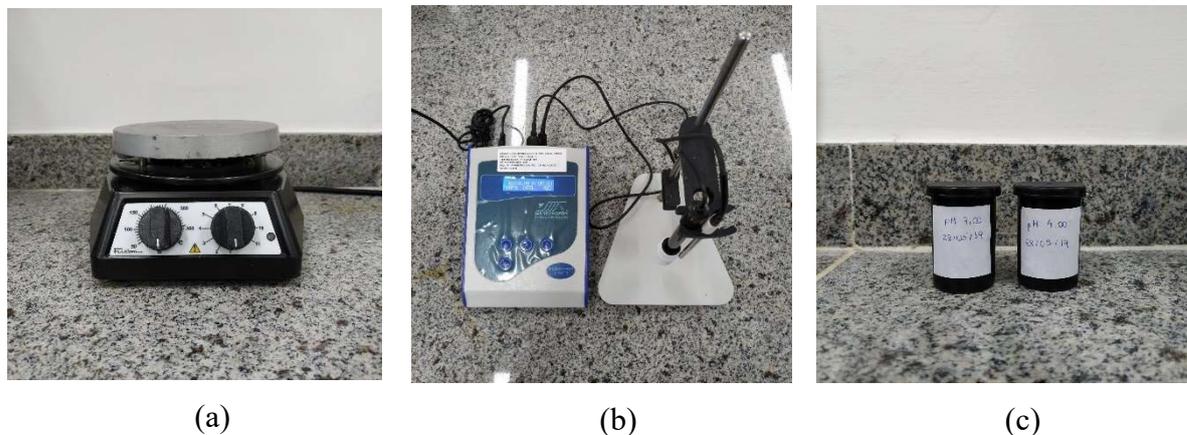
Protocolo para determinação da DQO

- Realizar a curva analítica de Absorbância (nm) vs. DQO (mg/L) em um processador gráfico para obtenção da equação de correlação e avaliação de representatividade e confiabilidade do método;
- Após realizar a curva de calibração, adicionar 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) ao tubo de ensaio;
- Adicionar 3,5 mL da solução de ácido sulfúrico e sulfato de prata;
- Adicionar 2,0 mL da amostra, pura ou diluída;
- Preparar o branco com 2,0 mL de água destilada;
- Fechar perfeitamente os tubos com a tampa apropriada e agitar o conteúdo;
- Digerir a amostra por 120 min a 150°C, com o auxílio de um digestor;
- Após o período de digestão, resfriar as amostras em local escuro para posterior leitura no espectrofotômetro;
- Ligar o espectro e ajustar seu comprimento de onda para 620 nm. Posteriormente, esperar, por aproximadamente, 20 minutos sua estabilização;
- Efetuar a leitura da amostra.

4.4.1.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado pelo método potenciométrico de acordo com APHA, AWWA e WEF (2012). Os equipamentos utilizados durante a análise são apresentados na Figura 10, e o protocolo de análise está descrito no Quadro 2.

Figura 10 – Agitador magnético (a), medidor de pH (b) e soluções padrões de pH iguais a 7,0 e 4,0 (c).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Quadro 2 – Protocolo para determinação do pH.

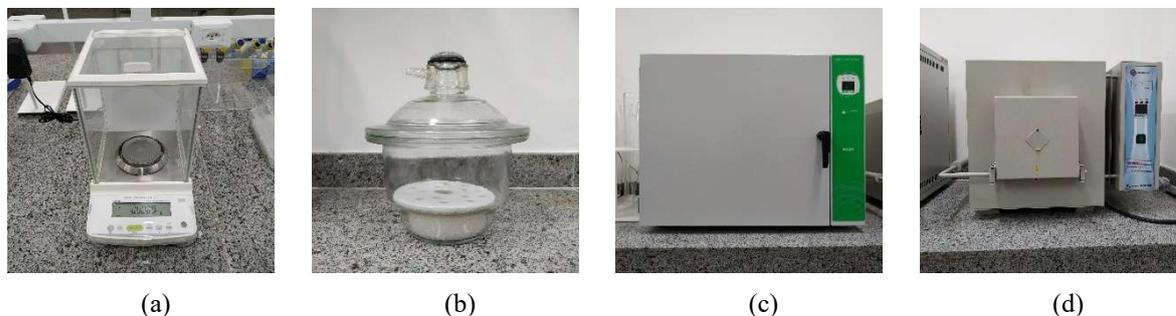
Protocolo para determinação do pH

- Ligar o medidor de pH e esperar, por aproximadamente, 30 minutos sua estabilização;
- Calibrar o equipamento com as soluções padrões de pH iguais 7,0 e 4,0;
- Após o término da calibração, efetuar a leitura da amostra até que o mostrador digital não apresente mais variações e então anotar o valor do pH da amostra.

4.4.1.3 Série de sólidos

A série de sólidos foi determinada pelo método gravimétrico de acordo com APHA, AWWA e WEF (2012). Os equipamentos utilizados durante a análise são apresentados na Figura 11, e o protocolo de análise está descrito no Quadro 3.

Figura 11 – Balança analítica (a), dessecador (b), estufa (c) e forno mufla (d).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Quadro 3 – Protocolo para determinação da série de sólidos.

Protocolo para determinação da série de sólidos

- Calcinar a cápsula vazia na mufla ($500 \pm 50^\circ\text{C}$) durante 1 h;
- Resfriar a cápsula em dessecador até atingir temperatura ambiente;
- Determinar o peso da cápsula vazia (P_0);
- Transferir um determinado volume de amostra para a cápsula;
- Acondicionar a cápsula com a amostra em estufa graduada a 105°C por um período de 24 h;
- Resfriar a cápsula com a amostra seca em dessecador até atingir temperatura ambiente;
- Determinar o peso da cápsula com a amostra seca (P_1);
- Calcinar a cápsula com a amostra seca na mufla ($500 \pm 50^\circ\text{C}$) durante 2 h;
- Resfriar a cápsula com a amostra calcinada em dessecador até atingir temperatura ambiente;
- Determinar o peso da cápsula com a amostra calcinada (P_2);
- Calcular a concentração (mg/L) de sólidos de acordo com a Equação 8.

$$\begin{aligned} \text{Sólidos Totais (ST)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) &= \frac{(P_1 - P_0) \cdot 10^6}{V_{\text{Amostra}}} \\ \text{Sólidos Totais Voláteis (STV)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) &= \frac{(P_1 - P_2) \cdot 10^6}{V_{\text{Amostra}}} \\ \text{Sólidos Totais Fixos (STF)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) &= \frac{(P_2 - P_1) \cdot 10^6}{V_{\text{Amostra}}} \end{aligned} \quad (8)$$

Em que:

P_0 – peso da cápsula, g;

P_1 – peso da cápsula mais amostra após secagem em estufa a 105°C , g;

P_2 – Peso da cápsula mais amostra após calcinação na mufla a 550°C , g;

V_{Amostra} – volume da amostra, mL.

4.4.1.4 Carboidratos totais (CHT)

Os carboidratos totais (CHT) foram determinados pelo método espectrométrico de acordo com Dubois et al. (1956). Os equipamentos utilizados durante a análise são apresentados na Figura 12, e o protocolo de análise está descrito no Quadro 4.

Figura 12 – Agitador vortex (a), balança analítica (b), espectrofotômetro (c) e solução de fenol e ácido sulfúrico concentrado (d).



(a)



(b)



(c)



(d)

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

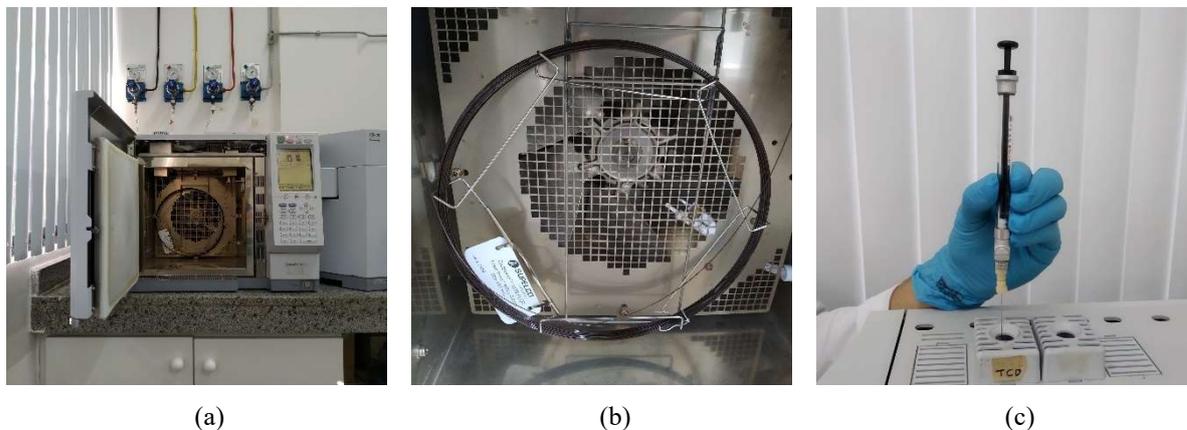
Quadro 4 – Protocolo para determinação dos CHT.**Protocolo para determinação dos CHT**

- Realizar a curva analítica de Absorbância (nm) vs. Glicose (mg/L) em um processador gráfico para obtenção da equação de correlação e avaliação de representatividade e confiabilidade do método;
- Após realizar a curva de calibração, adicionar 1,0 mL da amostra e 1,0 mL da solução de fenol ao tubo de ensaio;
- Agitar vigorosamente a mistura;
- Adicionar 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado e misturar bem;
- Realizar os procedimentos anteriores numa capela;
- Deixar em repouso no escuro durante 10 minutos;
- Após o repouso, agitar e posteriormente resfriar as amostras em local escuro, durante 30 minutos, para posterior leitura no espectrofotômetro;
- Ligar o espectro e ajustar seu comprimento de onda para 490 nm. Posteriormente, esperar, por aproximadamente, 20 minutos sua estabilização;
- Efetuar a leitura da amostra.

4.4.2 Cromatografia gasosa

O hidrogênio foi detectado e quantificado por intermédio de um cromatógrafo gasoso Shimadzu® modelo GC-2010 (Figura 13a) equipado com um detector de condutividade térmica (TCD) e uma coluna Carboxen™ 1010 PLOT com capilar de sílica fundida (30,00m x 0,53mm x 0,00µm), tendo o Ar como gás de arraste (Figura 13b). As temperaturas do injetor, detector e coluna foram 200, 230 e 35°C, respectivamente. O tempo total de análise foi de 5 minutos, sendo o hidrogênio detectado em $4,1 \pm 0,1$ min, aplicando uma rampa de temperatura de 35°C (5'). Para a análise, 1 mL do gás contido no headspace foi injetado manualmente no cromatógrafo gasoso com o auxílio de uma seringa GASTIGHT® com trava da marca HAMILTON® (Figura 13c). A calibração da cromatografia gasosa foi realizada usando 99,999% (v/v) de H₂. As configurações do equipamento para a análise estão dispostas no Quadro 5.

Figura 13 – Cromatógrafo gasoso Shimadzu® modelo GC-2010 (a), coluna Carboxen™ 1010 PLOT e injeção da amostra gasosa com o auxílio de uma seringa GASTIGHT® (c).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Quadro 5 – Configurações para detecção de H₂ por intermédio do cromatógrafo gasoso Shimadzu® modelo GC-2010.

Configurações para detecção de H₂ por intermédio do cromatógrafo gasoso Shimadzu® modelo GC-2010

a) SPL:

- Temperatura: 200°C;
- Gás de arraste: Argônio (Ar);
- Pressão: 37,1 kPa;
- Fluxo total: 24,4 mL/min;
- Fluxo coluna: 7,12 mL/min;
- Velocidade linear: 46,6 cm/s;
- Fluxo de purga: 3,0 mL/min;
- Razão Split: 2,0

b) Coluna:

- Temperatura: 35°C;
- Informações da coluna: Carboxen™ 1010 PLOT com capilar de sílica fundida;
- Temperatura máxima: 250°C;
- Comprimento: 30,0 m;
- Diâmetro interno: 0,53 mm;
- Espessura do filme: 0,00 µm;
- Programa de temperatura do forno da coluna: 35°C (5').

c) TCD:

- Temperatura: 230°C;
- Tempo total de análise: 5 min;
- Corrente: 35 mA;
- Polaridade: (-);

- Gás de arraste: Argônio (Ar);
- Fluxo de arraste: 3,0 mL/min.

4.4.3 Bio-hidrogênio produzido

As curvas de produção acumulada de hidrogênio foram obtidas durante o experimento em batelada, sendo calculadas de acordo com a Equação 9.

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_{H,0}(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (9)$$

Em que $V_{H,i}$ é o volume de hidrogênio acumulado no tempo atual; $V_{H,i-1}$ é o volume de hidrogênio acumulado no tempo anterior; $C_{H,i}$ é o volume de hidrogênio acumulado no headspace do recipiente no tempo atual; $C_{H,i-1}$ é o volume de hidrogênio acumulado no headspace do recipiente no tempo anterior; $V_{G,i}$ é o volume total de biogás no tempo atual; $V_{G,i-1}$ é o volume total de biogás no tempo anterior; e $V_{H,0}$ é o volume de hidrogênio acumulado no tempo inicial.

A produção acumulada de hidrogênio foi ajustada pelo modelo de Gompertz modificado (Equação 10) (Lay et al., 1999) com o auxílio do Solver presente no Microsoft Excel® (v 2001, Microsoft, USA).

$$H = P \cdot \exp \left[-\exp \left\{ \frac{R_m}{P} \cdot (\lambda - t) \cdot e + 1 \right\} \right] \quad (10)$$

Em que H é a produção acumulada de hidrogênio (mL); P é potencial de produção de hidrogênio (mL); R_m é a taxa de produção de hidrogênio (mL/h); t é o tempo de incubação dos reatores (h); e é o número de Euler (2,71828); e λ é a fase lag (h).

Neste estudo, o modelo de Gompertz modificado foi aplicado para ajustar a produção acumulada de hidrogênio para obter P , R_m e λ . O rendimento de hidrogênio foi calculado dividindo a produção acumulada pela quantidade de carboidrato consumida durante a fermentação (Equação 11).

$$HY = \frac{H}{C_C \cdot V_S} \quad (11)$$

Em que HY é o rendimento de hidrogênio; H é a produção acumulada de hidrogênio (mL); C_C é quantidade de carboidrato consumida durante a fermentação (g/L); e V_S é o volume do substrato presente (L).

O modelo linear (Equação 12) foi utilizado para ajustar os dados experimentais obtidos no planejamento fatorial 2³, a fim de se obter a menor falta de ajuste.

$$Y = X_0 + X_1 \cdot A + X_2 \cdot B + X_3 \cdot C + X_{12} \cdot A \cdot B + X_{13} \cdot A \cdot C + X_{23} \cdot B \cdot C + X_{123} \cdot A \cdot B \cdot C \quad (12)$$

Em que Y é a resposta; A, B e C são valores reais; X₀ é uma constante; X₁, X₂ e X₃ são coeficientes lineares; X₁₂, X₁₃, X₂₃ e X₁₂₃ são coeficientes interativos.

A análise da variância (ANOVA) foi realizada com o intuito de testar a significância do modelo de ajuste para os dados experimentais, bem como a significância dos termos lineares, termos interativos e termos quadráticos. Os parâmetros foram diagnosticados pelo coeficiente de correlação, R², limite de confiança de 95%, valor F e valor de P. Em geral, um valor F significativo e um bom R² (coeficiente de correlação) acarretam num modelo eficiente e viável (Tabela 14). As condições que poderiam fornecer a máxima produção de bio-hidrogênio foram previstas usando a otimização numérica.

Tabela 14 – Significância Estatística, conforme o valor de P.

Valor P	Significado
> 0,05	Não significativa
0,01 a 0,05	Significante
0,001 a 0,01	Muito significativa
< 0,001	Extremamente significativa

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo o modelo de Gompertz modificado (Equação 10) foi aplicado para ajustar os dados da produção acumulada de hidrogênio de cada reator, obtendo P, R_m e λ (Tabela 15). Os coeficientes de determinação (R^2) de todos os ajustes foram de 0,9689 a 0,9965, indicando que o modelo aplicado descrever o progresso da produção acumulativa de hidrogênio nos testes em batelada deste estudo com sucesso. O máximo potencial de produção de hidrogênio, rendimento e taxa foram de 506,0 mL, 647,8 mL/g CHO e 2,4 mL/h, respectivamente, e o mínimo foram de 86,6 mL, 283,3 mL/g CHO e 1,2 mL/h, respectivamente. Após o período de incubação o pH dos reatores estavam na faixa de 5,09-7,11.

Tabela 15 – Parâmetros cinéticos para produção de hidrogênio calculado a partir do Modelo de Gompertz Modificado.

Ensaio	A % v/v	B	C % v/v	H mL	R^2	P mL	HY mL/g CHO	R_m mL/h	λ h
1	1,6	4,00	25	271,1	0,9689	266,5	295,6	1,7	0,0
2	1,6	4,00	25	312,9	0,9782	321,2	351,8	1,8	0,0
3	6,4	4,00	25	261,4	0,9832	288,7	283,3	1,5	15,1
4	6,4	4,00	25	329,6	0,9829	362,6	357,2	1,8	11,6
5	1,6	7,00	25	433,4	0,9823	506,0	479,2	2,4	35,3
6	1,6	7,00	25	337,6	0,9842	375,4	373,2	1,8	6,6
7	6,4	7,00	25	336,7	0,9869	379,8	363,5	1,8	20,3
8	6,4	7,00	25	339,0	0,9839	388,2	357,1	2,0	34,7
9	1,6	4,00	75	155,9	0,9956	155,7	528,9	2,3	2,9
10	1,6	4,00	75	189,1	0,9894	187,0	631,2	2,4	0,0
11	6,4	4,00	75	193,8	0,9911	192,6	647,8	2,2	2,7
12	6,4	4,00	75	193,2	0,9875	191,1	645,6	1,9	0,7
13	1,6	7,00	75	87,0	0,9965	86,6	289,3	1,3	14,2
14	1,6	7,00	75	90,3	0,9955	90,1	306,2	1,3	6,2
15	6,4	7,00	75	95,8	0,9963	94,7	317,1	1,4	8,6
16	6,4	7,00	75	111,8	0,9895	111,0	365,5	1,2	4,9

A, pré-tratamento ácido; B, pH inicial; C, volume de inóculo; H, produção acumulada de hidrogênio; P, potencial de produção de hidrogênio; HY, rendimento de hidrogênio; R_m , taxa de produção de hidrogênio; λ , fase lag.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

As curvas de produção de hidrogênio ajustadas, para cada um dos reatores, pelo modelo de Gompertz modificado estão disponíveis no Apêndice A.

5.1 Efeito do pré-tratamento ácido, pH inicial e volume de inóculo no rendimento de hidrogênio (HY)

Os efeitos e níveis foram organizados numa matriz de planejamento 2^3 para estudar o efeito de três fatores (pré-tratamento ácido do substrato, pH inicial e volume de inóculo) no rendimento de hidrogênio, com o objetivo de maximizar a resposta. Os dados foram dispostos na Tabela 16.

Tabela 16 – Resultados do planejamento fatorial 2^3 .

Ensaio	A	B	C	HY		Média
	% v/v		% v/v	mL/g CHO		mL/g CHO
1	-1	-1	-1	295,6	351,8	323,7
2	+1	-1	-1	283,3	357,2	320,2
3	-1	+1	-1	479,2	373,2	426,2
4	+1	+1	-1	363,5	357,1	360,3
5	-1	-1	+1	528,9	631,2	580,0
6	+1	-1	+1	647,8	645,6	646,7
7	-1	+1	+1	289,3	306,2	297,7
8	+1	+1	+1	317,1	365,5	341,3

A, pré-tratamento ácido; B, pH inicial; C, volume de inóculo; HY, rendimento de hidrogênio.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

A Equação 13 foi obtida usando a Equação 12 para ajustar os dados experimentais do rendimento de hidrogênio.

$$\begin{aligned}
 \text{HY} \left(\frac{\text{mL}}{\text{g C}_C} \right) = & 412,0 + 5,1 \cdot A - 55,6 \cdot B + 54,4 \cdot C - 10,7 \cdot A \cdot B + 22,4 \cdot A \\
 & \cdot C - 91,3 \cdot B \cdot C + 4,9 \cdot A \cdot B \cdot C
 \end{aligned} \quad (13)$$

Em que A, B e C são os valores do pré-tratamento ácido aplicado no substrato (% v/v), pH inicial e volume de inóculo (% v/v), respectivamente.

A análise ANOVA do modelo de ajuste (Tabela 17) mostrou que o modelo foi altamente significativo ($p < 0,01$). O coeficiente de correlação (R^2) foi 0,9359, o que pode explicar a variabilidade de 93,59% da variável resposta. Tudo isto indica que a Equação 13 pode descrever o efeito do pré-tratamento ácido aplicado no substrato, pH inicial e volume de inóculo no rendimento de hidrogênio.

Tabela 17 – Análise da variância para o ajuste do modelo linear aos dados da Tabela 16.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática	Valor F	Valor P
Modelo	240.952	7	34.422	16,70	0,000
A	417	1	417	0,20	0,665
B	49.534	1	49.534	24,03	0,001
C	47.375	1	47.375	22,98	0,001
AB	1.832	1	1.832	0,89	0,373
AC	8.062	1	8.062	3,91	0,083
BC	13.3345	1	13.3345	64,68	0,000
ABC	386	1	386	0,19	0,677
Erro	16.492	8	2.062	-	-
Total	257.444	15	-	-	-

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Os resultados do Valor P e coeficiente de correlação mostram que o modelo de ajuste foi significativo (Tabela 17). Entretanto, para as variáveis, apenas o efeito linear do pH inicial e volume de inóculo, e o efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo foram altamente significativos no rendimento de hidrogênio ($p < 0,01$), indicando que esses termos tiveram grande impacto na variável resposta (Tabela 18).

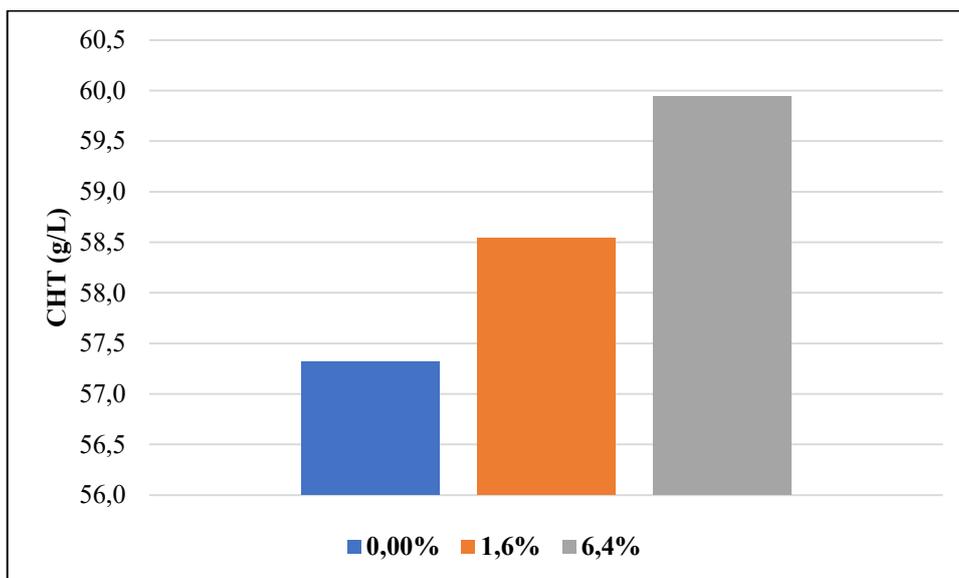
Tabela 18 – Coeficientes codificados.

Termo	Efeito	Coeficiente	Valor P
Constante		412,0	0,000
A	10,2	5,1	0,665
B	-111,3	-55,6	0,001
C	108,8	54,4	0,001
AB	-21,4	-10,7	0,373
AC	44,9	22,4	0,083
BC	-182,6	-91,3	0,000
ABC	9,8	4,9	0,677

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5.1.1 Efeito do pré-tratamento (HCl)

A Figura 14 mostra que ocorreu um aumento de 0,01% na concentração de carboidratos totais quando o substrato foi submetido ao pré-tratamento com ácido clorídrico nas diluições de 1,6 e 6,4% v/v. Além disto, o rendimento de hidrogênio aumentou 10,2 mL/g CHO em média quando a concentração de 6,4% v/v foi utilizada no pré-tratamento.

Figura 14 – Concentração de carboidratos totais de acordo com o pré-tratamento aplicado.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Apesar do efeito do pré-tratamento não ter sido significativo ($p > 0,05$) no planejamento aplicado, foi observado que o rendimento de hidrogênio aumentou com a maior concentração de solução ácida (6,4% v/v). Estudos anteriores mostram que maiores concentrações favorecerem a hidrólise do substrato, porém o crescimento de microrganismos produtores de H_2 pode ser inibido pelo excesso de Cl^- no meio e pela produção de inibidores, como o furfural (FAN et al., 2006; FAN et al., 2006; WANG et al., 2010; HAN et al., 2012). Entretanto, este fenômeno não foi observado no experimento. Cui et al. (2009) atribui essa inconsistência aos diferentes microrganismos produtores de H_2 presentes no meio.

5.1.2 Efeito do pH inicial

O rendimento de hidrogênio aumentou 111,3 mL/g CHO em média quando o pH inicial foi igual a 4,00. Após o período de incubação o pH dos reatores estavam na faixa de 5,09-7,11. Apesar da adição de $NaHCO_3$ foram observadas variações entre o pH inicial e final dos reatores, principalmente os que iniciaram com pH igual a 4,0 (Tabela 19).

Tabela 19 – Efeito do pH inicial no valor do pH final.

Ensaio	A	B	C	pH			Média
	% v/v		% v/v	Inicial	Final		
1	-1	-1	-1	4,00	5,14	5,25	5,20
2	+1	-1	-1	4,00	5,09	5,68	5,39
3	-1	+1	-1	7,05	6,24	6,32	6,28
4	+1	+1	-1	7,03	6,62	6,28	6,45
5	-1	-1	+1	4,03	6,65	6,64	6,65
6	+1	-1	+1	4,03	6,66	6,67	6,67
7	-1	+1	+1	7,03	7,06	7,09	7,08
8	+1	+1	+1	7,07	7,11	7,02	7,07

A, pré-tratamento ácido; B, pH inicial; C, volume de inóculo.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

O pH inicial foi significativo ($p < 0,01$) no planejamento aplicando. Estudos anteriores mostram que o controle do pH estimula os microrganismos a produzirem hidrogênio. Entretanto, valores baixos e altos de pH inibem a produção de hidrogênio pela limitação na capacidade dos microrganismos manterem o pH intracelular e pela diminuição da atividade da enzima hidrogenase, respectivamente (FAN et al., 2006; AZMAN et al., 2016; BASAK et al., 2019). Este fenômeno não foi observado no experimento. Possivelmente a adição de NaHCO_3 pode ter ocasionado uma elevação do pH reacional, e com isto, ter influenciado o rendimento de hidrogênio.

5.1.3 Efeito do volume de inóculo

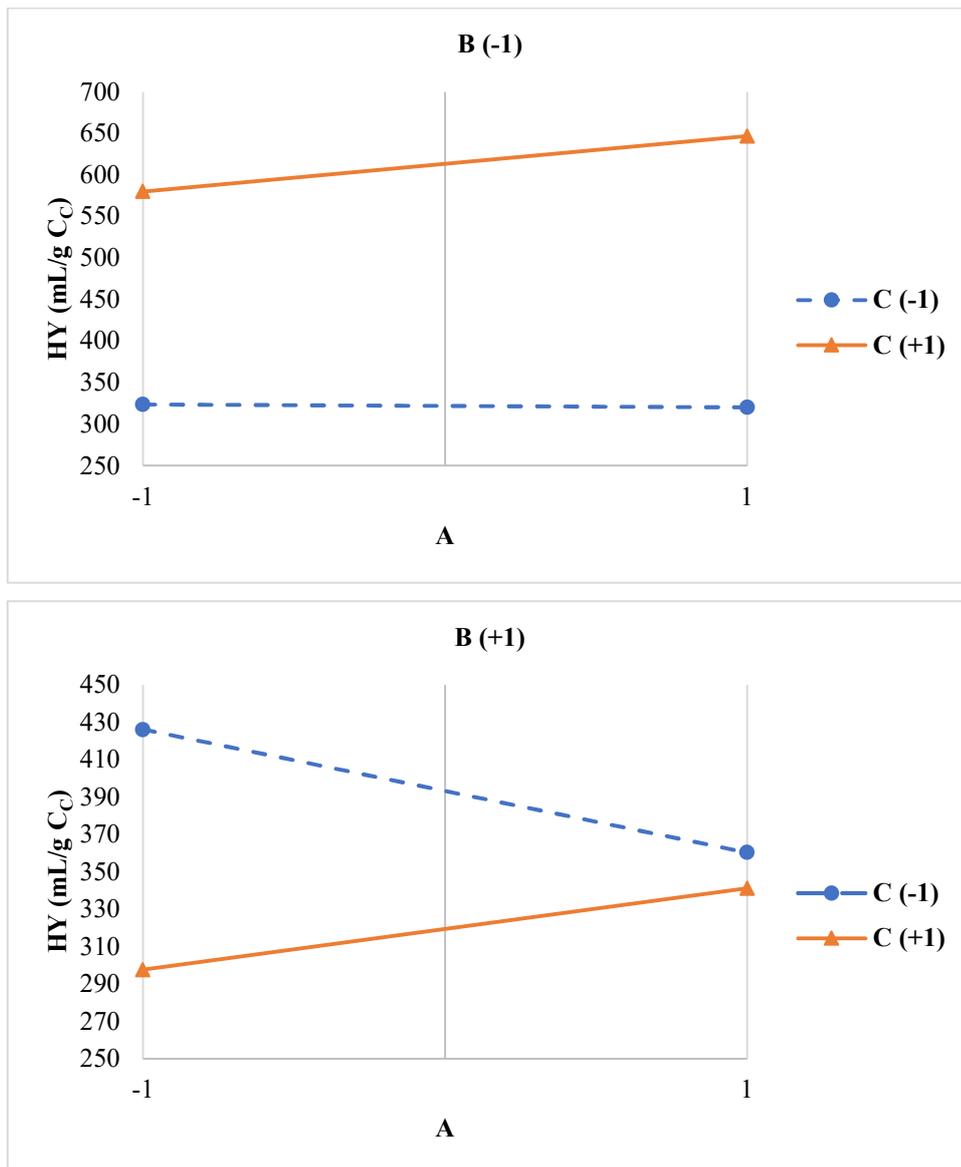
O rendimento de hidrogênio aumentou 108,8 mL/g CHO em média quando o volume de inóculo foi igual a 75% v/v. A produção de hidrogênio está associada ao crescimento microbiano. Entretanto, é reportado que o aumento do volume de inóculo pode elevar o consumo da fonte de carbono pelos microrganismos, promovendo uma maior produção de biomassa e inibição na geração de hidrogênio (ALSHIYAB et al., 2008; NAZLINA et al., 2009; AZMAN et al., 2016; ARGUN e DAO, 2017).

5.1.4 Efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo

Elevando o pH inicial, observa-se uma redução do rendimento de hidrogênio quando está presente um maior volume de inóculo (% v/v) e um aumento quando está presente um menor volume de inóculo (% v/v), cerca de -293,9 e +71,3 mL/g CHO, respectivamente. Com

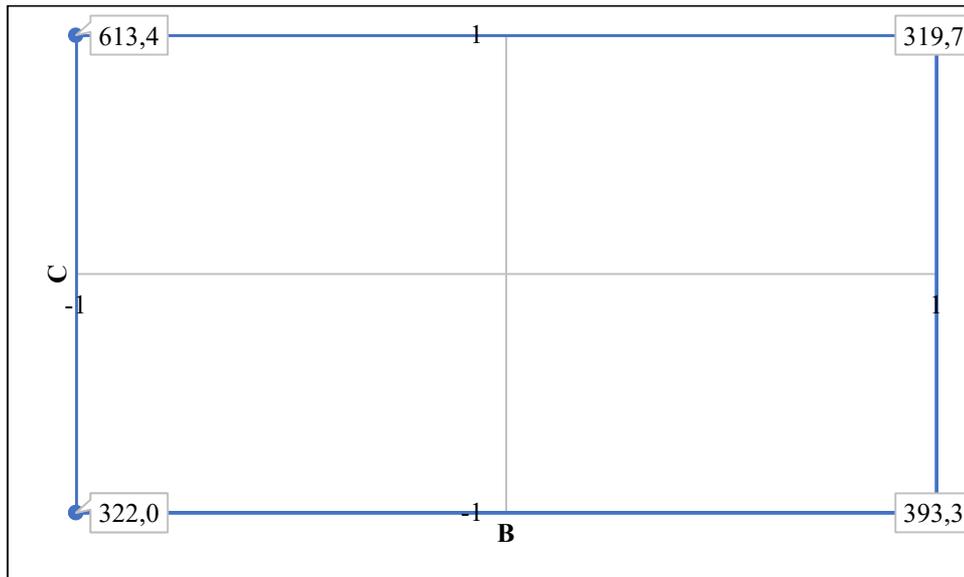
o aumento de volume de inóculo (% v/v) o rendimento de hidrogênio aumenta com o pH inicial menor e diminui com o pH inicial maior, cerca de +291,4 e -73,8 mL/g CHO, respectivamente (Figura 15). Isto indica que os maiores rendimentos de hidrogênio (613,4 mL/g CHO, em média) foram obtidos com pH inicial igual a 4,0 e volume de inóculo de 75% v/v (Figura 16).

Figura 15 – Variação da resposta com os níveis dos três fatores.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Figura 16 – Gráfico das respostas médias em função dos fatores B e C.

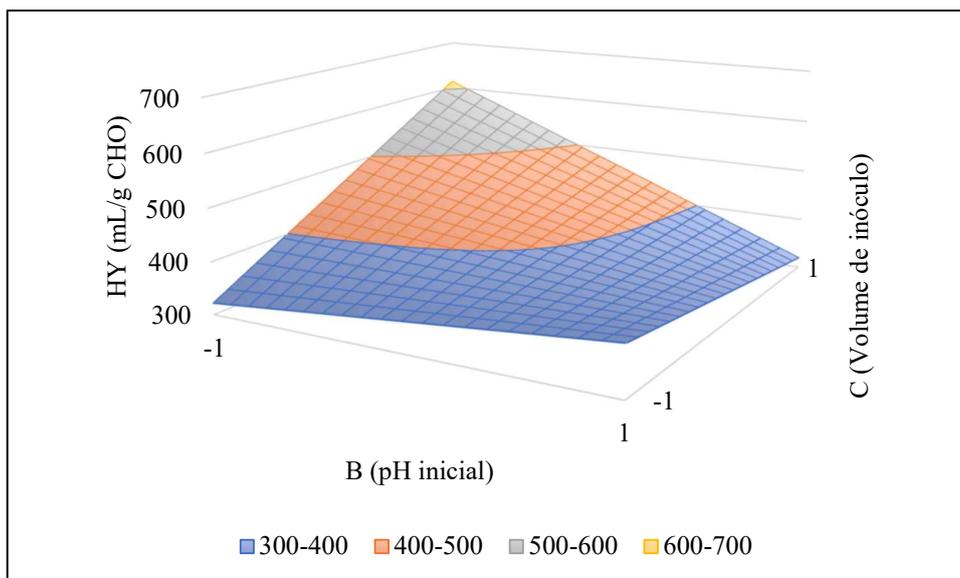


Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5.1.5 Superfície de resposta

A Figura 17 mostra o gráfico da superfície de resposta do modelo com base na Equação 13 para o rendimento da produção de hidrogênio. O rendimento aumentou com a diminuição do pH e aumento do volume de inóculo (% v/v).

Figura 17 – Gráfico de superfície de resposta para o rendimento de hidrogênio.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5.2 Efeito do pré-tratamento ácido, pH inicial e volume de inóculo na taxa de produção de hidrogênio (R_m)

Os efeitos e níveis foram organizados numa matriz de planejamento 2^3 para estudar o efeito de três fatores (pré-tratamento ácido, pH inicial e volume de inóculo) na taxa de produção de hidrogênio (R_m), com o objetivo de maximizar a resposta. Os dados foram dispostos na Tabela 21.

Tabela 20 – Resultados do planejamento 2^3 .

Ensaio	A % v/v	B	C % v/v	R_m mL/h	Média mL/h
1	-1	-1	-1	1,70	1,79
2	+1	-1	-1	1,51	1,77
3	-1	+1	-1	2,44	1,77
4	+1	+1	-1	1,78	1,97
5	-1	-1	+1	2,27	2,41
6	+1	-1	+1	2,15	1,93
7	-1	+1	+1	1,32	1,31
8	+1	+1	+1	1,44	1,18

A, pré-tratamento ácido; B, pH inicial; C, volume de inóculo; R_m , taxa de produção de hidrogênio.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

A Equação 14 foi obtida usando a Equação 12 para ajustar os dados experimentais da taxa de produção de hidrogênio.

$$R_m \left(\frac{\text{mL}}{\text{h}} \right) = 1,80 - 0,16 \cdot A - 0,29 \cdot B - 0,09 \cdot C + 0,04 \cdot A \cdot B + 0,01 \cdot A \cdot C - 0,59 \cdot B \cdot C + 0,10 \cdot A \cdot B \cdot C \quad (14)$$

Em que A, B e C são os valores do pré-tratamento ácido aplicado no substrato (% v/v), pH inicial e volume de substrato (% v/v), respectivamente.

A análise ANOVA do modelo de ajuste (Tabela 22) mostrou que o modelo foi significativo ($p < 0,05$). O coeficiente de correlação (R^2) foi 0,8430, o que pode explicar a variabilidade de 84,30% da variável resposta. Tudo isto indica que a Equação 14 pode descrever o efeito do pré-tratamento ácido aplicado no substrato, pH inicial e volume de inóculo na taxa de produção de hidrogênio.

Tabela 21 – Análise da variância para o ajuste do modelo linear aos dados da Tabela 21.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Nº de g. l.	Média Quadrática	Valor F	Valor P
Modelo	1,90066	7	0,27152	6,13	0,010
A	0,09846	1	0,09846	2,22	0,174
B	0,33199	1	0,33199	7,50	0,025
C	0,03174	1	0,03174	0,72	0,422
AB	0,00763	1	0,00763	0,17	0,689
AC	0,00022	1	0,00022	0,01	0,945
BC	1,38761	1	1,38761	31,35	0,001
ABC	0,04300	1	0,04300	0,97	0,353
Erro	0,35408	8	0,04426	-	-
Total	2,25474	15	-	-	-

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Os resultados do Valor P e coeficiente de correlação mostram que o modelo de ajuste foi significativo (Tabela 22). Entretanto, para as variáveis, apenas o efeito linear do pH inicial e o efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo foram significativos no rendimento de hidrogênio ($p < 0,05$), indicando que esses termos tiveram impacto na variável resposta (Tabela 23).

Tabela 22 – Coeficientes codificados.

Termo	Efeito	Coeficiente	Valor P
Constante		1,7951	0,000
A	-0,1569	-0,0784	0,174
B	-0,2881	-0,1440	0,025
C	-0,0891	-0,0445	0,422
AB	0,0437	0,0218	0,689
AC	0,0074	0,0037	0,945
BC	-0,5890	-0,2945	0,001
ABC	0,1037	0,0518	0,353

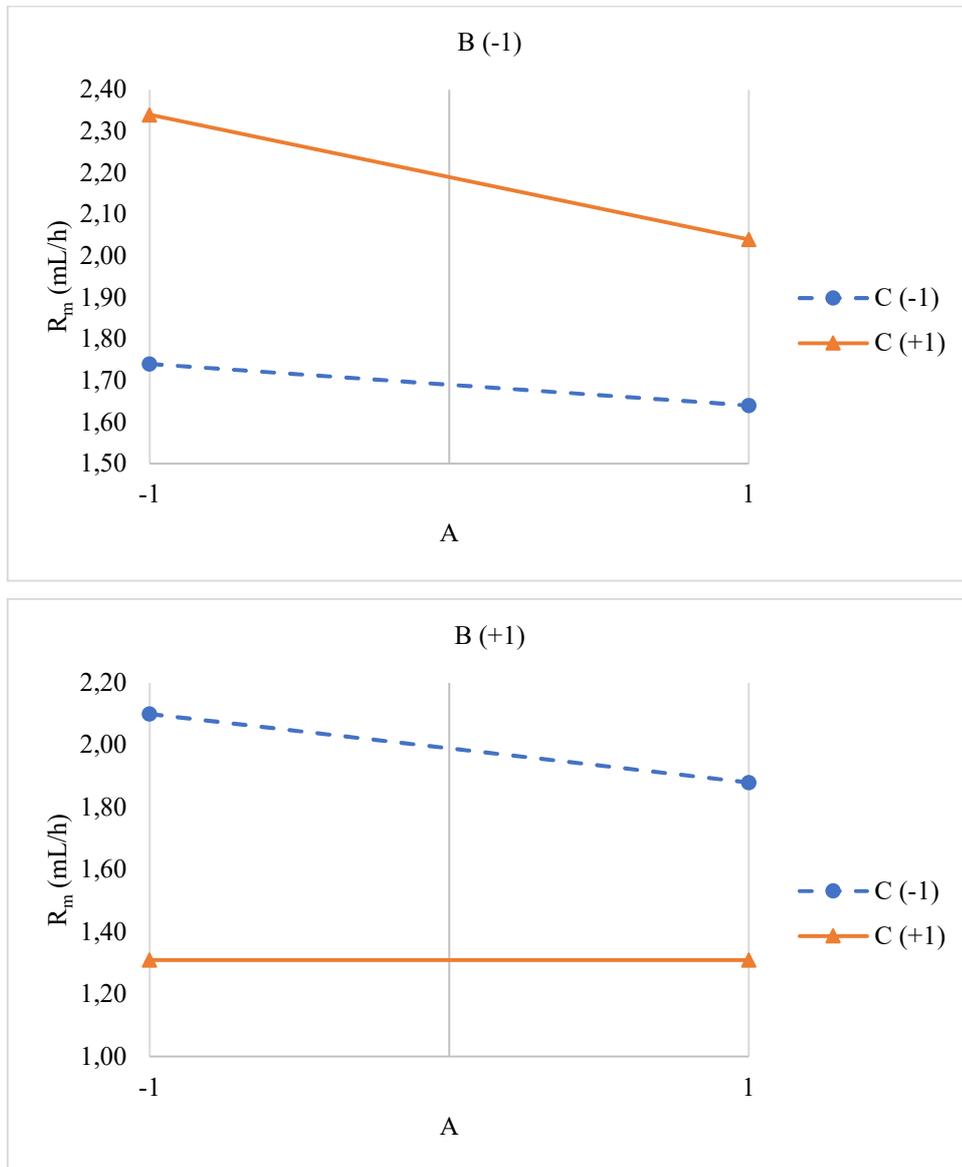
Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5.2.1 Efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo

Elevando o pH inicial, observa-se uma redução na taxa de produção de hidrogênio quando está presente um maior volume de inóculo (% v/v) e um aumento quando está presente um menor volume de inóculo (% v/v), cerca de -0,88 e +0,30 mL/h, respectivamente. Com o aumento de volume de inóculo (% v/v) a taxa de produção de hidrogênio aumenta com o pH

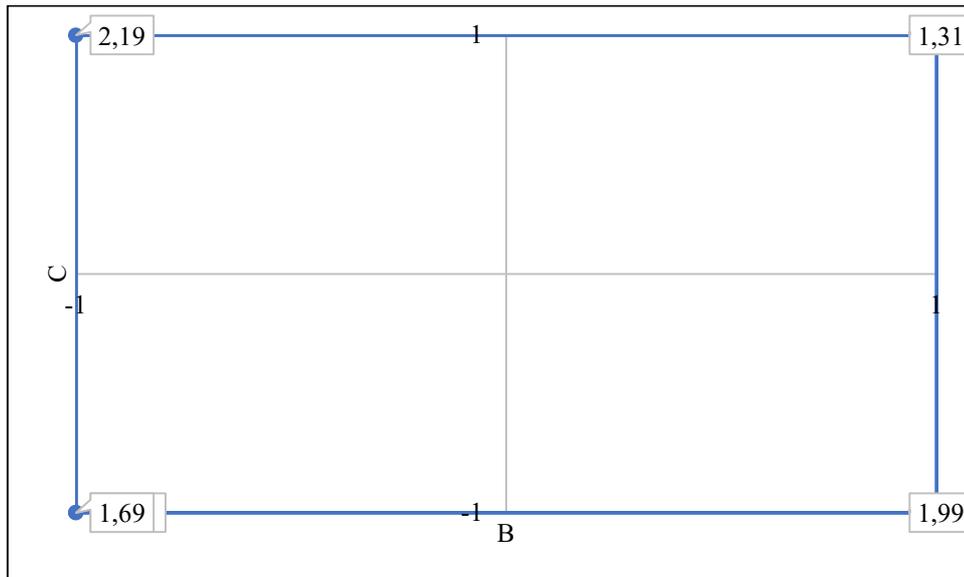
inicial menor e diminui com o pH inicial maior, cerca de +0,50 e -0,68 mL/h, respectivamente (Figura 18). Isto indica que as maiores taxas de produção hidrogênio (2,19 mL/h, em média) foram obtidos com pH inicial igual a 4,0 e volume de inóculo de 75% v/v (Figura 19).

Figura 18 - Variação da resposta com os níveis dos três fatores.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Figura 19 – Gráfico das respostas médias em função dos fatores B e C.

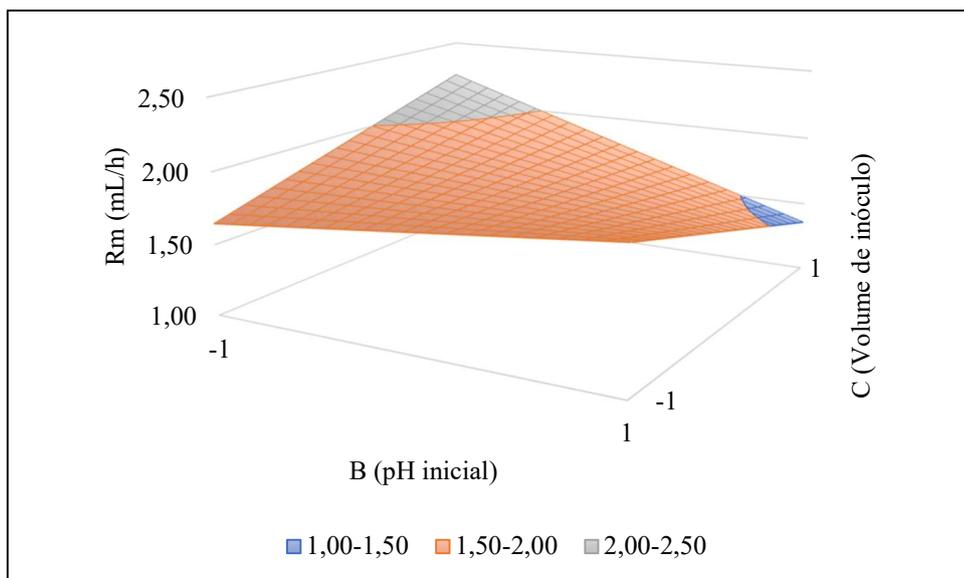


Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

5.2.2 Superfície de resposta

A Figura 20 mostra o gráfico da superfície de resposta do modelo com base na Equação 14 para a taxa de produção de hidrogênio. A taxa aumentou com a diminuição do pH e aumento do volume de inóculo (% v/v).

Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para a taxa de produção de hidrogênio.



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

- Em todas as condições experimentais propostas houve produção de hidrogênio, sendo a máxima de 295,5 mL H₂ quando o pré-tratamento ácido aplicado foi o de 6,4% v/v, pH inicial de 4,00 e volume de inóculo de 25% v/v. O máximo rendimento de hidrogênio foi de 646,7 mL/g CHO quando o pré-tratamento ácido aplicado foi o de 6,4% v/v, pH inicial de 4,00 e volume de inóculo de 75% v/v. A máxima taxa de produção de hidrogênio foi de 2,34 mL/h quando o pré-tratamento ácido aplicado foi de 1,6% v/v, pH inicial de 4,00 e volume de inóculo de 75% v/v.
- O planejamento experimental mostrou que para o rendimento de hidrogênio apenas o efeito linear do pH inicial e volume de inóculo, e o efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo foram altamente significativos no rendimento de hidrogênio ($p < 0,01$), indicando que esses termos tiveram grande impacto na variável resposta. Para a taxa de produção de hidrogênio apenas o efeito linear do pH inicial e o efeito interativo entre pH inicial e volume de inóculo foram significativos no rendimento de hidrogênio ($p < 0,05$), indicando que esses termos tiveram impacto na variável resposta

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Sugere-se:

- Otimizar a metodologia de superfície de resposta aplicando um planejamento com composto central com os efeitos que foram significativos (pH inicial e volume de inóculo) do planejamento inicial, com o intuito de se obter o valor ótimo dos fatores.
- Avaliar a composição dos metabólitos solúveis (ácidos, acetona e subprodutos da fermentação anaeróbia) produzidos durante a operação dos reatores na produção de bio-hidrogênio.
- Caracterizar a comunidade microbiana em relação ao Domínio Bacteria de reatores anaeróbios em batelada por meio de técnicas de Biologia Molecular.

REFERÊNCIAS

- ABUBACKAR, H. N.; KESKIN, T.; ARSLAN, K.; VURAL, C.; AKSU, D.; YAVUZYILMAZ, D. K.; OZDEMIR, G.; AZBAR, N. Effects of size and autoclavation of fruit and vegetable wastes on biohydrogen production by dark dry anaerobic fermentation under mesophilic condition. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 33, p. 17767-17780, 2019.
- ACAR, C.; DINCER, I. Review and evaluation of hydrogen production options for better environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 218, p. 835-849, 2019.
- ALSHIYAB, H.; KALIL, M. S.; HAMID, A. A.; YUSOFF, W. M. W. Effect of some environmental parameters on hydrogen production using *C. acetobutylicum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 17, p. 2073-2082, 2008.
- APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 22th edn.; 2012.
- ARGUN, H.; DAO, S. Bio-hydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: Effect of inoculum addition. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 4, p. 2569-2574, 2017.
- ARGUN, H.; DAO, S. Hydrogen gas production from waste peach pulp by natural microflora. **Waste and Biomass Valorization**, v. 9, n. 11, p. 2117-2124, 2018.
- AZMAN, N. F; ABDESHAHIAN, P.; AL-SHORGANI, N. K. N.; HAMID, A. A.; KALIL, M. S. Production of hydrogen energy from dilute acid-hydrolyzed palm oil mill effluent in dark fermentation using an empirical model. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 37, p. 16373-16384, 2016.
- BASAK, B.; FATIMA, A.; JEON, B. H.; GANGULY, A.; CHATTERJEE, P. K.; DEY, A. Process kinetic studies of biohydrogen production by co-fermentation of fruit-vegetable wastes and cottage cheese whey. **Energy for Sustainable Development**, v. 47, p. 39-52, 2018.

BHARATHIRAJA, B.; SUDHARSANAA, T.; BHARGHAVI, A.; JAYAMUTHUNAGAI, J.; PRAVEENKUMAR, R. Biohydrogen and Biogas—An overview on feedstocks and enhancement process. **Fuel**, v. 185, p. 810-828, 2016.

CHAVES, Taciana Carneiro. **Produção de hidrogênio a partir do melão de cana-de-açúcar em reator anaeróbio de leito fluidificado**. 2018. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2018.

CHERNICHARO, C. A. L. **Anaerobic reactors**. 1th. edn. London: IWA publishing, v. 4, 2007.

CUI, M.; YUAN, Z.; ZHI, X.; SHEN, J. Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 19, p. 7971-7978, 2009.

DEEPANRAJ, B.; SIVASUBRAMANIAN, V.; JAYARAJ, S. Effect of substrate pretreatment on biogas production through anaerobic digestion of food waste. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 42, p. 26522-26528, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. T.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

ELBESHISHY, E.; HAFEZ, H.; DHAR, B. R.; NAKHLA, G. Single and combined effect of various pretreatment methods for biohydrogen production from food waste. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 17, p. 11379-11387, 2011.

FAN, Y-T.; ZHANG, G-S.; GUO, X-Y.; XING, Y., FAN, M-H. Biohydrogen-production from beer lees biomass by cow dung compost. **Biomass Bioenergy**, v. 30, p. 493-496, 2006.

FAN, Y-T.; ZHANG, Y-H.; ZHANG, S-F.; HOU, H-W.; REN, B-Z. Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 500-505, 2006.

FAO. **Towards the future we want: End hunger and make the transition to sustainable agricultural and food systems**. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations, 2012.

GHIMIRE, A.; FRUNZO, L.; PIROZZI, F.; TRABLY, E.; ESCUDIE, R.; LENS, P. N.; ESPOSITO, G. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. **Applied Energy**, v. 144, p. 73-95, 2015.

GUO, X. M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRERE, H.; STEYER, J-P. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p. 10660-10673, 2010.

HAN, H.; WEI, L.; LIU, B.; YANG, H.; SHEN, J. Optimization of biohydrogen production from soybean straw using anaerobic mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 17, p. 13200-13208, 2012.

IPCC. **Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. 1th. edn. The Intergovernmental Panel on Climate Change. New York: Cambridge University Press, 2014. Disponível em <https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/ipcc_wg3_ar5_full.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2019.

ISMAIL, F.; RAHMAN, N. A. A.; ABD-AZIZ, S.; LING, C. M.; HASSAN, M. A. Statistical optimization of biohydrogen production using food waste under thermophilic conditions. **The Open Renewable Energy Journal**, v. 2, n. 1, p. 124-131, 2009.

JIA, X.; LI, M.; ZHU, J.; JIANG, Y.; WANG, Y.; WANG, Y. Enhancement split-phase hydrogen production from food waste during dark fermentation: Protein substances degradation and transformation during hydrothermal pre-treatments. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 32, p. 17334-17345, 2019.

KESKIN, T.; ABUBACKAR, H. N.; YAZGIN, O.; GUNAY, B.; AZBAR, N. Effect of percolation frequency on biohydrogen production from fruit and vegetable wastes by dry fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, 2019.

KIM, D. H.; KIM, S. H.; KIM, H. W.; KIM, M. S.; SHIN, H. S. Sewage sludge addition to food waste synergistically enhances hydrogen fermentation performance. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 18, p. 8501-8506, 2011.

KIM, D-K.; 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, 2009.

KIM, S-H.; HAN, S-K.; SHIN, H-. 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, 2004.

KOTHARI, R.; TYAGI, V. V.; PATHAK, A. Waste-to-energy: A way from renewable energy sources to sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 9, p. 3164-3170, 2010.

LAY, J. J.; FAN, K. S.; HWANG, J. I.; CHANG, J. I.; HSU, P. C. Factors affecting hydrogen production from food wastes by Clostridium-rich composts. **Journal of Environmental Engineering**, v. 131, n. 4, p. 595-602, 2005.

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, Z. K.; LI, S. L.; LIN, J. S.; WANG, Y. H.; Kuo, P. C.; Cheng, S. S. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 5234-5241, 2008.

LI, M.; ZHAO, Y.; GUO, Q.; QIAN, X.; NIU, D. 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.

ŁUKAJTIS, R.; HOŁOWACZ, I.; KUCHARSKA, K.; GLINKA, M.; RYBARCZYK, P.; PRZYJAZNY, A.; KAMIŃSKI, M. Hydrogen production from biomass using dark fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p. 665-694, 2018.

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

MARBÁN, G.; VALDÉS-SOLÍS, T. Towards the hydrogen economy? **Internacional Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 12, p. 1625-1637, 2007.

NAZLINA, H. Y.; AINI, A. N.; ISMAIL, F.; YUSOF, M. Z. M.; HASSAN, M. A. 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.

NI, M.; LEUNG D. Y. C.; LEUNG M. K. H.; SUMATHY K. An overview of hydrogen production from biomass. **Fuel Processing Technology**, v. 87, n. 5, p. 461-472, 2006.

NÜBEL, U.; ENGELN, B.; FELSKA, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 19, p. 5636-5643, 1996.

PAN, J.; ZHANG, R.; EL-MASHAD, H. M.; SUN, H.; YING, Y. 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.

PHAM, T. P. T.; KAUSHIK, R.; PARSHETTI, G. K.; MAHMOOD, R.; BALASUBRAMANIAN, R. Food waste-to-energy conversion technologies: current status and future directions. **Waste Management**, v. 38, p. 399-408, 2015.

PREETHI, T. M.; USMAN, M.; BANU, J. R.; GUNASEKARAN, M.; KUMAR, G. Biohydrogen production from industrial wastewater: An overview. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. 100287, 2019.

RAHMAN, S. N. A.; MASDAR, M. S.; ROSLI, M. I.; MAJLAN, E. H.; HUSAINI, T.; KAMARUDIN, S. K.; DAUD, W. R. W. Overview biohydrogen technologies and application in fuel cell technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 66, p. 137-162, 2016.

RAMOS, C.; BUITRÓN, G.; MORENO-ANDRADE, I.; CHAMY, R. Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 18, p. 13288-13295, 2012.

RAVANDI, B.; JOVANOVIĆ, N. Impact of plate size on food waste: Agent-based simulation of food consumption. **Resources, Conservation & Recycling**, v. 149, p. 550-565, 2019.

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.

SARATALE, G. D.; CHEN, S-D.; LO, Y-C.; SARATALE, R. G.; CHANG, J-S. Outlook of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation – a review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 67, p. 962-979, 2008.

SHELTON, D. R.; TIEDJE, J. M. General method for determining anaerobic biodegradation potential. **Applied Environmental Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 850-857, 1984.

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

SILVA, J. S.; MENDES, J. S.; CORREIA, J. A. C.; ROCHA, M. V. P.; MICOLI, L. Cashew apple bagasse as new feedstock for the hydrogen production using dark fermentation process. **Journal of Biotechnology**, v. 286, p. 71-78, 2018.

SINDHU, R.; GNANSOUNOU, E.; REBELLO, S.; BINOD, P.; VARJANI, S.; THAKUR, I. S.; NAIR, R. B.; PANDEY, A. Conversion of food and kitchen waste to value-added products. **Journal of Environmental Management**, v. 241, p. 619-630, 2019.

SINGH, L.; WAHID, Z. A. Methods for enhancing bio-hydrogen production from biological process: A review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, n. 25, p. 70-80, 2015.

SINHA, P.; PANDEY, A. An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production. **Internacional Jornal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 13, p. 7460-7478, 2011.

SKONIECZNY, M. T.; YARGEAU, V. Biohydrogen production from wastewater by *Clostridium beijerinckii*: effect of pH and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 8, p. 3288-3294, 2009.

SRIKANTH, S.; MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; SARMA, P. N. Metabolic shift and electron discharge pattern of anaerobic consortia as a function of pretreatment method applied during fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p. 10693-10700, 2010.

TURHAL, S.; TURANBAEV, M.; ARGUN, H. Hydrogen production from melon and watermelon mixture by dark fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 34, p. 18811-18817, 2019.

VASCONCELOS, E. A. F.; LEITÃO, R. C.; SANTAELLA, S. T. Factors that affect bacterial ecology in hydrogen-producing anaerobic reactors. **BioEnergy Research**, v. 9, n. 4, p. 1260-1271, 2016.

WANG, H.; WANG, J.; FANG, Z.; WANG, X.; BU, H. Enhanced bio-hydrogen production by anaerobic fermentation of apple pomace with enzyme hydrolysis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 15, p. 8303-8309, 2010.

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

YASIN, N. H. M.; MAN, H. C.; YUSOFF, M. Z. M.; HASSAN, M. A. Microbial characterization of hydrogen-producing bacteria in fermented food waste at different pH values. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 16, p. 9571-9580, 2011.

ZHANG, T.; JIANG, D.; ZHANG, H.; JING, Y.; TAHIR, N.; ZHANG, Y.; ZHANG, Q. Comparative study on bio-hydrogen production from corn stover: Photo-fermentation, dark-fermentation and dark-photo co-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 6, p. 3807-3814, 2020.

ZHU, H.; BÉLAND, M. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 14, p. 1980-1988, 2006.

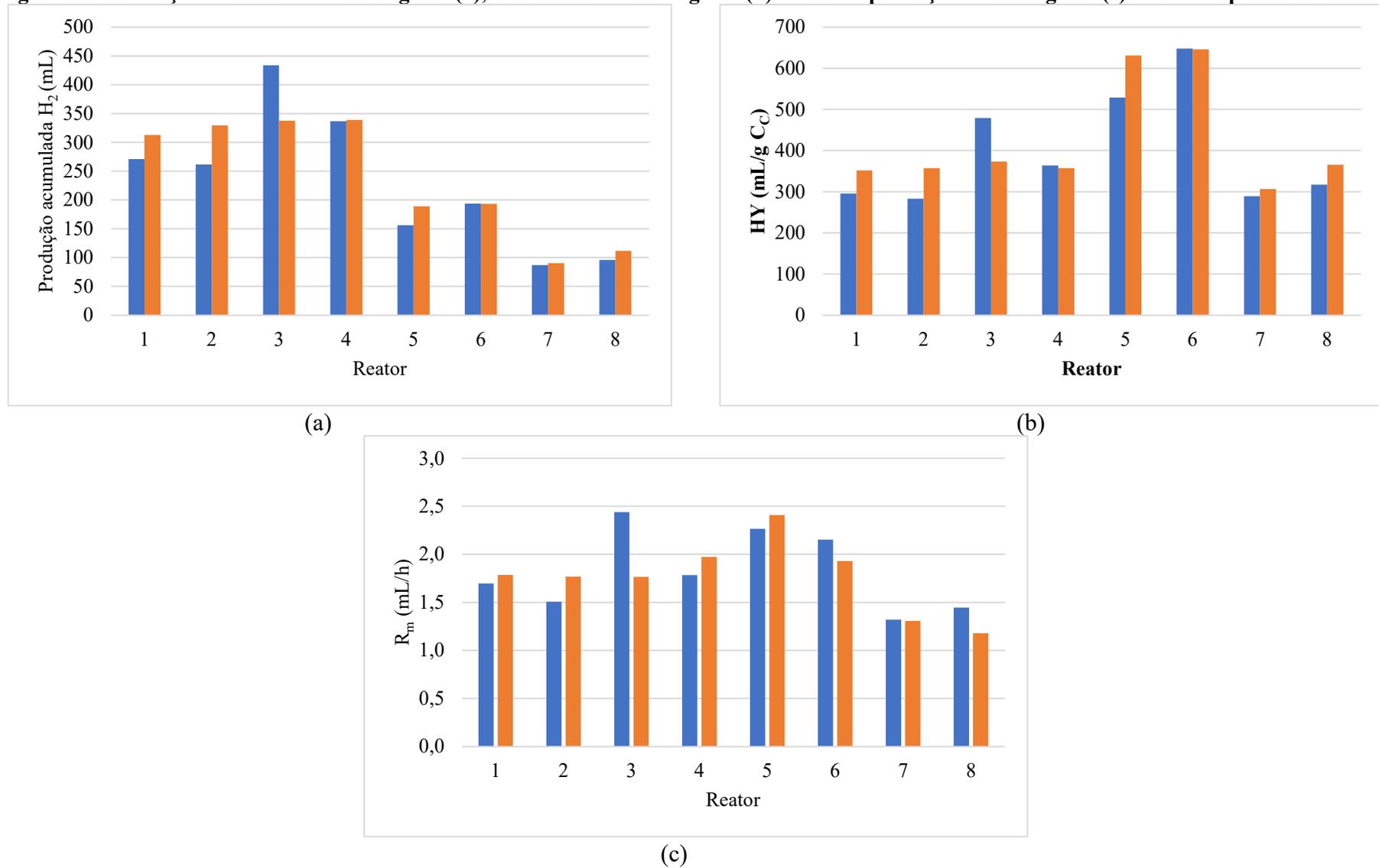
APÊNDICE A - Curvas de produção de hidrogênio ajustadas pelo Modelo de Gompertz Modificado

Tabela 23 – Produção acumulada de H₂ (mL) obtida experimentalmente.

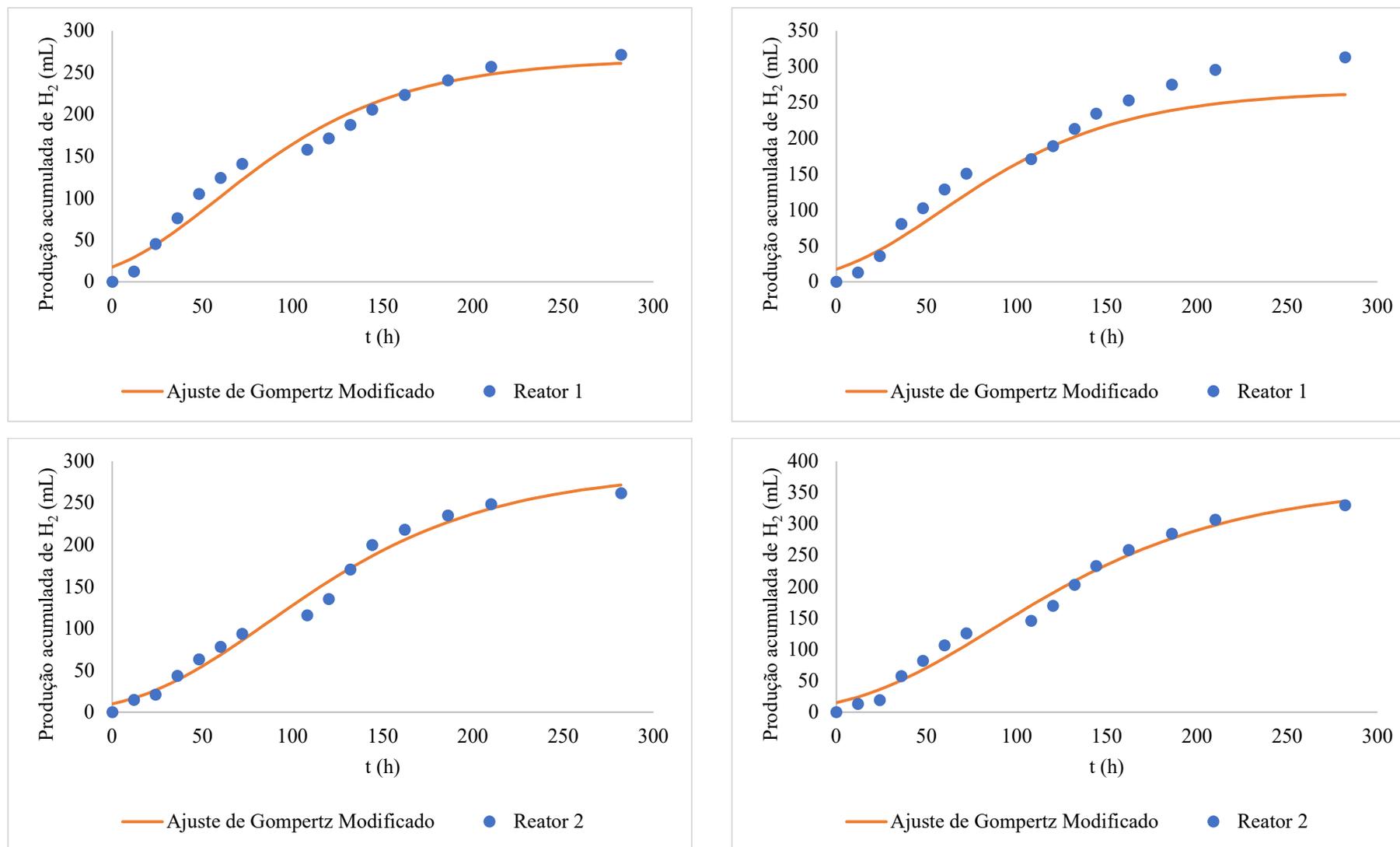
t (h)	Produção acumulada de H ₂ (mL)																
	Reator 1	Reator 2	Reator 3	Reator 4	Reator 5	Reator 6	Reator 7	Reator 8	Reator 9	Reator 10	Reator 11	Reator 12	Reator 13	Reator 14	Reator 15	Reator 16	
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
12	12,2	12,6	14,5	12,9	6,5	18,2	4,5	10,1	22,2	33,0	18,1	16,9	6,1	7,4	10,2	7,0	
24	45,0	35,9	20,9	19,1	21,3	37,6	15,1	18,0	53,8	66,4	48,1	48,4	15,8	28,9	19,7	21,6	
36	75,9	80,4	43,2	57,5	42,8	65,9	43,3	33,9	77,1	96,7	78,6	75,9	27,9	37,5	41,7	41,8	
48	105,0	102,4	62,9	81,5	63,6	90,5	71,9	51,6	92,9	111,1	102,2	95,9	40,2	52,1	56,5	53,8	
60	123,9	128,6	78,1	106,3	88,9	112,9	91,4	65,6	114,2	129,5	120,5	115,7	58,6	64,1	68,5	65,6	
72	140,7	150,4	93,4	125,3	111,8	128,1	108,8	87,7	135,1	145,6	136,7	132,2	72,2	75,7	78,6	76,0	
108	157,6	170,8	115,6	145,4	142,7	151,9	135,0	111,5	144,8	162,8	154,5	147,8	79,2	82,5	84,8	86,3	
120	171,3	188,9	135,1	169,2	173,8	180,6	160,9	143,6	152,7	181,1	175,4	163,9	84,3	87,7	90,7	95,8	
132	187,2	212,9	170,4	202,6	214,4	209,3	190,7	185,7	152,7	181,5	183,5	174,4	84,4	88,7	93,4	103,0	
144	205,5	234,3	199,5	232,8	274,5	240,3	220,7	226,3	155,5	186,9	190,5	184,1	85,5	89,9	95,0	108,7	
162	223,3	252,6	217,9	258,0	328,2	267,2	247,9	262,8	155,7	188,1	192,1	190,2	86,1	90,0	95,5	110,8	
186	240,5	274,6	234,8	284,1	365,2	294,9	280,4	286,3	155,8	188,6	193,0	192,7	86,5	90,0	95,5	111,4	
210	256,7	295,4	248,3	306,3	400,8	317,0	310,1	317,1	155,8	188,9	193,6	193,1	86,8	90,2	95,7	111,6	
282	271,1	312,9	261,4	329,6	433,4	337,6	336,7	339,0	155,9	189,1	193,8	193,2	87,0	90,3	95,8	111,8	

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

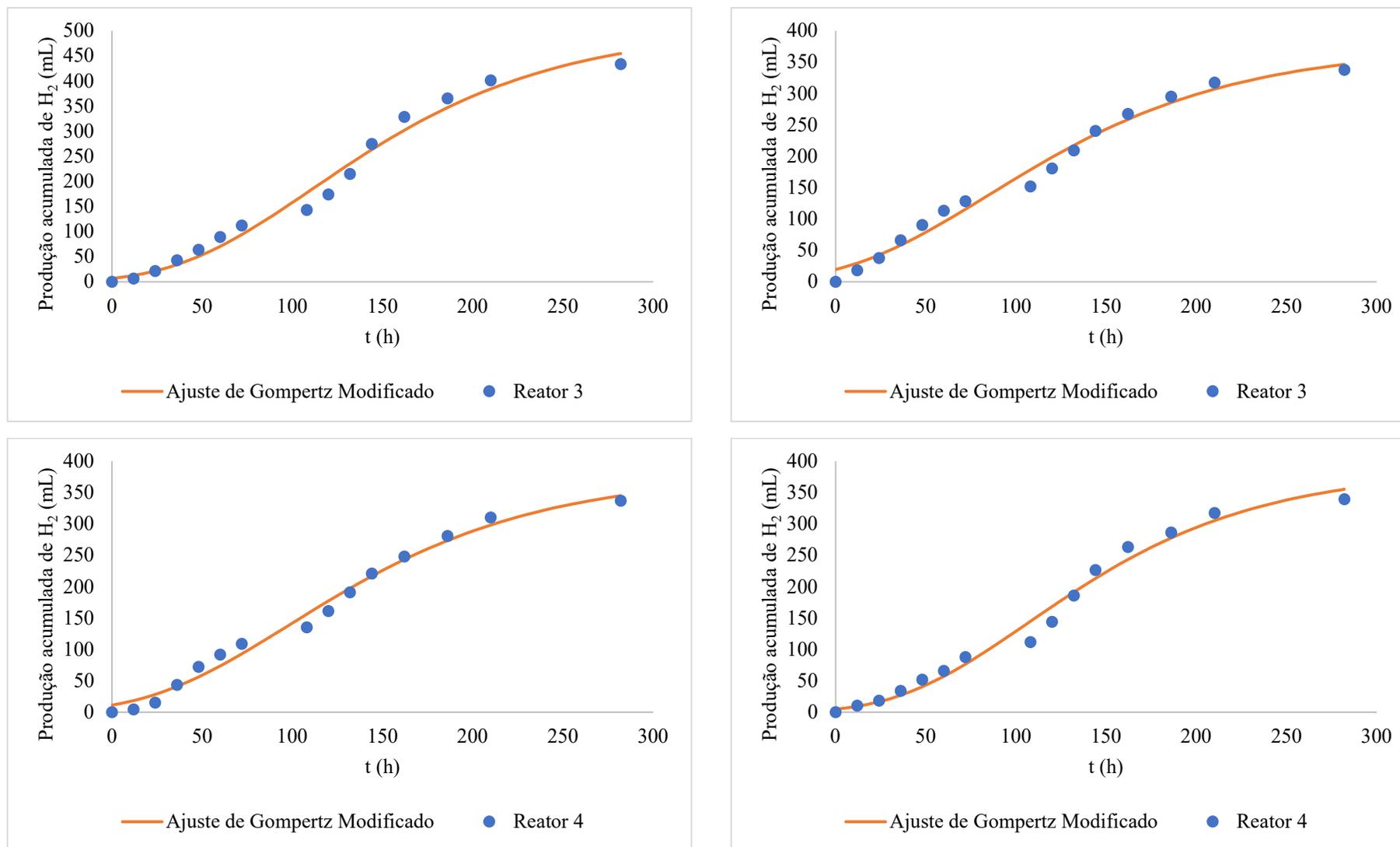
Figura 21 - Produção acumulada de hidrogênio (a), rendimento de hidrogênio (b) e taxa de produção de hidrogênio (c) obtidos experimentalmente.



(c)
Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

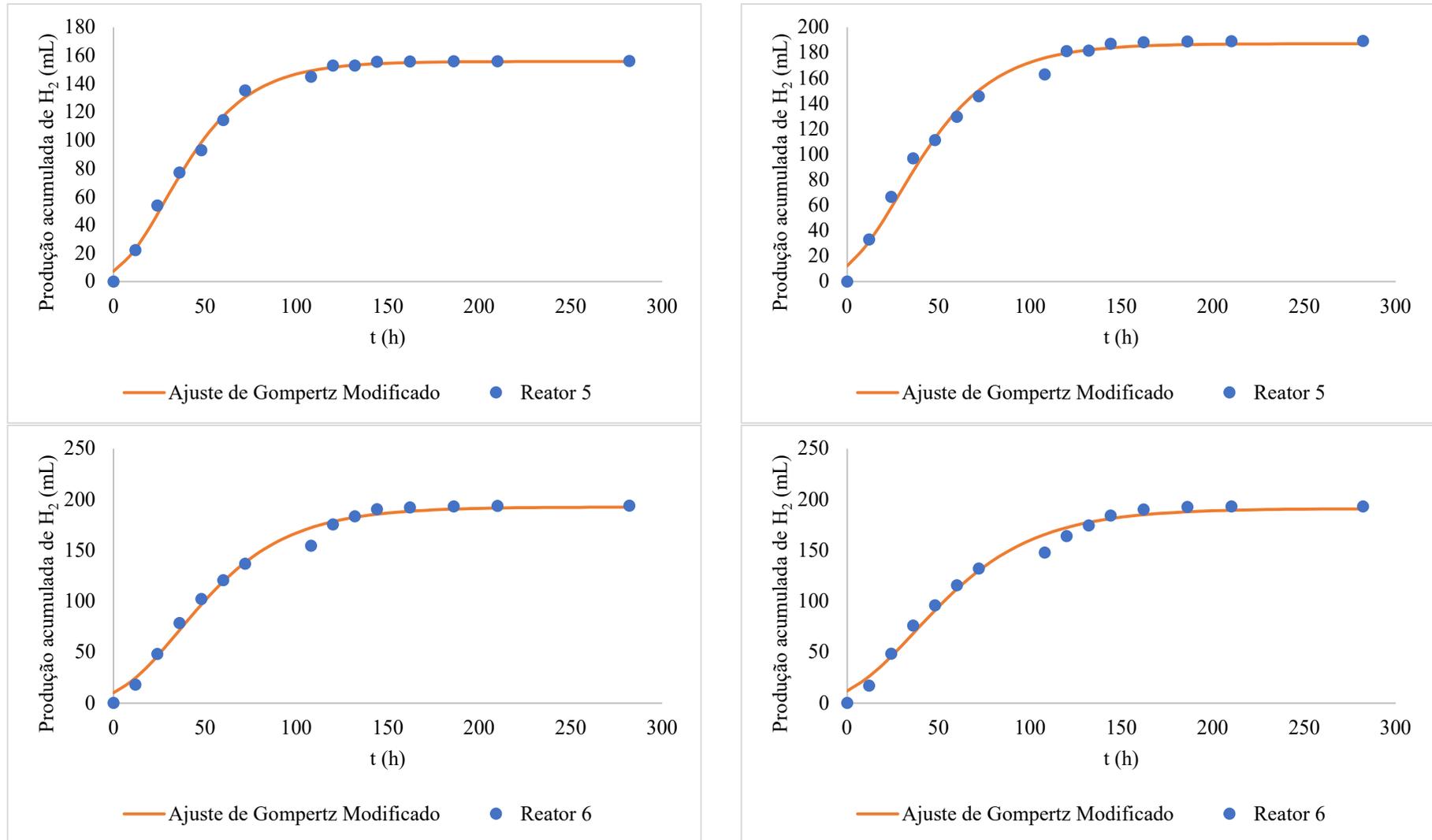
Figura 22 – Curvas de produção acumulada de H₂ ajustadas pelo modelo de Gompertz modificado.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Figura 22 – Curvas de produção acumulada de H₂ ajustadas pelo modelo de Gompertz modificado (continuação).

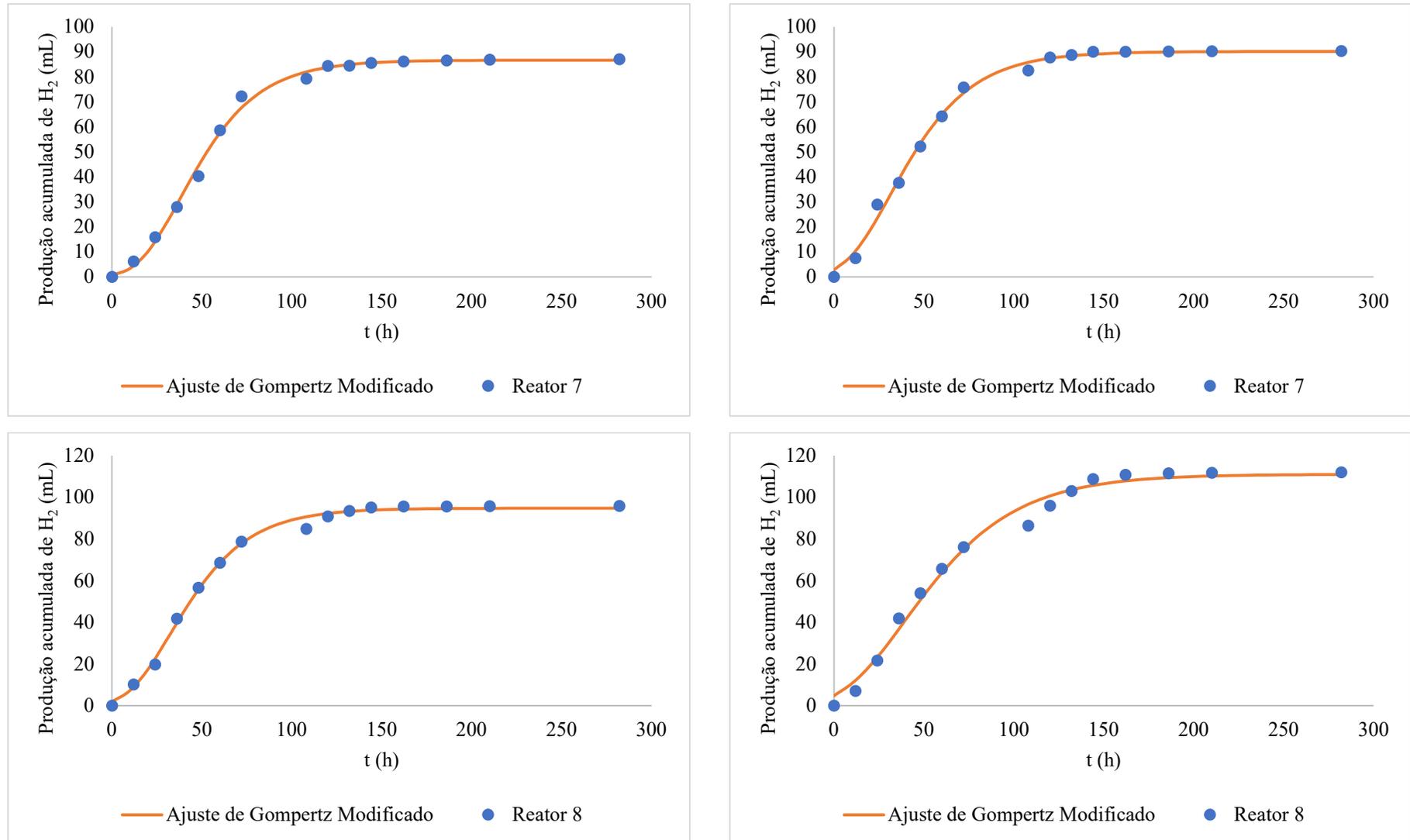
Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Figura 22 – Curvas de produção acumulada de H₂ ajustadas pelo modelo de Gompertz modificado (continuação).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.

Figura 22 – Curvas de produção acumulada de H₂ ajustadas pelo modelo de Gompertz modificado (continuação).



Fonte – Elaborado pelo autor, 2020.