

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

JOSÉ MENDES FREIRE NETO

**APLICAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS ÁCIDOS E ALCALINOS PARA  
PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO E BIOETANOL A PARTIR DAS CASCAS DA  
MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA*)**

Maceió

2019

JOSÉ MENDES FREIRE NETO

**APLICAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS ÁCIDOS E ALCALINOS PARA  
PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO E BIOETANOL A PARTIR DAS CASCAS DA  
MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA*)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

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

Maceió

2019

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho

F866p Freire Neto, José Mendes.  
Produção de bio-hidrogênio e bioetanol a partir da casca da mandioca (*Manihot esculenta*) / José Mendes Freire Neto. – 2019.  
100 f. : il. 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, 2019.

Bibliografia: f. 75-88.  
Apêndices: 88-100.

1. Fenômenos químicos. 2. Bio-hidrogênio. 3. Bioetanol. 4. Biocombustíveis. I. Título.

CDU:662.767.2

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Yara Núbia Rocha Freire e Alex Tenório Freire, meus pilares e maiores incentivadores durante toda a minha jornada acadêmica. Por me ensinarem, acima de tudo, a lutar por meus objetivos sob a luz da ética e respeito ao próximo.

À minha companheira Laís Ferreira de Melo Rocha, com quem tenho a felicidade de compartilhar as conquistas e batalhas impostas pela vida desde quando decidimos acolher um ao outro no início da nossa vida adulta.

À minha irmã Laís Rocha Freire, pelo companheirismo e risadas.

Ao meu orientador Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim, que prontamente me recebeu, um membro externo ao então convívio da UFAL, com muita cordialidade e disponibilidade. Pela paciência, confiança e auxílio nas dúvidas sanadas para realização deste trabalho, porém, acima de tudo, pela amizade estabelecida em detrimento da paixão mútua pelo maior clube de futebol de Alagoas.

Às parceiras de pesquisa no laboratório, Isabela e Beatriz, por caminharem comigo nessa jornada, compartilhando as atividades laboratoriais durante meses.

Aos meus colegas de mestrado e do Laboratório de Controle Ambiental, em especial os caros Artur, Anderson e Gabryel, com quem pude dividir conhecimentos, momentos de agonia e muitas risadas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, ao Laboratório de Controle Ambiental, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico por proverem os meios necessários e suporte financeiro durante o trabalho.

E, por fim, agradeço imensamente a todos aqueles que fizeram parte deste ótimo processo, tanto como trabalho, como quanto aprendizado de vida.

Gratidão.

*“E resistir. Resistir sempre. Resistir para acordar as consciências ainda adormecidas para que, juntos, finquemos o pé no terreno que está do lado certo da história, mesmo que o chão trema e ameace de novo nos engolir.”*

**Dilma Vana Rousseff**

## RESUMO

O crescimento econômico mundial e a rápida urbanização exigem esforços para produzir quantidade suficiente de energia para suprir a crescente demanda de energética das nações. Diante deste cenário, a exploração de alternativas energéticas limpas e renováveis mostra-se como uma solução socioeconômica fundamental. Com o intuito de produzir hidrogênio, etanol e metano através do processo de digestão anaeróbia, o presente estudo utilizou cascas de mandioca (*manihot esculenta*) como substrato para avaliar os efeitos de pré-tratamentos com soluções ácidas (HCl) e alcalinas (NaOH) em diferentes concentrações na sacarificação desta biomassa e, conseqüentemente, na produção de biocombustíveis. O procedimento experimental foi realizado em reatores operados em batelada, mantidos a temperatura mesofílica ( $35\pm 1^\circ\text{C}$ ) através da utilização de uma incubadora rotativa shaker a 120 rpm. Os reatores foram inoculados com lodo proveniente de Estação de Tratamento de Esgotos e tiveram pH do meio inicialmente ajustado em 7. Os resultados evidenciam que a concentração de carboidratos no substrato e a eficiência na produção de biocombustíveis foram maiores nos reatores onde houve a aplicação de pré-tratamentos químicos na biomassa. Obteve-se a melhor produção de hidrogênio na utilização de pré-tratamento com ácido diluído a 0,5% (v/v) de HCl. Nessa condição, a taxa de produção foi de 0,95 mL de H<sub>2</sub> por hora, apresentando uma produção acumulada 195% maior que o reator sem pré-tratamento químico. Enquanto a produção específica do reator com a biomassa sem pré-tratamento foi de 0,52 mL de H<sub>2</sub>/gSSVh, no reator com pré-tratamento ácido a 0,5% (v/v) de HCl foi de 1,19 mL de H<sub>2</sub>/gSSVh. O pré-tratamento álcali com concentração 0,5% (v/v) de NaOH gerou a maior concentração final de etanol dentre as condições estudadas, 24,78 mmol de etanol/L versus 7,69 mmol de etanol/L quando não fora utilizado pré-tratamento. O pré-tratamento químico com solução ácida a 1,0% (v/v) de HCl gerou 57,19 mL de metano por grama de casca de mandioca, taxa 26,19% maior que a produção no reator onde não houve pré-tratamento químico. Constatou-se ainda que os pré-tratamentos com as maiores concentrações estudadas de NaOH/HCl (4 e 8% (v/v)) provocaram queda na produção de H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e etanol.

**Palavras-chave:** Pré-tratamento Químico, Biohidrogênio, Bioetanol, Biogás.

## ABSTRACT

World economic growth and rapid urbanization require efforts to produce sufficient energy to meet the growing demand for energy of nations. In this scenario, the exploitation of clean and renewable energy alternatives is shown as a key socio-economic solution. In order to produce hydrogen, ethanol and methane by anaerobic digestion process, the present study used cassava peels (*Manihot esculenta*) as substrate to assess the effects of pretreatments with acid (HCl) and alkaline (NaOH) solutions in different concentrations at saccharification of this biomass and, consequently, in the production of biofuels. The experimental procedure was carried out in batch operated reactors maintained at the mesophilic temperature ( $35 \pm 1$  ° C) using a rotating shaker incubator at 120 rpm. Reactors were inoculated with sludge from Sewage Treatment Station and pH was initially set to 7. Results evidence that concentration of carbohydrate in the substrate and the efficiency of biofuel production of reactors were greater where there was application of chemical pretreatments in biomass. The best hydrogen production was obtained using pre-treatment with 0.5% (v/v) dilute acid HCl. In this condition, the production rate was 0.95 mL of H<sub>2</sub> per hour, presenting a cumulative production 195% higher than the reactor without chemical pretreatment. The specific production of the reactor with untreated biomass was 0.52 mL H<sub>2</sub>/gSSVh, whilst, the reactor with 0.5% (v/v) acid pre-treatment of HCl was 1.19 mLH<sub>2</sub>/ gSSVh. The alkali pre-treatment with 0.5% (v/v) NaOH concentration generated the highest final concentration of ethanol among the studied conditions, 24.78 mmol of ethanol/L versus 7.69 mmol of ethanol/L when it was not used any chemical pre-treatment. Chemical pre-treatment with 1.0% (v/v) acidic solution of HCl generated 57.19 mL of methane per gram of cassava peel, a rate 26.19% higher than the production in the reactor where there was no chemical pretreatment. The highest studied concentrations of NaOH / HCl (4 and 8% (v/v)) caused a decrease in H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and ethanol production.

**Keywords:** Chemical pretreatment, Biohydrogen, Bioethanol, Biogas.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Processos para obtenção de hidrogênio .....	18
<b>Figura 2:</b> Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.....	23
<b>Figura 3:</b> Estrutura da biomassa lignocelulósica.....	25
<b>Figura 4:</b> Esquema do efeito de pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.....	26
<b>Figura 5:</b> Utilização de pré-tratamentos nos artigos enfocados na produção de hidrogênio a partir da fermentação escura da biomassa entre os anos de 2008 e 2017.....	30
<b>Figura 6:</b> Curva típica da produção cumulativa de metano modelada pelo modelo de Gompertz Modificado.....	38
<b>Figura 7:</b> Processamento industrial da mandioca.....	41
<b>Figura 8:</b> Fluxograma das atividades a serem desenvolvidas durante o estudo.....	43
<b>Figura 9:</b> Casca de mandioca desidratada (A) e farelo de casca de mandioca após pré-tratamento físico (B) .....	44
<b>Figura 10:</b> Ilustração esquemática do projeto dos reatores da primeira etapa.....	46
<b>Figura 11:</b> Reatores da primeira etapa.....	46
<b>Figura 12:</b> Ilustração esquemática do projeto dos reatores da segunda etapa.....	46
<b>Figura 13:</b> Reatores da segunda etapa.....	47
<b>Figura 14:</b> Ilustração esquemática do projeto dos reatores da terceira.....	47
<b>Figura 15:</b> Reatores da terceira etapa.....	48
<b>Figura 16:</b> Efeito do pré-tratamento na sacarificação do substrato.....	53
<b>Figura 17:</b> Produção acumulada de hidrogênio (ml) versus tempo (h) para cada tipo de pré-tratamento utilizado.....	61
<b>Figura 18:</b> Variação de pH entre a partida e a desativação dos reatores.....	61
<b>Figura 19:</b> Eficiência de conversão da glicose na etapa acidogênica.....	64
<b>Figura 20:</b> Produção dos metabólitos solúveis nos reatores .....	66
<b>Figura 21:</b> Produção acumulada de metano (ml) versus tempo (h) para cada tipo de pré-tratamento utilizado.....	68

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Poder calorífico de diferentes combustíveis.....	17
<b>Tabela 2:</b> Trabalhos que utilizaram a biomassa como substrato para a produção de bio-hidrogênio através da digestão anaeróbia .....	19
<b>Tabela 3:</b> Comparação entre três tecnologias de produção de bio-hidrogênio.....	21
<b>Tabela 4:</b> Estudos que aplicaram pré-tratamentos nas biomassas para produção de biocombustíveis.....	28
<b>Tabela 5:</b> Comparação entre as vantagens e desvantagens dos pré-tratamentos ácidos e alcalinos.....	32
<b>Tabela 6:</b> Composição físico-química da casca da mandioca, em porcentagem .....	40
<b>Tabela 7:</b> Códigos dos reatores.....	48
<b>Tabela 8:</b> Frequência das análises das amostras coletadas.....	49
<b>Tabela 9:</b> Dados experimentais e cinéticos da produção de hidrogênio.....	57
<b>Tabela 10:</b> Eficiência de conversão da glicose e variações do pH na etapa acidogênica.....	62
<b>Tabela 11:</b> Concentrações médias, em mg/L, dos metabólidos solúveis produzidos nos reatores.....	64
<b>Tabela 12:</b> Concentrações molares médias ( $\text{mmol.l}^{-1}$ ) dos metabólidos solúveis produzidos nos reatores.....	64
<b>Tabela 13:</b> Dados experimentais e cinéticos da produção de metano.....	72

**LISTA DE ABREVIATURAS**

APHA	Métodos Padrões para Análise de Águas e efluentes
CH <sub>4</sub>	Metano
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
CTEC	Centro de Tecnologia
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EIM	Estratégia de Inibição da Metanogênese
H <sub>2</sub>	Hidrogênio
HPB	Crescimento de Bactérias Produtoras de Hidrogênio
LCA	Laboratório de Controle Ambiental
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
SMP	Metabólitos Solúveis Totais Produzidos
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
UFAL	Universidade Federal de Alagoas

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Objetivo geral .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 HIDROGÊNIO: O COMBUSTÍVEL DO FUTURO.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 FORMAS DE PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.1 Produção de Hidrogênio a Partir da Biomassa.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA: PROCESSOS E PARÂMETROS RELEVANTES</b> <b>.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA</b> <b>PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS .....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.1 MÉTODOS DE PRÉ-TRATAMENTO .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4.1.1 Pré-Tratamento Físico .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.1.2 Pré-Tratamento Ácido .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.1.3 Pré-Tratamento Alcalino .....</b>	<b>32</b>
<b>3.5 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO ANAERÓBIA DE BIO-</b> <b>HIDROGÊNIO.....</b>	<b>33</b>
<b>3.5.1 INFLUÊNCIA DO PH .....</b>	<b>33</b>
<b>3.5.2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5.3 INFLUÊNCIA DO TIPO DE INÓCULO E SEU TRATAMENTO.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5.4 INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO .....</b>	<b>36</b>
<b>3.5.5 INFLUÊNCIA DO TIPO DE REATOR .....</b>	<b>37</b>
<b>3.5.6 INFLUÊNCIA DA TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6 MODELOS CINÉTICOS PARA A PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO</b> <b>.....</b>	<b>37</b>

3.6 A CASCA DA MANDIOCA E SEU POTENCIAL COMO RECURSO ENERGÉTICO.....	39
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DO SUBSTRATO.....	42
4.2 PRÉ-TRATAMENTO FÍSICO.....	42
4.3 Pré-Tratamento Químico.....	44
4.4 INÓCULO E ESTRATÉGIA DE INIBIÇÃO DA METANOGENESE (EIM).....	45
4.5 MONTAGEM E OPERAÇÃO EM BATELADA DOS REATORES.....	45
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	49
4.6.1 Análise da composição do biogás.....	49
4.6.2 Análises de metabólitos solúveis pelo método de headspace.....	50
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
4.9 AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS.....	52
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
5.1 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA SACARIFICAÇÃO DO SUBSTRATO.....	53
5.2 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO.....	54
5.3 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA PRODUÇÃO DE ETANOL E ANÁLISE DOS DEMAIS METABÓLITOS.....	63
5.4 PRODUÇÃO ACUMULADA DE METANO.....	67
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>72</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
<b>APÊNDICE A – CURVAS DE PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO AJUSTADAS PELO MODELO DE GOMPERTZ MODIFICADO.....</b>	<b>86</b>
<b>APÊNDICE B – CURVAS DE PRODUÇÃO DE METANO AJUSTADAS PELO MODELO DE GOMPERTZ MODIFICADO.....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento econômico mundial e a rápida urbanização exigem esforços para produzir quantidade suficiente de energia para suprir a crescente demanda, cujo crescimento é estimado em 35% entre 2014 e 2035. Os combustíveis fósseis representam cerca de 80% da oferta total de energia atual (BP, 2017). Por outro lado, as reservas de energia fóssil dificilmente podem atender à demanda crescente e rápida. Até o final de 2015, o aumento das reservas exploradas de combustíveis fósseis foi muito menor do que o aumento da produção (BP, 2016).

Nesse sentido, para resolver a degradação ambiental e a crise energética, a exploração de alternativas energéticas limpas e renováveis é extremamente urgente. Algumas fontes de energia renovável foram exploradas pelo homem, como a energia solar, energia eólica, energia hidrelétrica e a partir da biomassa. A biomassa pode ser transformada em energia através de três maneiras: pode ser queimada para produzir calor e eletricidade, transformada em combustíveis gasosos (metano, hidrogênio, monóxido de carbono e outros) ou convertida em combustíveis líquidos (álcoois, ácidos voláteis e outros).

A geração de bio-hidrogênio, biogás e bioetanol como fonte de biocombustível/bioenergia a partir da ampla variedade de biomassa reuniu uma quantidade substancial de esforços de pesquisa nas últimas décadas. Um dos principais impulsos neste campo tem sido a busca de métodos e abordagens tecnicamente sólidas e eficazes para melhorar significativamente a eficiência da bioconversão e aumentar os rendimentos de biocombustíveis (KARMEE, 2018).

Como a geração de resíduos é uma característica inerente a todo processo agroindustrial, o avanço da agricultura gera cada vez mais resíduos agrícolas. Tais resíduos podem servir como matérias-primas para que, explorando rotas microbianas simples de maneira economicamente e ambientalmente viáveis, possam ser biologicamente transformados em bioetanol e biogás.

O processamento industrial da mandioca, gera resíduos como a manipueira e a casca da mandioca em grande quantidade. De acordo com Adekunle et al. (2016), Nigéria, Brasil e Tailândia são, em ordem decrescente, os maiores produtores mundiais de mandioca, gerando juntas mais de 200 milhões de toneladas de resíduos durante seu processamento, que não são utilizadas com nenhuma finalidade econômica conhecida. As cascas desse tubérculo têm alta proporção de carboidratos estruturais e lignina, com elevado potencial para produção de biocombustíveis por digestão anaeróbia (MOSHI et al., 2015).

Dentre os processos fermentativos para obtenção de bio-hidrogênio, destaca-se a digestão anaeróbia de compostos ricos em matéria orgânica, também conhecida como

fermentação na ausência de luz. Neste, além de ser amenizado o problema ambiental, com o tratamento de efluentes ricos em carbono, é produzida energia limpa e renovável, o biogás que tem como componentes: hidrogênio, metano, dióxido de carbono e nitrogênio, sendo gerado pela decomposição natural do material orgânico.

Considerando os estudos recentes desenvolvidos na área e a aplicabilidade prática da solução, o presente trabalho utilizou um resíduo agrícola de grande produção no Brasil, a casca da mandioca, para produzir energia limpa através da digestão anaeróbia. Para tanto, com o intuito de otimizar o processo produtivo, pré-tratamentos ácidos e alcalinos foram aplicados na biomassa lignocelulósica. Além disso, o processo produtivo foi realizado através da fermentação escura, com estratégia de inibição da metanogênese, em reatores anaeróbios operados em batelada.

Este trabalho está organizado em seis capítulos, além das referências bibliográficas e apêndices. O presente capítulo, Introdução, apresenta os argumentos que justificam a importância da execução do trabalho e o problema de pesquisa.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo geral do estudo foi avaliar a produção de biocombustíveis (hidrogênio, etanol e metano) em reatores anaeróbios operados em batelada, utilizando como biomassa lignocelulósica a casca da mandioca (*manihot esculenta*).

### **2.2 Objetivos específicos**

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar a influência da aplicação de pré-tratamentos ácidos e alcalinos no substrato para o aumento da produção de hidrogênio, metano e etanol a partir da digestão anaeróbia;
- b) Avaliar a composição dos metabólitos solúveis (etanol, ácido acético, ácido butírico e propiônico) obtidos após a fase acidogênica da digestão anaeróbia;
- c) Avaliar a eficiência do pré-tratamento ácido e alcalino na sacarificação da casca da mandioca;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para desenvolver um método otimizado para a digestão anaeróbia da biomassa lignocelulósica é fundamental conhecer o impacto do pré-tratamento em sua composição estrutural e química. Segundo Mosier (2005), o pré-tratamento é o primeiro passo para abrir a estrutura lignocelulósica, tornando os componentes acessíveis à ação enzimática dos microorganismos para a liberação de açúcares monoméricos.

Neste capítulo, com base em referências da literatura, são discutidos conceitos pertinentes à utilização da biomassa lignocelulósica como substrato para produção de biocombustíveis através de sua digestão anaeróbia, além de uma breve visão geral acerca da casca da mandioca e da utilização de hidrogênio como fonte renovável de energia.

#### 3.1 HIDROGÊNIO: O COMBUSTÍVEL DO FUTURO

O uso de hidrogênio como fonte de energia é investigado desde 1868. Entretanto, as formas de obtenção desse gás eram ambientalmente desfavoráveis, vinham de fontes não renováveis e exigiam alto gasto energético (LOVATO, 2014). Estudos recentes, como por exemplo os realizados por Chaves (2018), Adekunle et al. (2016) e Moshi et al. (2015), têm desenvolvido a tecnologia na produção de hidrogênio em fontes renováveis, diminuindo os custos envolvidos e o gasto energético.

Segundo Das et al. (2014), o hidrogênio é considerado um novo combustível para o século 21, principalmente devido ao seu caráter ambientalmente benigno. A produção de hidrogênio a partir de biomassa renovável tem várias vantagens em comparação com a dos combustíveis fósseis. Diversos processos estão sendo praticados para conversão e utilização eficiente e econômica da biomassa em hidrogênio. A produção de bio-hidrogênio a partir de resíduos orgânicos é atraente devido a dois motivos: A produção de combustível gasoso e a biorremediação.

O hidrogênio possui vários benefícios como combustível, por exemplo:

1. Tem um excelente histórico de segurança e é tão seguro para o transporte, armazenamento e uso como muitos outros combustíveis (MOMIRLAN et al., 2005);
2. Possui o maior rendimento energético dentre os combustíveis utilizados atualmente, tendo um teor energético por unidade de peso de  $142 \text{ kJ.g}^{-1}$  (VASCONCELOS et al., 2016);

3. É totalmente limpo, com água como único produto gerado em sua utilização (WANG et al., 2017).

Sendo o único isento de carbono e possuindo o maior conteúdo energético em comparação com qualquer combustível conhecido (Tabela 1), o hidrogênio é globalmente aceito como uma forma alternativa de energia renovável (NIKOLAIDIS et al., 2017).

**Tabela 1:** Poder calorífico de diferentes combustíveis

Combustível	Estado em Condições Normais de Temperatura e Pressão (25°C e 1 ATM)	Poder Calorífico Superior (kJ/g)	Poder Calorífico Inferior (kJ/g)
Hidrogênio	Gás	141,9	119,9
Metano	Gás	55,5	50,0
Etano	Gás	51,9	47,8
Gasolina	Líquido	47,5	44,5
Diesel	Líquido	44,8	42,5
Metanol	Líquido	20,0	18,1

Fonte: Adaptado de Nikolaidis et al. (2017)

Rahman et al. (2016) afirmam que aproximadamente 80% da demanda energética mundial é proveniente de combustíveis fósseis, os quais, além de serem esgotáveis, liberam em suas reações diversos compostos óxidos causadores do efeito estufa, chuva ácida e poluição.

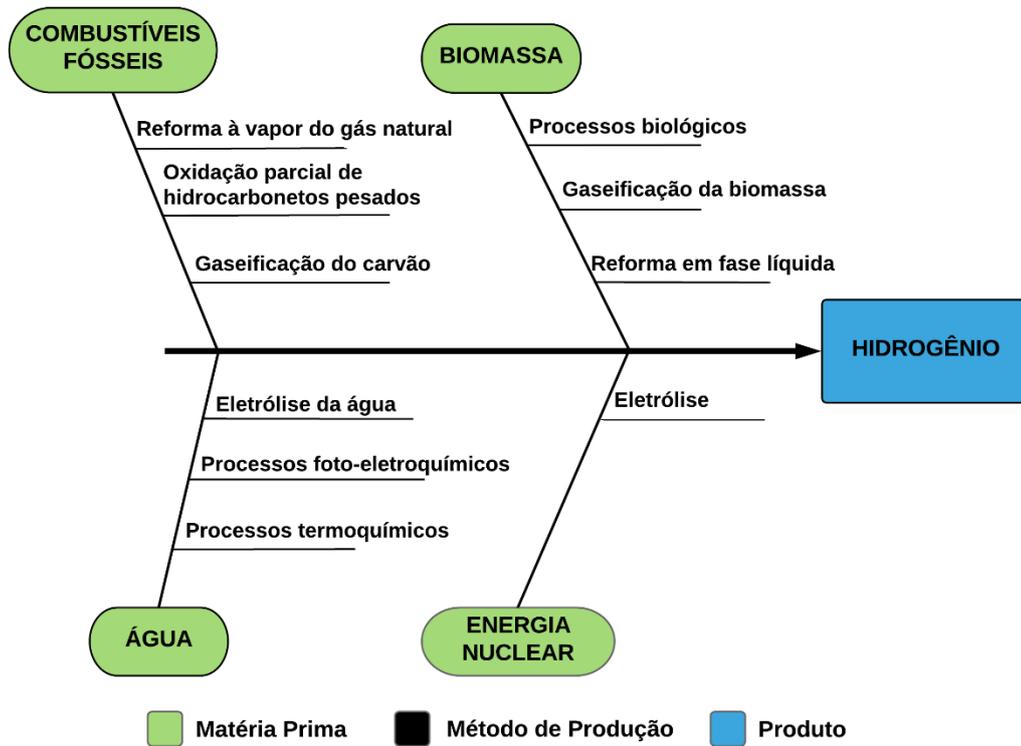
Dutta (2014) propõe que, por ser uma fonte de energia limpa aceita mundialmente, o hidrogênio pode ser usado como fonte de energia para diferentes aparelhos, como veículos com célula de combustível à hidrogênio e eletrônicos portáteis.

Assim, fica evidente a necessidade da pesquisa em desenvolvimento de combustíveis renováveis que não gerem impactos ambientais relevantes, sejam economicamente viáveis e tenham alto potencial energético. Nesse cenário, pode-se constatar que o hidrogênio é uma excelente alternativa, uma vez que possui todas essas características.

### 3.2 FORMAS DE PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO

Segundo Dutta (2014), a produção de hidrogênio a partir de fontes baratas e renováveis é o fator chave para a utilização desse tipo de energia na vida real. A propósito, Bharathiraja *et al.* (2016), afirmam que o hidrogênio pode ser obtido por processos físicos, químicos ou biológicos, a partir de combustíveis fósseis, biomassa e água. Wang *et al.*, (2017) acrescentam ainda a produção de H<sub>2</sub> a partir de energia nuclear. A Figura 1 ilustra os principais processos para obtenção desse gás.

**Figura 1:** Processos para obtenção de hidrogênio



Fonte: Autor (2019)

### 3.2.1 Produção de Hidrogênio a Partir da Biomassa

Segundo Argun *et al.* (2011), a produção de bio-hidrogênio a partir da biomassa é aceita como uma abordagem ambientalmente amigável e sustentável. No entanto, este processo é lento devido à estrutura de biomassa recalcitrante dificultando a liberação de açúcares prontamente fermentáveis para fermentação. Portanto, a produção de bio-hidrogênio é geralmente integrada a um processo de pré-tratamento de biomassa relevante (WANG e YIN, 2017).

A produção de bio-hidrogênio a partir de resíduos agroindustriais pode trazer um duplo efeito benéfico: A estabilização de resíduos por um longo período e a produção de energia limpa (CHUNG et al, 2012). De fato, a produção de hidrogênio a partir de fontes de energia renováveis, como a biomassa, ganhou atenção especial nos últimos anos, o que é comprovado com o notório número de publicações de caráter científico que buscam alternativas para otimizar a produção desse tipo de energia.

A Tabela 2 reúne publicações recentes que utilizaram a biomassa como substrato para a produção de bio-hidrogênio através da digestão anaeróbia.

**Tabela 2:** Trabalhos que utilizaram a biomassa como substrato para a produção de bio-hidrogênio através da digestão anaeróbia

<b>Substrato</b>	<b>Condições Operacionais</b>	<b>Autor</b>
Bagaço	Batelada; pH = 6,5 ; 45 °C	Saripan et al., 2014
Bagaço	Batelada; pH = 6,8 ; 45 °C	Lai et al., 2014
Bagaço	Batelada; pH = 5,5 ; 45 °C	Chandel et al., 2014
Casca de Batata	Contínuo; pH = 5,0 ; 35 °C	Bibra et al., 2018
Casca de Mandioca	Batelada; pH = 6,0 ; 32 °C	Moshi et al., 2014
Gramma	Batelada; pH = 7,0 ; 35 °C	Cui e Chen, 2012
Gramma	Batelada; pH = 7,0 ; 60 °C	Brynjarsdottir et al., 2013
Gramma	Batelada; pH = 7,0 ; 70 °C	Brynjarsdottir et al., 2014
Palha de Arroz	Batelada; pH = 7,0 ; 35 °C	He et al., 2014
Palha de Arroz	Batelada; pH = 6,5 ; 55 °C	Chen et al., 2012
Palha de Arroz	Batelada; pH = 6,5 ; 35 °C	Cheng et al., 2011
Palha de Milho	Batelada; pH = 7,0 ; 35 °C	Li et al., 2016
Palha de Milho	Batelada; pH = 6,0 ; 35 °C	Wu et al., 2013
Palha de Milho	Batelada; pH = 7,0 ; 60 °C	Cai et al., 2014
Palha de Trigo	Batelada; pH = 6,5 ; 35 °C	Reilly et al., 2014
Palha de Trigo	Batelada; pH = 6,5 ; 40 °C	Zhi e Wang, 2014
Palha de Trigo	Batelada; pH = 7,7 ; 45 °C	Pawar et al., 2013
Palma Forrageira	Batelada; pH = 7,0 ; 35 °C	Andrade, 2017
Polpa de Beterraba	Batelada; pH = 6,5 ; 35 °C	Ozkan et al., 2011
Polpa de Beterraba	Batelada; pH = 7,0 ; 35 °C	Ozkan et al., 2011
Polpa de Beterraba	Batelada; pH = 6,5 ; 35 °C	Ozkan et al., 2012
Resíduos de Frutas	Batelada; pH = 6,5 ; 35 °C	Saidi et al., 2018
Melaço de Cana	Contínuo; pH = 5,0 ; 30 °C	Rego, 2016
Melaço de Cana	Contínuo; pH = 6,5 ; 30 °C	Li et al., 2013
Melaço de Cana	Contínuo; pH = 5,6 ; 30 °C	Chaves, 2018

Fonte: Autor (2019)

Diversos resíduos orgânicos, como resíduos industriais, resíduos agroindustriais e resíduos alimentares, têm sido utilizados como substratos para a produção de bio-hidrogênio. Entre essas matérias-primas, os resíduos agrícolas ganharam considerável atenção como substratos promissores para a produção de biohidrogênio, devido à sua abundância, baixo custo e confiabilidade (ALLIBARDI e COSUL, 2016).

Conforme ilustrado na Figura 1, a produção de hidrogênio a partir da biomassa ocorre majoritariamente através de três processos: Reforma em fase líquida, gaseificação da biomassa e processos biológicos, dentre os quais pode-se destacar a digestão anaeróbia. Para que estes processos ocorram, Amorim (2009) e Bharathiraja et al. (2016) destacam a importância da presença das enzimas nitrogenase, Fe-hidrogenase e Ni-hidrogenase, que atuam como catalisadoras da reação descrita pela Equação 1:



Segundo Chaves (2018), as tecnologias para produção de bioH<sub>2</sub> através de processos biológicos são classificadas em dois grupos: independentes da luz (fermentação escura) e dependentes da luz (biofotólise e fotofermentação). A biofotólise, realizada por microrganismos foto-autotróficos (cianobactérias e microalgas), promove a divisão de moléculas de água em moléculas de H<sub>2</sub> através do uso de energia solar e CO<sub>2</sub>. A fotofermentação envolve uma série de reações bioquímicas realizadas por bactérias fotossintéticas na presença de luz que fazem com que os compostos orgânicos de resíduos sejam degradados em moléculas menores. A fermentação escura é o bioprocessos mais benéfico e rentável porque não necessita de energia luminosa e produz os maiores rendimentos de H<sub>2</sub> (RAHMAN et al., 2016).

A Tabela 3 mostra uma comparação entre a biofotólise, a fotofermentação e a fermentação escura.

**Tabela 3:** Comparação entre três tecnologias de produção de bio-hidrogênio

<b>Processo</b>	<b>Reação</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>	<b>Organismos Representativos</b>
<b>Biofotólise</b>	$2\text{H}_2\text{O} + \text{luz} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$	<p>1) Produção direta de <math>\text{H}_2</math> a partir do uso de água e luz solar.</p> <p>2) Água abundante como substrato.</p>	<p>1) Baixa eficiência da conversão de luz causando baixos rendimentos de <math>\text{H}_2</math>.</p> <p>2) Necessidade de fornecer energia luminosa: luz solar ou outras fontes, com custo adicional.</p>	<i>Chlamydomonas-reinhardtii</i>
<b>Foto-fermentação</b>	$\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{luz} \rightarrow 4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2$	<p>1) <math>\text{H}_2</math> pode ser produzido por águas residuais.</p> <p>2) Os compostos orgânicos são completamente convertidos em <math>\text{H}_2</math> e <math>\text{CO}_2</math>.</p>	<p>1) Baixa eficiência da conversão de luz causando baixos rendimentos de <math>\text{H}_2</math>.</p> <p>2) Necessidade de fornecer energia luminosa: luz solar ou outras fontes, com custo adicional.</p>	<i>Rhodobacter-spheroides</i>
<b>Fermentação escura</b>	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$	<p>1) Produz os maiores rendimentos de <math>\text{H}_2</math> comparado com outros processos biológicos.</p> <p>2) Sem necessidade de luz, o <math>\text{H}_2</math> pode ser produzido durante todo o dia.</p> <p>3) Pode utilizar inúmeras fontes de carbono como substrato.</p>	<p>1) Custo adicional ao processo devido à unidade de separação da mistura de <math>\text{CO}_2</math> e <math>\text{H}_2</math>.</p>	<i>Clostridium sp.</i>

Fonte: Adaptado de Rahman et al. (2016)

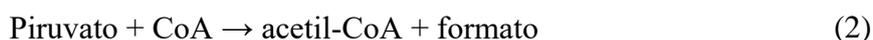
### 3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA: PROCESSOS E PARÂMETROS RELEVANTES

A digestão anaeróbia está ganhando mais atenção hoje em dia, tanto como uma solução para as preocupações ambientais quanto como um recurso energético para o estilo de vida atual que demanda alto consumo de energia (GAO et al., 2012). Além disso, Yadvika et al. (2004) compartilham essa linha de pensamento e enfatizam que a digestão anaeróbia de resíduos orgânicos é de crescente interesse, pois oferece uma oportunidade para lidar com alguns dos problemas relacionados com a redução da quantidade de resíduos orgânicos, diminuindo o impacto ambiental e facilitando o desenvolvimento sustentável do fornecimento de energia.

Na digestão anaeróbia, os materiais orgânicos são degradados por diversos microrganismos, na ausência de oxigênio, convertendo-os em compostos orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídios), álcoois, ácidos graxos e biogás (metano, hidrogênio e dióxido de carbono). A pasta do digestor é rica em amônia e outros nutrientes, que podem ser utilizados como fertilizante orgânico (TEGHAMMAR, 2013; CHERNICHARO, 2007; SILVA, 2015).

Em geral, a produção de H<sub>2</sub> microbiana é impulsionada pelo metabolismo anaeróbio do piruvato, formado durante o catabolismo de vários substratos e degradado por um dos dois sistemas enzimáticos descritos nas Equações 2 e 3 (RAHMAN et al., 2016).

Piruvato: formato liase (PFL)

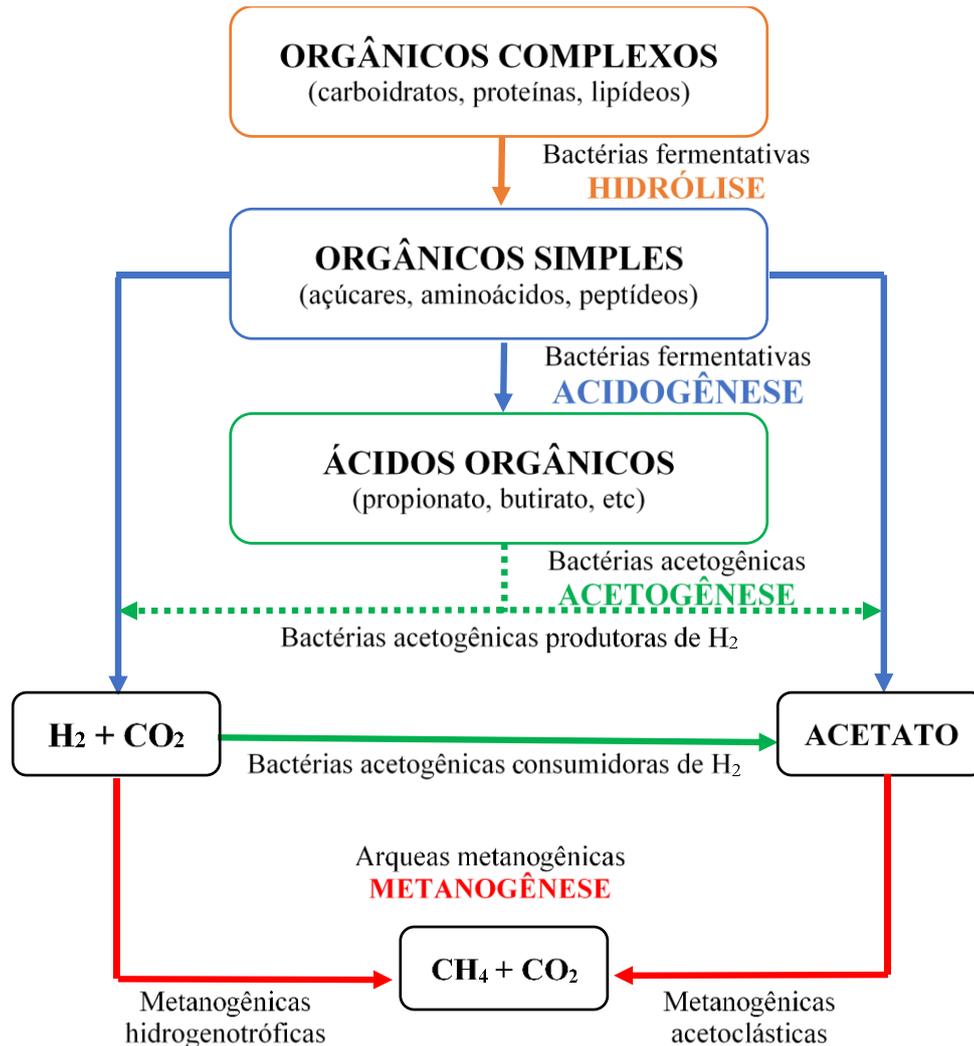


Piruvato: ferredoxin óxido redutase (PFOR)



A digestão anaeróbia é muitas vezes considerada um processo complexo. a digestão em si é baseada em um processo de redução que consiste em uma série de reações bioquímicas que ocorrem sob condições anaeróbias. Conforme ilustrado na Figura 2, a digestão anaeróbia envolve quatro etapas diferentes: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Geralmente, nesse tipo de processo, a limitação da produção pode ser definida como a etapa que causa a falha do processo sob o estresse cinético imposto (ASLANZADEH, 2014).

**Figura 2:** Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007)

Adekunle e Okolie (2015) afirmam que a hidrólise é o primeiro passo no processo de digestão anaeróbia, envolve a transformação mediada por enzimas de materiais orgânicos insolúveis e compostos de massa molecular mais elevada, como lípidos, polissacáridos, proteínas e ácidos nucleicos, em materiais orgânicos solúveis, ou seja, compostos apropriados para o uso como fonte de energia e carbono celular, como monossacarídeos, aminoácidos e outros compostos orgânicos simples. Este primeiro estágio é muito importante porque as moléculas orgânicas são grandes para serem diretamente absorvidas e usadas pelos microrganismos como substrato.

De acordo com Teghammar (2013), na acidogênese, os monômeros produzidos na fase hidrolítica são absorvidos por diferentes bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias e são degradadas ainda mais em ácidos orgânicos de cadeia curta, como os ácidos butírico,

propanoico, acético, alcoólico, hidrogênio e dióxido de carbono. A concentração de hidrogênio formado como produto intermediário nesse estágio influencia o tipo de produto final produzido durante o processo de fermentação.

Visando maximizar a produção de hidrogênio, pode-se inibir o desenvolvimento de microrganismos metanogênicos nos inóculos (consumidores de H<sub>2</sub>) através de pré-tratamentos físicos e/ou químicos (WANG e WAN, 2009; ASLANZADEH, 2014).

Por outro lado, sabe-se que a produção de hidrogênio depende de inúmeros fatores, entre eles estão as rotas fermentativas realizadas pelos microrganismos para a degradação da matéria orgânica e também os produtos finais gerados por essas rotas (MAINTINGUER *et al.* 2011).

Teoricamente, o rendimento máximo de H<sub>2</sub> é de 4 mol H<sub>2</sub>/mol<sub>glicose</sub> quando a glicose é completamente metabolizada a partir da rota de acetato (Equação 4), gerando 2 moles de acetato e 4 moles de hidrogênio. Outra rota importante seguida durante a produção de H<sub>2</sub> é a rota do butirato (Equação 5), rendendo o máximo de 2 mol H<sub>2</sub>/mol<sub>glicose</sub>. A rota do etanol (Equação 6) também gera um rendimento teórico de 2 mol H<sub>2</sub>/mol<sub>glicose</sub>. Bactérias homoacetogênicas que tenham sobrevivido ao pré-tratamento do inóculo, podem consumir H<sub>2</sub> para produzir acetato (Equação 7), diminuindo o rendimento de hidrogênio (HY). Outra rota que provoca a redução do HY é a fermentação do propionato (Equação 8), que consome substrato e H<sub>2</sub> (BARCA et al., 2015; CHAVES, 2018).

Produção de ácido acético:



Produção de ácido butírico:



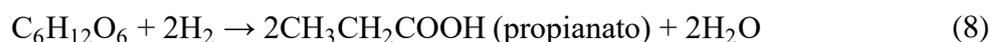
Produção de etanol:



Produção de ácido acético a partir de bactérias homoacetogênicas:



Produção de ácido propiônico:



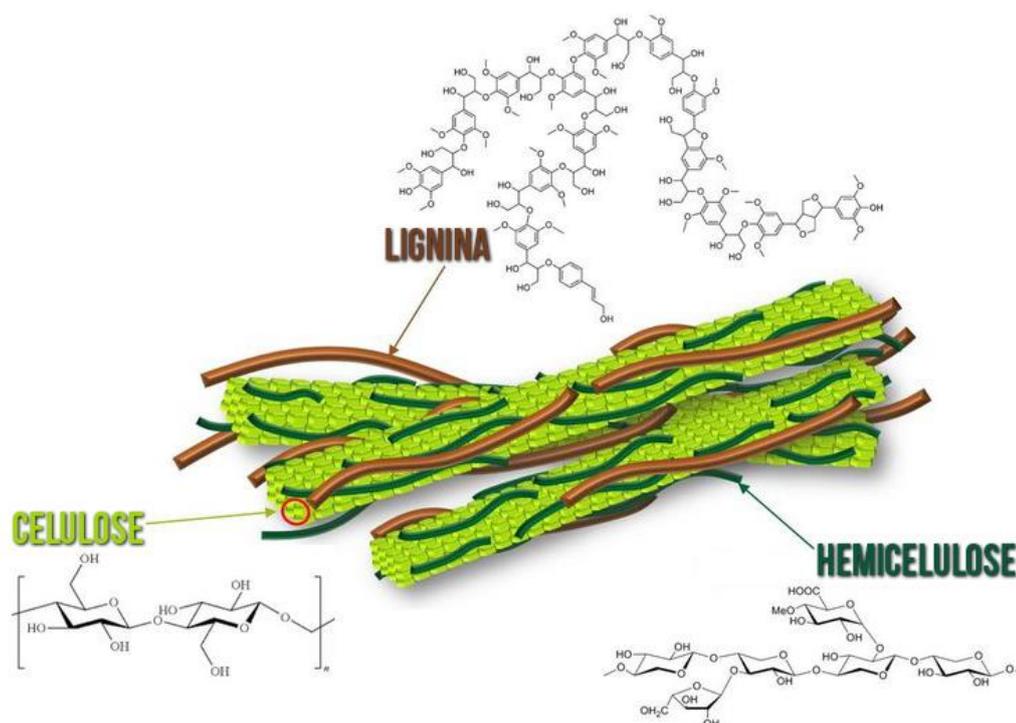
### 3.4 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

O desenvolvimento de sistemas energéticos sustentáveis baseados em matérias-primas renováveis de biomassa é agora um esforço universal. Biocombustíveis produzidos a partir de vários materiais lignocelulósicos, como madeira, resíduos agrícolas ou florestais, têm o potencial de substituir ou complementar o uso de combustíveis fósseis (BAJPAI, 2016).

Como pode ser observado na Figura 3, a lignocelulose é um composto natural constituído basicamente de celulose, hemicelulose e lignina. Nela, a celulose e a hemicelulose estão emaranhadas e envoltas por lignina (DE VRIES e VISSER, 2001). Segundo Moshi (2015), o principal componente das cascas da mandioca é o amido (30% a 43% da matéria seca), que é facilmente hidrolisável e digerível mesmo sem pré-tratamento. O segundo maior componente das cascas é lignocelulose, que corresponde a 22-27% da matéria seca.

A conversão biológica da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis é baseada na decomposição da biomassa em açúcares aquosos usando meios químicos e biológicos. Doravante, os açúcares fermentáveis podem ser processados em etanol ou outros biocombustíveis avançados. Portanto, o pré-tratamento é necessário para aumentar a acessibilidade da superfície dos polímeros de carboidratos às enzimas hidrolíticas (BAJPAI, 2016).

**Figura 3:** Estrutura da biomassa lignocelulósica

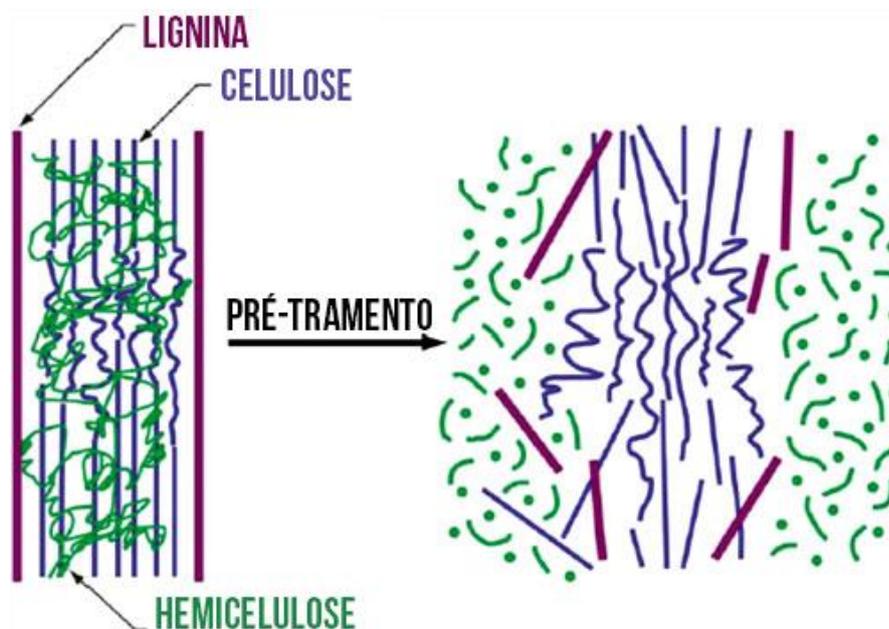


Fonte: Adaptado de PELTRE *et al.* (2017)

Os principais objetivos do processo de pré-tratamento são remover a lignina e hemicelulose, aumentar a porosidade dos materiais lignocelulósicos e reduzir a cristalinidade da celulose, tornando assim a celulose acessível para a hidrólise (Figura 4). O pré-tratamento também deve atender os seguintes requisitos (CHANDRA et al. 2007; BAJPAI, 2016; GALBE e ZACCHI, 2007; MOSIER et al. 2005; LYND et al. 2008):

- Baixo capital e custo operacional;
- Efetivo em uma ampla faixa e carregamento de materiais lignocelulósicos;
- Deve resultar na recuperação da maioria dos componentes lignocelulósicos em uma forma utilizável em frações separadas
- Evitar a formação de subprodutos inibidores dos processos subsequentes de hidrólise e fermentação;
- Baixa demanda de energia ou ser realizado de forma que a energia investida possa ser usada para outros fins, como aquecimento secundário.
- Melhorar a formação de açúcares ou a capacidade de formar açúcares posteriormente pela hidrólise,
- Evitar a degradação ou perda de carboidratos.

**Figura 4:** Esquema do efeito de pré-tratamento na biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de Perras et al. (2017)

Segundo Wang e Yin (2017), houve um significativo acréscimo no número de pesquisas que aplicam diversos métodos de pré-tratamentos à biomassa para a produção de biocombustíveis a partir da fermentação escura.

Com o intuito de avaliar esse fenômeno, foram analisados trabalhos publicados em periódicos importantes da área, desde 2007 até 2018. A Tabela 4 sintetiza publicações que utilizaram distintos métodos de pré-tratamentos em uma gama de biomassas para a produção de três tipos de biocombustíveis a partir da fermentação anaeróbia, são eles: Bio-hidrogênio, biogás e bioetanol. Em todos os trabalhos analisados, sem nenhuma exceção, houve aumento na eficiência da produção dos biocombustíveis ao aplicar pré-tratamento na biomassa. Os dados das máximas produções de biocombustíveis dos trabalhos também constam na referida tabela.

**Tabela 4:** Estudos que aplicaram pré-tratamentos nas biomassas para produção de biocombustíveis

AUTOR	OBJETIVO DO ESTUDO	PRÉ-TRATAMENTO	SUBSTRATO	MÁXIMA PRODUÇÃO
Cui et al., 2010	Produção de bio-hidrogênio	Ácido, Alcalino e Enzimático	Folha de Álamo	44,92 mL H <sub>2</sub> /g de folha (Pré-tratamento Enzimático)
Cui e Shen, 2012	Produção de bio-hidrogênio	Alcalino e Ácido	Gramma	72,21 mL H <sub>2</sub> /g (Pré-tratamento ácido)
Zhang et al., 2016	Produção de bio-hidrogênio	Enzimático	Palha de milho	51,9 l H <sub>2</sub> /KgST
Eskicioglu et al., 2017	Produção de bio-hidrogênio	Térmico	Palha de trigo, de arroz e de milho, sorgo de biomassa	5 a 26 ml de H <sub>2</sub> /gSV
Andrade, 2017	Produção de bio-hidrogênio	Alcalino e Ácido	Palma forrageira ( <i>Nopalea cochenillifera</i> )	286,32 ml de H <sub>2</sub> /gSSV (Pré-tratamento alcalino)
Yang et al., 2018	Produção de bio-hidrogênio	Físico-químico	Resíduos de grama	68 ml/g de resíduo de grama
Petersson et al., 2007	Produção de bioetanol	Físico	Semente de colza, da fava e centeio de inverno	Rendimento máximo de 70%
Moshi et al., 2014	Produção de bioetanol	Enzimático	Mandioca ( <i>Manihot glaziovii</i> )	85g/mL de bioetanol

**Tabela 4:** Estudos que aplicaram pré-tratamentos nas biomassas para produção de biocombustíveis

Moshi et al., 2015	Produção de bioetanol	Alcalino-enzimático	Casca da mandioca ( <i>Manihot glaziovii</i> )	1,3 g/L/h
Gonçalves et al., 2015	Produção de bioetanol	Enzimático	Casca do coco	0,21 g/L/h
Isitua et al., 2018	Produção de bioetanol	Alcalino e ácido	Casca da mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> )	Produção de 8,1 % (v/v) de etanol
Zhang et al., 2016	Produção de bioetanol	Ácido e enzimático	Palha de milho	1776mg COD/L de etanol
Petersson et al., 2007	Produção de biogás	Físico	Semente de colza, da fava e centeio de inverno	Rendimento máximo teórico de 85%
Zhong et al., 2011	Produção de biogás	Enzimático	Palha de milho	Rendimento máximo teórico de 75%
Moshi et al., 2015	Produção de biogás	Alcalino-enzimático	Casca da mandioca ( <i>Manihot glaziovii</i> )	43-53 mL de CH <sub>4</sub> /Kg de SSV
Veluchamy et al., 2018	Produção de biogás	Térmico	Papel (celulose)	303 mL de CH <sub>4</sub> /gSSV

Fonte: Autor (2019)

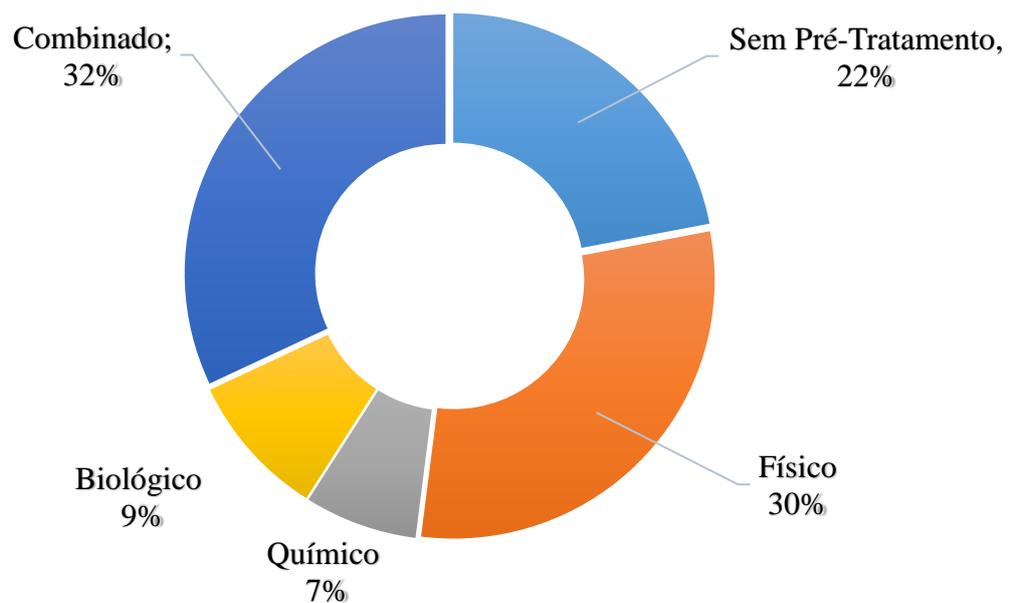
### 3.4.1 MÉTODOS DE PRÉ-TRATAMENTO

Os métodos de pré-tratamento podem ser divididos em diferentes categorias, são elas: físico, físico-químico, químico, biológico, elétrico ou uma combinação destes. Os métodos de combinatórios são geralmente mais eficazes para melhorar a digestibilidade da biomassa e são frequentemente usados na concepção das principais tecnologias de pré-tratamento (BAJPAI, 2016).

Wang e Yin (2017) estudaram a distribuição de diferentes métodos de pré-tratamentos utilizados nos artigos enfocados na produção de hidrogênio a partir da fermentação escura da biomassa entre os anos de 2008 e 2017. Os métodos combinados foram os mais utilizados, representando cerca de 32% de todos os estudos, seguido pelo tratamento físico com 30%. A Figura 5 sintetiza a porcentagem de utilização de cada tipo de pré-tratamento nos estudos desse período.

O presente tópico visa destacar os principais métodos de pré-tratamento utilizados para aumentar os rendimentos de bioetanol, biogás e bio-hidrogênio na fermentação escura de biomassas lignocelulósicas.

**Figura 5:** Utilização de pré-tratamentos nos artigos enfocados na produção de hidrogênio a partir da fermentação escura da biomassa entre os anos de 2008 e 2017



Fonte: Adaptado de Wang e Yin (2017)

#### 3.4.1.1 Pré-Tratamento Físico

A cominuição é o mais difundido método de pré-tratamento físico para biomassas lignocelulósicas, uma vez que aumenta a área superficial específica disponível e reduz grau de polimerização e a cristalinidade da celulose (SUN e CHENG, 2002). Palmowski e Muller (1999), relatam que diferentes métodos mecânicos de redução de tamanho têm sido utilizados para melhorar a digestibilidade da biomassa lignocelulósica.

A cominuição tem sido usada na maioria dos estudos de hidrólise e pré-hidrólise, porém não há muita informação disponível sobre a energia consumida durante o processo (ZHU et al., 2005). Estudos mostraram que o processo de moagem aumenta os rendimentos de bioetanol, biogás e bio-hidrogênio (STEYER *et al.*, 2002).

Fato notório é a grande quantidade de trabalhos recentes (MOSHI et al., 2014; SALEM et al., 2018; PAWAR et al., 2014; CAI et al., 2013; ZHU et al., 2005; WANG et al., 2009) que utilizam a cominuição mecânica como uma etapa do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.

#### 3.4.1.2 Pré-Tratamento Ácido

Ácido sulfúrico e ácido clorídrico, concentrados ou diluídos, têm sido amplamente utilizados para tratar materiais lignocelulósicos (AGBOR et al., 2011; BENSAN e MENSAH, 2013; CHATURVEDI e VERMA, 2013; KUMAR et al. 2009; MOSHI et al., 2014).

Nesse tipo de pré-tratamento, a solução ácida é misturada com biomassa para solubilizar a hemicelulose, aumentando assim a acessibilidade da celulose no substrato. O pré-tratamento com ácido sulfúrico ou clorídrico diluído pode melhorar significativamente a hidrólise da celulose, aumentando assim a eficiência das reações. Por outro lado, embora o pré-tratamento com ácido diluído possa melhorar significativamente a hidrólise da celulose, é necessária uma neutralização do pH para o processo de fermentação (ESTEGHALIAN *et al.*, 1997; BAJPAI, 2016).

De acordo com Nguyen et al. (2013), o pré-tratamento com ácido diluído é realizado a uma temperatura variando de 50°C a 215 °C e o tempo de permanência varia de alguns segundos a minutos, dependendo da temperatura do pré-tratamento. Em outro método, a biomassa pré-condicionada e fisicamente pré-tratada é submersa em um banho circulante de ácido sulfúrico ou clorídrico diluído, o banho é então aquecido a temperaturas desejadas para efetuar o pré-tratamento em diferentes níveis.

Segundo Wang e Yin (2017), o pré-tratamento ácido é, juntamente com o pré-tratamento alcalino, o mais comumente utilizado por sua facilidade de operação e alta eficiência. Relatam ainda que, embora se acredite que o pré-tratamento com ácido concentrado à baixas temperaturas seja mais econômico, o ácido diluído a maiores temperaturas é mais amplamente utilizado por seu melhor desempenho.

#### 3.4.1.3 Pré-Tratamento Alcalino

O tratamento alcalino funciona através da dissolução e saponificação de ligações éster, levando à dissolução da membrana celular, diminuição da polimerização e destruição da cristalinidade da celulose. NaOH, NH<sub>4</sub>OH e Ca(OH)<sub>2</sub> são usados nesse tipo de pré-tratamento (WANG e YIN, 2017).

O pré-tratamento alcalino quebra a estrutura da lignina e rompe a ligação entre a lignina e as outras frações de carboidratos na biomassa lignocelulósica, tornando assim os carboidratos mais acessíveis. A reatividade dos polissacarídeos remanescentes aumenta à medida que a lignina é removida. Acetil e outros tipos de ácidos urônicos, que reduzem a acessibilidade de enzimas à superfície da celulose, também são removidas por pré-tratamentos alcalinos (MOSIER et al., 2005; CHANDRA et al., 2007).

A eficácia do pré-tratamento alcalino varia, dependendo do substrato e das condições de tratamento. Em geral, o pré-tratamento alcalino é mais efetivo em madeiras, herbáceas e resíduos agrícolas com baixo teor de lignina do que em substratos com alto teor de lignina (OZKAN et al., 2011).

Bajpai (2016) listou as principais vantagens e desvantagens dos pré-tratamentos ácidos e alcalinos, que estão reunidos na Tabela 5.

**Tabela 5:** Comparação entre as vantagens e desvantagens dos pré-tratamentos ácidos e alcalinos

<b>PRÉ-TRATAMENTO COM ÁCIDO DILUÍDO</b>	
<b>VANTAGENS</b>	<b>DESVANTAGENS</b>
Pode gerar grandes taxas de reações	Necessidade de neutralizar o pH após o tratamento
Pode-se controlar significativamente a melhora da hidrólise da hemicelulose e da celulose ao variar o grau de severidade do pré-tratamento	Formação de produtos de degradação e liberação de inibidores naturais de fermentação da biomassa
Fácil manuseio/aplicação	A redução do tamanho de partícula de biomassa é necessária

<b>PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO</b>	
<b>VANTAGENS</b>	<b>DESVANTAGENS</b>
Processos alcalinos causam menos degradação do açúcar em comparação com processos ácidos	Necessidade de neutralizar o pH após o tratamento
Pode-se controlar significativamente a melhora da hidrólise da hemicelulose e da celulose ao variar o grau de severidade do pré-tratamento	Menos eficaz com biomassas com alto teor de lignina
Fácil manuseio/aplicação	Conversão de álcali em sais irrecuperáveis e / ou incorporação de sais na biomassa durante as reações de pré-tratamento

Fonte: Adaptado de Bajpai (2016)

### **3.5 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO ANAERÓBIA DE BIO-HIDROGÊNIO**

A digestão anaeróbia é um processo complexo e dependente de muitos fatores que podem interferir no rendimento de hidrogênio. Entre eles pode-se citar: temperatura, pH, substrato, método de tratamento de inóculo, taxa de carregamento orgânico e elementos tóxicos (AMORIM, 2009). Nishio e Nakashimada (2004) ressaltam ainda a influência do tipo de reator.

#### **3.5.1 INFLUÊNCIA DO PH**

A relevância do pH na bioprodução de hidrogênio em reatores anaeróbios é inquestionável, visto que o mesmo afeta a função das enzimas hidrogenases bem como a velocidade de ação dos microrganismos digestores, influenciando nas vias metabólicas e na estrutura microbiana. As enzimas hidrogenase podem ser reguladas por alterações no pH extracelular, afetando a produção de hidrogênio através da alteração da atividade enzimática por meio da redução no potencial de aminoácidos nos sítios ativos (VASCONCELOS et al., 2016; AMORIM, 2012; LIMA, 2015; CHAVES, 2018).

A atividade catalítica das enzimas e proteínas da membrana pode ser regulada por alterações no pH extracelular. O H<sup>+</sup> extracelular afeta a rota metabólica levando à produção de H<sub>2</sub> de três maneiras: (1) através da alteração da atividade dos sítios catalíticos; (2) pela alteração da hidrólise do substrato; (3) alterando o fluxo de nutrientes através da força motriz de prótons (KODUKULA et al., 1988; PEREGO, 2002; CHENG, 2010; ZHANG et al., 2007; GOODWIN e ZEIKUS, 1987 apud VIANA, 2016).

Não existe um consenso na comunidade científica sobre o pH inicial ideal para a produção de hidrogênio fermentativo. Por exemplo, o pH inicial ótimo para produção de hidrogênio fermentativo relatado por Khanal et al. (2004) foi de 4,5, enquanto que o relatado por Lee et al. (2002) foi 9,0.

Segundo Viana (2016), diversos estudos mostram que o pH ótimo para a produção de H<sub>2</sub> é entre 4,5 e 5,7 (considerando o gênero *Clostridium* como o principal produtor de H<sub>2</sub>) porque a síntese ou a ativação da hidrogenase é afetada negativamente fora dessa faixa (GOTTWALD e GOTTSCHALK, 1985). Além disso, sob condições ácidas, as archaeas metanogênicas têm a sua atividade metabólica inibida (ROSSI et al., 2011).

Por outro lado, Nualsri et al. (2016) relatam que as bactérias acidogênicas preferem um intervalo de pH entre 5,5 e 6,5. Fato é que a possível razão para essa discordância entre a comunidade científica se deve à diferença entre os estudos realizados em termos de inóculo, substrato e faixa inicial de pH estudados (WANG e YIN, 2017).

### 3.5.2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA

A temperatura é um dos fatores mais importantes que influenciam as atividades de bactérias produtoras de hidrogênio. Foi demonstrado que, em uma faixa apropriada, o aumento da temperatura poderia aumentar a produção de hidrogênio, porém, a produção diminui ao elevar a temperatura além dessa faixa (KARADAG et al., 2014).

De acordo com Li e Fang (2007), embora a temperatura ótima para a produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia não seja sempre a mesma, há um consenso que as bactérias acidogênicas se desenvolvem mais rapidamente na faixa mesofílica (em torno de 37°C) e na faixa termofílica (em torno de 55°C).

Em países tropicais, o processo de produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia pode ser realizado próximo à temperatura ambiente, tornando o processo mais econômico quando comparado à utilização de temperaturas termofílicas (WANG e YIN, 2017).

Segundo Lazaro et al. (2014), as temperaturas mesofílicas causam um efeito positivo na produção de hidrogênio porque os microrganismos que se desenvolvem nessas condições de temperatura são menos afetados pela produção dos inibidores de fermentação (monômeros fenólicos, ácido acético e derivados de furano) formados durante os pré-tratamentos dos substratos quando comparados aos microrganismos termofílicos.

Diversos estudos recentes avaliaram a influência da temperatura na produção de bio-hidrogênio através da fermentação anaeróbia.

Xing et al. (2008) utilizaram glicose como substrato em reatores operados em batelada, numa faixa de temperatura que variou entre 20 °C e 44 °C, para determinar que o rendimento máximo de hidrogênio (1,34 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose) ocorreu em 37 °C. De maneira semelhante, Yin e Wang (2016) utilizaram glicose como substrato em reatores operados em batelada, numa faixa de temperatura que variou entre 20 °C e 40 °C, para determinar que o rendimento máximo de hidrogênio (1,69 mol de H<sub>2</sub>/mol de glicose) ocorreu em 35 °C. Por outro lado, Lee *et al.* (2008) utilizaram amido como substrato em reatores operados em batelada, numa faixa de temperatura que variou entre 37°C e 55°C, para determinar que o rendimento máximo de hidrogênio (1,44 mol de H<sub>2</sub>/g de amido) ocorreu em 37°C.

### 3.5.3 INFLUÊNCIA DO TIPO DE INÓCULO E SEU TRATAMENTO

De acordo com Elsharnouby et al. (2013), a produção anaeróbia de bio-hidrogênio é bastante influenciada pelo tipo de inóculo, uma vez que os produtos finais da fermentação dependem da cultura microbiana, que inclui: misturas de bactérias anaeróbias obtidas a partir de digestores anaeróbios de lamas, pilhas de compostagem e culturas puras de espécies de bactérias acidogênicas.

De Sá (2011) afirma que a produção de hidrogênio biológico pode ser realizada a partir de culturas microbianas mistas ou culturas puras selecionadas a partir de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>. As culturas puras apresentam como vantagens a fácil manipulação do metabolismo através da alteração das condições de crescimento, elevados rendimentos de H<sub>2</sub> e a redução de subprodutos. No entanto, são mais sensíveis às contaminações, o que demanda, na maioria dos casos, um maior cuidado no processo e aumento de custo global do mesmo. Já as culturas mistas possibilitam um custo menor do processo, pois é possível utilizá-las a partir de fontes naturais, tais como solo, lodo de estação de tratamento de efluentes, excreta de animais e compostos ou através de certos resíduos. Como principal desvantagem, há a probabilidade de existência de microrganismos consumidores de H<sub>2</sub>, o que torna necessário a utilização de pré-tratamentos de inóculo para inibí-los ou minimizá-los.

Estratégias de inibição da metanogênese (EIM) aplicadas à inóculos de natureza mista melhoram a produção de H<sub>2</sub> e são amplamente utilizadas, porém não há consenso sobre a EIM que melhor seleciona uma microbiota com potencial para produção de H<sub>2</sub>. Várias EIMs são propostas na literatura, dentre as quais pode-se destacar: choque térmico, adição de ácidos ou bases, congelamento seguido de descongelamento, aeração e adição de clorofórmio (VIANA, 2016).

Além de inibir a atividade metanogênica, as EIMs podem, de acordo com Rossi et al (2011), induzir a formação de esporos, um fenômeno benéfico que aumenta a resistência a condições adversas em algumas bactérias produtoras de H<sub>2</sub>.

A diversidade microbiana está relacionada com o tipo de EIM aplicado ao inóculo (NING *et al.*, 2012). Choque térmico e manutenção de pHs extremos são EIMs realizadas para eliminar micro-organismos que não formam esporo (ROSSI et al., 2011), enquanto EIMs de natureza química usando clorofórmio visam suprimir a atividade metanogênica inibindo a coenzima M redutase (CAPONE, 1988), presente nas archaeas metanogênicas.

Pendyala et al. (2012) observaram que o choque térmico é o mais eficaz porque estimula a produção de esporos e promove maiores níveis de diversidade entre as bactérias produtoras de hidrogênio.

#### 3.5.4 INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO

O aumento da concentração de substrato poderia aumentar a capacidade das bactérias produtoras de hidrogênio de produzir hidrogênio durante a fermentação anaeróbia, porém concentrações de substrato em níveis muito altos podem diminuir essa produção (LEE et al., 2008). Além disso, segundo Wang e Yin (2017), existe certo desacordo sobre a concentração ótima de um determinado substrato para produção de hidrogênio fermentativo.

Para um bom rendimento de hidrogênio, são necessários substratos com quantidades significativas de matéria orgânica. Neste sentido, muitos resíduos industriais são utilizados como fonte de carbono para produzir hidrogênio e, cada material, exige a seleção individual de condições de processamento ótimas na fermentação anaeróbia (CHAVES, 2018; PAWAR e VAN NIEL, 2013; URBANIEC e BAKKER, 2015).

Alguns substratos complexos não são ideais para a produção de hidrogênio fermentativo devido às suas estruturas complexas, no entanto, após serem pré-tratados por alguns métodos, eles podem ser facilmente usados por bactérias produtoras de hidrogênio (WANG e YIN, 2017). Por exemplo, Zhang et al. (2007) relataram que o rendimento de hidrogênio a partir de resíduos de talo de milho após o pré-tratamento ácido era muito maior do que sem qualquer pré-tratamento.

Como ilustrado na Tabela 2, diversos tipos de substrato podem ser utilizados como substrato para a produção bio-hidrogênio através da fermentação anaeróbia.

### 3.5.5 INFLUÊNCIA DO TIPO DE REATOR

A configuração do reator é crucial para o desenvolvimento do consórcio microbiano, já que ele influencia diretamente no microbioma, no comportamento hidrodinâmico e na superfície de contato entre o microrganismo e o substrato (MOHAN, 2009).

Conforme pode ser observado na Tabela 2, a maioria dos estudos sobre a produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia é realizada em modo batelada. Segundo Debrata Das et al. (2014) isso ocorre devido à sua operação e controle simples.

Entretanto, Viana (2016), alerta que em experimentos conduzidos em frascos, o controle do pH (fator crucial durante a produção de  $H_2$ ) pode ser dificultado. Uma outra questão relacionada com esse tipo de reator é o acúmulo de  $H_2$  no *headspace*, o que pode inibir a produção de  $H_2$  pelo aumento da pressão parcial (HALLENBECK, 2009). Para sanar tal problema, a purga com gás inerte é, de acordo com Mathew (2015), a melhor solução.

### 3.5.6 INFLUÊNCIA DA TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO

Para cultivos em batelada, a concentração inicial de substrato ( $S_0$ ) representa uma fonte de carbono e energia para as necessidades da biossíntese e outros fins energéticos, enquanto que a concentração inicial de biomassa ( $X_0$ ) é uma fonte de consumo do substrato (LIU, 1996).

Segundo Liu (1996), a relação inicial  $S_0/X_0$  (g demanda química de oxigênio [DQO]/g sólidos totais voláteis [STV]) pode ser escolhida alterando  $S_0$  em uma  $X_0$  constante ou variando  $X_0$  em uma  $S_0$  constante.

De acordo com Viana (2016), a fim de evitar a inibição por excesso de substrato, é recomendável realizar testes para conhecer os valores críticos dessa relação antes de inocular um reator, porque para cada inóculo existe uma concentração inicial ótima de substrato.

## 3.6 MODELOS CINÉTICOS PARA A PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E METANO

Durante a produção de hidrogênio através da fermentação anaeróbia, quando o substrato é degradado, o crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio (HPB) ocorre simultaneamente com a produção de hidrogênio, assim como alguns metabólitos solúveis. Alguns modelos cinéticos têm sido propostos para descrever o progresso da degradação de substrato, crescimento de HPB, produção de hidrogênio e a formação de metabólitos solúveis em um processo de produção de hidrogênio fermentativo (WANG *et al.*, 2008).

Dentre tais modelos cinéticos, o modelo de Gompertz Modificado (Equação 9), desenvolvido por Zwietering et al. (1990), tem sido amplamente utilizado para descrever o

progresso da degradação do substrato, crescimento de HPB, produção de hidrogênio, metano e metabólitos solúveis em processos operados em batelada de fermentação anaeróbia de hidrogênio (LIN *et al.*, 2008).

$$H = P \cdot \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_m \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (9)$$

Onde,

P = Potencial de produção de H<sub>2</sub> ou CH<sub>4</sub>;

R<sub>m</sub> = Taxa de produção de H<sub>2</sub> ou CH<sub>4</sub>;

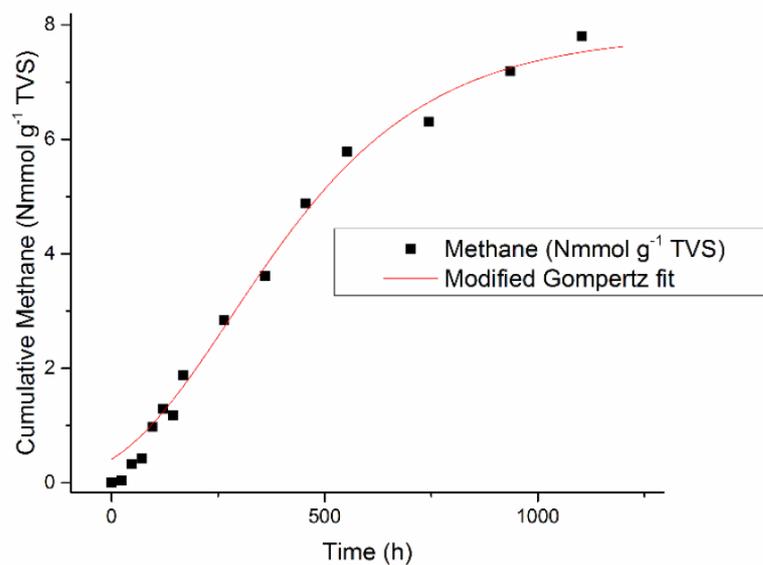
t = Tempo de incubação dos reatores;

e = Número de Euler (2,71828);

λ = Fase lag.

Conforme ilustrado na Figura 6, Ahmad (2017) utilizou a equação de Gompertz Modificada para modelar a produção de metano, durante um processo de produção em batelada por cultura mista anaeróbia.

**Figura 6:** Curva típica da produção cumulativa de metano modelada pelo modelo de Gompertz Modificado



Fonte: Ahmad (2017)

O modelo de Gompertz Modificado é o modelo mais utilizado para descrever o progresso da produção cumulativa de CH<sub>4</sub> e H<sub>2</sub> em experimentos de batelada, ao relacioná-la

com o crescimento e o metabolismo microbiano (GHASEMIAN *et al.*, 2016; AHMAD, 2017; SIRIPATANA *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2017).

### **3.6 A CASCA DA MANDIOCA E SEU POTENCIAL COMO RECURSO ENERGÉTICO**

A mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz, *Manihot utilíssima* e *Manihot ahipi*) também chamada de aipim e macaxeira, originária da América do Sul, produz raiz tuberosa de cores branca, amarela ou rósea, possui reserva de amido com alto valor energético e baixo teor de proteína, além de apresentar razoável teor de vitamina B1, fósforo e ferro. Com mais de 1.200 espécies, as variedades foram melhoradas e adaptadas para uso industrial ou para consumo das famílias (CAMARGO FILHO, 2004; ALVES, 2004; SANTOS, 2018). Aso *et al.* (2018) e Achi *et al.* (2018) ressaltam ainda que a mandioca é uma cultura de raízes perenes, principalmente propagada vegetativamente, que cresce bem em climas tropicais.

Esse tubérculo tem importante valor econômico e de subsistência para cerca de 1 bilhão de pessoas em mais de 90 países, dentre os quais, pode-se destacar o Brasil, que produziu em 2017 cerca de 21 milhões de toneladas de mandioca, caracterizando-se como quarto maior produtor mundial (FAO, 2008; FAO, 2017; EMBRAPA, 2017). Koch *et al.* (2004), afirmam ainda que a macaxeira é a quarta cultura alimentar mais importante nos países em desenvolvimento e a terceira maior fonte mundial de carboidratos.

O processamento da mandioca requer a remoção das cascas (córtex e periderme), cabeça e extremidades da cauda, esses componentes são geralmente descartados como resíduos e geram poluição ambiental (ASO *et al.*, 2018).

Mais de 65% da produção anual global de mandioca é processada para consumo humano, o que gera uma quantidade enorme de resíduos. Esta matéria orgânica não alimentar é potencialmente uma boa matéria-prima para processos de digestão anaeróbica, que geram bioenergia (ACHI *et al.*, 2018). De acordo com NITSCHKE *et al.* (2012), três tipos de resíduos são gerados durante o processamento industrial da mandioca: cascas e bagaço (sólidos) e águas residuais (líquidas). Tais os resíduos são pobres em conteúdo de proteína, mas são ricos em carboidratos e gerados em grandes quantidades durante a produção de produtos derivados dos tubérculos.

O armazenamento inadequado de resíduos sólidos do processamento da mandioca por longos períodos é a principal causa na produção de lixiviados, que podem contaminar as águas subterrâneas em épocas de chuva intensa, nas comunidades produtoras desse tubérculo no norte da África (UBALUA, 2007).

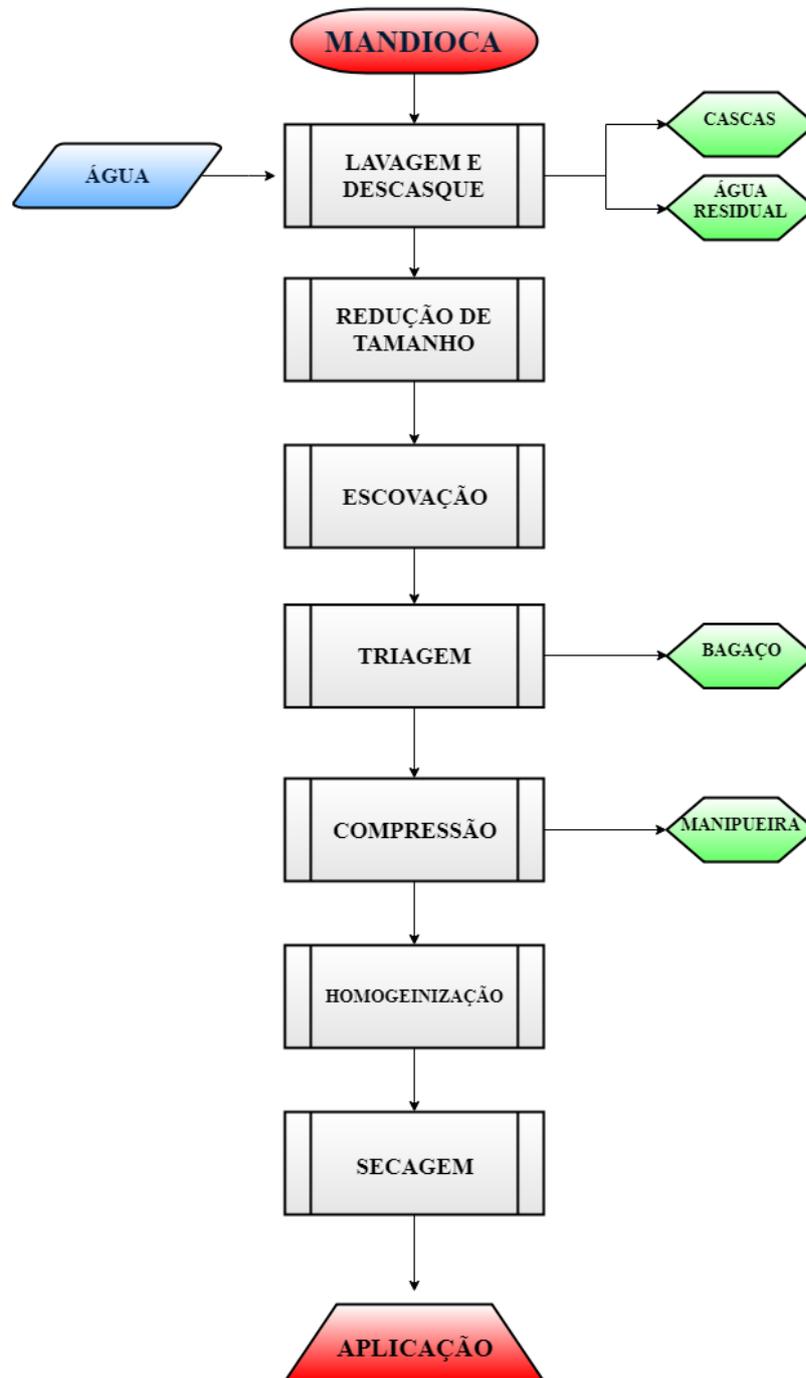
As cascas da mandioca representam entre 10% e 30% da matéria seca do tubérculo, a depender da variedade, do cultivo e da região produtora. Ubalua (2007) estimou esse valor em 10%, enquanto Dufour (1984) afirmou que seriam 16%. Gomez et al. (1983) e Gomez et al. (1985) concordaram em 17%, todavia, Aso (2013) e Cooke (1982) concordaram em 18%. Cuzin (1992) produziu metano com cascas que representavam 30% da matéria seca do aipim. Fato é que, conforme ilustrado na Figura 7 e ratificado por ACHI et al. (2018), toda forma de processamento industrial da mandioca gera grande quantidade de cascas de mandioca como resíduo.

A composição físico-química da casca da mandioca foi estudada por diversos autores e tais análises revelam seu alto teor de amido e lignina, o que a caracteriza como um bom substrato para a digestão anaeróbia, se aplicado pré-tratamento adequado (MOSHI, 2015; ACHI et al., 2018). A Tabela 6 reúne estudos que avaliaram a composição físico-química da casca da mandioca (*Manihot Esculenta*).

**Tabela 6:** Composição físico-química da casca da mandioca, em porcentagem.

<b>Hemicelulose</b>	<b>Celulose</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Lignina</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Referência</b>
32,36	9,71	3,70	16,89	11,38	Nanssou, et al., 2016
27,00	14,00	3,50	11,00	7,00	Babayemi, et al., 2010
23,40	14,17	5,29	10,88	3,70	Pooja e Padmaja, 2015
15,13	25,80	1,86	18,60	0,36	Awoyale, et al., 2019

Fonte: Autor (2019)

**Figura 7:** Processamento industrial da mandioca

Fonte: Adaptado de Costa et al. (2019)

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi planejado de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 8.

### 4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DO SUBSTRATO

Vinte e dois quilos de mandioca foram coletados no dia 07 de agosto de 2017 na Fazenda Olhos D'água, localizada na zona rural do município de Maribondo-AL (9°33'50,804''S e 36°16'5.361''W).

A colheita aconteceu de maneira manual, seguindo os procedimentos indicados em EMBRAPA (2003). Conforme sugerido por Moorphy e Ramanujan (1984) e ratificado por Ki et al. (2013), a coleta da mandioca ocorreu 8 meses após o plantio, ao fim da época chuvosa na região e assegurou-se que todos os tubérculos utilizados na pesquisa tinham maturidade similar.

Os tubérculos coletados seguiram para o Laboratório de Controle Ambiental (LCA), localizado no Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), onde foram lavados com água corrente e descascados manualmente 24 horas após a colheita, conforme Moshi et al. (2014).

As cascas seguiram imediatamente para o pré-tratamento físico, enquanto a polpa foi congelada para posterior doação.

### 4.2 PRÉ-TRATAMENTO FÍSICO

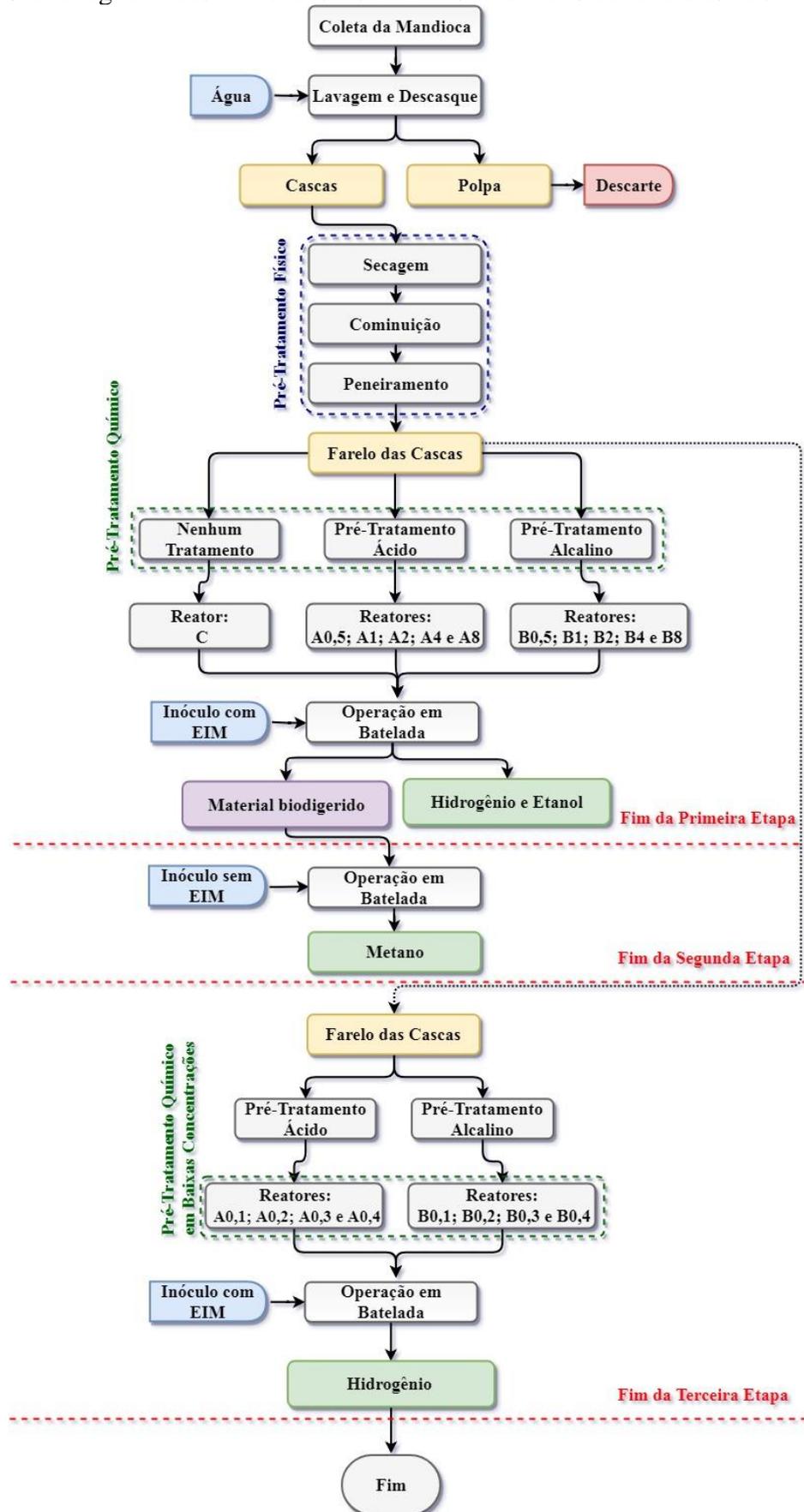
O pré-tratamento físico utilizado na pesquisa foi composto por 3 etapas: Secagem, cominuição e peneiramento.

As cascas coletadas foram secas em estufa bacteriológica, modelo CIENLAB<sup>®</sup> CE-210/100, a 50 – 55 °C, até atingir umidade de 10-12% (Moshi et al., 2014).

Em seguida, as cascas secas foram mecanicamente cominuídas em liquidificador modelo Philips RI2001 e posteriormente peneiradas em peneira com malha de aço de 850 µm, seguindo procedimento realizado por Moshi et al. (2014), Moshi et al. (2015) e Adekunle et al. (2016).

O farelo gerado nesse processo foi acondicionado em sacos de polipropileno Nasco Whirl-Pak<sup>®</sup>, conforme ilustrado na Figura 9.

**Figura 8:** Fluxograma das atividades a serem desenvolvidas durante o estudo



**Figura 9:** Casca de mandioca desidratada (A) e farelo de casca de mandioca após pré-tratamento físico (B)



(A)



(B)

Fonte: Autor (2019)

### 4.3 Pré-Tratamento Químico

Com o intuito de quebrar a estrutura lignocelulósica da casca da mandioca, foram aplicados pré-tratamentos químicos (ácido e alcalino) no farelo fisicamente tratado anteriormente, seguindo metodologia semelhante descrita em CUI e SHEN (2012), ANDRADE (2017) e MOSHI (2014).

Conforme ilustrado na Figura 8, para a realização da primeira etapa do trabalho, a biomassa foi tratada com soluções aquosas diluídas de HCl ou NaOH em concentrações sugeridas na literatura (0,5, 1, 2, 4 e 8 (v/v)), na proporção de 1g de substrato para 20 mL de solução. Para os reatores de controle (brancos), a proporção aplicada foi mantida, de 1g de substrato para 20 mL de água destilada. Posteriormente, fora aquecida por 30 minutos em frascos de borossilicato a  $90 \pm 2$  °C. A mistura foi então neutralizada a pH 7,0 pela adição de solução aquosa diluída de NaOH (ou HCl) em diferentes concentrações.

Posteriormente, durante a terceira etapa do trabalho, a biomassa foi tratada com soluções aquosas diluídas de HCl ou NaOH em baixas concentrações (0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 (v/v)), na proporção de 1g de substrato para 20 mL de solução. Posteriormente, fora aquecida por 30 min em frascos de borossilicato a cerca de  $90 \pm 2$  °C. A mistura foi então neutralizada ao pH 7,0 pela adição de solução aquosa diluída de NaOH (ou HCl) em diferentes concentrações.

#### **4.4 INÓCULO E ESTRATÉGIA DE INIBIÇÃO DA METANOGÊNESE (EIM)**

Na primeira etapa do trabalho, que visa a máxima produção de bio-hidrogênio, os reatores foram inoculados com lodo coletado de um reator UASB de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de um conjunto residencial localizado no bairro Tabuleiro dos Martins, da cidade de Maceió-AL. Com o intuito de inibir a metanogênese, antes da sua utilização o inóculo passou por um pré-tratamento térmico, evitando assim o crescimento de microrganismos consumidores de hidrogênio. A EIM adotada foi elaborado por Maintinguer et al. (2008) e replicada por diversos autores (CHAVES, 2018; ANDRADE, 2017; VIANA, 2016). Consistiu inicialmente no aquecimento do lodo, monitorado com termômetro, a 90°C por 15 minutos, seguido pelo seu resfriamento em banho de gelo até atingir a temperatura de 25°C.

Na segunda etapa, o mesmo lodo proveniente de ETE foi utilizado para inocular os reatores metanogênicos, porém, como nessa etapa não há o interesse pela inibição da fase metanogênica, nenhuma EIM foi adotada.

Por fim, na terceira etapa da pesquisa, o lodo utilizado possui a mesma procedência e passou por EIM idêntica à primeira etapa.

#### **4.5 MONTAGEM E OPERAÇÃO EM BATELADA DOS REATORES**

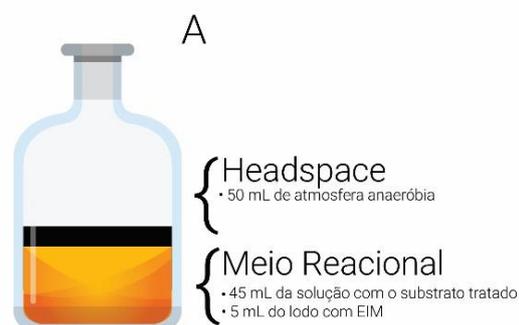
O procedimento experimental foi desenvolvido no LCA/CTEC/UFAL através de adaptação dos métodos de Andrade (2017), Adekunle et al. (2016), Moshi et al. (2015), Cui e Shen (2012).

Na primeira etapa, os reatores foram montados em frascos de borossilicato com volume útil de 100 ml. Conforme ilustrado na Figura 10, em cada frasco foi adicionado 50 mL do meio reacional, sendo 45 mL da solução pré-tratada do substrato e 5 mL do lodo de ETE com a EIM adotada.

O pH foi neutralizado com soluções ácidas ou alcalinas em diferentes concentrações. Segundo Amorim (2012), ainda não existe uma definição quanto ao pH ótimo para produção de hidrogênio. Seguindo a metodologia utilizada em Cui e Shen (2012) o pH foi justado para 7.

Em seguida, foi injetado gás nitrogênio (fornecido pela Linde Gases Brasil) por um minuto em cada frasco, a fim de manter a atmosfera anaeróbia.

**Figura 10:** Ilustração esquemática do projeto dos reatores da primeira etapa



Fonte: Autor (2019)

Os frascos foram então vedados com septos de borracha de butila e tampa de alumínio, sendo posteriormente colocados em uma câmara incubadora com agitação orbital fabricada pela Marconi, modelo MA830, a  $37 \pm 1$  °C, com rotação de 120 rpm.

Os reatores permaneceram incubados por aproximadamente 13 dias. Todos os testes ocorreram em duplicata. A figura 11 ilustra parte dos reatores da primeira etapa montados.

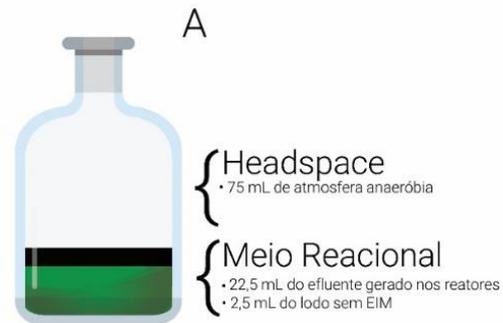
**Figura 11:** Reatores da primeira etapa



Fonte: Autor (2019)

De maneira análoga à primeira etapa, os reatores da segunda etapa foram montados em frascos de borossilicato de 100 mL. Conforme ilustrado na Figura 12, cada frasco era composto por 25 mL do meio reacional, sendo 22,5 mL do efluente gerado nos reatores da primeira etapa e 2,5 mL do lodo de ETE sem EIM. A figura 13 ilustra parte dos reatores da segunda etapa montados.

**Figura 12:** Ilustração esquemática do projeto dos reatores da segunda etapa



Fonte: Autor (2019)

**Figura 13:** Reatores da segunda etapa



Fonte: Autor (2019)

Não obstante, na terceira etapa, os reatores foram montados em frascos de borossilicato com volume útil de 100 ml. Conforme ilustrado na Figura 14, em cada frasco foi adicionado 50 ml do meio reacional, sendo 45 ml da solução pré-tratada do substrato e 5 ml do lodo de ETE com a EIM adotada. A figura 15 ilustra os reatores da terceira etapa montados.

**Figura 14:** Ilustração esquemática do projeto dos reatores da terceira etapa



Fonte: Autor (2019)

**Figura 15:** Reatores da terceira etapa

Fonte: Autor (2019)

A Tabela 7 sintetiza e atribui códigos para todos os reatores utilizados no trabalho.

**Tabela 7:** Códigos dos reatores

<b>Pré-Tratamento</b>	<b>Concentração</b>	<b>Código dos Reatores</b>
Ácido	0,1%	A0,1
	0,2%	A0,2
	0,3%	A0,3
	0,4%	A0,4
	0,5%	A0,5
	1,0%	A1
	2,0%	A2
	4,0%	A4
	8,0%	A8
Alcalino	0,1%	B0,1
	0,2%	B0,2
	0,3%	B0,3
	0,4%	B0,4
	0,5%	B0,5
	1,0%	B1
	2,0%	B2
	4,0%	B4
	8,0%	B8
Sem Pré-Tratamento	-	C

Fonte: Autor (2019)

## 4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas são de fundamental importância para analisar seu potencial para a produção de biocombustíveis. Conforme sugerido por Chaves (2018), Andrade (2017), Ahmad (2017) e Moshi et al. (2014), a caracterização físico-química do substrato consistiu nas seguintes análises: pH, demanda química de oxigênio (DQO) e carboidratos totais. Todas as análises foram realizadas de acordo com APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005).

O teor de carboidratos totais foi determinado utilizando o espectrofotômetro modelo HACH® a 420 nm, em mg/glicose.L, através do método colorimétrico desenvolvido por Dubois et al. (1956), que se baseia no fato de que açúcares e seus derivados, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado, tomam coloração amarelo-alaranjado.

Em cada fase experimental foram feitas coletas de amostras dos reatores anaeróbios, bem como do biogás por eles produzidos, afim de serem realizadas as devidas análises físico-químicas e cromatográficas.

A Tabela 8 compendia a frequência e a metodologia utilizada nessas análises.

**Tabela 8:** Frequência das análises das amostras coletadas

Análises	Frequência	Método
pH	Inicial e final/etapa	APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005)
DQO	Inicial e final/etapa	
SSV	Inicial e final/etapa	
Carboidratos	Inicial e final/etapa	Dubois et al. (1956)
Ácidos voláteis	1 vez/etapa	Maintinguer et al. (2008)
Álcoois e acetona		
Composição do biogás	5 a 10 vezes/semana	Maintinguer et al. (2008)

Fonte: Autor (2019)

### 4.6.1 Análise da composição do biogás

As análises para determinar e quantificar os gases H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> produzidos nos reatores foram feitas por cromatografia gasosa, de acordo com a metodologia desenvolvida por Maintinguer et al. (2008) e replicada por vários autores (CHAVES, 2018; ANDRADE, 2017; VIANA, 2016; AHMAD, 2016). Utilizou-se um cromatógrafo gasoso de alta resolução, da

marca Shimadzu<sup>®</sup>, modelo GC 2010, munido de detector de condutividade térmica (TCD), com as seguintes configurações:

- Coluna Carboxen<sup>™</sup> 1010 PLOT com capilar de sílica fundida (30m x 0,53mm);
- Temperaturas do injetor, detector e coluna = 30, 200 e 230 °C, respectivamente;
- Fluxo do gás de arraste (argônio): 21,9 cm.s<sup>-1</sup>;
- Tempo total de análise: 6,87 min.

Nestas condições, os gases H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>, foram detectados nos tempos aproximados de 0,8, 1,3 e 1,8 minutos, respectivamente. Para as análises, os reatores eram suavemente agitados manualmente, com o objetivo de evitar a estratificação térmica, e a partir daí foram colhidas amostras de 100 µL da fase gasosa do headspace dos reatores com o uso de seringa gastigh com trava, as quais eram injetadas no cromatógrafo para a leitura da área dos gases produzidos. Desta forma, as áreas dos gases analisados foram relacionadas com suas respectivas curvas, resultando na quantidade de mols produzida.

O volume acumulado de hidrogênio foi calculado de acordo com a equação 10:

$$VH_i = VH_{i-1} + CH_i(VG_i - VG_{i-1}) + VH_0(CH_0 - CH_{i-1}) \quad (10)$$

Onde,

VH<sub>i</sub>= volume de hidrogênio acumulado no tempo atual;

VH<sub>i-1</sub>= volume de hidrogênio acumulado no tempo anterior;

CH<sub>i</sub>= volume de hidrogênio acumulado no headspace do recipiente no tempo atual;

CH<sub>i-1</sub>= volume de hidrogênio acumulado no headspace do recipiente no tempo anterior;

VG<sub>i</sub>= volume total de biogás no tempo atual;

VG<sub>i-1</sub>= volume total de biogás no tempo anterior;

VH<sub>0</sub>=volume de hidrogênio acumulado no tempo inicial.

#### 4.6.2 Análises de metabólitos solúveis pelo método de headspace

Nesta etapa foram identificados os subprodutos da digestão anaeróbia produzidos nos reatores, que são conhecidos como metabólitos solúveis e consistem de ácidos orgânicos voláteis, acetona e álcoois. A determinação foi executada pelo método de extração por headspace de acordo com metodologia adaptada de Adorno et al. (2014) e Chaves (2018), com o uso do amostrador automático HS-20 acoplado ao cromatógrafo gasoso GC 2010, ambos da marca Shimadzu<sup>®</sup> e processado no software LabSolutions.

O cromatógrafo gasoso foi o mesmo utilizado na análise de composição do biogás, havendo apenas a troca da sua coluna Carboxen<sup>TM</sup> 1010 PLOT por uma coluna SUPELCOWAX<sup>TM</sup> 10, também com capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25µm), com hidrogênio como gás de arraste e detector de ionização de chama (FID).

As amostras líquidas de efluente para determinação de acetona, álcoois e ácidos foram preparadas pelo efeito *salting-out*, em tubos de 10 mL com tampa rosqueável e septo de silicone branco e azul, com a adição de 1 g de NaCl, 2 mL de amostra, 70 µL de solução de isobutanol a 1 g/L, 100 µL de ácido crotônico a 700 mg/L e 200 µL de ácido sulfúrico 2 M, de acordo com Adorno et al. (2014).

Para o cromatógrafo gasoso GC 2010, as seguintes condições foram utilizadas:

- Rampa de temperatura: 35 °C (0'), 2 °C/min 38 °C (0'), 10 °C/min 75 °C (0'), 35 °C/min 120 °C (1'), 10 °C/min 170 °C 2 °C/min;
- Temperaturas do injetor, do detector (FID) e da coluna: 250, 280 e 35 °C, respectivamente;
- Razão de Split: 1;
- Fluxo do gás de arraste (H<sub>2</sub>), do make-up ou gas auxiliar (N<sub>2</sub>) e do gás de chama (ar sintético): 30, 30 e 300 mL/min, respectivamente;
- Velocidade linear constante: 41,8 cm/s;
- Fluxo da coluna: 1,56 mL/min.dia;
- Tempo total de análise: 14,49 min.

Para o amostrador automático HS-20, as seguintes condições operacionais foram utilizadas:

- Pressão do gás de pressurização (Argônio): 100 kPa;
- Nível de agitação: 2;
- Temperaturas do forno, da linha de amostra e da linha de transferência: 105,3; 150 e 118 °C, respectivamente;
- Tempos de equilíbrio, de pressurização e de equilíbrio da pressão: 5; 0,5 e 0,10 minutos, respectivamente;
- Tempos de carregamento, de equilíbrio do carregamento e de injeção: 0,5; 0,10 e 0,5 minutos, respectivamente;

- Tempo de ciclo do GC: 14,99 minutos.

A partir destas condições, foi possível avaliar a produção de acetona, metanol, etanol, n-butanol e de seis ácidos (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e caproico). A análise de metabólitos também possibilitou a identificação da rota principal seguida pelos microrganismos presentes no reator para produzir hidrogênio.

#### **4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram analisados através técnica de análise de variância (ANOVA), com intervalo de confiança de 95% (teste de Tukey) e  $p \leq 0,05$ , usando o software PAST 3.20 para comparação das médias. Esta técnica tem sido amplamente usada para comparar as médias dos resultados de ensaios em batelada em duplicata e triplicata, inclusive para testes que buscaram avaliar o efeito das estratégias de inibição da metanogênese para aumentar a produção de H<sub>2</sub> (CHAGANTI, 2012; KIM, 2012; LALMAN, 2012; BAGLEY, 2001; PENDYALA *et al.*, 2012, VIANA, 2016).

#### **4.9 AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS**

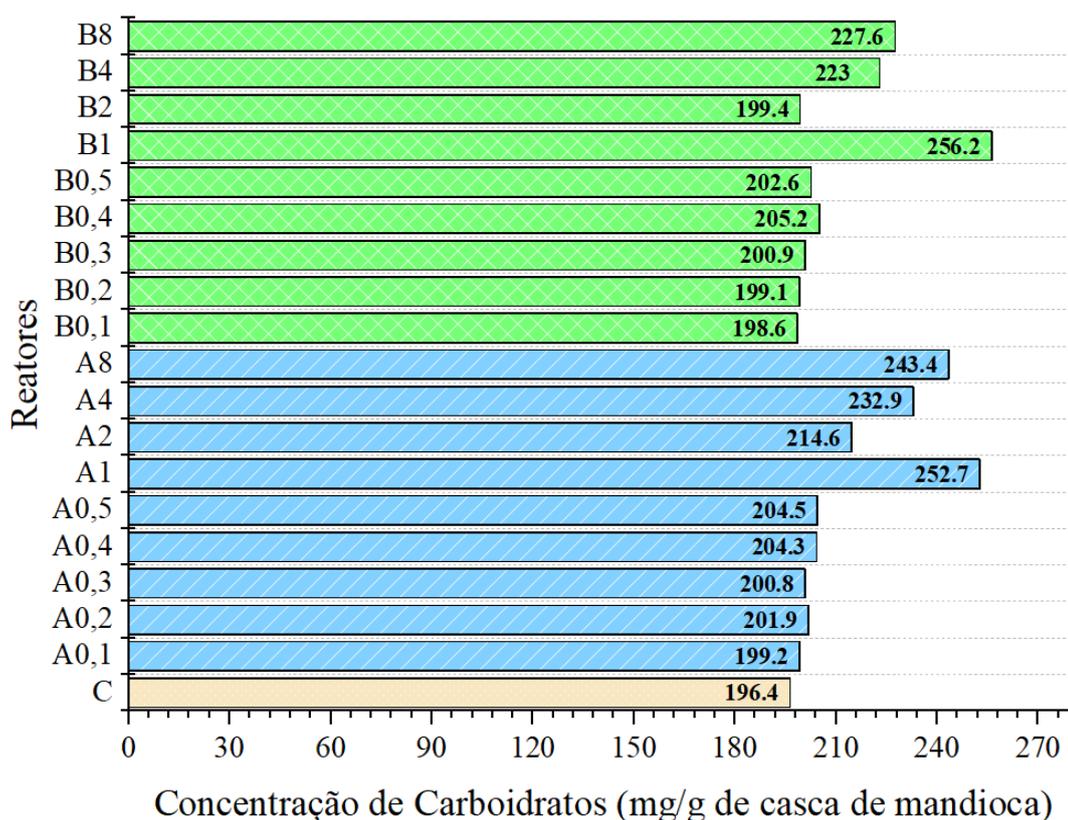
Os dados experimentais obtidos (média dos reatores em duplicata) foram ajustados através da Equação 9, conhecida como equação de Gompertz Modificada (ZWIETERING, 1990), através do software Origin 2018b.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA SACARIFICAÇÃO DO SUBSTRATO

A Figura 16 apresenta a conversão da biomassa lignocelulósica em açúcares solúveis utilizando a fração de 5% (m/v), ou seja, 2,25 g de substrato em 45mL de solução aquosa. É possível observar que todos os pré-tratamentos químicos investigados, independente da concentração utilizada, foram eficientes na solubilização dos carboidratos. O aumento da concentração do ácido clorídrico e do hidróxido de sódio resultaram em comportamento similar sobre a sacarificação da casca da mandioca. As condições A1,0 e B1,0 foram mais eficientes com aumento na concentração de carboidratos de 29% e 30%, respectivamente, em relação ao experimento controle, quando não foi adotado nenhum pré-tratamento.

**Figura 16:** Efeito do pré-tratamento na sacarificação do substrato



Fonte: Autor (2019)

Os valores obtidos nas análises foram comparados pelo teste de Tukey. De acordo com os resultados analisados, é possível afirmar que a aplicação de pré-tratamento químico no substrato resultou em efeito positivo na degradação dos compostos lignocelulósicos presentes na casca da mandioca, pois aumentou significativamente a solubilização dos carboidratos no substrato ( $p \leq 0,05$ ). Esse evento pode ser atribuído, segundo Mosier et al. (2005), à quebra da

estrutura da lignina e ao rompimento da ligação entre a lignina e as outras frações de carboidratos na biomassa lignocelulósica promovidas pelos pré-tratamentos químicos aplicados, tornando assim os carboidratos mais acessíveis.

Andrade (2017) e Cui e Shen, (2012), sob as mesmas condições operacionais e sob concentrações de pré-tratamentos semelhantes, com exceção dos reatores que passaram por pré-tratamento a baixas concentrações ácidas e alcalinas (0,1%, 0,2%, 0,3% e 0,4%), concluíram que as maiores concentrações de glicose, para palma forrageira e para grama, respectivamente, foram obtidas nas condições operacionais submetida a altas concentrações de álcali e ácido, que foi de 8% em ambos os casos.

No entanto, tratando-se da casa da mandioca (*manihot esculenta*), as condições operacionais que promoveram melhores sacarificações, ao observar a solubilização dos polissacarídeos, foram condições A1,0 e B1,0. Sendo este um resultado vantajoso do ponto de vista econômico e ambiental.

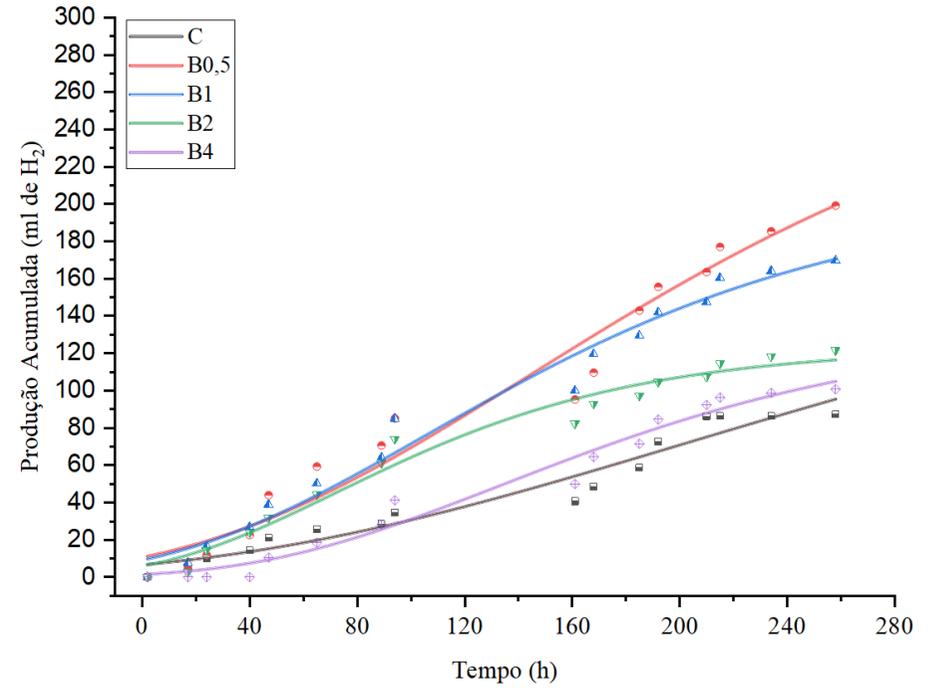
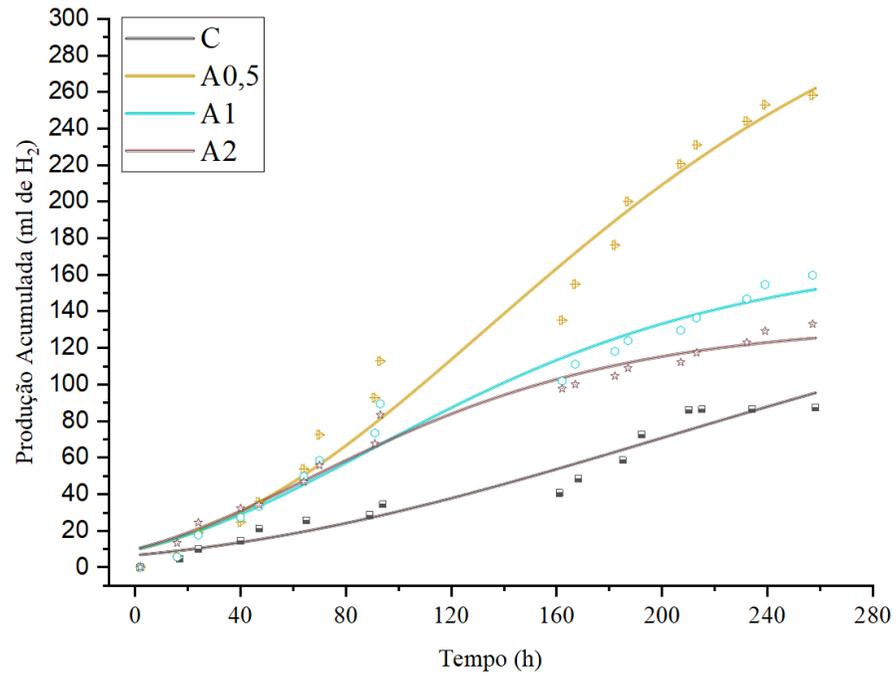
De maneira geral, os pré-tratamentos aplicados mostram-se eficientes para degradar os compostos lignocelulósicos presentes na casca da mandioca, uma vez que todas as condições experimentais estudadas demonstraram quantidades maiores de carboidratos em relação à condição controle.

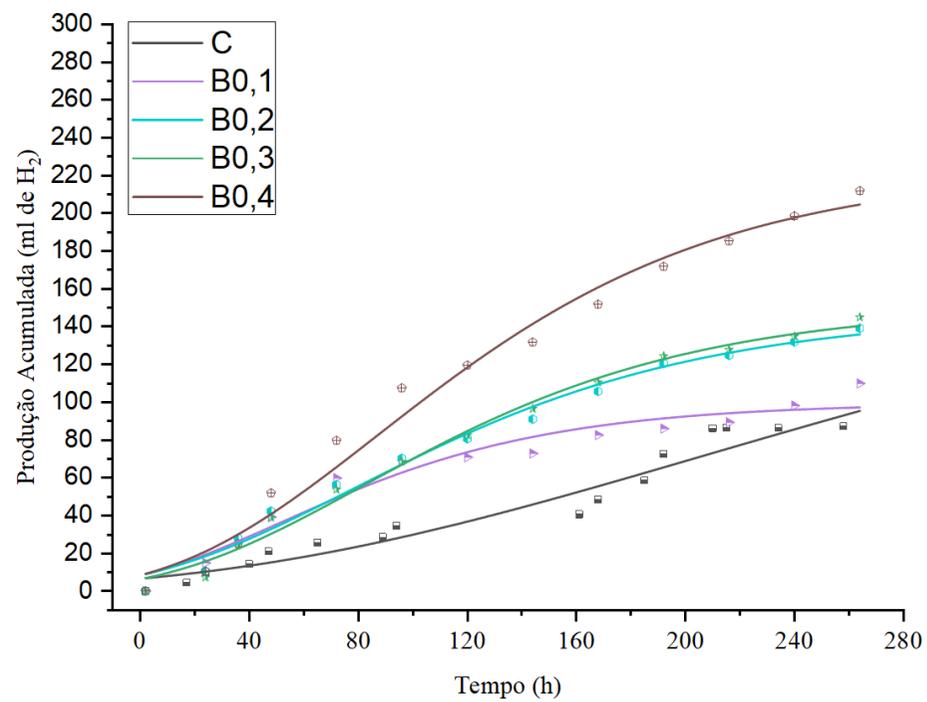
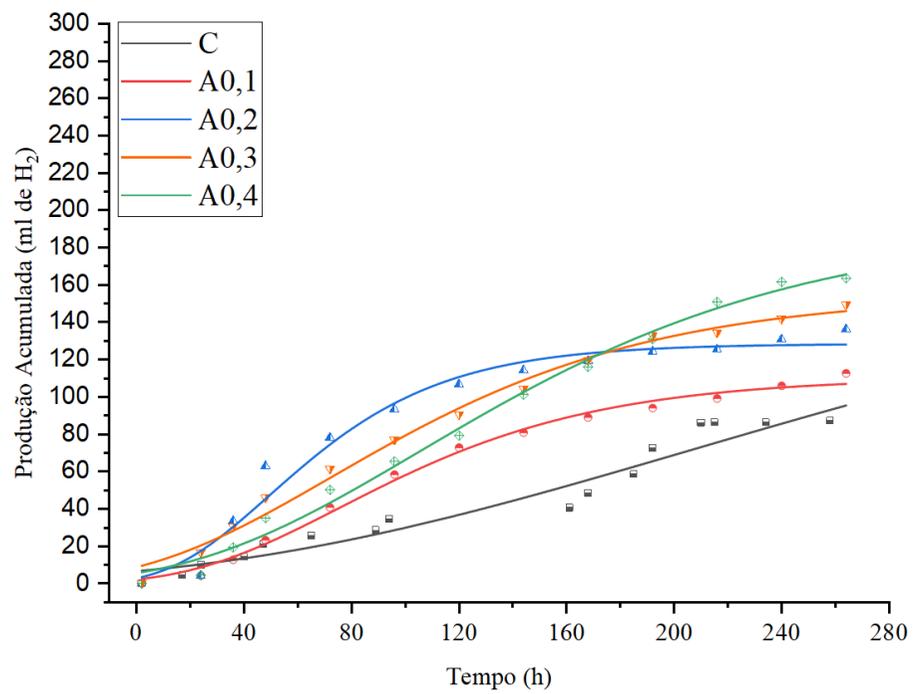
## **5.2 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO**

Os dados indicam a viabilidade da produção de hidrogênio em reatores anaeróbios operados em batelada, quando utilizada a casca de mandioca desidratada como substrato inoculado com lodo de ETE. Não obstante, as análises evidenciam que os pré-tratamentos químicos aplicados no substrato são eficientes para o aumento da produção de hidrogênio. No entanto, assim como relatado por Andrade (2017), não foi observada a produção de hidrogênio nos reatores onde os substratos passaram por pré-tratamentos nas maiores concentrações experimentadas (A8, B4 e B8).

Ao comparar os dados referentes a produção acumulada de hidrogênio nos reatores pelo teste de Tukey, é possível afirmar que os pré-tratamentos químicos utilizados resultaram em efeito positivo significativo na produção de hidrogênio ( $p \leq 0,05$ ). Diversos autores (ADEKUNLE et al., 2016; ANDRADE, 2017; MOSHI et al., 2015) relataram efeito positivo semelhante gerado por esse tipo de pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.

A Figura 17 ilustra a produção acumulada de hidrogênio nos reatores.

**Figura 17:** Produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) para cada tipo de pré-tratamento utilizado



Fonte: Autor (2019)

O modelo cinético de Gompertz Modificado (ZWIETERING et al., 1990) mostrou-se eficaz para ajustar os dados experimentais, o que pode ser comprovado, segundo Ghasemian et al. (2016), pelo fato de todas as análises apresentarem coeficientes ajustados de determinação ( $R^2$ ) maiores que 0,95. A Tabela 8 reúne os valores experimentais dessa etapa da pesquisa e seus respectivos dados cinéticos obtidos através da análise cinética do modelo de Gompertz Modificado. O Apêndice A traz as curvas de produção de hidrogênio ajustadas pelo mesmo modelo.

**Tabela 8:** Dados experimentais e cinéticos da produção de hidrogênio

Reator	Dados Experimentais				Dados Cinéticos do Modelo de Gompertz Modificado			
	Produção Acumulada (mL)	Variação Controle (%)	$\eta$ (mlh <sub>2</sub> /g de casca)	PEH <sub>2</sub> (mlh <sub>2</sub> /gSSVh)	A (mL)	XC (mL/h)	K (h)	R <sup>2</sup>
<b>C</b>	87,28	-	38,79	0,52	94,76	0,42	31,46	0,955
<b>A0,1</b>	112,59	29,00	50,04	0,91	110,52	0,73	20,41	0,999
<b>A0,2</b>	136,29	56,15	60,57	0,99	128,44	0,79	12,50	0,997
<b>A0,3</b>	149,21	70,95	66,31	1,04	155,27	0,83	13,90	0,998
<b>A0,4</b>	163,62	87,46	72,72	1,06	192,07	0,85	22,06	0,998
<b>A0,5</b>	258,10	195,72%	114,71	1,19	287,77	0,95	18,27	0,978
<b>A1</b>	159,79	83,08%	71,02	0,97	167,82	0,78	30,62	0,974
<b>A2</b>	132,96	52,34%	59,09	0,91	131,30	0,73	28,85	0,980
<b>A4</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-
<b>A8</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-
<b>B0,1</b>	109,94	25,96	48,86	0,80	99,59	0,64	14,90	0,995
<b>B0,2</b>	136,14	55,98	60,51	0,91	147,47	0,73	13,96	0,998
<b>B0,3</b>	144,92	66,04	64,41	0,97	151,39	0,78	20,98	0,998
<b>B0,4</b>	198,86	127,84%	88,38	1,14	223,57	0,90	14,77	0,996
<b>B0,5</b>	199,24	128,28%	88,55	1,15	240,26	0,92	23,29	0,970
<b>B1</b>	169,71	94,45%	75,42	1,01	206,98	0,81	11,35	0,985
<b>B2</b>	121,51	39,22%	54,00	0,88	121,68	0,71	13,68	0,981
<b>B4</b>	100,68	15,35%	44,74	0,70	114,10	0,56	45,09	0,980
<b>B8</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Produção de hidrogênio por grama de casca no reator; <sup>PEH<sub>2</sub></sup> Produção específica de hidrogênio; <sup>A</sup> Produção acumulada prevista pelo modelo de Gompertz Modificado; <sup>XC</sup> Taxa de produção de hidrogênio; <sup>K</sup> Tempo gasto antes da produção de H<sub>2</sub> iniciar-se (fase lag).

O reator A0,5 teve a maior produção acumulada de H<sub>2</sub> entre todas as condições experimentais analisadas (258,10 mL). O segundo maior volume acumulado de H<sub>2</sub> foi obtido no reator B0,5, com 199,24 mL. O reator controle, sem nenhum pré-tratamento, produziu 87,3 mL de hidrogênio acumulado.

Os dados indicam um acentuado aumento, igual a 195%, na produção de hidrogênio no reator onde a biomassa foi pré-tratada quimicamente com a solução de HCl 0,5%, frente ao reator sem pré-tratamento químico. Esse aumento na produção de hidrogênio foi reportado em outros trabalhos (ANDRADE, 2017; MOSHI et al., 2014) que analisaram a influência de pré-tratamentos químicos na biomassa lignocelulósica para produzir H<sub>2</sub>, que segundo ZHENG et al. (2014), geram, na maioria dos casos, um efeito positivo de 20% – 200% no rendimento.

Apesar dos reatores B8, A4 e A8 não apresentarem produção significativa de hidrogênio, todas as outras condições experimentais onde houve pré-tratamento químico na biomassa resultaram em volumes acumulados de hidrogênio maiores que no reator C, onde não houve pré-tratamento químico.

De fato, as maiores produções específicas de hidrogênio, conforme exposto na Tabela 8, ocorreram, em ordem decrescente, nos reatores A0,5, B0,5, B0,4, A0,4, A0,3, B1, A0,2 e A1, permitindo-nos inferir que as baixas concentrações ( $\leq 1\%$ ) para o pré-tratamento químico da farinha da casca de mandioca são as mais eficientes.

Esse efeito positivo na produção de hidrogênio gerado pelos pré-tratamentos empregados na biomassa deve-se à quebra da estrutura da lignina e o rompimento da ligação entre a lignina e as outras frações de carboidratos na biomassa lignocelulósica, tornando assim os carboidratos mais acessíveis (WANG e YIN, 2017).

Assim como no presente trabalho, Andrade (2017), ao analisar a influência do pré-tratamento químico na produção de hidrogênio utilizando como substrato a palma forrageira, observou que as baixas concentrações de ácidos e álcalis (< 4%) foram mais eficientes para o aumento da produção acumulada de hidrogênio. Uma hipótese para explicar esse comportamento pode ser o acúmulo de potenciais inibidores da produção de hidrogênio durante o processo de sacarificação da biomassa, tais como o furfural, o ácido acético e o HMF (SIQUEIRA e REGINATTO, 2015).

O ácido acético é formado principalmente pela hidrólise enzimática do grupo acetilo presente na hemicelulose, importante constituinte da biomassa lignocelulósica. Já o 5-hidroximetilfurfural (HMF) e seu derivado, o furfural, é, geralmente, resultado da degradação da hemicelulose quando pré-tratadas termoquimicamente (JONSSON et al., 2013).

Lorencine (2013) estudou os potenciais inibidores da produção biológica de hidrogênio a partir da sacarificação do bagaço da cana de açúcar aplicando HCl como pré-tratamento em várias concentrações (0,67 a 6% m/v), e observou que a concentração de HCl a 6,0% resultou na maior concentração de potenciais inibidores nos hidrolisados (0,67g/L Ac. Acético, 0,26 g/L Furfural e 0,40 mg/L de HMF). Palmqvist et al. (2000), em artigo de revisão, explicam que esses inibidores contribuem para o aumento do estresse ambiental para o organismo fermentativo devido à diminuição da oferta de água e o aumento da concentração de determinados compostos.

Siqueira e Reginatto (2015) também estudaram os potenciais inibidores (furfural, HMF e ácido acético) da produção biológica de hidrogênio utilizando biomassa lignocelulósica e concluíram que o aumento da concentração dos inibidores provoca queda no potencial produtivo de H<sub>2</sub>. A adição de furfural em 0,25, 0,5 e 1,0 g /L diminuiu a produção de H<sub>2</sub> (mL) em 20, 35 e 57% e a taxa de produção de hidrogênio (mL/h) em 18, 53 e 64%, respectivamente, ambos em comparação com o experimento controle. Resultados semelhantes foram obtidos para o HMF e ácido acético.

Diante do exposto, podemos inferir que o fato de as condições experimentais A4, A8 e B8 não apresentarem produção acumulada de H<sub>2</sub> está diretamente ligado ao aumento da concentração de ácido ou base no pré-tratamento.

A maior taxa de produção foi encontrada, naturalmente, no reator que gerou a maior produção acumulada de hidrogênio, o A0,5, nele a taxa foi de 0,95 ml de H<sub>2</sub> por hora. Com exceção dos reatores que tiveram a produção inibida, a taxa de produção de hidrogênio foi maior quando a biomassa passou por pré-tratamento químico, seja ácido ou alcalino.

Os resultados mostram ainda que a melhor produção específica de hidrogênio (PEH<sub>2</sub>) foi obtida no reator A0,5, seguida pelo reator B0,5. Ao comparar com o controle, nota-se um substancial aumento nas produções específicas, que foram, respectivamente: 1,19, 1,15 e 0,52 mL H<sub>2</sub>/gSSVh.

Torres (2018) estudou a produção específica de hidrogênio a partir do bagaço da cana utilizando cultura mista de microrganismos e obteve a melhor produção específica, 0,1 mmol/gSSVh, na condição operacional cujo substrato foi pré-tratado com NaOH 0,5%, neutralizado para o pH 7 e operado em batelada a  $\pm 35^{\circ}\text{C}$ .

Yang et al. (2018) analisaram o rendimento da produção de hidrogênio a partir dos resíduos de grama aplicando o pré-tratamento ácido a 1,0% seguindo a metodologia descrita por Cui e Shen (2012), e obtiveram rendimento ( $\eta$ ) de 42 ml de H<sub>2</sub>/g-grama ao passo que a

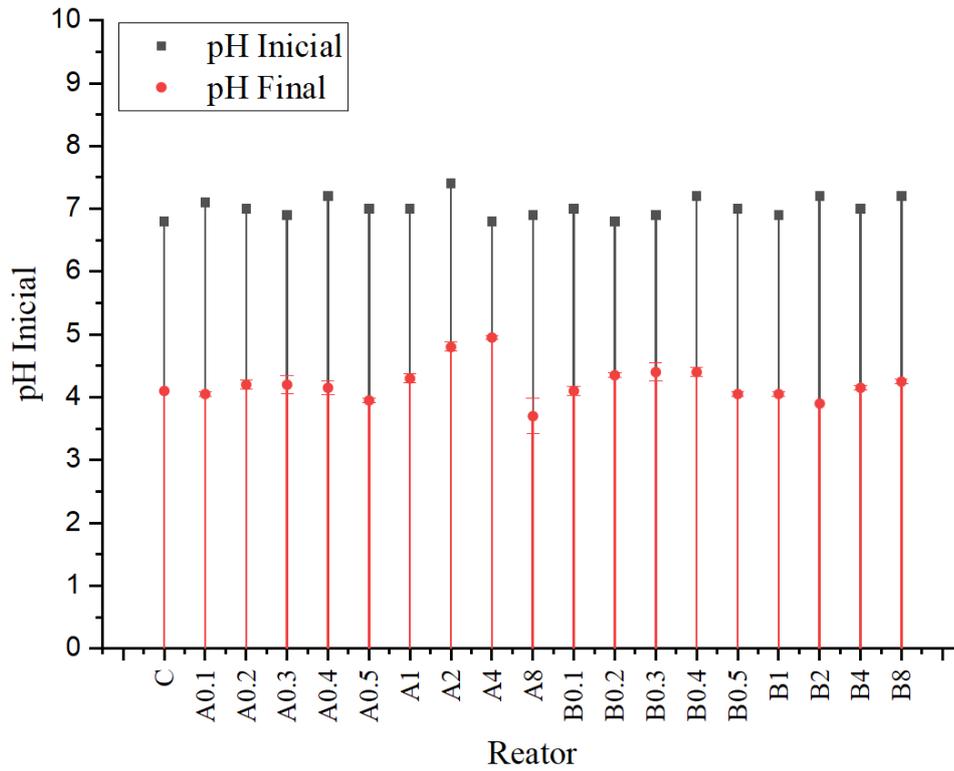
condição controle apresentou rendimento de 26 mL de H<sub>2</sub>/g de grama. Nesse trabalho, a condição operacional A0,5 apresentou rendimento de 114,71 mL de H<sub>2</sub>/g de casca de mandioca, resultando no aumento da produção de de 195,72%, comparado com a condição controle.

Ainda, é possível observar expressiva redução do tempo destinado à adaptação da cultura à condição experimental (fase lag, K) da maioria as condições operacionais quando comparadas com a condição controle (K = 31,46 h). A condição A0,2 teve a redução mais significativa, iniciando a produção de hidrogênio após 12,5 horas. No entanto, apesar desta condição ter obtido a fase lag mais curta, a PEH<sub>2</sub> foi menor se comparada ao reator A0,5 (K = 28,39 h). Isso pode ser explicado pelo fato de os microrganismos utilizarem os carboidratos como fonte de energia apenas para o seu crescimento e não necessariamente, para produzir o gás (ANDRADE, 2017).

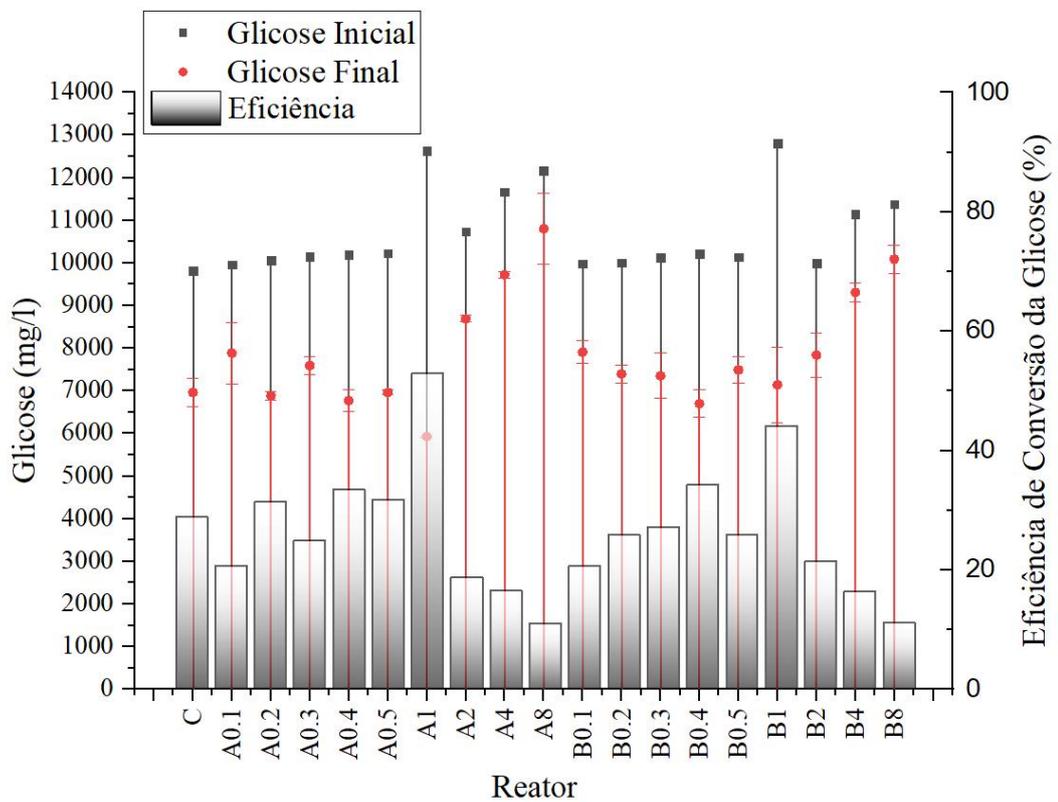
A Figura 16 ilustra a oscilação dos pHs em cada reator, enquanto a Figura 17 ilustra a eficiência de conversão da glicose na etapa acidogênica.

A Tabela 9 apresenta os resultados referentes ao efeito da sacarificação da casca da mandioca após as condições experimentais estudadas, a glicose remanescente no final do período de incubação, a variação do pH e a eficiência de conversão do processo.

Os baixos pH verificados nos efluentes dos reatores ( $\text{pH}_{\text{médio}} = 4,05 \pm 0,24$ ) podem favorecer a rota metabólica do etanol, conforme elucidado por Chaves (2018) Ren et al. (2006), Li et al. (2007), Guo et al. (2008) e Zhu et al. (2013). Segundo eles, a fermentação do tipo etanol acontece em pH's baixos, geralmente entre 4 e 4,5, sendo mais bem-sucedida quanto a produção de hidrogênio do que a fermentação tradicional do tipo butirato, devido a produção simultânea de altas concentrações de ácido acético e etanol, possibilitando maiores rendimentos e taxas de produções de hidrogênio.

**Figura 18:** Variação de pH entre a partida e a desativação dos reatores

Fonte: Autor (2019)

**Figura 19:** Eficiência de conversão da glicose na etapa acidogênica

Fonte: Autor (2019)

**Tabela 9:** Eficiência de conversão da glicose e variações do pH na etapa acidogênica

Reator	Conversão da Glicose			pH	
	Glicose Inicial (mg/L)	Glicose Final (mg/L)	Eficiência (%)	pH Inicial	pH Final
<b>C</b>	9818,2	6963,1±330,9	29,08	6,8	4,1±0,00
<b>A0,1</b>	9961,2	7887,5±717,2	20,82	7,1	4,1±0,04
<b>A0,2</b>	10058,7	6884,7±102,8	31,56	7,0	4,2±0,07
<b>A0,3</b>	10150,3	7595,0±202,8	25,18	6,9	4,2±0,14
<b>A0,4</b>	10197,1	6771,5±259,1	33,59	7,2	4,2±0,11
<b>A0,5</b>	10225,2	6963,0±58,1	31,90	7,0	4,0±0,04
<b>A1</b>	12634,2	5926,8±25,9	53,09	7,0	4,3±0,07
<b>A2</b>	10731,2	8691,9±75,4	19,00	7,4	4,8±0,07
<b>A4</b>	11664,2	9721,9±77,8	16,65	6,8	5,0±0,04
<b>A8</b>	12172,2	10803,6±829,7	11,24	6,9	3,7±0,14
<b>B0,1</b>	9982,5	7908,6±266,5	20,78	7,0	4,1±0,07
<b>B0,2</b>	10001,6	7400,5±212,6	26,01	6,8	4,4±0,04
<b>B0,3</b>	10127,0	7354,7±528,1	27,38	6,9	4,4±0,14
<b>B0,4</b>	10218,6	6704,5±316,7	34,38	7,2	4,4±0,07
<b>B0,5</b>	10138,2	7494,3±317,6	26,08	7,0	4,1±0,04
<b>B1</b>	12810,2	7141,4±884,8	44,25	6,9	4,1±0,04
<b>B2</b>	9996,2	7838,1±528,3	21,59	7,2	3,9±0,00
<b>B4</b>	11149,2	9309,3±213,9	16,50	7,0	4,2±0,04
<b>B8</b>	11380,2	10088,6±324,1	11,35	7,2	4,3±0,04

Fonte: Autor (2019)

Yang et al. (2018) ao aplicarem o pré-tratamento ácido na concentração de 1%(v/v), sob as mesmas condições deste trabalho, obtiveram a eficiência de remoção de 53%.

A condição experimental A1 apresentou a maior conversão de carboidratos durante o processo de digestão resultando, assim, na eficiência de 53%.

As condições experimentais (A e B) com concentrações de ácidos ou álcalis iguais ou maiores que 2% resultaram na baixa conversão de carboidratos e, conseqüente, baixa eficiência, quando comparados com o reator controle. Este resultado reitera que estas condições, apesar da alta eficiência do processo de sacarificação do substrato, não resultam nas melhores eficiências

de conversão no processo de digestão anaeróbia devido aos potenciais inibidores do processo fermentativo.

### **5.3 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA PRODUÇÃO DE ETANOL E ANÁLISE DOS DEMAIS METABÓLITOS**

Durante a operação dos reatores vários metabólitos foram produzidos junto com o hidrogênio, em diferentes concentrações. Os metabólitos solúveis formados com a produção de hidrogênio são indicadores importante para a avaliação de propriedades do processo e a identificação da rota fermentativa (YANG et al., 2017).

Os principais metabólitos gerados nesse trabalho foram: acetona, metanol, etanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico. Os ácidos isobutírico, isovalérico, valérico e caproico não foram detectados em nenhum dos reatores. Por outro lado, ácido butírico foi produzido em todos os reatores, com exceção dos reatores NaOH 4,0% e NaOH 8,0%.

A produção de metabólitos solúveis nos reatores foi estatisticamente analisada pelo teste de Tukey, sendo possível afirmar que os pré-tratamentos químicos utilizados resultaram em efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) na produção dos seguintes ácidos e álcoois: Acetona, metanol, etanol, n-butanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico.

Semelhante ao ocorrido na produção de hidrogênio, as menores produções de metabólitos solúveis totais produzidos (SMPs) foram observadas nos reatores que passaram por pré-tratamentos químicos nas maiores concentrações de HCl e NaOH utilizadas nesse trabalho, o que sugere que os pré-tratamentos com altas concentrações dessas substâncias podem não ser eficientes.

A Tabela 10 reúne as concentrações médias em mg/L dos metabólitos solúveis produzidos nos meios reacionais submetidos a distintas formas de pré-tratamento.

Como cada componente tem uma massa molecular diferente, para analisar a predominância de cada um em relação ao total de produtos líquidos, são apresentadas na Tabela 11.

**Tabela 9:** Concentrações médias, em mg/L, dos metabólitos solúveis produzidos nos reatores

Metabólito	Reatores										
	C	A0,5	A1	A2	A4	A8	B0,5	B1	B2	B4	B8
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
<sup>(a)</sup> Acetona	14,81	11,79	19,66	12,83	13,03	12,78	19,84	13,12	13,11	12,24	12,49
<sup>(b)</sup> Metanol	128,96	54,34	92,71	92,74	89,94	129,00	139,13	72,03	68,03	101,40	103,82
<sup>(c)</sup> Etanol	354,28	334,27	263,77	281,65	948,05	302,73	1141,59	454,31	410,70	422,82	449,86
<sup>(d)</sup> n-Butanol	58,47	112,36	21,23	24,01	11,62	13,89	22,00	11,65	24,88	26,35	27,77
<sup>(e)</sup> Ácido Acético	677,47	713,82	559,30	644,98	259,86	332,72	1186,94	52,289	61,94	5,26	5,26
<sup>(f)</sup> Ácido Propiônico	343,75	19,16	15,86	10,89	5,24	10,00	15,95	1,47	0,63	10,42	10,63
<sup>(g)</sup> Ácido Isobutírico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<sup>(h)</sup> Ácido Butírico	393,51	1119,05	447,83	378,79	38,59	38,70	1528,21	29,38	34,89	0,00	0,00
<sup>(i)</sup> Ácido Isovalérico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<sup>(j)</sup> Ácido Valérico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<sup>(k)</sup> Ácido Caproico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

<sup>(a)</sup>LD<sub>1</sub> – Limite de detecção da acetona = 14,92 mg/L; <sup>(b)</sup>LD<sub>2</sub> – Limite de detecção do metanol = 19,26 mg/L; <sup>(c)</sup>LD<sub>3</sub> – Limite de detecção do etanol = 15,64 mg/L; <sup>(d)</sup>LD<sub>4</sub> – Limite de detecção do n-butanol = 12,00 mg/L; <sup>(e)</sup>LD<sub>5</sub> – Limite de detecção do ácido acético = 63,84 mg/L; <sup>(f)</sup>LD<sub>6</sub> – Limite de detecção do ácido propiônico = 49,25 mg/L; <sup>(g)</sup>LD<sub>7</sub> – Limite de detecção do ácido isobutírico = 54,58 mg/L; <sup>(h)</sup>LD<sub>8</sub> – Limite de detecção do ácido butírico = 51,94 mg/L; <sup>(i)</sup>LD<sub>9</sub> – Limite de detecção do ácido isovalérico = 54,88 mg/L; <sup>(j)</sup>LD<sub>10</sub> – Limite de detecção do ácido valérico = 62,38 mg/L; <sup>(k)</sup>LD<sub>11</sub> – Limite de detecção do ácido caproico = 11,07 mg/L;

Fonte: Autor (2019)

**Tabela 10:** Concentrações molares médias (mmol/L) dos metabólitos solúveis produzidos nos reatores

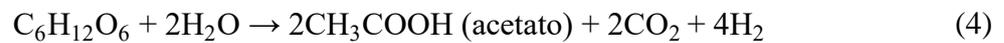
Metabólito	Reatores										
	C	A0,5	A1	A2	A4	A8	B0,5	B1	B2	B4	B8
	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L
Acetona	0,25	0,20	0,34	0,22	0,22	0,22	0,34	0,23	0,23	0,21	0,22
Metanol	4,02	1,70	2,89	2,89	2,81	4,02	4,34	2,25	2,12	3,16	3,24
Etanol	7,69	7,26	5,73	6,11	20,58	6,57	24,78	9,86	8,91	9,18	9,76
n-Butanol	0,78	1,50	0,28	0,32	0,16	0,19	0,29	0,16	0,33	0,35	0,37
Ácido Acético	11,28	11,88	9,31	10,74	4,33	5,54	19,76	0,87	1,03	0,09	0,09
Ácido Propiônico	4,63	0,25	0,21	0,14	0,07	0,13	0,21	0,01	0,01	0,14	0,14
Ácido Isobutírico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido Butírico	4,49	12,76	5,11	4,32	0,44	0,44	17,43	0,34	0,40	0,00	0,00
Ácido Isovalérico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido Valérico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido Caproico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<sup>(a)</sup> AVT	20,4	24,89	14,63	15,2	4,84	6,11	37,4	1,22	1,44	0,23	0,23
<sup>(b)</sup> SMP	33,14	35,55	23,87	24,74	28,61	17,11	67,15	13,72	13,03	13,13	13,79

<sup>(a)</sup> AVT = Ácidos voláteis totais produzidos; <sup>(b)</sup>SMP = Metabólitos solúveis totais produzidos.

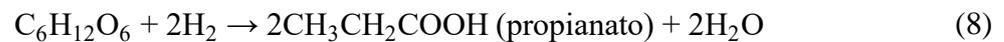
Fonte: Autor (2019)

O reator B0,5 destacou-se na produção de etanol, atingindo a concentração molar de 24,8 mmol/L, três vezes maior do que a concentração do reator C. Este resultado justifica o fato da ampla utilização de álcalis, em baixas concentrações, para o pré-tratamento do substrato em processos de produção de bioetanol (KUMAR et al., 2018).

As maiores concentrações de ácido acético aconteceram nos reatores B0,5 e A0,5 (19,79 e 11,88 mmol/L, respectivamente), essas condições experimentais também apresentaram os maiores produtores de H<sub>2</sub> acumulado (199,24 e 258,10 mL, respectivamente). Tais fatos nos permite inferir que a rota fermentativa preferencial nesses reatores se deu a partir da rota de fermentação do ácido acético (Equação 4), rota mais adequada para a geração desse gás, uma vez que permite um maior rendimento de H<sub>2</sub> (4 mol H<sub>2</sub>/mol glicose), quando comparada às rotas do etanol, ácido butírico e ácido propiônico (ANTONOPOULOU et al. 2010).

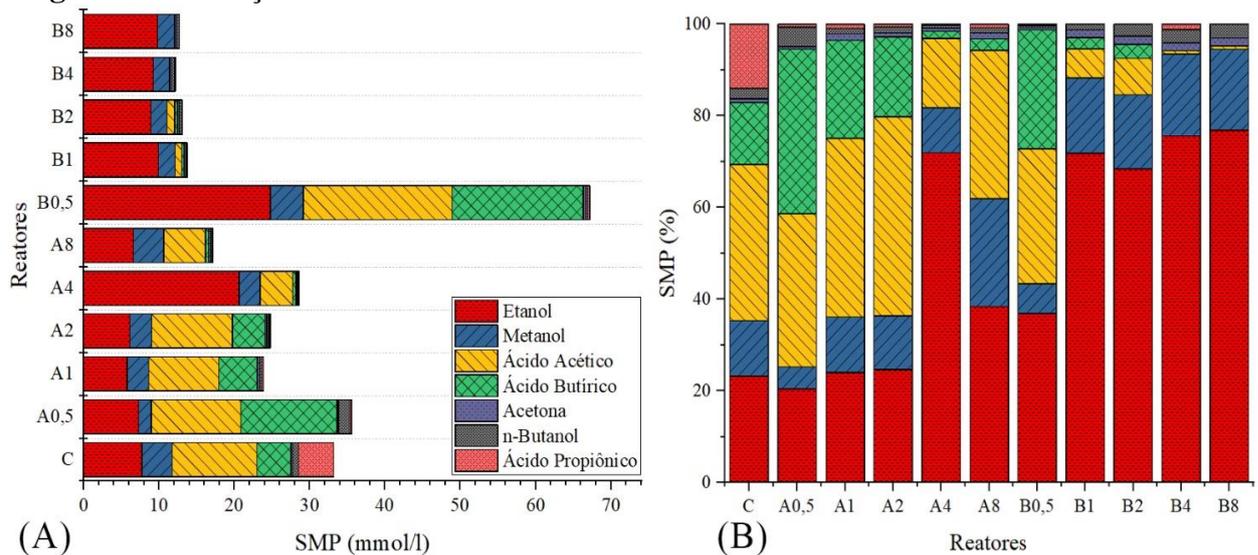


As baixas concentrações de ácido propiônico nos reatores, com exceção do reator controle, destacam a eficiência de ambos pré-tratamentos (ácido e alcalino) para a produção de hidrogênio, uma vez que a rota fermentativa do ácido propiônico (Equação 08) não é a mais eficiente para produção de hidrogênio (AMORIM, 2009).



A Figura 19 ilustra (A) a produção total dos metabólitos solúveis nos reatores e (B) a relação da porcentagem de ácidos, acetona e álcoois formados no processo de digestão.

**Figura 20:** Produção dos metabólitos solúveis nos reatores



Fonte: Autor (2019)

É possível observar a predominância da produção de etanol durante o processo fermentativo na maioria das condições operacionais estudadas, sobretudo nas submetidas aos pré-tratamentos em altas concentrações ( $\geq 4\%$ ) e aos pré-tratamentos alcalinos, independentemente da concentração. Este resultado nos permite concluir que, sob as condições ambientais experimentadas (pH 7,  $37\pm 1$  °C), a rota metabólica para produção de etanol, Equação 6, também foi favorecida.



#### 5.4 PRODUÇÃO ACUMULADA DE METANO

Os dados indicam a viabilidade da produção de metano em reatores anaeróbios operados em batelada, quando utilizada a casca da mandioca previamente biodigerida em fase acidogênica inoculada com lodo de ETE. Não obstante, as análises evidenciam que os pré-tratamentos químicos aplicados no substrato são eficientes para o aumento da produção de metano. De maneira análoga à observada na primeira etapa do estudo, todas as condições analisadas, com exceção das pré-tratadas com altas concentrações de álcali e ácido (A4, A8 e B8), apresentaram produção acumulada significativa de metano.

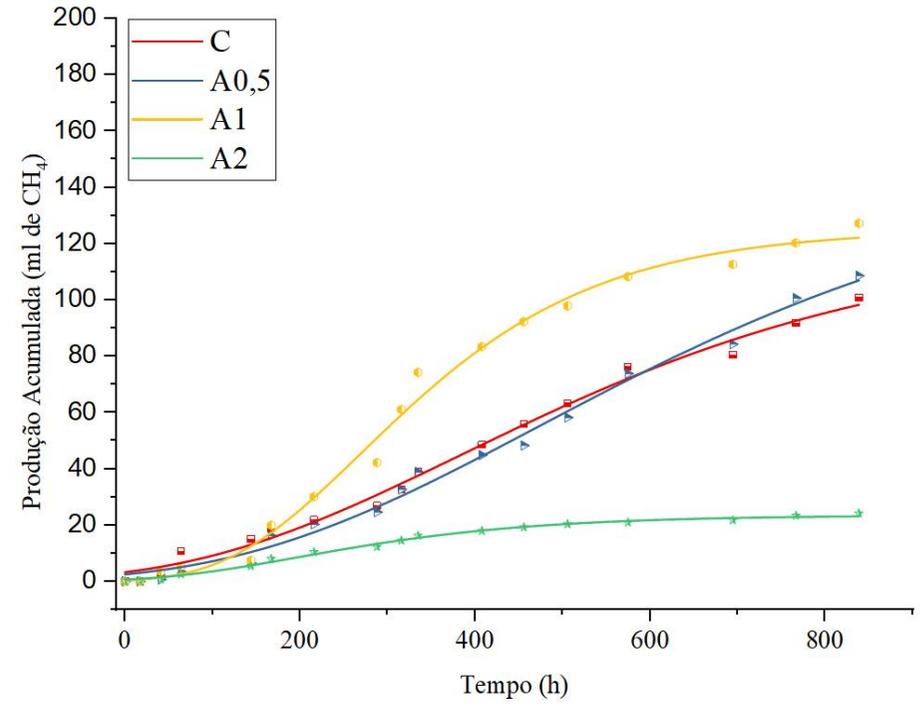
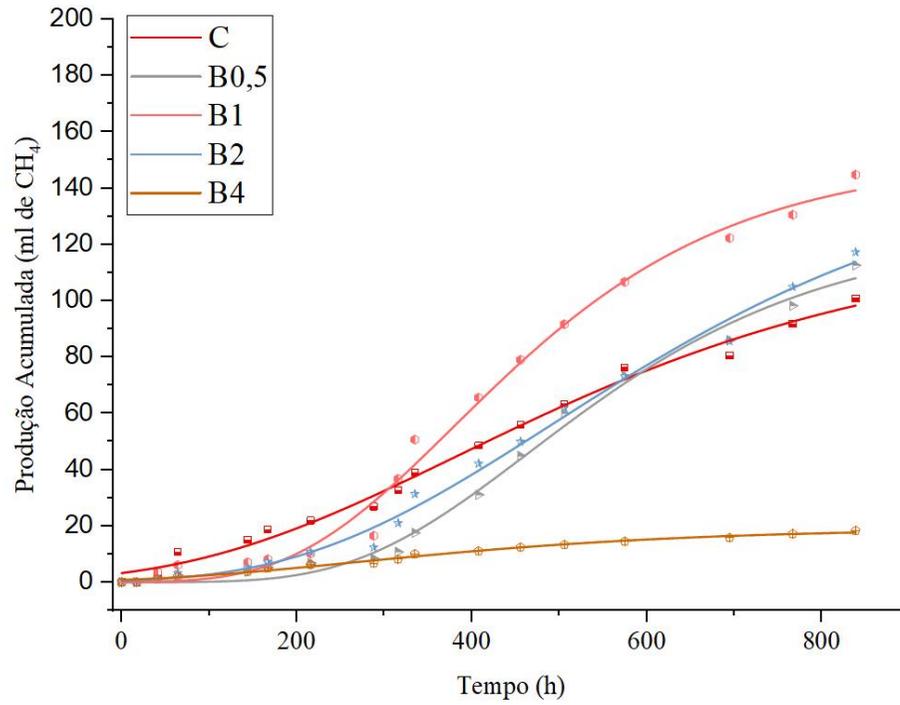
Ao comparar os dados referentes a produção acumulada de metano nos reatores pelo teste de Tukey, é possível afirmar que os pré-tratamentos químicos utilizados resultaram em efeito positivo significativo na produção de hidrogênio ( $p \leq 0,05$ ). Diversos autores (ADEKUNLE et al., 2016; ANDRADE, 2017; MOSHI et al., 2015) relataram efeito positivo semelhante gerado por esse tipo de pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.

Semelhantemente ao ocorrido na produção de hidrogênio e etanol, as maiores produções de metano ocorreram nos reatores onde a biomassa lignocelulósica sofreu pré-tratamento químico em baixas concentrações, menores ou iguais a 1% (v/v), de HCl e NaOH. Os reatores B1 e A1 foram, em ordem decrescente, os que mais produziram hidrogênio.

Por outro lado, as menores produções de  $\text{CH}_4$  ocorreram, de maneira similar ao previamente acontecido, nos reatores onde a casca de mandioca sofreu pré-tratamento químico em altas concentrações ( $\geq 4\%$ ) de HCl e NaOH.

A Figura 20 apresenta a produção acumulada de metano, com seus respectivos ajustes sigmoidais, de todas as condições experimentais analisadas nessa etapa.

**Figura 21:** Produção acumulada de metano nos reatores versus tempo



Fonte: Autor (2019)

O modelo cinético de Gompertz Modificado (ZWIETERING et al., 1990) mostrou-se eficaz para ajustar e modelar os dados experimentais da produção de metano, o que pode ser comprovado, segundo Ghasemian et al. (2016), pelo fato de todas as análises apresentarem coeficientes de determinação ( $R^2$ ) maiores que 0,95. A Tabela 11 reúne os valores experimentais dessa etapa da pesquisa e seus respectivos dados cinéticos obtidos através da análise cinética do modelo de Gompertz Modificado. O Apêndice B traz as curvas de produção de metano ajustadas pelo mesmo modelo.

**Tabela 11:** Dados experimentais e cinéticos da produção de metano

Reator	Dados Experimentais				Dados Cinéticos do Modelo de Gompertz Modificado			
	Produção Acumulada (mL)	Variação Controle (%)	$\eta$ (mlCH <sub>4</sub> /g de casca)	PECH <sub>4</sub> (ml CH <sub>4</sub> /gSSVh)	A (mL)	XC (mL/h)	K (h)	R <sup>2</sup>
<b>C</b>	100,85	-	45,32	0,38	122,26	0,15	85,40	0,992
<b>A0,5</b>	108,65	7,73%	48,83	0,41	149,79	0,16	138,27	0,978
<b>A1</b>	127,26	26,19%	57,19	0,76	125,14	0,30	117,98	0,992
<b>A2</b>	24,14	-76,06%	10,84	0,15	23,51	0,06	143,13	0,993
<b>A4</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-
<b>A8</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-
<b>B0,5</b>	112,63	11,68%	50,62	0,61	124,97	0,24	120,37	0,993
<b>B1</b>	144,78	43,56%	65,06	0,78	150,74	0,31	140,66	0,991
<b>B2</b>	117,25	16,26%	52,69	0,51	152,31	0,20	181,07	0,992
<b>B4</b>	18,34	-81,81%	8,24	0,08	19,25	0,03	191,58	0,990
<b>B8</b>	0,00	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Produção de metano por grama de casca no reator; <sup>PECH<sub>4</sub></sup> Produção específica de metano; <sup>A</sup> Produção acumulada prevista pelo modelo de Gompertz Modificado; <sup>XC</sup> Taxa de produção de metano; <sup>K</sup> Tempo gasto antes da produção de metano iniciar-se (fase lag).

Fonte: Autor (2019)

Observa-se que a condição experimental B1 apresentou a maior produção acumulada de CH<sub>4</sub> (144,78 ml). O segundo maior volume acumulado de CH<sub>4</sub> foi obtido na condição A1, com 127,26 ml. No entanto, diferentemente da primeira etapa do experimento, o reator C, sem nenhum pré-tratamento, teve significativa produção de gás metano, produzindo 100,85 ml.

Os parâmetros cinéticos obtidos através do ajuste Gompertz Modificado evidenciaram que as maiores PECH<sub>4</sub> ocorreram nos reatores que passaram por pré-tratamento, sendo aproximadamente 43% maior no reator B1, quando comparado ao reator C.

A queda na produção de metano ocorrida ao aumentar as concentrações de HCl e NaOH para tratar o substrato pode ser explicada de maneira análoga ao ocorrido na produção de hidrogênio, pelo fato da alta concentração desses tipos de pré-tratamentos serem prejudicial à fermentação anaeróbia, uma vez que atrasam a conclusão desse processo, causando prejuízo na produção (CUI e SHEN, 2012).

## 6. CONCLUSÃO

Os pré-tratamentos químicos aplicados no substrato mostraram-se eficientes em aumentar a solubilização dos carboidratos, o que pôde ser comprovado pelo fato de que todas as condições operacionais quimicamente pré-tratadas apresentaram maiores concentrações de carboidratos quando comparadas à condição operacional onde não houve pré-tratamento químico.

Ao final da etapa de fermentação acidogênica, o reator A0,5 teve a maior produção acumulada de  $H_2$  entre todas as condições experimentais analisadas (258,10 mL). O segundo maior volume acumulado de hidrogênio foi obtido no reator B0,5, com 199,24 mL. O reator C, sem nenhum pré-tratamento, produziu 87,3 ml de hidrogênio acumulado.

No tangente à produção de metabólitos solúveis, o reator B0,5 destacou-se na produção de etanol, atingindo a concentração molar de 24,8 mmol/L, três vezes maior do que a concentração do reator C.

Os dados sugerem que, quando o objetivo é a produção combinada de hidrogênio e etanol, a condição B0,5 pode ser considerada a condição ótima, uma vez que apresentou a segunda melhor taxa de produção de  $H_2$  e a maior produção de etanol.

Os dados da segunda etapa do experimento evidenciaram que a condição B1 obteve a maior produção de  $CH_4$  (144,78 mL), enquanto a condição C gerou um volume, aproximadamente, 43% menor desse gás.

Os principais metabólitos gerados nesse trabalho foram: acetona, metanol, etanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico. Os ácidos isobutírico, isovalérico, valérico e caproíco não foram detectados em nenhum dos reatores

Diante do exposto, pode-se concluir que a utilização de pré-tratamentos químicos no substrato, sejam alcalinos ou ácidos, aumentam a produção de biocombustíveis nas condições experimentais estudadas.

## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- ✓ Estudar a produção de biocombustíveis a partir da casca da mandioca em reatores contínuos;
- ✓ Estudar o emprego de inóculos com microrganismos mais adaptados aos resíduos lignocelulósicos;
- ✓ Avaliar a diversidade microbiana nos reatores por PCR-DGGE;
- ✓ Aumentar o tempo de incubação dos reatores nas fases acidogênica e metanogênica em, pelo menos, 200%.
- ✓ Verificar o emprego de alcalinizantes em maiores concentrações na etapa metanogênica.

## 8. REFERÊNCIAS

ADEKUNLE, A.; ORSAT, V.; RAGHAVAN, V. Lignocellulosic bioethanol: A review and design conceptualization study of production from cassava peels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 64, p. 518-530, 2016.

ADEKUNLE, K. F.; OKOLIE, J. A. A review of biochemical process of anaerobic digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 6, n. 03, p. 205, 2015.

AWOYALE, A. A., LOKHAT, D., ELOKA-EBOKA, A. C. Experimental characterization of selected Nigerian lignocellulosic biomasses in Bioethanol production. **International Journal of Ambient Energy**, 1–15, 2019.

AGBOR, V.; et al. Biomass pretreatment: fundamentals toward application. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 6, p. 675-685, 2011.

AHMAD, F. **Methane production in response to sulfuric acid and hydrogen peroxide assisted hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse**. 184 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, 2017.

AMORIM, E. L. C. **Efeito da concentração de glicose e da alcalinidade na produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado**. 163 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, 2009.

AMORIM, E. L. C.; BARROS, A. R.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; SILVA, E. L. Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 783–790, 2009.

AMORIM, E. L. C.; SADER, L. T.; SILVA, E. L. Effect of substrate concentration on dark fermentation hydrogen production using an anaerobic fluidized bed reactor. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 166, p. 1248–1263, 2012.

ANDRADE, S. . **Produção de hidrogênio a partir da nopalea cochenilifera (palma forrageira) em reatores anaeróbios em batelada**. 102 f. Dissertação (Mestrado em engenharia química). Universidade Federal de Alagoas, 2017.

ARGUN, H.; KARGI, F. Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: an overview. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 13, p. 7443-7459, 2011.

ASLANZADEH, S.; RAJENDRAN, K.; TAHERZADEH, M. J. A comparative study between single-and two-stage anaerobic digestion processes: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, p. 181-188, 2014.

BAJPAI, P. **Pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production**. Singapore: Springer, 2016.

BARCA, C.; SORIC, A.; RANAVA, D.; GIUDICI-ORTICONI, M-T.; FERRASSE, J-H. Anaerobic biofilm reactors for dark fermentative hydrogen production from wastewater : A review. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 386–398, 2015.

BENSAH, E. C.; MENSAH, M. Chemical pretreatment methods for the production of cellulosic ethanol: technologies and innovations. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2013, 2013.

BHARATHIRAJA, B. et al. Biohydrogen and Biogas—An overview on feedstocks and enhancement process. **Fuel**, v. 185, p. 810-828, 2016.

BIBRA, M. et al. Single Pot Bioconversion of Prairie Cordgrass into Biohydrogen by Thermophiles. **Bioresource Technology**, 2018.

BP, British Petroleum. **BP statistical review of world energy July 2016**. Relatório. Disponível em: <http://www.bp.com/en/global/corporate/energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html>, 2016.

BP, British Petroleum. **BP statistical review of world energy June 2017**. Relatório. Disponível em: <http://www.bp.com/en/global/corporate/energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html>, 2017.

BRYNJARSDOTTIR, H; SCULLY, S. M.; ORLYGSSON, J. Production of biohydrogen from sugars and lignocellulosic biomass using Thermoanaerobacter GHL15. **international journal of hydrogen energy**, v. 38, n. 34, p. 14467-14475, 2013.

CAI, M.; LIU, J.; WEI, Y.. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 11, p. 3195-3202, 2004.

CAI, T.; PARK, STEPHEN Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 360-369, 2013.

CAPONE, D. G.; KIENE, R. P. Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: Contrasts in anaerobic carbon catabolism<sup>1</sup>. **Limnology and Oceanography**, v. 33, n. 4part2, p. 725-749, 1988.

CHANDEL, A. K. et al. Multi-scale structural and chemical analysis of sugarcane bagasse in the process of sequential acid–base pretreatment and ethanol production by *Scheffersomyces shehatae* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology for biofuels**, v. 7, n. 1, p. 63, 2014.

CHANDRA, R. P. et al. Substrate pretreatment: the key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics?. In: **Biofuels**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2007. p. 67-93.

CHATURVEDI, V.; VERMA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. **3 Biotech**, v. 3, n. 5, p. 415-431, 2013.

CHAVES, T.C **Produção de hidrogênio a partir do melaço de cana-de-açúcar em reator anaeróbico de leito fluidificado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas. Maceió, p. 105. 2018.

CHEN, C. et al. Thermophilic dark fermentation of untreated rice straw using mixed cultures for hydrogen production. **international journal of hydrogen energy**, v. 37, n. 20, p. 15540-15546, 2012.

CHENG, J. et al. Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw to promote enzymatic hydrolysis and hydrogen production in dark-and photo-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 3, p. 2093-2101, 2011.

CHEONG, D.-Y.; HANSEN, C. L. Bacterial stress enrichment enhances anaerobic hydrogen production in cattle manure sludge. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 72, n. 4, p. 635–43, out. 2006.

CHEONG, D.; HANSEN, C. L. Feasibility of hydrogen production in thermophilic mixed fermentation by natural anaerobes. **Bioresource technology**, v. 98, n. 11, p. 2229-2239, 2007.

CHERNICARO, S. de et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. 2007.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Anaerobic Reactors**. London: IWA Publishing, 2007. v. 4

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

CHUNG, T. et al. Emerging forward osmosis (FO) technologies and challenges ahead for clean water and clean energy applications. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 246-257, 2012.

CUI, M; SHEN, J. Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation. **Science Direct**, Beijing, v.37, p. 1120-1124, 2012.

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

DAS, D.; KHANNA, N.; DASGUPTA, C. Nag. **Biohydrogen production: fundamentals and technology advances**. CRC Press, 2014.

DE BOECK, L. et al. Improving the energy performance of residential buildings: A literature review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 960-975, 2015.

DE SA, L. R. V. et al. Hydrogenase activity monitoring in the fermentative hydrogen production using heat pretreated sludge: a useful approach to evaluate bacterial communities performance. **international journal of hydrogen energy**, v. 36, n. 13, p. 7543-7549, 2011.

DE VRIES, R. P.; V., Jaap. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 65, n. 4, p. 497-522, 2001.

DUTTA, S.; BHAUMIK, A.; WU, K. C. Porous carbon derived from polymers and biomass: effect of interconnected pores on energy applications. **Energy & Environmental Science**, v. 7, n. 11, p. 3574-3592, 2014.

ELSHARNOUBY, O. et al. A critical literature review on biohydrogen production by pure cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 12, p. 4945-4966, 2013.

ESKICIOGLU, C., MONLAU, F., BARAKAT, A., FERRER, I., KAPARAJU, P., TRABLY, E., & CARRÈRE, H. Assessment of hydrothermal pretreatment of various lignocellulosic biomass with CO<sub>2</sub> catalyst for enhanced methane and hydrogen production. **Water Research**, 120, 32–42, 2017.

ESTEGHLALIAN, A. et al. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 59, n. 2-3, p. 129-136, 1997.

FANG, H. H.; LI, C.; ZHANG, T. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 6, p. 683-692, 2006.

FERCHICHI, M. et al. Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. **Journal of biotechnology**, v. 120, n. 4, p. 402-409, 2005.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. In: **Biofuels**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2007. p. 41-65.

GAO, Ru. et al. Methane yield through anaerobic digestion for various maize varieties in China. **Bioresource technology**, v. 118, p. 611-614, 2012.

GEHRING, C. G. **Análise da geração de energia elétrica a partir do biogás produzido na fermentação anaeróbica de vinhaça**. 124 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Elétrica com ênfase em Sistemas de Energia e Automação) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia Elétrica de São Carlos, São Carlos, 2014.

GOODWIN, S.; ZEIKUS, J. G. Physiological adaptations of anaerobic bacteria to low pH: metabolic control of proton motive force in *Sarcina ventriculi*. **American Society for Microbiology**, v. 169, n. 5, p. 2150–2157, 1987.

HALLENBECK, Pa. C.; GHOSH, D. Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward?. **Trends in biotechnology**, v. 27, n. 5, p. 287-297, 2009.

HATTI-KAUL, R. et al. Industrial biotechnology for the production of bio-based chemicals—a cradle-to-grave perspective. **Trends in biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 119-124, 2007.

HE, L. et al. Enhanced hydrogen production from anaerobic fermentation of rice straw pretreated by hydrothermal technology. **Bioresource technology**, v. 171, p. 145-151, 2014.

KAPARAJU, Pr. et al. Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. **Bioresource technology**, v. 100, n. 9, p. 2562-2568, 2009.

KARADAG, D. et al. A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 2, p. 262-271, 2015.

KARMEE, S. K. Noodle waste based biorefinery: an approach to address fuel, waste management and sustainability. **Biofuels**, v. 9, n. 3, p. 395-404, 2018.

KHANAL, S. K. et al. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **International journal of hydrogen energy**, v. 29, n. 11, p. 1123-1131, 2004.

KUMAR, P. K., VIJAYA K., S., VERMA, K., POOJA, K., BHAGAWAN, D., & HIMABINDU, V. Phycoremediation of sewage wastewater and industrial flue gases for biomass generation from microalgae. **South African Journal of Chemical Engineering**, 25, 2018.

KODUKULA, P. S.; PRAKASAM, T. B. S.; ANTONISEN, A. C. Role of pH in biological wastewater treatment process. **Physiological models in microbiology**, v. 1, p. 114-134, 1988.

LAI, Z. et al. Optimization of key factors affecting hydrogen production from sugarcane bagasse by a thermophilic anaerobic pure culture. **Biotechnology for biofuels**, v. 7, n. 1, p. 119, 2014.

LAY, J.. Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose. **Biotechnology and bioengineering**, v. 74, n. 4, p. 280-287, 2001.

LAZARO, C. Z. et al. Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: the effects of temperature and substrate concentration. **international journal of hydrogen energy**, v. 39, n. 12, p. 6407-6418, 2014.

LEE, I. et al. Structural molecular dynamics studies on polyamidoamine dendrimers for a therapeutic application: effects of pH and generation. **Macromolecules**, v. 35, n. 11, p. 4510-4520, 2002.

LEE, K. et al. Exploring optimal environmental factors for fermentative hydrogen production from starch using mixed anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 5, p. 1565-1572, 2008.

LI, C.; FANG, H.. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1-39, 2007.

LI, D. et al. Comparison of micro-aerobic and anaerobic fermentative hydrogen production from corn straw. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 12, p. 5456-5464, 2016.

LIMA, D. M. F. **Produção de biohidrogênio a partir de soro de leite em AnSBBR com recirculação da fase líquida**. Tese (Doutorado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, Escola de engenharia de São Carlos, São Carlos, 2015.

LIN, C; CHANG, C; HUNG, C.. Fermentative hydrogen production from starch using natural mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 10, p. 2445-2453, 2008.

LIU, W. et al. Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic-aerobic activated sludge without biological phosphorus removal. **Water Research**, v. 30, n. 1, p. 75-82, 1996.

LOVATO, G. **Produção de biohidrogênio em AnSBBR tratando efluente do processo de produção de biodiesel - efeito da carga orgânica e do tempo de enchimento.** 202 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2014.

LUTPI, N. A.; MD JAHIM, J.; MUMTAZ, T.; HARUN, S.; ABDUL, P. M. Batch and continuous thermophilic hydrogen fermentation of sucrose using anaerobic sludge from palm oil mill effluent via immobilisation technique. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 2, p. 297–307, 2016.

LYND, L. R. et al. How biotech can transform biofuels. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 169, 2008.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C. S.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 30, p. 1–9, 2008.

MATHEW, A. et al. Biogas production from locally available aquatic weeds of Santiniketan through anaerobic digestion. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 17, n. 6, p. 1681-1688, 2015.

MOHAN, S. V. Harnessing of biohydrogen from wastewater treatment using mixed fermentative consortia: process evaluation towards optimization. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7460-7474, 2009.

MOMIRLAN, M.; VEZIROGLU, T. Nejat The properties of hydrogen as fuel tomorrow in sustainable energy system for a cleaner planet. **International journal of hydrogen energy**, v. 30, n. 7, p. 795-802, 2005.

MOSHI, A. P. et al. Characterisation and evaluation of a novel feedstock, *Manihot glaziovii*, Muell. Arg, for production of bioenergy carriers: Bioethanol and biogas. **Bioresource technology**, v. 172, p. 58-67, 2014.

MOSHI, A. P. et al. Combined production of bioethanol and biogas from peels of wild cassava *Manihot glaziovii*. **Chemical Engineering Journal**, v. 279, p. 297-306, 2015.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource technology**, v. 96, n. 6, p. 673-686, 2005.

MU, Y. et al. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 6, p. 780-785, 2006.

MU, Y.; YU, H. WANG, G. A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process. **Water research**, v. 41, n. 5, p. 1152-1160, 2007.

NANSSOU, P. A., JIOKAP NONO, Y., & KAPSEU, C. Pretreatment of cassava stems and peelings by thermohydrolysis to enhance hydrolysis yield of cellulose in bioethanol production process. **Renewable Energy**, 97, 252–265, 2016.

NGUYEN, D; T. et al. A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam. **International journal of food microbiology**, v. 163, n. 1, p. 19-27, 2013.

NIKOLAIDIS, P.; POULLIKKAS, A. A comparative overview of hydrogen production processes. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 67, p. 597-611, 2017.

NING, P. et al. Adsorption equilibrium of methane and carbon dioxide on microwave-activated carbon. **Separation and purification technology**, v. 98, p. 321-326, 2012.

NISHIO, N.; NAKASHIMADA, Y.. High rate production of hydrogen/methane from various substrates and wastes. In: Recent progress of biochemical and biomedical engineering in Japan I. **Springer**, Berlin, Heidelberg, 2004. p. 63-87.

NUALSRI, C.; REUNGSANG, A. PLANGKLANG, P. Biochemical hydrogen and methane potential of sugarcane syrup using a two-stage anaerobic fermentation process. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 88-99, 2016.

OTTAVIANO, L. M. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leite fluidificado a partir de água residuária de soro de queijo em condição termófila**. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2014.

OZKAN, L.; ERGUDER, T. H.; DEMIRER, G. N. Effects of pretreatment methods on solubilization of beet-pulp and bio-hydrogen production yield. **international journal of hydrogen energy**, v. 36, n. 1, p. 382-389, 2011.

PACHAPUR, V. L. et al. Surfactant mediated enhanced glycerol uptake and hydrogen production from biodiesel waste using co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum*. **Renewable Energy**, v. 95, p. 542-551, 2016.

PALMOWSKI, L.; MULLER, J. **Influence of comminution of biogenic materials on their bioavailability**. *Muell Abfall*, v. 31, n. 6, p. 368-372, 1999.

PARIDA, R. et al. Rapid multiplication and in vitro production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. *Electronic journal of Biotechnology*, v. 13, n. 4, p. 5-6, 2010.

PAWAR, S. S. et al. Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate using *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* followed by biogas production in a two-step uncoupled process. **international journal of hydrogen energy**, v. 38, n. 22, p. 9121-9130, 2013.

PELTRE, C. et al. Repeated application of organic waste affects soil organic matter composition: evidence from thermal analysis, FTIR-PAS, amino sugars and lignin biomarkers. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 104, p. 117-127, 2017.

PENDYALA, B. et al. Pretreating mixed anaerobic communities from different sources: correlating the hydrogen yield with hydrogenase activity and microbial diversity. **international journal of hydrogen energy**, v. 37, n. 17, p. 12175-12186, 2012.

PEREGO, C.; INGALLINA, P. Recent advances in the industrial alkylation of aromatics: new catalysts and new processes. **Catalysis today**, v. 73, n. 1-2, p. 3-22, 2002.

PERRAS, F. A. et al. Atomic-level structure characterization of biomass pre-and post-lignin treatment by dynamic nuclear polarization-enhanced solid-state NMR. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 121, n. 3, p. 623-630, 2017.

Palmqvist, E., & Hahn-Hägerdal, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74(1), 25–33, 2000.

RAHMAN, Mohammad Ziaur et al. 2D phosphorene as a water splitting photocatalyst: fundamentals to applications. **Energy & Environmental Science**, v. 9, n. 3, p. 709-728, 2016.

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.

REILLY, M.; DINSDALE, R.; GUWY, A.. Mesophilic biohydrogen production from calcium hydroxide treated wheat straw. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 30, p. 16891-16901, 2014.

ROSSI, D. M.; AYUB, M. Bioconversão de glicerol residual da síntese de biodiesel em 1, 3-propanodiol e etanol por *K. pneumoniae*. **Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química** (10.: 2011 out. 04-07: Porto Alegre, RS). Resumos e artigos [recurso eletrônico]. Porto Alegre, RS: UFRGS/EE/PPGEQ, 2011., 2011.

SARIPAN, Arunsri Fangkum; REUNGSANG, Alissara. Simultaneous saccharification and fermentation of cellulose for bio-hydrogen production by anaerobic mixed cultures in elephant dung. **international journal of hydrogen energy**, v. 39, n. 17, p. 9028-9035, 2014.

SILVA, A. N. Produção de hidrogênio a partir de efluentes laticínios. 94 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) - **Universidade Federal de Alagoas, Maceió**, 2015.

SIRIPATANA, C. JIJAI, S.; KONGJAN, P.. Analysis and extension of Gompertz-type and Monod-type equations for estimation of design parameters from batch anaerobic digestion experiments. In: **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing, 2016. p. 030079.

Sivamani, S., Baskar, R. Optimization of bioethanol production from cassava peel using statistical experimental design. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, 34(2), 2014.

SIQUEIRA, M. R.; REGINATTO, V. Inhibition of fermentative H<sub>2</sub> production by hydrolysis byproducts of lignocellulosic substrates. **Renewable Energy**, Volume 80, 2015, P.109-116

SOMERVILLE, C. et al. **Feedstocks for lignocellulosic biofuels.** *science*, v. 329, n. 5993, p. 790-792, 2010.

STEYER, J. et al. On-line measurements of COD, TOC, VFA, total and partial alkalinity in anaerobic digestion processes using infra-red spectrometry. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 133-138, 2002.

SUN, Y.; CHENG, J.. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource technology**, v. 83, n. 1, p. 1-11, 2002.

TEGHAMMAR, A.. Biogas Production from Lignocelluloses: Pretreatment, Substrate Characterization, Co-Digestion and Economic Evaluation. **Chalmers Tekniska Högskola**, 2013.

TORRES, J. Produção de hidrogênio a partir do bagaço de cana-de-açúcar por via fermentativa anaeróbia. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- **Universidade Federal de Alagoas**. Maceió, 2018.

URBANIEC, K.; BAKKER, R. Biomass residues as raw material for dark hydrogen fermentation—A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 40, n. 9, p. 3648-3658, 2015.

VASCONCELOS, E. A. F.; LEITÃO, R. C.; SANTAELLA, S. T. Factors that affect bacterial ecology in hydrogen-producing anaerobic reactors. **Bioenergy Research**, 2016.

Viana, M. B., Digestão anaeróbia do glicerol oriundo da produção do biodiesel: alternativas para geração de energia e produtos de alto valor agregado. Tese (doutorado) – **Universidade Federal do Ceará**, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2016.

WANG, B.; LI, Y.; REN, N. Biohydrogen from molasses with ethanol-type fermentation: effect of hydraulic retention time. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 11, p. 4361–4367, 2013.

WANG, J.; YIN, Y.. Biohydrogen production from organic wastes. **Springer**, 2017.

WANG, W.; XIE, L.; CHEN, J.; LUO, G.; ZHOU, Q. Biohydrogen and methane production by co-digestion of cassava stillage and excess sludge under thermophilic condition.

**Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3833–3839, 2011.

WANG, X.; JIN, B. Process optimization of biological hydrogen production from molasses by a newly isolated *Clostridium butyricum* W5. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n.2, p. 138-144, 2009.

WINGREN, A.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Energy considerations for a SSF-based softwood ethanol plant. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2121-2131, 2008.

YADVIKA, S. et al. Enhancement of biogas production from solid substrates using difference techniques—a review. **Bioresource Technology**. 2004.

YANG, G.; WANG. Pretreatment of grass waste using combined ionizing radiation-acid treatment for enhancing fermentative hydrogen production. **Bioresource Technology**, 2018.

ZAIAT, M. et al. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 55, n. 1, p. 29-35, 2001.

ZHANG, C.; XING, X. Quantification of a specific bacterial strain in an anaerobic mixed culture for biohydrogen production by the aerobic fluorescence recovery (AFR) technique. **Biochemical Engineering Journal**, v. 39, n. 3, p. 581-585, 2008.

ZHANG, M. L. et al. Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures. **Biomass and Bioenergy**, v. 31, n. 4, p. 250–254, 2007.

ZHANG, Z.; ZHAO, Z. K. Microwave-assisted conversion of lignocellulosic biomass into furans in ionic liquid. **Bioresource technology**, v. 101, n. 3, p. 1111-1114, 2010.

ZHENG, Yi et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, p. 35-53, 2014.

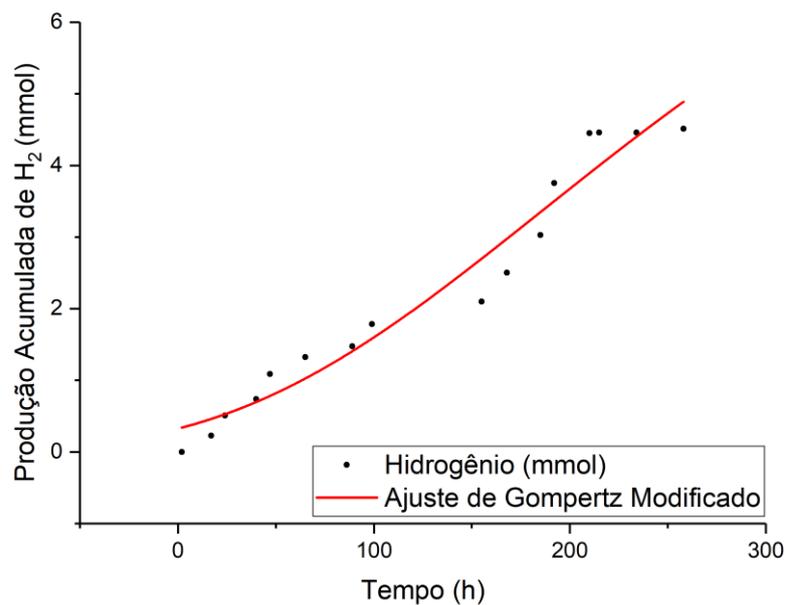
ZHI, Z.; WANG, H. White-rot fungal pretreatment of wheat straw with *Phanerochaete chrysosporium* for biohydrogen production: simultaneous saccharification and fermentation. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 37, n. 7, p. 1447-1458, 2014.

ZHU, S. et al. Simultaneous saccharification and fermentation of microwave/alkali pre-treated rice straw to ethanol. **Biosystems Engineering**, v. 92, n. 2, p. 229-235, 2005.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990.

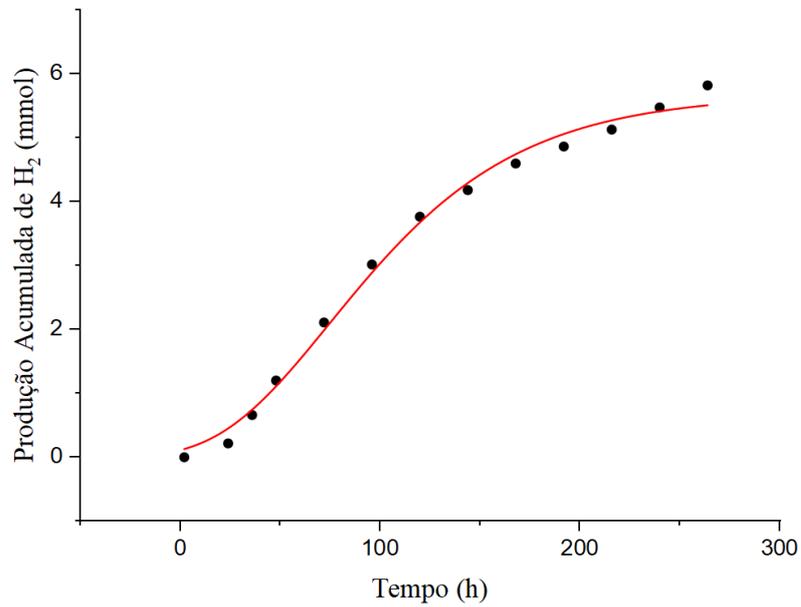
## APÊNDICE A – CURVAS DE PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO AJUSTADAS PELO MODELO DE GOMPERTZ MODIFICADO

**Figura 21:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator Controle



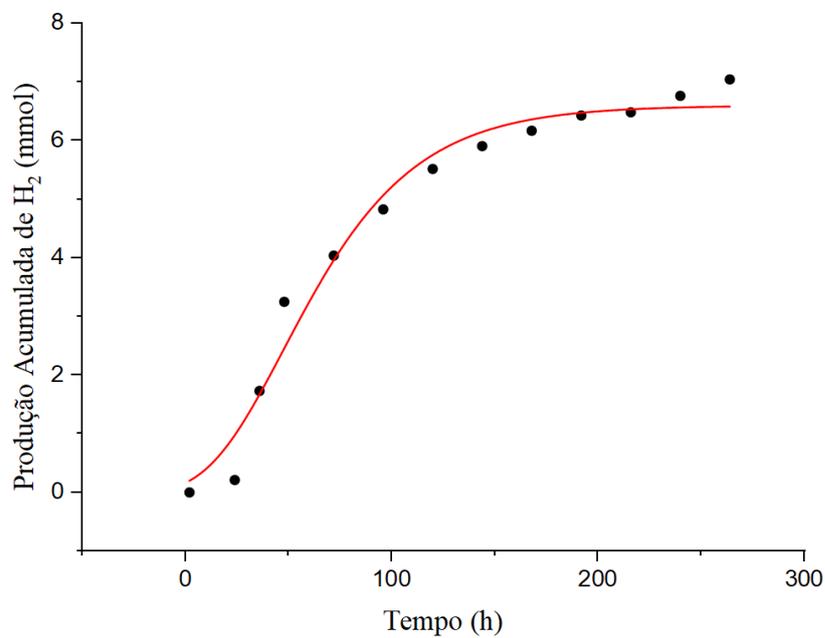
Fonte: Autor (2019)

**Figura 22:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,1%



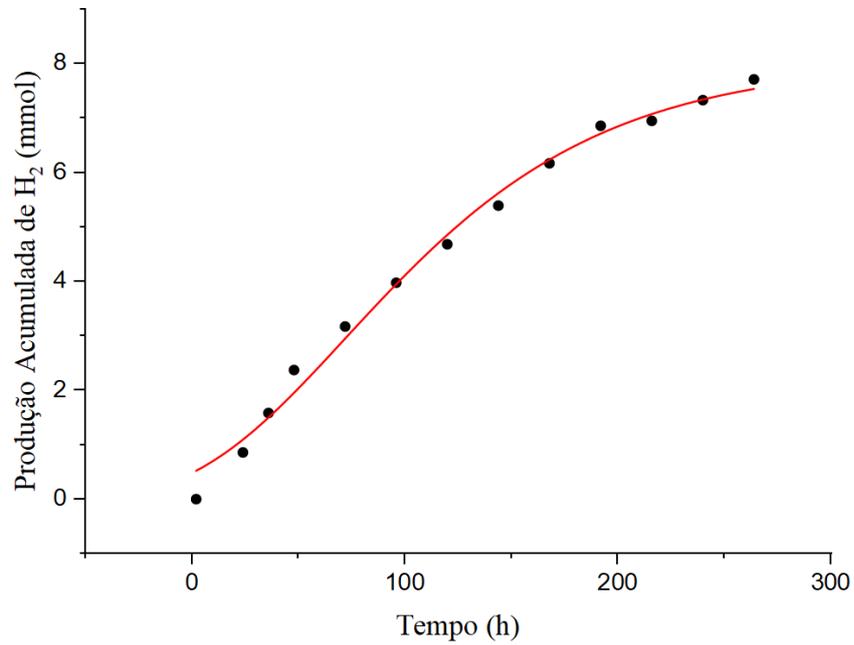
Fonte: Autor (2019)

**Figura 23:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,2%



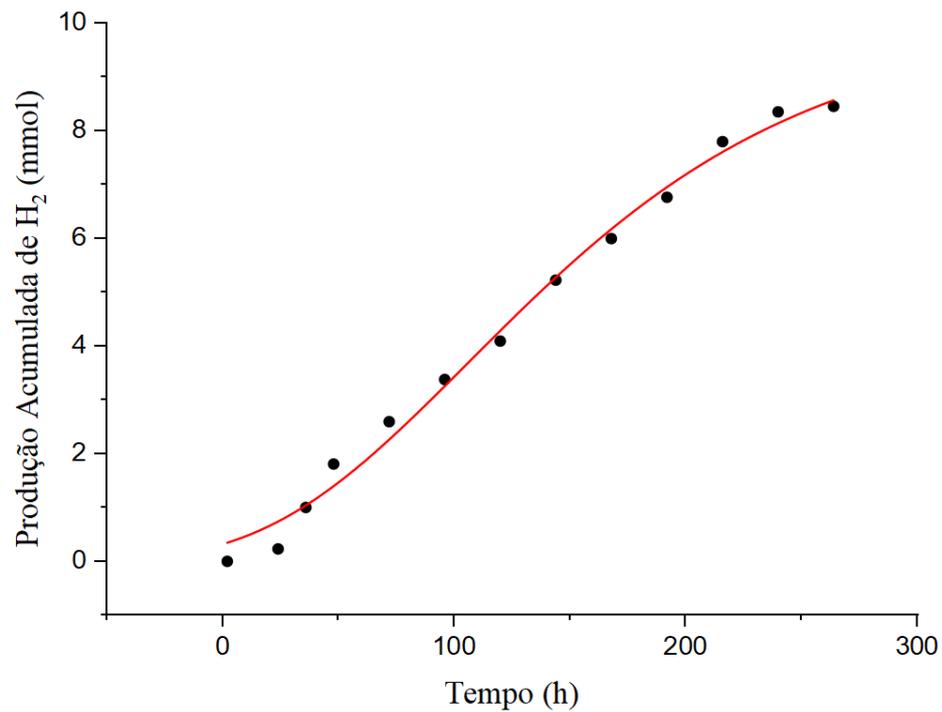
Fonte: Autor (2019)

**Figura 24:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,3%



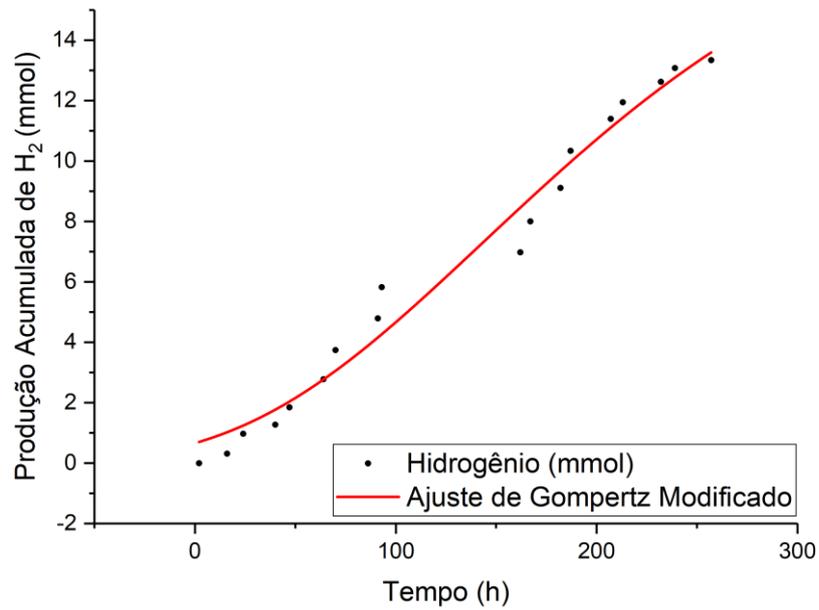
Fonte: Autor (2019)

**Figura 25:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,4%



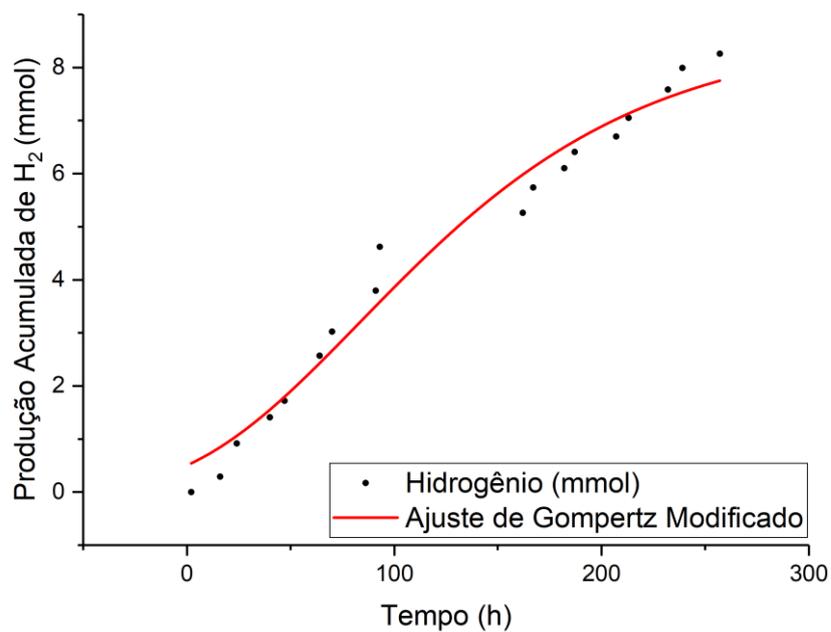
Fonte: Autor (2019)

**Figura 26:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,5%



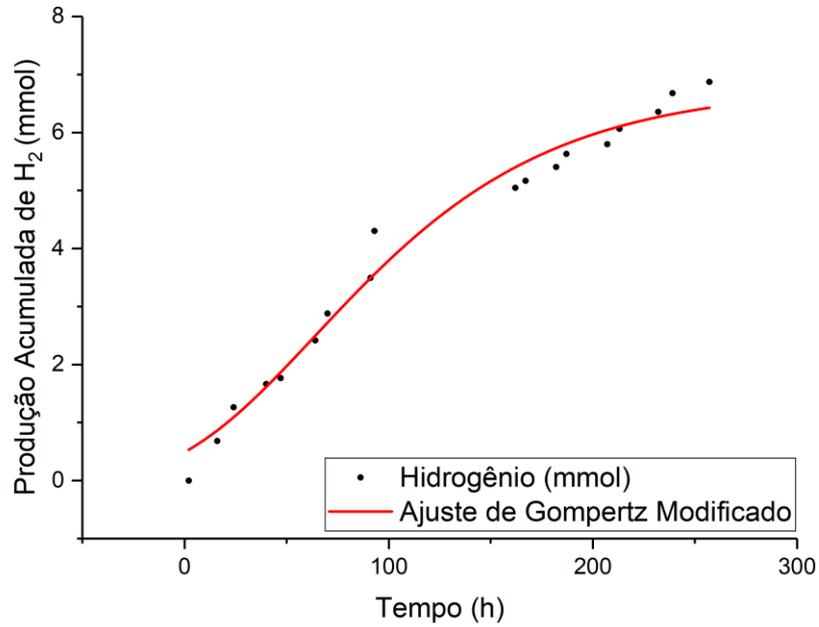
Fonte: Autor (2019)

**Figura 27:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 1,0%



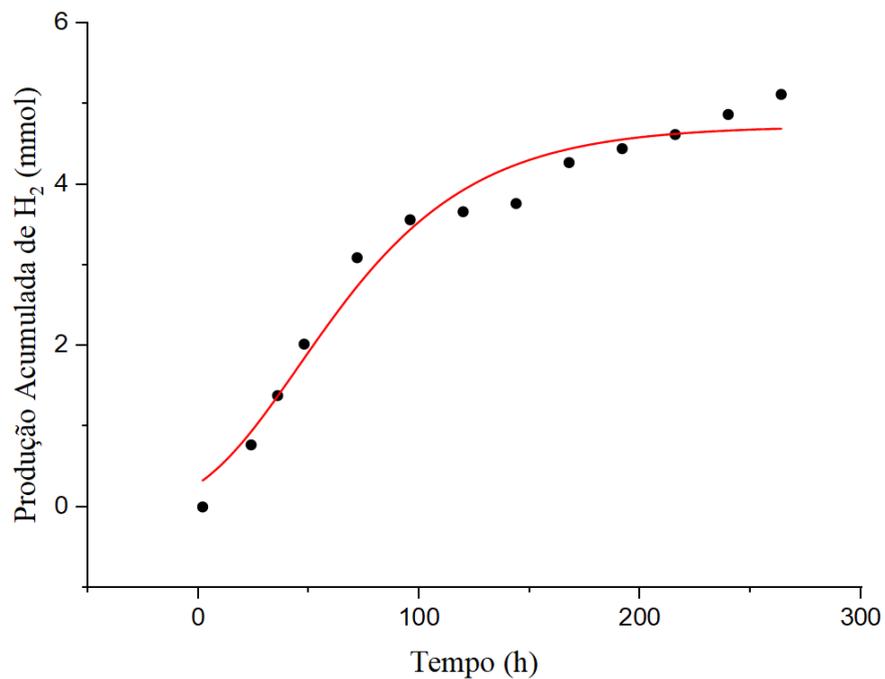
Fonte: Autor (2019)

**Figura 28:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator HCl 2,0%



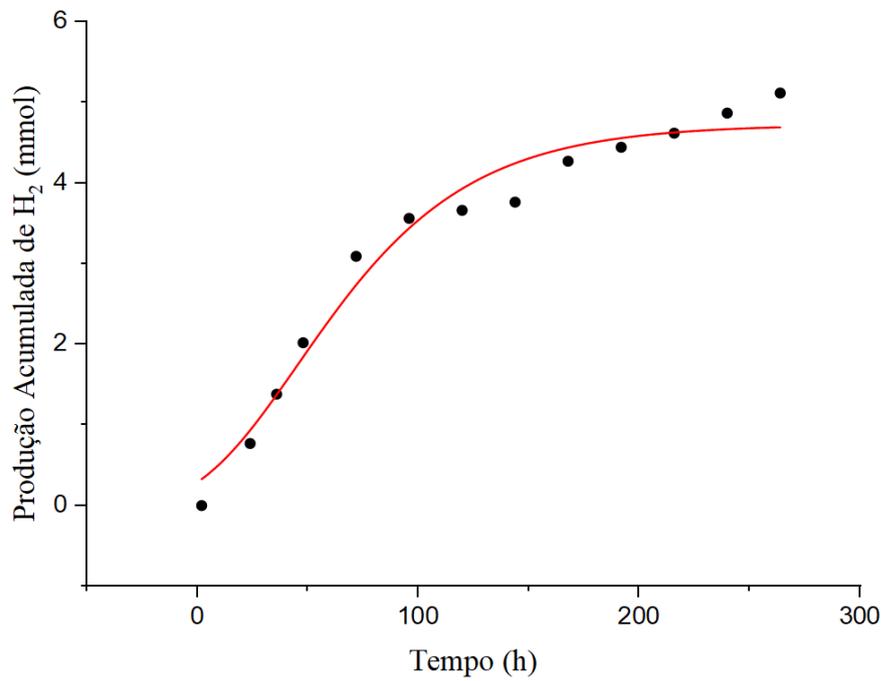
Fonte: Autor (2019)

**Figura 29:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,1%



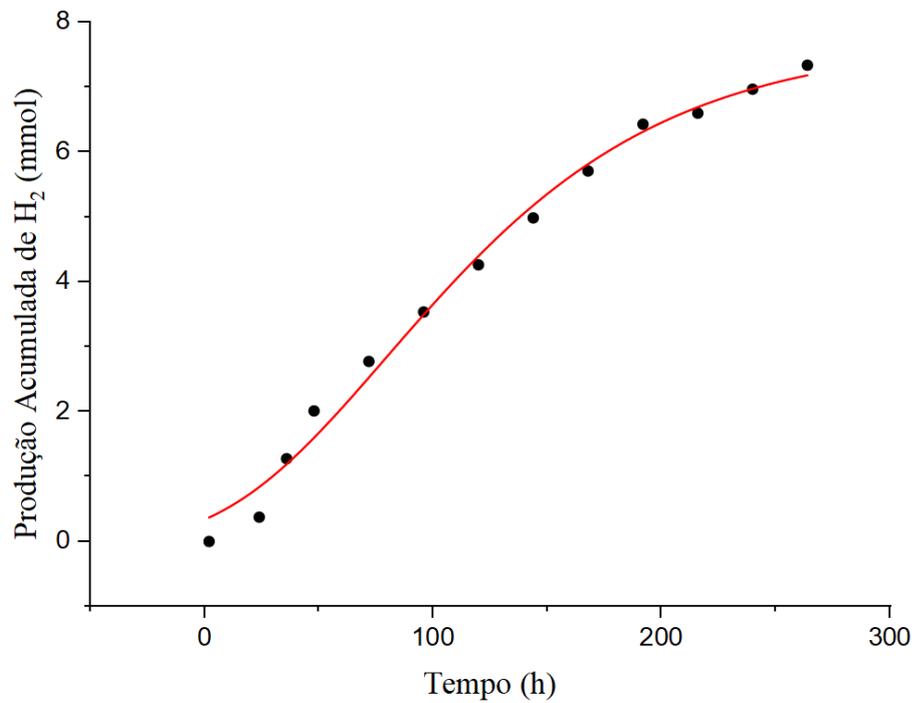
Fonte: Autor (2019)

**Figura 30:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,2%



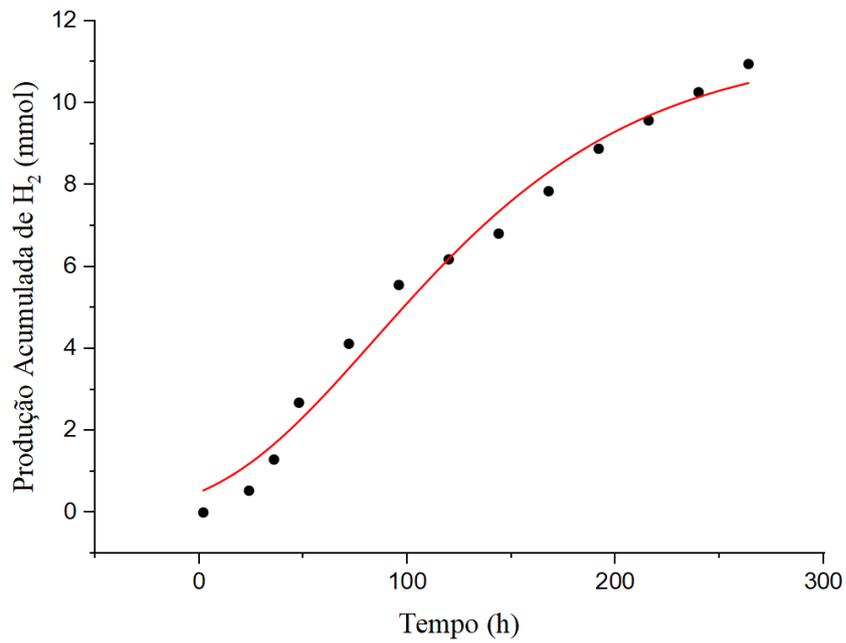
Fonte: Autor (2019)

**Figura 31:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,3%



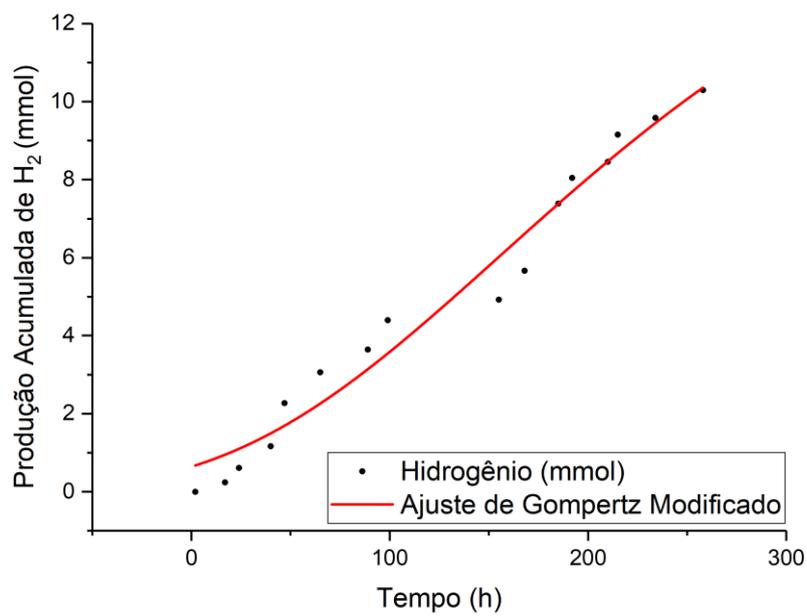
Fonte: Autor (2019)

**Figura 32:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,4%



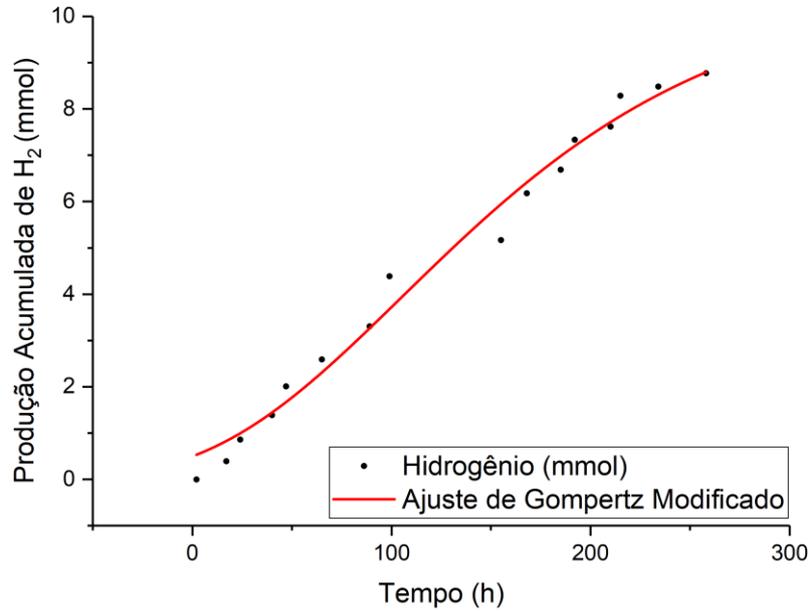
Fonte: Autor (2019)

**Figura 33:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,5%



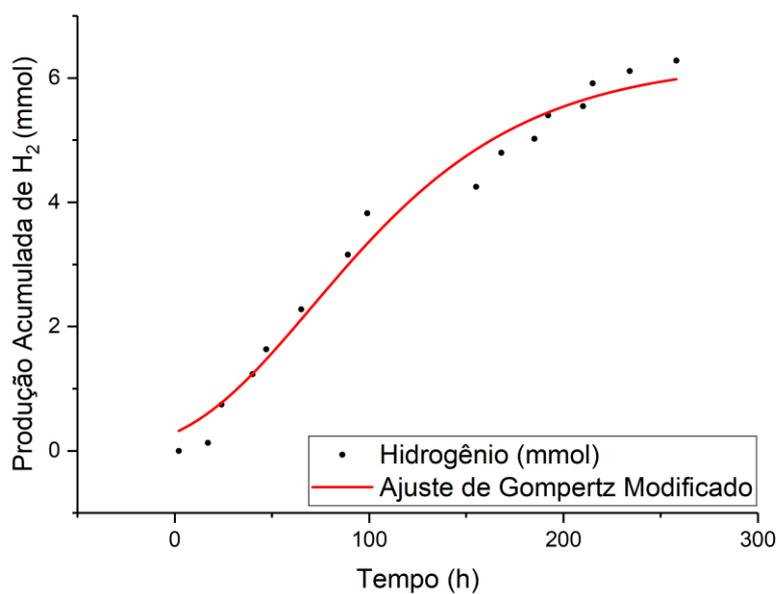
Fonte: Autor (2019)

**Figura 34:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 1,0%



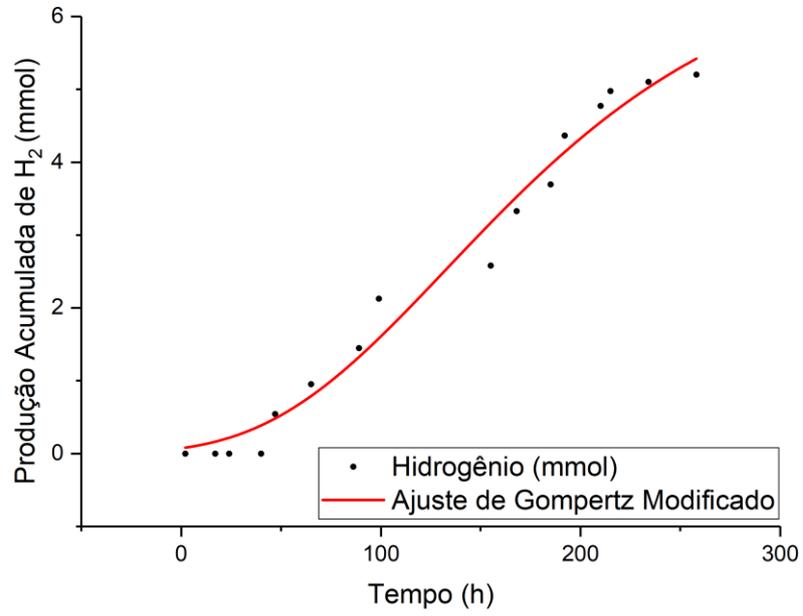
Fonte: Autor (2019)

**Figura 35:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 2,0%



Fonte: Autor (2019)

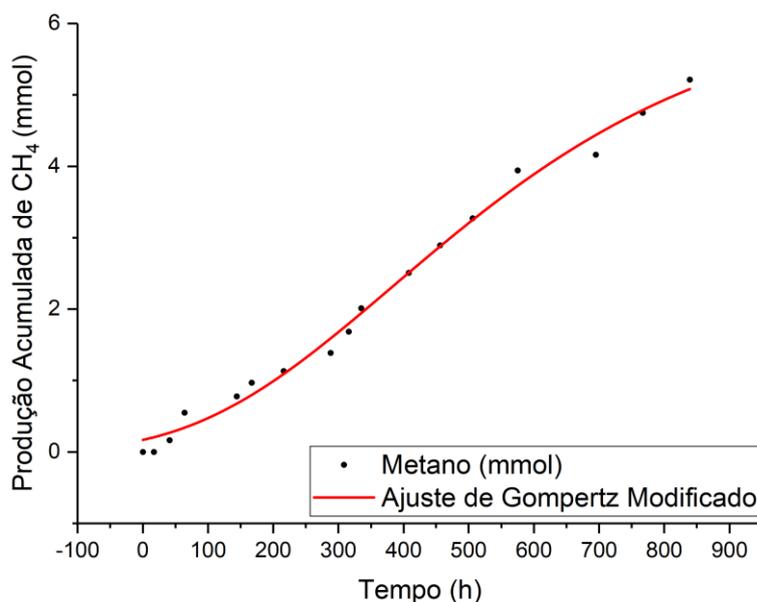
**Figura 36:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de hidrogênio (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 4,0%



Fonte: Autor (2019)

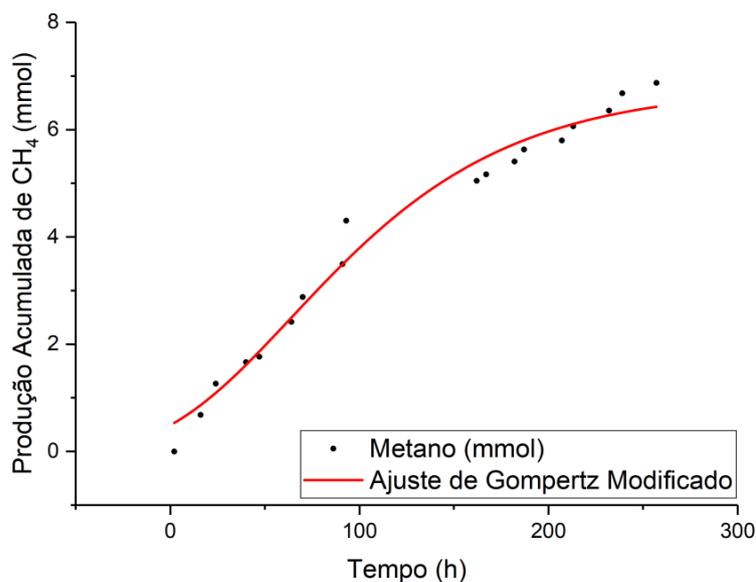
## APÊNDICE B – CURVAS DE PRODUÇÃO DE METANO AJUSTADAS PELO MODELO DE GOMPERTZ MODIFICADO

**Figura 37:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator Controle



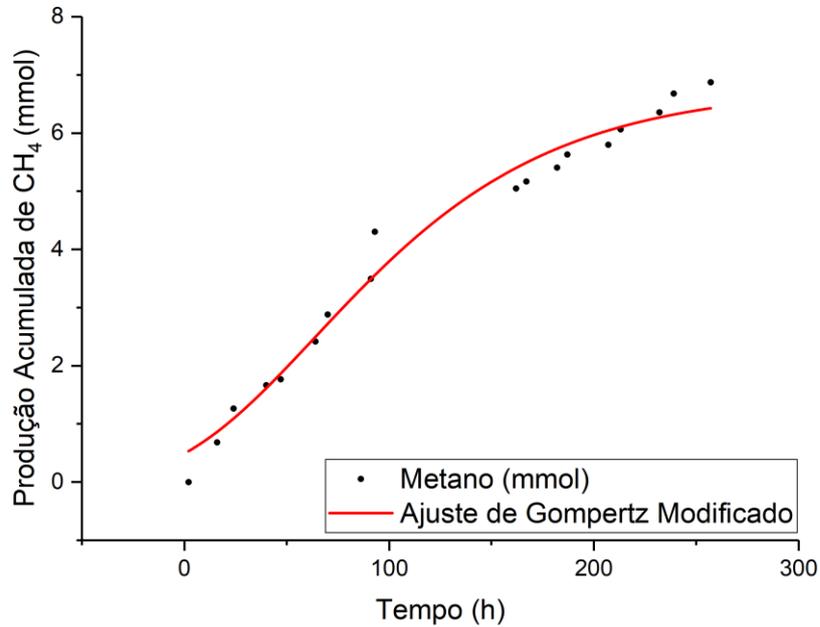
Fonte: Autor (2019)

**Figura 38:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator HCl 0,5%



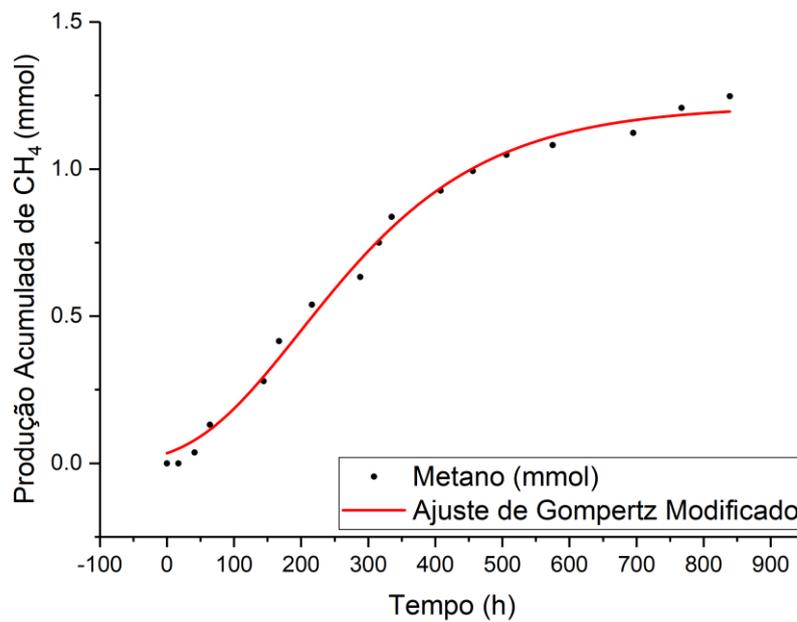
Fonte: Autor (2019)

**Figura 39:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator HCl 1,0%



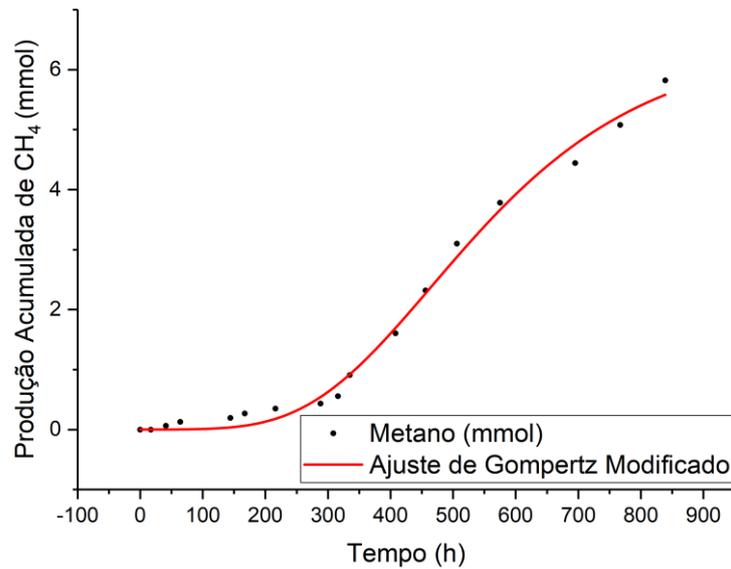
Fonte: Autor (2019)

**Figura 40:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator HCl 2,0%



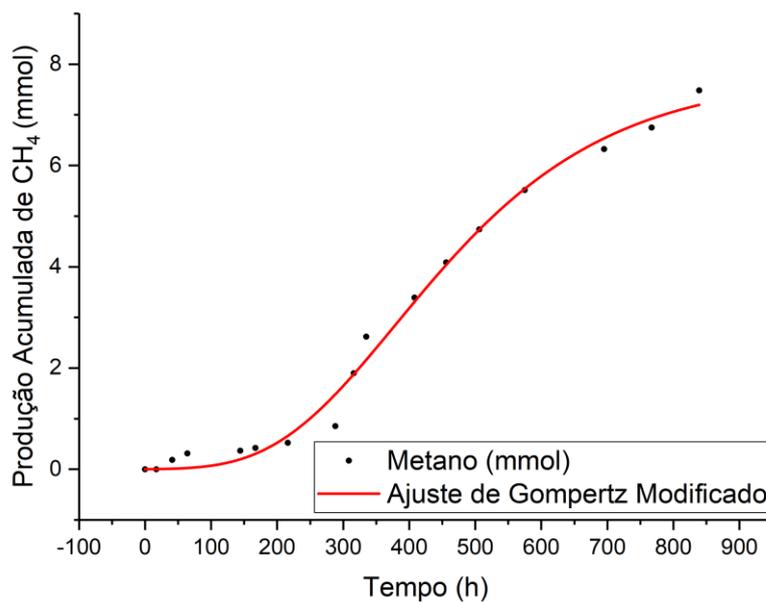
Fonte: Autor (2019)

**Figura 41:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 0,5%



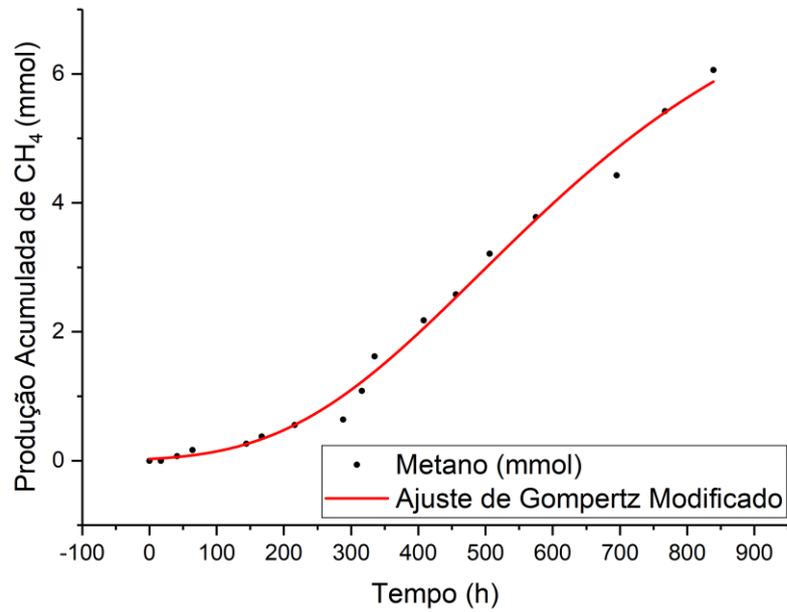
Fonte: Autor (2019)

**Figura 42:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 1,0%



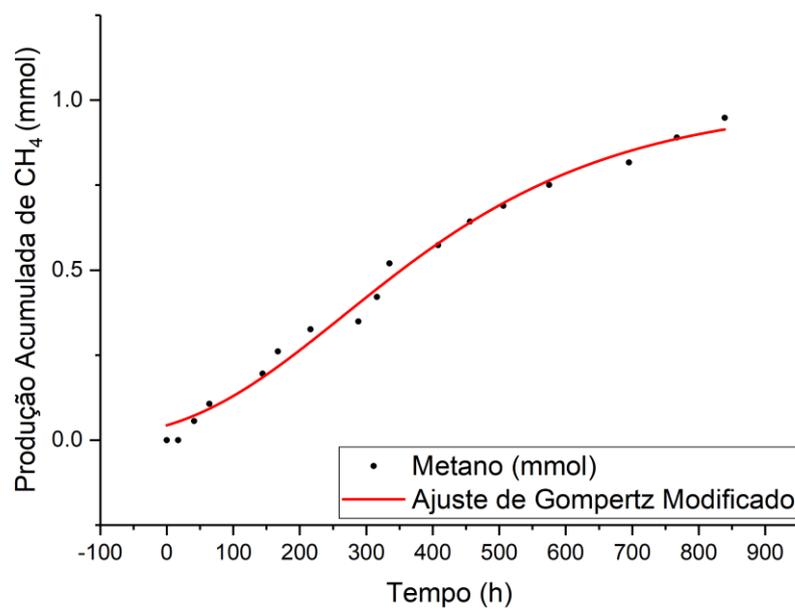
Fonte: Autor (2019)

**Figura 43:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 2,0%



Fonte: Autor (2019)

**Figura 44:** Curva ajustada pelo modelo de Gompertz Modificado da produção acumulada de metano (mL) versus tempo (h) no reator NaOH 4,0%



Fonte: Autor (2019)