

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**PRODUÇÃO DE HIDROGENIO A PARTIR DA ÁGUA RESIDUÁRIA E DO
BAGAÇO DA EXTRAÇÃO DE FECULA DE MANDIOCA EM AnSBBR**

TAMIRIS UANA TONELLO

**CASCAVEL- PR
AGOSTO - 2022**

TAMIRIS UANA TONELLO

**PRODUÇÃO DE HIDROGENIO A PARTIR DA ÁGUA RESIDUÁRIA E
DO BAGAÇO DA EXTRAÇÃO DE FECULA DE MANDIOCA EM AnSBBR**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração: Saneamento ambiental - Nível Doutorado, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Simone Damasceno Gomes

**CASCADEL- PR
AGOSTO –2022**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas daUnioeste.

Tonello, Tamiris Uana

PRODUÇÃO DE HIDROGENIO A PARTIR DA ÁGUA RESIDUÁRIA E DO BAGAÇO DA EXTRAÇÃO DE FECULA DE MANDIOCA EM AnSBBR / Tamiris Uana Tonello; orientadora Simone Damasceno Gomes. -- Cascavel, 2022.

103 p.

Tese (Doutorado Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2022.

1. Biomassa nativa. 2. tratamento de inóculo. 3. resíduo sólido. 4. inóculo. I. Gomes, Simone Damasceno , orient. II. Título.

TAMIRIS UANA TONELLO

PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DO BAGAÇO E DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA INDÚSTRIA DE FÉCULA DE MANDIOCA EM REATOR AnSBBR

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, linha de pesquisa Saneamento Ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel
(UNIOESTE)



Thiago Morais de Castro

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)



Ana Paula Trevisan

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Toledo
(UNIOESTE)

Documento assinado digitalmente
gov.br CRISTIANE LURDES ANDREANI
Data: 02/09/2022 11:37:47-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Cristiane Lurdes Andreani

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel
(UNIOESTE)



Luciane Sene

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel
(UNIOESTE)

Cascavel, 11 de agosto de 2022.

BIOGRAFIA

Tamiris Uana Tonello, nasceu em 12 de agosto de 1992, na cidade de Tapira, no estado do Paraná. Em fevereiro de 2010 ingressou no curso de Engenharia Agrícola na Universidade Estadual de Maringá UEM- *Campus* do Arenito - PR, graduou-se em fevereiro de 2015. Pós-Graduada (Mestrado) em Engenharia Agrícola pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE (2017), Orientadora: Dra. Simone Damasceno Gomes, na área Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. Em 2017, iniciou um estágio no *Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica em San Luis Potosino*, México, na área de Ciências Ambientais, com o Dr. Felipe Alatraste Mondragón e o Dr. Elías Razo Flores. Atualmente é estudante de doutorado em Engenharia Agrícola pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE (2018), com a orientação da Dra. Simone Damasceno Gomes, na área Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. É membro da Associação Internacional de Energia do Hidrogênio (IAHE) e da Associação Brasileira de Hidrogênio.

A Reginaldo, Maria de Fátima e Anna Paola, minha família,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e pela oportunidade de conhecer pessoas tão especiais nesta etapa importante da minha vida.

Aos meus pais Reginaldo Tonello e Maria de Fatima Varini Tonello, por todo apoio, o incentivo e a confiança nas minhas escolhas. Obrigada pelos ensinamentos preciosos, por me ensinarem que o bem sempre vence, que o amor e a humildade devem ser o elemento mais importante na caminhada da vida.

Agradeço a minha irmã Anna Paola Tonello, por estar sempre do meu lado, me apoiando, torcendo e incentivando a cada obstáculo com um sorriso no rosto e um abraço apertado. Ao meu cunhado Helizeu pelos momentos de descontração.

Agradeço meu namorado, Guilherme Medeiro, que sempre está ao meu lado, me ajudando, me estimulando a seguir e a buscar o melhor; agradeço por todo o seu amor, carinho, paciência e presença incansável com que me apoiou, ao longo do período de elaboração desta tese, principalmente na parte final. Amo muito você e te admiro demais!

Agradeço à professora Dra. Simone Damasceno Gomes, pela orientação, confiança, o incentivo e a amizade. Apoiando nas minhas escolhas, e incentivando a crescer e melhorar sempre.

Agradeço à professora Dra. Luciane Sene, pelo apoio nas decisões de análises.

Agradeço aos meus avós, Bruno e Mafalda Tonello, e Laura Varini, por todas as conversas sem entenderem muito sobre o assunto. Amo muito vocês. Aos meus tios e tias, e meus familiares por poder sempre estar reunidos.

Aos meus sogros, Luis Carlos e Maruli, que sempre se preocupam comigo e me tratam como uma filha. Meus cunhados, Diego e Cinthia Medeiros, Eduardo Medeiros, pela parceria e por estar sempre dispostos a me ajudar quando precisei.

Aos membros da banca pelo aceite ao convite e dispêndio de tempo com meu trabalho.

À UNIOESTE, *campus* de Cascavel, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, por me oportunizar a realização desta etapa da formação acadêmica;

Aos companheiros/amigos de pesquisa Ângelo, Cristiane, Izabela, Mariana, Plinio, Douglas, Jianice, Ana Paula, Luana, Thais, Tatiane, Aruane, Cleuciane, Ana Cé pelos exemplos de coragem e determinação, pela paciência, a persistência, a companhia, as descobertas conjuntas, o suporte nos assuntos científicos e pessoais. Meu carinho e respeito a todos.

Ao estagiário Gabriel por todo auxílio no experimento, e por ser meu braço direito em todos os suportes, muito obrigada.

A todos os amigos do PGEAGRI, pelos momentos de compartilhamento e o auxílio em alguma etapa do trabalho.

Às minhas amigas de infância, Mayara e Vanessa, mesmo distantes sempre me apoiaram.

Aos técnicos Edison, Euro e Cleuciane, pela confiança, amizade e a constante disposição em colaborar;

À FUNDETEC, técnico Leonildo, que não mediu esforços para me ajudar nas análises de caracterização do bagaço.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Por mais que tente não conseguirei agradecer aqui a todos que contribuíram de forma direta e indireta ao projeto e aos amigos que me deram suporte durante esses três anos, mesmo longe, mas isso não diminuiu a importância nem a gratidão que sinto por vocês.

Muito Obrigada!

TONELLO, Tamiris Uana. **Produção de hidrogênio a partir da água residuária e do bagaço da extração de fécula de mandioca em AnSBBR**. Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Simone Damasceno Gomes. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – Paraná, 2023.

RESUMO

As indústrias produtoras de fécula ou farinha de mandioca geram em seu processo produtivo uma quantidade considerável de resíduos sólidos e líquidos. Esses resíduos apresentam elevadas concentrações de matéria orgânica que favorecem a produção de bioenergia, como metano e hidrogênio. O sistema de digestão anaeróbia com dois resíduos (sólido e líquido) em reatores representa uma alternativa relevante para a produção de bioenergia. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a produção de hidrogênio a partir da água residuária (ARF) e do bagaço (BM) do processo de extração de fécula de mandioca em reator anaeróbio operado em batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR). O estudo foi desenvolvido em três fases principais: I) ensaios em Bateladas (BA) – ensaios preliminares; II) produção de hidrogênio no AnSBBR; III) produção de hidrogênio no AnSBBR com inóculo oriundo de microbiota nativa do bagaço de mandioca. A Fase I contemplou os seguintes ensaios: i) ensaios em bateladas (BA) realizados para avaliar o efeito do tratamento térmico e químico do inóculo na produção de hidrogênio; ii) ensaios em bateladas para avaliar a produção de hidrogênio utilizando o bagaço de mandioca como substrato. Na Fase II do estudo foi avaliada a produção de hidrogênio em AnSBBR, variando a carga orgânica volumétrica (COV, de 2,4 a 9,3 gCT L⁻¹, e com base dos sólidos voláteis totais, COV de 0,8 gSVT L⁻¹d⁻¹), o tempo de ciclo (TC, 6 a 24h) e a forma do bagaço (*in natura*, seco e quebrado e seco e triturado) e o modo de introdução do bagaço de mandioca no reator (juntamente com a alimentação ou direto no meio suporte). Nesses ensaios, foram utilizadas como substrato líquido a água residuária da indústria de fécula de mandioca e a água residuária sintética. Na Fase III foi avaliada a produção de hidrogênio com bagaço no reator AnSBBR (Concentração de 2,5 gCT L⁻¹ e TC de 24 h), utilizando o inóculo obtido a partir da microbiota nativa do bagaço de mandioca (bagaço fermentando por 80 dias). Na Fase I verificou-se que o ensaio que apresentou maior produtividade volumétrica acumulada (PVA) (84,71 mL H₂) foi obtido com o inóculo tratado termicamente, com solução de nutriente e como fonte de carbono bagaço de mandioca. Na Fase II, nos ensaios em AnSBBR, o ensaio com BM seco e quebrado, adicionado uma única vez juntamente com o meio suporte, alimentado com ARS com sacarose, apresentou maior produtividade volumétrica (1,18 LH₂ L⁻¹ d⁻¹). Na Fase III, as bateladas com inóculo a partir da microbiota nativa do BM com solução de nutriente, apresentou a maior produção volumétrica acumulada (24 mLH₂) e no AnSBBR o ensaio com inóculo da microbiota nativa do BM juntamente com BM *in natura* e alimentado com ARF atingiu máxima produtividade volumétrica de hidrogênio nos primeiros dias (0,178 LH₂ L⁻¹ d⁻¹) e rendimento (0,09 molH₂ kgCarb⁻¹). Pode-se concluir que a maior produção de hidrogênio foi com a menor quantidade de bagaço adicionado e com ARS de fonte de alimentação.

Palavras-chave: Biomassa nativa, tratamento de inóculo, resíduo sólido, inóculo, biohidrogênio.

TONELLO, Tamiris Uana. **Hydrogen production from wastewater and bagasse from cassava starch extraction in AnSBBR**. Advisor: Prof. Dr. Simone Damasceno Gomes. Dissertation (PhD in Agricultural Engineering) – Western Paraná State University, Cascavel – Paraná, 2023.

ABSTRACT

Industries that produce cassava starch or flour generate a considerable amount of solid and liquid waste in their production process. These residues exhibit high concentrations of organic matter that favor the production of bioenergy, such as methane and hydrogen. The anaerobic digestion system with two residues (solid and liquid) in reactors represents a relevant alternative for the production of bioenergy. Therefore, this research aimed to evaluate the production of hydrogen from wastewater (ARF) and bagasse (BM) derived out of the cassava starch extraction process in an anaerobic reactor operated in sequential batch with immobilized biomass (AnSBBR). The study consisted of three main phases: I) Batch Tests (BA) – preliminary tests; II) hydrogen production in AnSBBR; III) hydrogen production in AnSBBR with inoculum from native microbiota of cassava bagasse. Phase I included the following tests: i) batch tests (BA) carried out to evaluate the effect of thermal and chemical treatment of the inoculum on the production of hydrogen; ii) batch tests to evaluate hydrogen production using cassava bagasse as substrate. In Phase II of the study, hydrogen production in AnSBBR was evaluated by varying the volumetric organic load (COV, from 2.4 to 9.3 gCT L⁻¹, and based on total volatile solids, COV from 0.8 gSVT L⁻¹d⁻¹), the cycle time (TC, 6 to 24h), and the form of the bagasse (*in natura*, dry and broken down and dry and crushed) as well as the method of introducing the cassava bagasse into the reactor (together with the feed pump or directly on the support medium). In these tests, wastewater from the cassava starch industry and synthetic wastewater were used as liquid substrate. In Phase III, hydrogen production with bagasse in the AnSBBR reactor (Concentration of 2.5 gCT L⁻¹ and 24-hour TC) was evaluated using the inoculum obtained from the native microbiota of cassava bagasse (bagasse fermenting for 80 days). In Phase I, it was verified that the test that presented the highest accumulated volumetric productivity (AVP) (84.71 mL H₂) was obtained with the inoculum thermally treated, with nutrient solution and cassava bagasse as carbon source. Throughout Phase II, in the tests on AnSBBR, the one with dry and broken down BM, added only once along with the support medium, fed with ARS with sucrose, showed higher volumetric productivity (1,18 LH₂ L⁻¹ d⁻¹). In Phase III, the batches with inoculum from the BM native microbiota with nutrient solution showed the highest accumulated volumetric production (24 mLH₂) and in AnSBBR the test with inoculum of the BM native microbiota together with BM *in natura* and fed with ARF reached maximum hydrogen volumetric productivity in the first days (0.178 LH₂ L⁻¹ d⁻¹) and yield (0.09 molH₂ kgCarb⁻¹). It can be concluded that the highest hydrogen production was with the lowest amount of bagasse added and with ARS as a power supply.

Keywords: Native biomass, inoculum treatment, solid residue, inoculum, biohydrogen.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	3
2.1 Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Cenário da produção de fécula de mandioca e seus resíduos.....	4
3.1.1 Resíduos líquidos na produção de fécula de mandioca.....	5
3.1.2 Bagaço gerado pela produção de fécula de mandioca	6
3.2 Biomassa lignocelulósica.....	8
3.3 Digestão anaeróbia	10
3.4 Produção de hidrogênio	12
3.4.1 Produção de hidrogênio com bagaço de mandioca	12
3.4.2 Reatores anaeróbios para a produção de hidrogênio	13
3.5 Fatores que influenciam na operação de reatores anaeróbios em batelada sequencial	15
3.5.1 pH	15
3.5.2 Imobilização da biomassa	16
3.5.3 Inóculo.....	16
3.5.4 Carga orgânica.....	19
3.5.5 Modo de alimentação, tempo de detenção hidráulica e tempo de retenção.....	19
3.6 Considerações finais da revisão de literatura	21
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Substratos	22
4.2 Condução do experimento.....	24
4.2.1 Fase I: ensaios em batelada (BA).....	25
4.2.2 Produção de hidrogênio nos ensaios em batelada (BA)	27
4.2.3 Fase II: avaliação da produção de hidrogênio em reator AnSBBR	28

4.2.4	Fase III: produção de hidrogênio com inóculo advindo da microbiota nativa do bagaço de mandioca	32
4.3	Métodos analíticos.....	33
4.3.1	Fase líquida.....	33
4.3.2	Fase gasosa.....	34
4.3.3	Caracterização do bagaço de mandioca.....	35
4.3.4	Desempenho das bateladas	35
4.3.5	Desempenho do reator: cálculos da produção de hidrogênio	35
4.4	Fundamentos teóricos	35
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	Fase I: ensaios em bateladas (BA).....	37
5.1.1	ETAPA I: pré-tratamento do inóculo sobre a produção de hidrogênio	37
5.1.2	Ensaios para verificar a produção de H ₂ em função do tipo de preparo – Etapa II	43
5.1.3	Considerações finais da Fase I	47
5.2	FASE II – Avaliação da produção de hidrogênio em reator AnSBBR.....	48
5.2.1	Desempenho do sistema	48
5.2.2	Desempenho do reator em relação à produção de hidrogênio no AnSBBR.....	58
5.2.3	Considerações finais da Fase II.....	63
5.3	FASE III: produção de hidrogênio com inóculo advindo da microbiota nativa do bagaço de mandioca	63
5.3.1	Bateladas com microbiota nativa do bagaço de mandioca sobre a produção de hidrogênio	63
5.3.2	Desempenho do reator: Avaliação Operacional e Produção de hidrogênio a partir do inóculo oriundo da microbiota nativa do BM	69
5.3.3	Considerações finais da fase III.....	72
6.	CONCLUSÕES	75
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
	REFERÊNCIAS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma simplificado do processo de extração da fécula de mandioca.	5
Figura 2	Estrutura lignocelulósica.	8
Figura 3	Celobiose.	9
Figura 4	Principais componentes da hemicelulose.	9
Figura 5	Aplicação da biomassa lignocelulósica pré-tratada.	10
Figura 6	Fluxograma do processo de digestão anaeróbia.	11
Figura 7	Imagens de coleta do bagaço e da água residuária de mandioca.	23
Figura 8	Imagens do bagaço de mandioca. 1) <i>In natura</i> ; 2) seco e quebrado.	24
Figura 9	Fluxograma resumido da condução do experimento.	25
Figura 10	Leitura de gás e de pressão nos ensaios em batelada.	28
Figura 11	Representação esquemática do reator AnSBBR.	29
Figura 12	Cesto utilizado na imobilização da biomassa.	29
Figura 13	Proporção de metabólitos solúveis nas bateladas (BA1 a BA4).	39
Figura 14	Valores médios de hidrogênio (H ₂) (-■-) e dióxido de carbono (CO ₂) (-●-): a) Porcentagem de Biogás (%); e b) Produção volumétrica acumulada de biogás.	41
Figura 15	Valores médios de hidrogênio (H ₂) (-■-) e dióxido de carbono (CO ₂) (-●-); a) Composição do biogás (%); b) produção volumétrica acumulada de biogás (mL d ⁻¹), por tempo de condução.	46
Figura 16	Valores de pH efluente nos ensaios E1 a E7 no reator AnSBBR.	50
Figura 17	Proporção de metabólitos solúveis quantificados ao longo da operação dos ensaios: a) E1; b) E2; c) E3 e d) E4.	53
Figura 18	Valores de a) sólidos voláteis totais e; b) sólidos suspensos voláteis no efluente dos ensaios realizados no reator AnSBBR (E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7).	56
Figura 19	Eficiência de remoção de matéria orgânica: a) na forma de carboidrato total e b) na forma de DQO, nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 no reator AnSBBR.	57

Figura 20	Produção volumétrica (PVH ₂) e rendimento (RMCA) de hidrogênio ao longo dos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 no reator AnSBBR.	60
Figura 21	Valores médios de hidrogênio (H ₂) (-■-) e dióxido de carbono (CO ₂) (-●-). a) Porcentagem de biogás e b) produção volumétrica acumulada de hidrogênio e CO ₂ no biogás nas bateladas.	67
Figura 22	Metabólitos intermediários no ensaio E8.	70
Figura 23	Rendimento de hidrogênio por carga aplicada e a produtividade volumétrica de hidrogênio no ensaio E8.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização físico-química da água residuária do processo de extração da fécula de mandioca.....	6
Tabela 2	Característica físico-química do bagaço de mandioca resultante do processo de obtenção de fécula de mandioca	7
Tabela 3	Composição do bagaço da mandioca.....	7
Tabela 4	Composição da solução de nutrientes.....	22
Tabela 5	Composição da água residuária	23
Tabela 6	Composição dos bagaços de mandioca dos lotes 1 e 2, nas condições <i>in natura</i> e seco e seco, quebrado e triturado (BMtrit)	24
Tabela 7	Ensaio para a produção de hidrogênio em batelada a partir de bagaço de mandioca e solução de nutrientes com inóculos pré-tratados termicamente e quimicamente	26
Tabela 8	Resumo dos ensaios de produção de H ₂ em batelada a partir de bagaço de mandioca <i>in natura</i> ou seco e água residuária de fecularia	26
Tabela 9	Condições experimentais avaliadas no AnSBBR (Fase II).....	31
Tabela 10	Parâmetros de monitoramento do reator AnSBBR e suas respectivas referências.....	32
Tabela 11	Ensaio de produção de hidrogênio em batelada (BHP) com a microbiota nativa do bagaço de mandioca como inóculo	33
Tabela 12	Condições do ensaio de produção de hidrogênio no reator AnSBBR com inóculo oriundo da microbiota nativa do bagaço de mandioca	33
Tabela 13	Resultados dos parâmetros avaliados nos ensaios em Bateladas (BA1 a BA4)	38
Tabela 14	Resultados dos parâmetros de monitoramento e indicadores de desempenho das Bateladas	44
Tabela 15	Resultados dos indicadores de estabilidade operacional dos ensaios realizados no reator AnSBBR (E1 a E7)	49
Tabela 16	Parâmetros operacionais dos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 operados no reator AnSBBR	59
Tabela 17	Resultados dos parâmetros de desempenho das bateladas realizadas com inóculo oriundo do BM autofermentado	65

Tabela 18	Resultados de rendimento de hidrogênio por carga orgânica aplicada	68
Tabela 19	Desempenho do AnSBBR no ensaio com inóculo da microbiota nativa....	69
Tabela 20	Comparativo da produção de hidrogênio entre estudos que utilizaram vários substratos e várias configurações de reator	74

1. INTRODUÇÃO

O hidrogênio (H_2) é considerado um elemento químico altamente calorífico e limpo. Surgiu como um combustível alternativo e promissor, pois sua queima produz apenas água, ao invés de gás carbônico e outros gases de efeito estufa gerados durante a queima de combustíveis fósseis (CAPPELLETTI et al., 2011).

O hidrogênio pode ser produzido por métodos físico-químicos e biológicos. As abordagens biológicas têm potencial de serem as vias mais economicamente viáveis, especialmente se o H_2 for produzido pela fermentação de matéria orgânica renovável, como os resíduos agroindustriais contendo carboidratos (WANG; WAN., 2009). Nesse sentido, esforços crescentes têm sido feitos para verificar o potencial dos resíduos ricos em carboidratos e águas residuárias de diferentes fontes para a produção fermentativa de hidrogênio (OLIVEIRA et al., 2009; AKUTSU et al., 2009; CHAIRATTANAMANOKORN et al., 2009; TONELLO et al., 2018; ANDREANI et al., 2019).

Os resíduos ricos em carboidratos, como o resíduo oriundo da extração de fécula de mandioca, vêm sendo cada vez mais utilizados para a produção de bioenergia. A produção de mandioca no Brasil colabora com 10% da produção global total, caracterizando o país como o segundo maior produtor desse alimento. O Paraná é o maior produtor de fécula de mandioca do país, com 70,1% da produção nacional, sendo a mandioca industrial a principal variedade utilizada para extração de fécula e para a obtenção de farinha de mandioca (IBGE, 2022). Concomitantemente, com essa produção de fécula são geradas grandes quantidades de resíduos sólidos e líquidos, que apresentam elevada carga orgânica.

O gerenciamento desses resíduos ocorre geralmente pelo tratamento dos resíduos líquidos em lagoas anaeróbias e os resíduos sólidos são dispostos como adubo orgânico e como alimento para os animais (ZENATTI et al., 2015).

O bagaço da mandioca, resíduo sólido gerado no processo de extração da fécula, é um material lignocelulósico rico em carboidratos. Devido a sua alta concentração fibrosa, o processo de digestão se torna mais lento, sendo necessária a realização de pré-tratamento por meio de processos químicos, físicos ou biológicos para a despolimerização de moléculas complexas (lignina, celulose, hemicelulose).

O alto teor de matéria orgânica nesses resíduos, os qualificam como substrato em processos biotecnológicos, incluindo a produção de hidrogênio. Diversos trabalhos verificados na literatura relatam o uso da água residuária de mandioca como matéria prima para a produção de hidrogênio empregam culturas mistas (SREETHAWONG et al., 2010; TONELLO

et al., 2018; ANDREANI et al., 2019). No entanto, a maioria dos trabalhos utilizam apenas água residuária de fecularia, sem adição de outro composto de amido ou substrato (TONELLO et al., 2018; ANDREANI et al., 2019).

Sendo assim, o resíduo sólido da extração da fécula de mandioca (bagaço) pode contribuir significativamente para a produção energética, por se tratar de um material lignocelulósico que, a partir de um processo químico, físico ou biológico (silagem), pode disponibilizar substrato para a produção de bio-hidrogênio.

A silagem é caracterizada como um processo de fermentação láctica de substratos lignocelulósicos em que há, principalmente, a produção de ácido láctico com consequente abaixamento do pH. Considerando que há relatos na literatura de que o processo da silagem promove a quebra de substratos lignocelulósicos para a produção de hidrogênio e de metano, sem a necessidade de outros tratamentos prévios (LEHTOMÄKI et al., 2008; LI et al., 2012), é possível inferir que a fermentação acidogênica possa agir de maneira semelhante sobre esse tipo de biomassa, viabilizando a produção direta do hidrogênio a partir do bagaço.

Por outro lado, o tratamento e a produção de bioenergia a partir desses resíduos líquidos e sólidos de fecularia foram estudados em reatores anaeróbio de reator tubular com alimentação contínua; UASB em separação de fase; de leito empacotado com alimentação contínua; em reatores com bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (KUCZMAN et al., 2014; INTANOO et al., 2016; ARAÚJO et al., 2018; TONELLO et al. 2018; ANDREANI et a., 2019; CHAVADEJ et al., 2019) e, diante desses estudos realizados, há ainda uma lacuna na literatura sobre pesquisas para melhorar as condições operacionais e a produtividade de bioenergia.

Nesse contexto, o presente trabalho foi proposto com base nas seguintes hipóteses: i) o reator acidogênico promove a hidrólise do substrato lignocelulósico, assim como ocorre no processo da silagem; 2) os resíduos do processamento de fécula de mandioca podem ser utilizados para a obtenção de hidrogênio, além de ser meio suporte para os microrganismos; 3) a ativação da microbiota nativa do bagaço facilita a obtenção de bio-hidrogênio a partir da água residuária e do bagaço de mandioca no reator acidogênico AnSBBR.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo produzir hidrogênio a partir da água residuária (ARF) e do bagaço (BM) do processo de extração da fécula de mandioca em reator anaeróbio de bateladas sequenciais com biomassa imobilizadas (AnSBBR).

2.1 Objetivos específicos

- Verificar o efeito do tratamento químico e térmico do inóculo, juntamente com água residuária e com o bagaço de mandioca;
- Avaliar o bagaço de mandioca (*in natura* e triturado) na codigestão do bagaço da mandioca com solução de nutriente ou efluente real em ensaios em bateladas;
- Avaliar a produção de hidrogênio em um reator em bateladas sequenciais e biomassa imobilizada (AnSBBR) a partir da codigestão de água residuária real e solução de nutriente, juntamente com o bagaço da indústria de fécula de mandioca;
- Avaliar o efeito do inóculo obtido a partir da microbiota nativa do BM na produção de hidrogênio, a partir do bagaço de mandioca com solução de nutriente e água residuária de fecularia, em bateladas e no AnSBBR.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cenário da produção de fécula de mandioca e seus resíduos

A mandioca é uma planta perene que cresce indefinidamente, alternando períodos de crescimento vegetativo e armazenando carboidratos nas raízes até a sua fase de dormência, provocada por condições climáticas severas, tais como falta de água e baixa temperatura (SILVA 1982; AGUIAR et al., 2014).

É uma das principais fontes de alimento para o homem e os animais, a partir da produção de raízes tuberosas e com muitas aplicações industriais. Com base no seu teor de ácido cianídrico, é classificada em mandioca doce (consumida diretamente) e mandioca amarga para a fabricação de amido e outros fins industriais (CEREDA, 2001).

O Brasil é o segundo maior produtor, contribuindo com 10% da produção mundial (EMBRAPA, 2019). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, até o mês de junho de 2019, o Brasil plantou, em média, 1,5 milhões de toneladas e colheu, em média, 20,2 milhões de toneladas de mandioca; aumento de 4,2% em relação ao ano de 2018. No estado do Paraná, a estimativa da produção de mandioca, em relação ao ano de 2018, atingiu 18,7% do total nacional (3.778.172 toneladas colhidas), com um crescimento na produção de 8,6%, em relação ao mesmo período de 2018 (IBGE, 2022).

No Brasil, 70% a 80% da mandioca produzida é usada exclusivamente para a produção de farinha; 20% da mandioca são usados para o amido e são empregados em muitos setores, incluindo a indústria de alimentos, as indústrias farmacêuticas, fundição, têxtil, papel e adesivos.

A mandioca industrial (*Manihot esculenta Crantz*) é considerada a quarta maior cultura anual brasileira destinada ao processamento industrial, precedida da cana-de-açúcar, soja e milho (AGUIAR et al., 2014). No processo de extração da fécula de mandioca, independente do grau da tecnologia aplicada, as etapas podem ser compreendidas em: recepção e lavagem, descascamento das raízes, desintegração das células e liberação dos grânulos de amido, separação de fibras e do material solúvel e, por fim, a secagem (TONELLO, 2017). Durante a extração da fécula de mandioca são gerados resíduos sólidos (bagaço ou massa, farelo, resíduo fibroso) e resíduos líquidos.

Na Figura 1, são mostradas as etapas do processo, desde a recepção do produto, até a extração da fécula. Por fim, são geradas a água residuária e o bagaço, um dos resíduos sólidos.

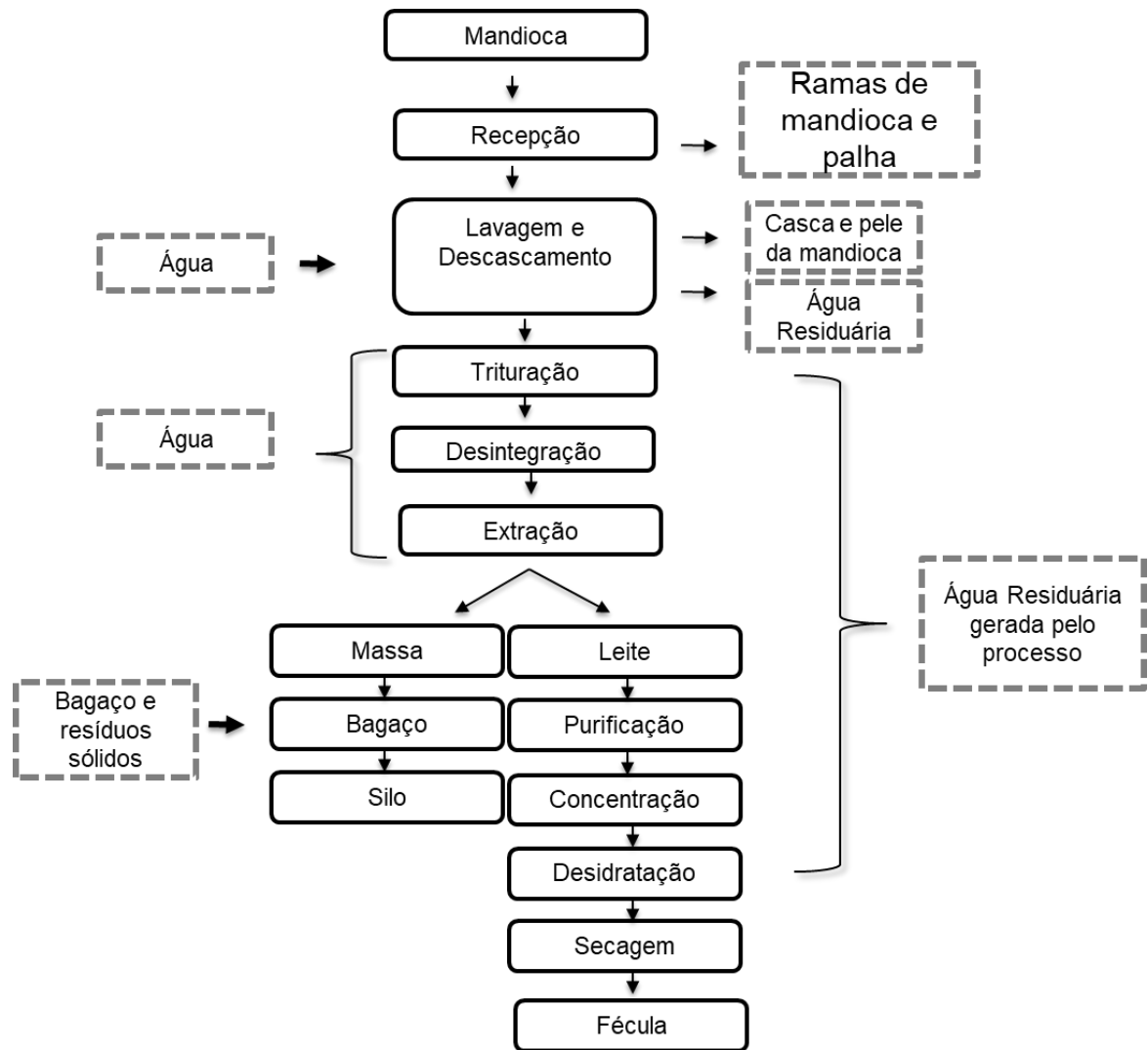


Figura 1 Fluxograma simplificado do processo de extração da fécula de mandioca.

Fonte: Lucas (2015).

3.1.1 Resíduos líquidos na produção de fécula de mandioca

No processo de obtenção de fécula de mandioca, são gerados de 5 a 7 m³ de água residuária por tonelada de raiz processada (O-THONG et al., 2011; LEAÑO; BABEL, 2012), que é rica em carboidrato, sólidos totais, nutrientes, como NPK (nitrogênio, fósforo e potássio), cálcio, magnésio, entre outros, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 Caracterização físico-química da água residuária do processo de extração da fécula de mandioca

Parâmetros	Cereda (2001)	Andreani et al. (2019)	Tonello et al. (2018)	Andreani et al. (2015)
pH	4,10	4,9	4,63	4,69
DQO total (g L ⁻¹)	6,36	11,82	9,62	11,22
Carboidratos (g L ⁻¹)	0,51	6,42	5,01	4,60
Sólidos Totais (g L ⁻¹)	6,58	8,84	ND	7,84
Sólidos totais voláteis (g L ⁻¹)	5,23	7,62	ND	6,53
Nitrogênio (g L ⁻¹)	0,49	ND	ND	0,28

Nota: ND: Não Detectado.

Considerando a elevada concentração de matéria orgânica, torna-se importante o tratamento da água residuária de fecularia. Uma estratégia para tratar os efluentes de forma mais sustentável é aproveitar o potencial energético desse resíduo, produzindo biogás em reatores anaeróbios (BOHN et al., 2013). Pois, os compostos orgânicos presentes nesses efluentes se degradam facilmente pela via anaeróbia (KUCZMAN et al., 2014; SÁNCHEZ et al., 2017).

A tecnologia para o tratamento dos resíduos líquidos em fecularias comumente ocorre em lagoas anaeróbias. Esses sistemas ainda necessitam de melhorias, pois liberam gases para atmosfera e com a geração de odores desagradáveis, que podem afetar a população local (ANDREANI, 2017; ZENATTI et al., 2015).

O tratamento e a produção de biogás a partir desse efluente foram estudados em reatores de leito empacotado com alimentação contínua (ARAÚJO et al., 2018); em reator tubular com alimentação contínua (KUCZMAN et al., 2014); UASB em separação de fase acidogênica e metanogênica (INTANOO et al., 2016); em reatores anaeróbios operados em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada para a produção de hidrogênio (ANDREANI et al., 2019; TONELLO et al. 2018) e reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada para a produção de metano a partir da água residuária de fecularia de mandioca acidificada (MARI et al., 2020). Porém, ainda são necessárias pesquisas para melhorar as condições operacionais de diferentes reatores para a produção energética a partir de água residuária (CREMONEZ et al., 2013), tanto para fase única (digestão anaeróbia completa) como para duas fases (separação das fases acidogênica e metanogênica).

3.1.2 Bagaço gerado pela produção de fécula de mandioca

No processo de extração da fécula de mandioca, são gerados resíduos sólidos em grandes quantidades, para cada 100 Kg de fécula produzidos, são gerados 11,1Kg de bagaço (CHAVADEJ et al., 2019). Por ser utilizada elevada quantidade de água no processo de

extração, o bagaço apresenta cerca de 75% de umidade, o que aumenta expressivamente o volume do resíduo fresco.

O bagaço de mandioca é composto pelo material fibroso da raiz em que, aproximadamente, 30% de amido que não é extraído durante o processamento para a obtenção da fécula e, em uma tonelada de mandioca, apresenta 80% de açúcares fermentáveis (OKUDOH et al., 2014). O bagaço parcialmente seco apresenta, em média, a composição físico-química que consta na Tabela 2 (CEREDA, 2001; JASKO et al., 2011; VERSINO; LOPÉZ; GARCÍA, 2015).

Tabela 2 Característica físico-química do bagaço de mandioca resultante do processo de obtenção de fécula de mandioca

Parâmetros	Jasko et al. (2011) %	Leite (2016) %	Fiorda et al. (2013) (g em 100g) ⁻¹
Umidade	11,5	7,5 ²	9,02
Lipídio	0,1	0,3	2,35
Proteína	1,9	0,6	1,97
Cinzas	1,9	0,1	1,81
Amido	42,0	-	-
Carboidrato	11,1 ¹	91,5	84,85
pH	4,0	-	-

Nota: ¹ Carboidratos calculados por diferença, após a determinação do teor de amido; ² Expresso em base úmida.

O bagaço da mandioca é considerado uma biomassa lignocelulósica, ou seja, um resíduo constituído basicamente por celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 3). A biomassa lignocelulósica é dividida em duas partes, uma com baixo peso molecular, composta por matéria inorgânica, transformada em extratos e cinza; a outra são macromoleculares como polissacarídeos (MOHAN; PITTMAN; STEELF, 2006).

Tabela 3 Composição do bagaço da mandioca

Parâmetros	Leite (2016)
Extrativos totais	0,7%
Hemicelulose e polissacarídeos	89,9%
Celulose	6,7%
Lignina Total	2,0%

O bagaço da mandioca apresenta porcentagem de lignina entre 1,62% e 2,0% (VERSINO; LÓPEZ; GARCIA, 2015; LEITE, 2016), que é considerado um teor baixo, em comparação com outros materiais sólidos lignocelulósicos, como grama (2,27%), milho (2,40%), palha (6,41%), bagaço de agave tequileira (3,9 %) e bagaço de cana de açúcar (5,62%) (TRIOLO et al. 2011; YANG et al., 2015; SILVA; GOMES; ALSINA, 2007). De acordo com Palmqvist e Hahn-Hägerdal (2000), a lignina desempenha o papel de cimento para a ligação cruzada entre celulose e hemicelulose. Essas propriedades da lignina fazem dela o

componente mais recalcitrante da parede celular vegetal e quanto maior o teor de lignina, maior a resistência da biomassa à degradação química e biológica (ZHENG et al., 2014).

Devido à grande capacidade de retenção de água do material fibroso, as etapas de secagem e de transporte do bagaço úmido envolvem custos elevados (JASKO et al., 2011). Muitas vezes o bagaço de mandioca é um resíduo que se apresenta como um problema para as feculárias, sendo que o único uso que tem sido dado a esse resíduo é a alimentação animal em época de inverno, porém em pequena escala, tendo em vista o volume gerado pela indústria.

Muitas possibilidades de uso do bagaço de mandioca já foram e continuam sendo pesquisadas, como: complemento proteico, na formulação de ração para tilápia (CARVALHO et al., 2012); matéria prima para a produção de etanol (MARTINEZ, 2016; BARROS et al., 2019); incremento para produção de *cookie* (CARVALHO et al., 2017); produção de espuma (ENGEL, 2018) e produção de bioenergia (CHAVADEJ et al., 2019). No entanto, são estudos realizados ainda em escala laboratorial.

3.2 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica é um recurso renovável que pode ser utilizado para a produção sustentável de bioenergia e biocombustíveis, como o biogás (cerca de 50 a 75% de CH₄ e 25 a 50% de CO₂). A conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis depende de processos químicos ou da capacidade de degradação da biomassa (ZHENG et al., 2014). A biomassa lignocelulósica é composta por três de tipos de polímeros: celulose, hemicelulose e lignina (FIGURA 2).

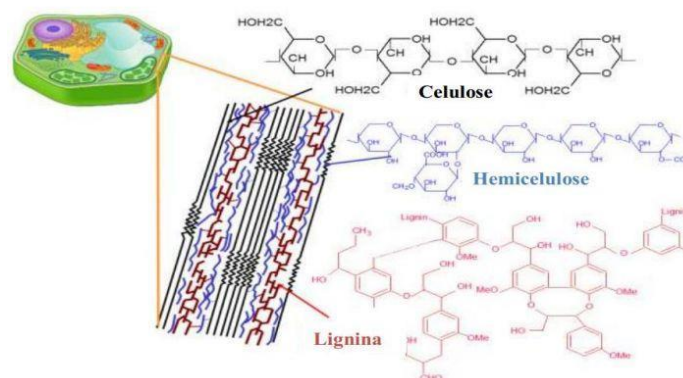


Figura 2 Estrutura lignocelulósica.

Fonte: Zampiere (2011).

A celulose é um polissacarídeo linear de celobiose, ligado por ligação glicosídica β -1,4 (FIGURA 3). Cada unidade de celobiose é formada por cadeias de glicose interligadas por hidrogênio e forças de van der Waals, que têm como resultado microfibras com alta resistência à tração (HA et al., 1998). A celulose consiste em duas regiões: região amorfa (baixa cristalinidade) e cristalina (alta cristalinidade) (ATALLA; VANDERHART, 1984). Essas regiões são caracterizadas pelo índice de cristalinidade, ou seja, quanto maior o índice de cristalinidade, mais difícil fica a degradação da celulose (ZHENG et al., 2014).

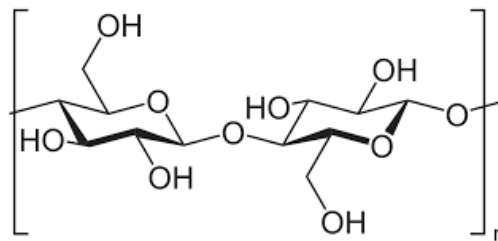


Figura 3 Celobiose.

Fonte: Adaptado de Alvarez-Chavez et al. (2019).

A hemicelulose é caracterizada como um polissacarídeo heterogêneo amorfo, aleatório e ramificado de várias pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, galactose, manose e/ ou ramnose) e ácidos (ácido glicurônico, ácido metil glicurônico e ácido galacturônico) (ZHENG et al., 2014). Ou seja, vários monossacarídeos como glicose, manose, galactose, xilose, entre outros podem compor a hemicelulose (FIGURA 4).

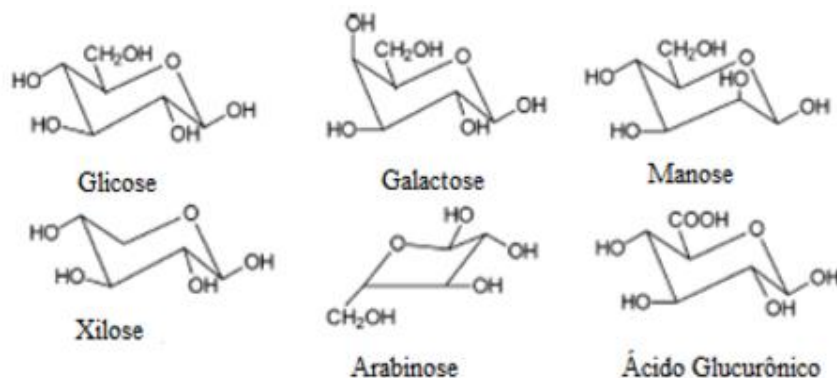


Figura 4 Principais componentes da hemicelulose.

Fonte: Mohan, Pittman e Steeli (2006).

A lignina é um polímero amorfo e complexo, aromático e hidrofóbico, constituído de fenilpropano, como o álcool coniferílico e o álcool sinapílico, com grupos funcionais hidroxil, metoxil e carbonil (STAMATELATOU et al., 2012). A lignina preenche os espaços da parede celular entre a celulose e a hemicelulose, desempenhando uma barreira que impede o acesso

de microrganismos à celulose durante a fermentação (SOARES, 2017). Essa característica pode impedir a recirculação entre a celulose e a hemicelulose, formando uma estrutura rígida da parede celular. A lignina é insolúvel em água e inerte, no entanto, em temperatura de 180 °C pode se dissolver em água. Dependendo da formação da lignina, pode se dissolver em condições de pH neutro, ácido ou alcalino. Essa propriedade é importante, pois quanto maior o teor de lignina, maior a resistência à degradação química ou biológica da biomassa (ZHENG et al., 2014).

Essa resistência à degradação química ou biológica da biomassa lignocelulósica depende da forte associação entre a celulose, hemicelulose e a lignina. No entanto, com a aplicação dos pré-tratamentos, é possível remover os componentes de carboidratos (hemicelulose e lignina), reduzindo a cristalinidade da celulose e aumentando a porosidade da biomassa lignocelulósica, permitindo que os açúcares mais facilmente fermentescíveis sejam liberados para a produção de biogás ou para outros usos (FIGURA 5) (BEHERA et al., 2014).

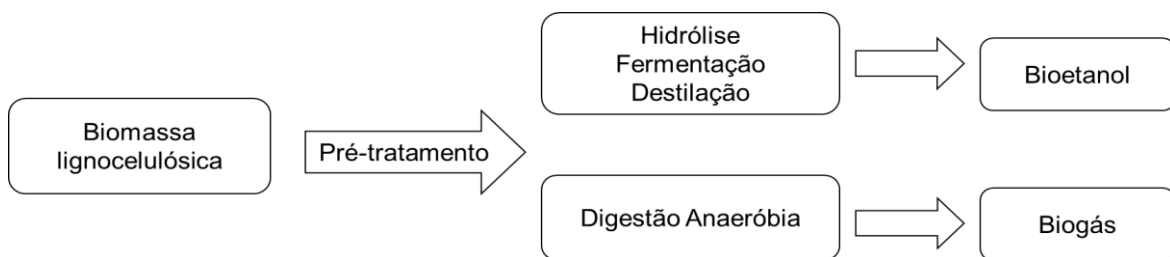


Figura 5 Aplicação da biomassa lignocelulósica pré-tratada.

Fonte: BEHERA et al. (2014).

3.3 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo de decomposição da matéria orgânica por meio de microrganismos, na ausência de oxigênio. Esse processo é natural e biológico e objetiva o tratamento e a remoção da carga orgânica, bem como a produção de biogás (PATINVOH et al., 2017). Na Figura 7, é apresentada uma ilustração do processo da digestão anaeróbia, que apresenta as seguintes fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese.

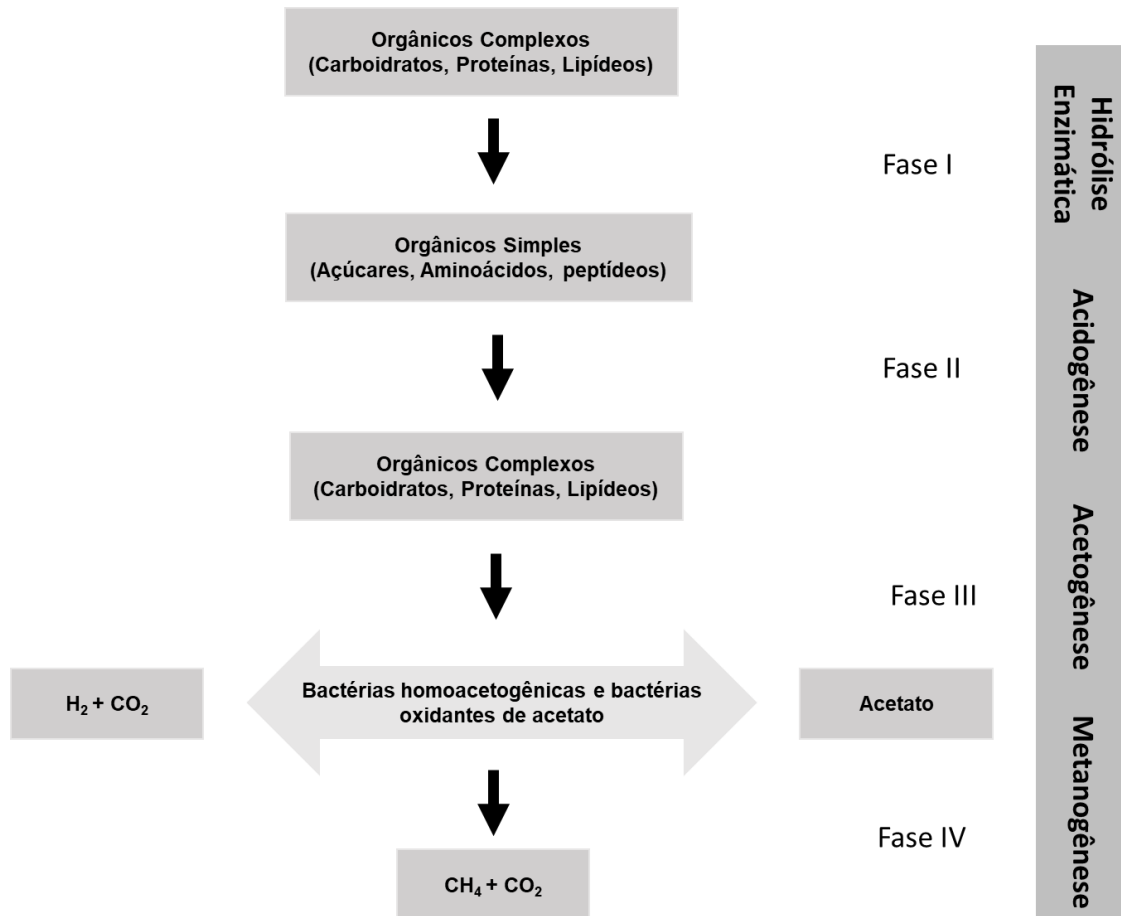


Figure 6 Fluxograma do processo de digestão anaeróbia.

Fonte: Mkoma e Mabiki (2011), e Chernicharo (2007).

Na Fase I, a matéria prima se desintegra pela ação das bactérias hidrolíticas, as quais produzem açúcares simples, aminoácidos e ácidos graxos. Caracterizada como uma fase limitadora para a matéria prima de difícil degradação (FERNANDES, 2008), ou seja, resíduos ricos em lignocelulósicos (PATINVOH et al., 2017).

A Fase II (acidogênese), objetiva a conversão das moléculas resultantes da Fase I, com o auxílio das bactérias (*Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Desulphovibrio*, *Lactobacillus* e *Actinomyces*) em diversos compostos, como: ácido acético, propiônico e butírico, etanol e hidrogênio, sendo de fácil digestão anaeróbia (VAVILIN et al., 1995; PATINVOH et al., 2017). Em seguida (Fase III), os ácidos orgânicos de cadeias mais longas são consumidos por bactérias acetogênicas (*Syntrophobacter* e *Syntrophomonas*) reduzindo de tamanho as cadeias e resultando na produção de hidrogênio e ácido acético. No entanto, a concentração de hidrogênio deve ser baixa, pois podem inibir as bactérias ou microrganismos (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011). Por fim, na Fase IV (metanogênese), um grupo de bactérias converte o hidrogênio, o dióxido de carbono e o ácido acético, respectivamente, em metano e pouco dióxido de carbono (PATINVOH et al., 2017).

O controle operacional do sistema de digestão anaeróbia pode ser aplicado em reatores, a fim de produzir hidrogênio, o que ocorre nas fases acidogênica e acetogênica (LEITE et al., 2008), a partir das bactérias produtoras e das consumidoras de hidrogênio. Devido ao desequilíbrio e a separação das fases, uma das vantagens é a produção de hidrogênio com tempo de detenção hidráulica menor e maior estabilidade no processo de digestão anaeróbia.

3.4 Produção de hidrogênio

3.4.1 Produção de hidrogênio com bagaço de mandioca

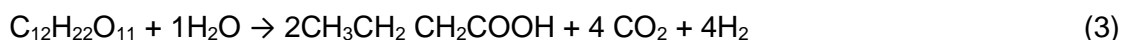
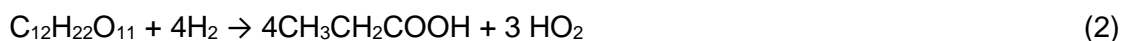
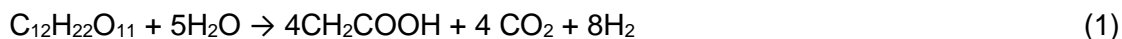
O Relatório Espacial dos Cenários de Emissões (RECE) aponta como as principais tecnologias e práticas em reduzir as energias disponíveis como o carvão mineral e a energia nuclear, as energias renováveis: hidrelétricas, solar, eólica, geotérmica e bioenergia (FERNANDES, 2008). Entre as tecnologias citadas, destaca-se a bioenergia, principalmente o hidrogênio, que diminui a emissão de gases potencializadores do efeito estufa (NIELSEN et al., 2001).

O hidrogênio é um combustível limpo e renovável, que geralmente está associado às moléculas de oxigênio, carbono e nitrogênio. Apresenta alta conversão de energia por unidade de massa (calor de combustão de 143 MJ Kg^{-1}). Outras vantagens são as possibilidades de transporte e armazenamento, a segurança e emissão reduzida de poluentes e a geração de água como seu subproduto (MAZLOOMI; GOMES et al., 2012; ACAR; DINCER, 2014).

A geração de hidrogênio, nas últimas décadas, tem sido promissora a partir dos processos biológicos dos resíduos, que estabilizam a matéria orgânica e reduzem o tempo de produção de bioenergia (PERERA et al., 2012; SEARMSIRIMONGKOL et al., 2011).

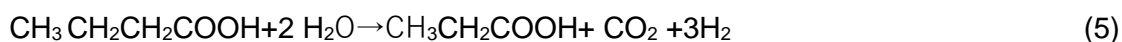
Os microrganismos importantes envolvidos durante a fase de hidrólise (*Clostridium spp.*, *Ruminococcus spp.* e *Bacteroides spp.*) despolimerizam a matéria orgânica complexa em monômeros simples, como açúcares e aminoácidos. Nesse processo de fermentação, os fatores como substrato, pH e temperatura geralmente determinam a taxa de hidrólise. As substâncias com maior taxa de degradação hidrolítica são os carboidratos poliméricos (amido), lipídios, proteínas e hemiceluloses. Já a celulose é hidrolisada lentamente e a lignina não é hidrolisada pela maioria dos microrganismos. Por isso, às vezes, torna-se necessário o uso de pré-tratamento da biomassa (OKUDOH et al., 2014).

No processo fermentativo (técnica simples) da etapa da digestão anaeróbia em resíduos orgânicos, os microrganismos acidogênicos decompõem a matéria orgânica (ex. carboidratos: glicose e sacarose) em ácido acético (Equação 1), ácido propiônico (Equação 2), ácido butírico (Equação 3) e etanol (Equação 4) (FERNANDES, 2008; ALBANEZ et al., 2016):



É na fase acidogênica que Rittmann e McCarty (2001) comentam que podem ser produzidos os ácidos: fórmico, valérico, isovalérico, capríco, láctico e pirúvico, entre outros, dependendo de características relacionadas ao substrato empregado.

Logo após, os ácidos de cadeias longas são consumidos por organismos acetogênicos, o que diminui o tamanho de suas cadeias e resulta na produção de hidrogênio e ácido acético. Com isso, o ácido butírico é transformado em ácido propiônico e em ácido acético (Equações 5 e 6) (GUO et al., 2010):



Essas reações dependem das comunidades de microrganismos e das rotas metabólicas empregadas. Por isso, há necessidade de se controlar fatores como temperatura, carga orgânica e pH, que influenciam no processo de digestão anaeróbia (LEITE et al., 2008).

Chavedej et al. (2019) avaliaram a produção de hidrogênio e de metano a partir do bagaço de mandioca e da água residuária de mandioca em reator UASB de duas fases, sob uma temperatura termofílica (55°C). O sistema foi operado com uma taxa de carga orgânica de água residuária de mandioca de 10,29kg m³d⁻¹, com diferentes concentrações de bagaço. A condição ótima foi quando aplicaram uma carga orgânica de 1200 mgL⁻¹, atingindo 43% de hidrogênio (H₂), 55% de dióxido de carbono (CO₂), 2,10% de CH₄, 28% de CO₂ e 1,5% de H₂.

3.4.2 Reatores anaeróbios para a produção de hidrogênio

A produção de hidrogênio por meio da separação de fase (acidogênese e acetogênese), em diversos reatores, vem sendo desenvolvida em várias pesquisas nas últimas décadas, como os reatores em bateladas sequenciais e sequenciais com biomassa

imobilizada e os reatores contínuos (REN et al., 2006; AROOJ et al., 2008; PIEMONTE et al., 2014; TONELLO et al., 2018; ANDREANI et al., 2019; MARI et al., 2020).

O reator anaeróbio operado em batelada sequencial (*Anaerobic Sequential Batch Reactor* – ASBR) se caracteriza pela operação sequencial em longos dias, sendo possível controlar o tempo de enchimento e duração do ciclo. Esse reator opera em quatro etapas: (i) alimentação (batelada convencional – ocorre antes de iniciar o processo de agitação; batelada alimentada – ocorre com maior tempo de duração, juntamente com agitação); (ii) reação (nessa fase ocorre o aumento do contato entre a biomassa e o substrato com o auxílio da agitação mecânica ou de recirculação das fases gasosas ou líquidas); (iii) sedimentação ou decantação (a biomassa se sedimenta para ocorrer o clareamento do efluente e a autoimobilização da biomassa, importante para aumentar o tempo de retenção celular do reator); (iv) descarga (permite a retirada do líquido, já tratado e clarificado) (ZAIAT et al., 2001; DAGUE et al., 1992).

Sreethawong et al. (2010) avaliaram a produção de hidrogênio a partir da água residuária de mandioca utilizando o reator anaeróbio de batelada sequencial (ASBR) e observaram um excesso de nitrogênio produzido com o auxílio de ácidos orgânicos e etanol, levando à redução da produção de hidrogênio.

O reator anaeróbio em batelada sequencial com biomassa imobilizada (*Anaerobic Sequential Batch Biofilm Reactor* – AnSBBR) surgiu a partir das configurações do ASBR, sendo a principal diferença a existência de um meio suporte inerte proporcionando a imobilização da biomassa pela formação de biofilme (RATUSZNEI et al., 2000). Segundo Manssour (2012), o reator AnSBBR apresenta uma configuração de operação simples e estável, podendo controlar a qualidade do efluente.

Conforme Andreani et al. (2019), o reator anaeróbio de batelada sequencial de biomassa imobilizada (AnSBBR) é uma configuração alternativa para a produção de biocombustíveis; a vantagem desse reator AnSBBR é que ele proporciona as condições de operação de acordo com a substrato a ser tratado. De acordo com os autores, a alimentação ou o tempo de enchimento pode ser uma estratégia de minimizar a presença de microrganismos que inibem ou reduzem a produção de hidrogênio.

Tonello et al. (2018) estudaram o reator anaeróbio de batelada sequencial de biomassa imobilizada (AnSBBR), com estratégia de alimentação em batelada alimentada (tempo de alimentação com maior duração com agitação mecânica), que favorece na produção de hidrogênio, devido à aplicação lenta da carga orgânica aplicada (50% do tempo total de ciclo).

Portanto, o reator anaeróbio de biofilme em batelada sequencial (AnSBBR), o reator de tubos múltiplos contínuos (CMTR), o reator anaeróbio em batelada sequencial (ASBR), o reator anaeróbio de leito fixo de fluxo ascendente (UAPBR), o reator anaeróbio de leito

fluidizado (AFBR), o reator anaeróbio em batelada (ABR) e o reator anaeróbio de manta de lodo de fluxo ascendente(UASB) favorecem a imobilização de microrganismos anaeróbios na produção de hidrogênio. Tecnologias que permitem a formação de meio suporte inerte proporcionando a imobilização da biomassa e formando o biofilme (ANDREANI et al., 2019).

No entanto, não foram encontrados estudos sobre o uso de reatores AnSBBR para a produção de hidrogênio com o bagaço da mandioca como suporte e como biomassa imobilizada alimentado com água residuária de fecularia de mandioca.

3.5 Fatores que influenciam na operação de reatores anaeróbios em batelada sequencial

3.5.1 pH

O pH ambiental é um fator que desempenha um papel importante na produção de hidrogênio. Um pH neutro favorece o crescimento das bactérias metanogênicas e prejudica a obtenção da separação da fase para a produção de hidrogênio. Porém, pH menor, como 4,5, leva a alterações nas vias metabólicas a fim de produzir solventes como acetona e álcoois (MIZUNO et al., 2000; KIM et al., 2004; MOTA et al., 2018) e possível inibição da atividade hidrogênese (MICOLUCCI et al., 2014; GHIMIRE et al., 2015; RUGGERI; TOMMASI; SANFILIPPO, 2015; ROY; DAS, 2016).

Em geral, o pH desejável para reatores que produzem hidrogênio por digestão anaeróbia varia de 4,5 a 6,5. Contudo, mesmo com essas faixas de pH, as bactérias consumidoras (como metanogênicos homoacetogênicos) e oxidantes de hidrogênio podem ser encontradas no meio (KHANAL et al., 2004; LEE; VERMAAS; RITTMANN, 2010).

O efeito do pH inicial se desenvolve melhor em substratos à base de amido do que nas hexoses, devido ao processo inicial da digestão anaeróbia (hidrólise) para estar disponível para a outra fase. Em pH mais elevado, entre 6,0 e 6,5, são produzidos rapidamente o hidrogênio e os ácidos, porém, pode diminuir a capacidade de tamponamento e inibir a produção de hidrogênio ou alterar a via metabólica. Com isso, é recomendado um pH inicial entre 5,5 e 5,7 para se obter máxima produção de hidrogênio (KHANAL et al., 2004).

Chavadej et al. (2019) trabalharam com faixa pH inicial de 5,5, a fim de produzir hidrogênio com adição de resíduo de mandioca em um reator de manta de lodo anaeróbio em modo contínuo e o sistema apresentou o melhor desempenho de produção de hidrogênio com máxima taxa de produção específica de 130 mLH₂ g ML SSV⁻¹.

3.5.2 Imobilização da biomassa

A tecnologia de biomassa imobilizada é uma técnica em que os microrganismos são imobilizados em meio suporte para produzir hidrogênio, sendo um método promissor para a criação de altas densidades celulares e alcançar uma rápida conversão de carboidratos em ácidos e gases orgânicos. Além disso, essa técnica é mais eficiente em relação ao sistema de biomassa suspensa, pois a imobilização da biomassa em reatores pode elevar sua concentração e favorecer o processo da digestão anaeróbia (LEITE et al., 2008; SATAR et al., 2017).

O meio suporte pode favorecer a aderência de microrganismos produtores de hidrogênio sem que haja a aderência de bactérias consumidoras de hidrogênio (WU et al., 2002; CHANG; LEE; LIN, 2002). Entre os meios suportes testados destacam-se: esponja vegetal, argila expandida (CHANG; LEE; LIN, 2002), ágar, vidro, polímeros sintéticos (SATAR et al., 2017) e polietileno de baixa intensidade (resíduos plásticos) (TONELLO et al., 2018; ANDREANI, et al., 2019).

Algumas pesquisas relataram a produção de hidrogênio usando biomassa imobilizada. Contudo, os autores Chavadej et al. (2019) avaliaram a produção de hidrogênio no reator de manta de lodo anaeróbia (UASB) sem imobilização da biomassa, a partir do resíduo líquido e sólido da mandioca. Diante disso, há poucos estudos sobre a imobilização da biomassa utilizando o bagaço (resíduos sólidos da fecularia de mandioca) em reatores anaeróbios de batelada sequencial (AnSBBR), a fim de produzir hidrogênio.

3.5.3 Inóculo

O inóculo é de suma importância para as vias metabólicas presentes no processo de digestão anaeróbia. A sua origem é um fator que determina a composição da comunidade microbiana (REN et al., 2008; ANDREANI et al., 2019). Nesse sentido, existem várias comunidades de microrganismos para a produção de hidrogênio, alguns desses podem ser mesofílicos ou termofílicos, aeróbios, facultativos ou anaeróbios, desde que possuam enzimas hidrogenase ou nitrogenase, como: *Clostridia*, *Rumen bactéria* e *Pyrococcus furiosus*, entre outros (KRICH et al., 2005).

O pré-tratamento do inóculo é um método que pode selecionar as bactérias em uma comunidade microbiana, podendo formar esporos de resistências quando submetidas a condições ambientais desfavoráveis, como altas temperaturas, acidez ou alcalinidade

extrema (ZHU; BÉLAND, 2006). No entanto, pode afetar o desempenho do processo de digestão anaeróbia se não for realizado o pré-tratamento correto. Nesse sentido, dentre as técnicas aplicadas como pré-tratamento para enriquecer o inóculo, é possível citar: tratamento térmico (BAKONYI et al., 2014, TONELLO et al., 2018), ácido e alcalino (KAN, 2013), inibidores químicos (WANG; WAN, 2008) e fermentação natural (LEITE et al., 2008; ANDREANI et al. 2019).

Alguns estudos utilizam o pré-tratamento térmico (75 a 100°C) como um método fácil e prático para selecionar bactérias anaeróbias, principalmente do gênero *Clostridium*, para a produção de hidrogênio (WANG; WAN, 2008, BAKONYI et al., 2014, TONELLO et al., 2018). Dessa forma, quando esse pré-tratamento for submetido a tempos mais longos (15 a 180 minutos) as bactérias metanogênicas não sobrevivem, favorecendo à comunidade microbiana das bactérias acidogênicas (ASSAWAMONGKHOLSIRI; REUNGSANG, A.; PATTRA, 2013; KAN, 2013).

Em reatores UASB (lodo de manta anaeróbica), alimentados com água residual de fecularia de mandioca, pesquisadores utilizaram como inóculo o lodo oriundo de outro reator anaeróbio, submetido ao aquecimento de 95 °C durante 15 minutos, obtendo rendimento de 15 mL H₂ g⁻¹ de DQO removida (CHAVADEJ et al. 2019).

Andreani et al. (2019) e Tonello et al. (2018) trabalharam com o inóculo proveniente de lodo anaeróbico termicamente tratado, ou seja, submetido à temperatura de 95°C em 15 minutos. Os autores observaram o rendimento de 0,73 mmol H₂ g⁻¹ de carboidrato e de 3,64 mol H₂ kg⁻¹ de carboidrato removida, respectivamente

O BM é um material lignocelulósico e já vem processado pela indústria de fécula de mandioca, ou seja, já sendo pré-tratado inicialmente, por outro lado o BM ainda apresenta uma porcentagem de carboidratos em sua caracterização e pode favorecer os microrganismos produtores de hidrogênio. Além disso, o BM ainda apresenta uma microbiota nativa que pode ser tratada juntamente com outros resíduos a fim de produzir um biogás, sendo ele hidrogênio ou metano. São os consórcios microbianos, constituídos por fungos e bactérias que realizam tarefas simultâneas para solubilizar a lignocelulose (DUDEK et al., 2021). Os consórcios microbianos operam em tempos de pré-tratamento relativamente curtos, são mais adaptáveis a novos ambientes e substratos e demonstram aprimoramentos em comparação com culturas puras (ZABED et al., 2019). Os consórcios microbianos usados com mais frequência para solubilizar a lignocelulose incluem fluidos ruminais, dejetos de gado, esterco e lodo anaeróbio, todos utilizados como inoculantes externos (AMIN et al., 2017; ZABED et al., 2019), ou seja, antes do pré-tratamento, esses microrganismos não entram em contato com o substrato.

Ecologistas microbianos determinaram que substratos específicos estimulam consórcios microbianos especializados que possuem a maquinaria enzimática necessária

para sua degradação (REICHARDT et al., 2018). Esse fenômeno sugere que nem todos os consórcios microbianos são adequados para solubilizar todos os tipos de substratos, pelo menos sem processo de aclimação. Curiosamente, os tecidos vegetais são valiosos reservatórios de microbiota que evoluíram juntos a longo prazo, nos ambientes onde as plantas foram cultivadas (COMPANT et al., 2019). Como tal, esses tecidos representam uma fonte de degradadores lignocelulósicos especializados. Os consórcios microbianos nativos reduziram o tempo necessário para solubilizar as fibras lignocelulósicas para menos de 4 dias com desempenho de fermentação superior em relação a outros consórcios microbianos (VALDEZ-VAZQUEZ et al., 2017; VALDEZ-VAZQUEZ et al., 2020).

Tena, Perez e Solera (2019) avaliaram a influência do inóculo no teste do potencial bioquímico de hidrogênio (BHP) e a produção de hidrogênio. Foi codigerido lodo e água residuária do processamento de vinho, variando três tipos de inóculo: inóculo acidogênico (inóculo coletado de um reator anaeróbio semicontínuo com resíduo da vinícola), inóculo lodo e inóculo lodo térmico (coletados de um reator anaeróbio semicontínuo para tratamento de lodo ativado de resíduo). O rendimento máximo de hidrogênio foi obtido com o inóculo lodo: $177 \text{ mLH}_2 \text{ gSVT}^{-1}$, sendo superior às demais bateladas. Os autores revelaram, a partir dos resultados analisados, que a escolha do inóculo teve impacto significativo no rendimento de hidrogênio e consideraram que o inóculo de lodo é o mais benéfico para os testes de BHP, conseqüentemente, analisaram a microbiota e os resultados indicaram aumento de *Eubacteria:Archaea* de 59,2:40,8 para 92,0:9,0, durante os testes de BHP com o inóculo de lodo, enquanto nos demais casos se manteve estável em torno de 50:50.

Dudek et al. (2021) estudaram o início de um processo de fermentação (conhecido como acidogênese) para solubilizar o bagaço de Agave tequileira por sua microbiota nativa com e sem suplementação e avaliaram se houve mudança da comunidade microbiota e o desempenho do reator ao longo de tempo. O experimento foi conduzido para avaliar os efeitos da solubilização do bagaço de Agave, que consistiu apenas do bagaço de Agave e água destilada. Os autores atingiram faixas de pH de 4,02, entrando na fase de acetogênese, em que o acetato é produzido pela redução de CO_2 ou ácidos orgânicos (ANGELIDAKI et al., 2011), apresentam em sua diversidade microbiana uma quantidade de microrganismos *Bifidobacter*, *Lactobacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Acetobacter* e *Inertae Sedis* da família *Ethanoligenenaceae* (DUDEK et al., 2021). Segundo Liu et al. (2019) e Chen et al. (2021), os microrganismos do gênero *Clostridium* são conhecidos por serem fermentativos e produtores de hidrogênio. No entanto, não foram localizadas pesquisas que tenham testado a microbiota para produção de hidrogênio com microbiota nativa a partir de resíduos orgânicos.

3.5.4 Carga orgânica

O bom desempenho de reatores a partir da digestão anaeróbia é a obtenção de águas residuárias com elevadas cargas orgânicas, pois melhoram a degradação de sólidos voláteis e o rendimento do biogás (LOVATO et al., 2017). Dessa forma, a concentração de matéria orgânica do substrato (baseado nos teores de DQO, sólidos totais ou voláteis e carboidratos), determina a quantidade de matéria orgânica aplicada no reator anaeróbio e, conseqüentemente, o tempo de operação e o número de bateladas ao longo do dia (INOUE, 2013; MARI, 2018).

Sreethawong et al. (2010) avaliaram a produção de hidrogênio em um reator ASBR. Os autores aplicaram cargas orgânicas de 10, 15, 20 e 25 g.L⁻¹.d⁻¹ e de 15, 22,5, 30 e 37,5 g.L⁻¹.d⁻¹, para os ensaios com 4 e 6 ciclos diários de operação, respectivamente. Observaram que o ensaio de 6 ciclos diários apresentou a máxima taxa de produção (0,63L.h⁻¹), taxa de produção específica (388mLH₂.g⁻¹SSV) e rendimento (186mL H₂.g⁻¹DQO removida) para a carga orgânica de 30g.L⁻¹.d⁻¹.

Andreani et al. (2019) observaram que a máxima produtividade molar (36 molH₂.m⁻³.d⁻¹) e a produção volumétrica (2,2L H₂.L⁻¹.d⁻¹), para a carga orgânica volumétrica aplicada de 14 g.L⁻¹.d⁻¹ e para o rendimento molar (4,9 molH₂.kg⁻¹ Carb) foi para a carga volumétrica aplicada de 12 g.L⁻¹.d⁻¹, em reator AnsBBR, batelada alimentada a partir de água residuária de fecularia de mandioca, para a produção de hidrogênio.

Thanwised, Wirojanagud e Reungsang (2012) observaram que a carga orgânica aplicada de 65,92 g DQO.L⁻¹.d⁻¹, em reator UASB, operado em escala plena com inóculo, para o tratamento de água residuária de indústria de fécula de mandioca, apresentou o máximo rendimento de 13,4 mLH₂.g⁻¹DQO.

3.5.5 Modo de alimentação, tempo de detenção hidráulica e tempo de retenção

A alimentação dos reatores para a digestão anaeróbia para a produção hidrogênio pode ser determinada pelo volume pré-determinado de resíduo (líquido ou sólido) e o seu tempo de enchimento para a operação. A alimentação convencional ocorre antes de iniciar o processo de agitação e a alimentação em batelada alimentada ocorre com maior duração, junto com a agitação (NOVAES, 2010).

Segundo Ri et al. (2019), o tempo de detenção de hidráulica (TDH) é um dos principais fatores na produção de hidrogênio por digestão anaeróbia, pois com o TDH curto (1 h, 2 h, 3 h e 4 h) (ROSA et al., 2014; ANDREANI et al., 2019) pode inibir o crescimento das bactérias que consomem o hidrogênio, devido à diferença no tempo metabólico das bactérias que

produzem e das bactérias consumidoras de hidrogênio. Além disso, esse curto TDH pode melhorar a capacidade de tratamento de águas residuais e produzir hidrogênio em unidade de tempo.

No entanto, o TDH mais longo pode influenciar na produção de hidrogênio, pois as bactérias acidogênicas produzem ácidos voláteis com maior velocidade em relação às bactérias metanogênicas (BAGLEY; BRODKORB, 1999; RODRIGUES et al., 2006).

O tempo de retenção corresponde ao tempo médio que o lodo/biomassa promove o tratamento, geralmente dado em dias. A estratégia de imobilizar a biomassa é uma vantagem para o crescimento microbiano, que pode ter alta capacidade de retenção de biomassa sob altas taxas de carga orgânica (LIN et al., 2009; RI et al., 2019).

Ri et al. (2019) investigaram o efeito de diferentes tempos de retenção hidráulica na produção de hidrogênio do processo de fermentação do tipo etanol em dois tipos de reatores CSTR (reator de tanque agitado contínuo horizontal e reator de tanque agitado vertical), a partir do melaço, com cargas de 12 kg DQO m⁻³ por 8 horas e 6 kg DQO m⁻³, no primeiro e no segundo, respectivamente. Concluíram que o reator de tanque agitado vertical atingiu fermentação do tipo etanol em 21 dias e o reator contínuo horizontal com 24 dias e uma taxa máxima de produção de hidrogênio de 3,7 LH₂ L⁻¹ d⁻¹ e 5,1 LH₂ L⁻¹ d⁻¹, respectivamente. Portanto, os autores constataram que o processo de fermentação no reator contínuo horizontal é mais estável do que o contínuo vertical, devido ao aprimoramento de retenção da biomassa.

O modo que se introduz o substrato lignocelulósico é um fator que pode influenciar a produção da bioenergia gerada no processo, sendo ela gradual ou direta (CHAVEDEJ et al., 2019; DENG et al., 2019; VALDEZ-VAZQUEZ et al., 2020). Chavedej et al. (2019) trabalharam com resíduo sólido de mandioca em um reator UASB a fim de produzir hidrogênio. O modo de introdução do resíduo foi gradual alimentado no fundo do reator sob uma taxa de carga de 10,29 kg DQO m⁻³ d⁻¹. Os autores obtiveram máxima produtividade volumétrica de hidrogênio de 633 mL H₂ L⁻¹ d⁻¹, quando adicionaram 1200 mg L⁻¹ de bagaço de mandioca gradualmente.

Deng et al. (2019) avaliaram a produção de hidrogênio com resíduos da silagem de grama introduzido uma única vez em ensaios de potencial bioquímico de hidrogênio (2 g de substrato) e atingiram rendimentos acumulados de hidrogênio de 17,47 mL g⁻¹ de substrato *in natura*. A estratégia do modo de introduzir o substrato lignocelulósico em sua maioria é relatada na literatura de forma direta e em escalas laboratoriais a fim de produzir hidrogênio (LIN et al., 2015; LIN et al., 2014; ZHU et al., 2014; LIU et al., 2019). Não foram encontradas na literatura estudos que abordassem a influência do modo de introduzir o substrato lignocelulósico, principalmente com resíduos gerados no processamento de mandioca.

3.6 Considerações finais da revisão de literatura

A presente pesquisa visa contribuir, a partir das fundamentação da produção de hidrogênio aqui descritas, reforçada em pontos principais que são: i) a obtenção de produção de hidrogênio, por meio de adição de um material lignocelulósico; ii) codigestão do bagaço de mandioca com afluentes sintéticos e reais a fim de produzir hidrogênio em um reator anaeróbio (AnSSBBR); iii) BM como meio de imobilização celular para a produção de hidrogênio; iv) produzir hidrogênio a partir da microbiota nativa do BM *in natura*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos laboratórios de reatores biológicos, saneamento ambiental e análises agroambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel.

4.1 Substratos

A solução de nutrientes (SN) utilizada neste experimento foi proposta por Lima e Zaiat (2012) e adaptada por Penteado et al. (2013) (Tabela 4). A fonte de carbono da solução de nutrientes foi à base de sacarose.

Tabela 4 Composição da solução de nutrientes

Composição	Concentração (mg L ⁻¹)
Ureia (CH ₄ N ₂ O)	11,51
Óxido de selênio (SeO ₂)	0,036
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	5,36
Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	1,3
Fosfato de sódio dibásico (Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O)	2,76
Cloreto de cálcio (CaCl ₂ .6H ₂ O)	2,06
Sulfato de níquel (NiSO ₄ .6H ₂ O)	0,5
Sulfato ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	2,5
Cloreto férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	0,25
Cloreto de Cobalto (CoCl ₂ .2H ₂ O)	0,04

Fonte: Lima e Zaiat (2012), adaptado por Penteado et al. (2013).

O bagaço e a água residuária do processo de extração da fécula de mandioca foram coletados em uma indústria localizada na região oeste do Paraná. Na Figura 8, demonstra-se a coleta do bagaço de mandioca na empresa e da água residuária.



Figura 7 Imagens de coleta do bagaço e da água residuária de mandioca.

A ARF foi coletada na calha na qual a água do processo de concentração da fécula é reutilizada no processo de lavagem das raízes. Em seguida, o resíduo foi encaminhado ao laboratório e homogeneizado em um tanque de 300 L. Após a decantação dos sólidos grosseiros (solo, partes da raiz e cascas de mandioca), a ARF foi envasada em garrafas de politereftalato de etileno (PET) (240 L) e armazenados em congelador a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até seu uso. A ARF coletada foi caracterizada de acordo com os parâmetros: pH; série de sólidos; DQO; açúcares totais e metabólitos totais (total de ácidos orgânicos presente na ARF), conforme a Tabela 5.

Tabela 5 Composição da água residuária

Parâmetros	ARF
pH	4,3
DQO (g L^{-1})	12,1
Carboidratos (g L^{-1})	9,0
NTK (mg L^{-1})	412,3
Sólidos Totais (g L^{-1})	10,70
Sólidos Totais Voláteis (g L^{-1})	9,53
Ácido acético (mg L^{-1})	22,62
Ácido láctico (mg L^{-1})	224,60
Ácido Butírico (mg L^{-1})	236,05
**Metabólitos totais (mg L^{-1})	483,28

Nota: *Baseado em valores médios; **Total de ácidos orgânicos presentes na ARF; DQO: Demanda Química de Oxigênio.

O bagaço de mandioca (BM) foi coletado antes de ir para o silo de armazenamento da indústria e caracterizado de acordo com os parâmetros da Tabela 6. Foram coletados dois lotes. No primeiro lote de alguns ensaios, o BM foi seco em estufa à temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 dias. Posteriormente, foi quebrado (Figura 8) e em seguida triturado em moinho de 60 Mesh, caracterizado como Bagaço de Mandioca Triturado – Bmtrit.



Figura 8 Imagens do bagaço de mandioca. 1) *In natura*; 2) seco e quebrado.

Na Tabela 6 são apresentados os parâmetros umidade, cinzas, amido, sólidos totais e voláteis, teor de carbono orgânico total (TOC), bem como de hemicelulose, celulose e lignina, do bagaço *in natura* dos dois lotes e do bagaço seco a 60°C do primeiro lote. Após a caracterização dos dois lotes, as amostras foram armazenadas no congelador a -18 °C.

Tabela 6 Composição dos bagaços de mandioca dos lotes 1 e 2, nas condições *in natura* e seco e seco, quebrado e triturado (BMtrit)

Parâmetros	Lotes do Bagaço de Mandioca		
	1		2
	<i>in natura</i>	BMtrit	<i>in natura</i>
Umidade (%)	88,06	7,5	90,71
Cinzas (%)	0,43	2,16	0,40
Amido (%)	91	75	81
Hemicelulose (%)	27,47	15,75	29,42
Celulose (%)	11,61	7,98	12,00
Lignina (%)	8,62	4,69	8,24
Sólidos Totais (g g ⁻¹)	119,40	952,1	92,88
Sólidos Totais Voláteis (g g ⁻¹)	117,0	903,47	89,56

4.2 Condução do experimento

O experimento para a produção de hidrogênio foi dividido em três fases, conforme apresentado no fluxograma da Figura 9.

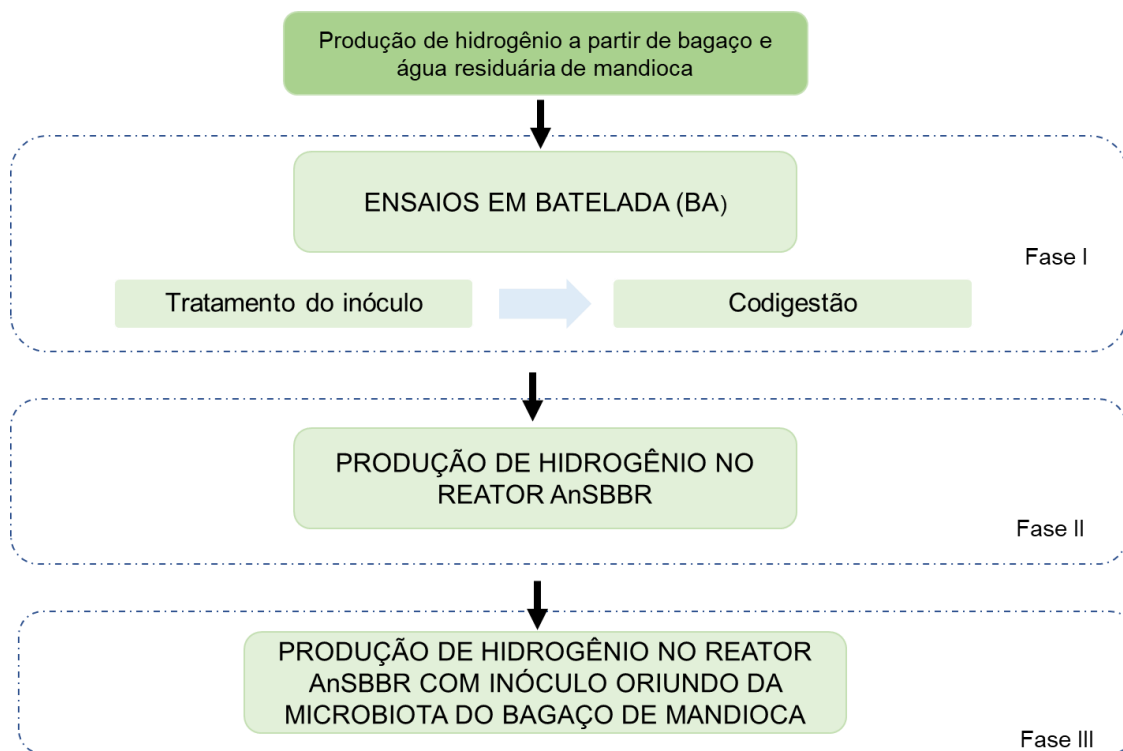


Figura 9 Fluxograma resumido da condução do experimento.

4.2.1 Fase I: ensaios em batelada (BA)

A fase I foi dividida em duas etapas: I) pré-tratamento do inóculo a fim de produzir hidrogênio a partir do bagaço de mandioca seco e quebrado (BMS), com objetivo de avaliar o potencial do inóculo; II) ensaios em batelada (BA), tendo como resposta a produção acumulada de hidrogênio.

4.2.1.1 Tratamento do inóculo - Etapa I

O inóculo utilizado no experimento foi proveniente de um reator anaeróbio da estação de tratamento de esgoto de Cascavel - PR. Para a inoculação dos ensaios, o lodo anaeróbio foi submetido a dois pré-tratamentos: químico (ácido) e térmico.

No pré-tratamento ácido, o inóculo foi acidificado até pH 3,0, com solução de HCl (1 mol L⁻¹). Após o tratamento, o inóculo foi mantido em temperatura ambiente por 24 h. Posteriormente, o pH foi ajustado para 6,0, com solução de NaOH (1 mol L⁻¹), conforme metodologia proposta por Mockaitis et al. (2020).

O pré-tratamento do inóculo de culturas mistas é uma técnica promissora, que permite selecionar e isolar microrganismos típicos da acidogênese (KUMAR et al., 2016). No tratamento térmico, o inóculo foi aquecido à temperatura de 95 °C e mantido por 15 min nessa

condição (SREETHAWONG et al., 2010). Nesse sentido, os ensaios iniciais de produção de hidrogênio foram realizados em frascos Durham de 500 mL, incubados em temperatura de 32 °C com pH inicial de 6, com inóculos pré-tratados térmica e quimicamente, conforme apresentado na Tabela 7, com duração de 15 dias. As leituras de gás nos ensaios nos primeiros dias foram realizadas a cada 24 h; após o terceiro dia, a leitura do gás foi efetuada a cada 48 h e quantificada em cromatografia gasosa.

Tabela 7 Ensaios para a produção de hidrogênio em batelada a partir de bagaço de mandioca e solução de nutrientes com inóculos pré-tratados termicamente e quimicamente

Ensaio	Pré-tratamento do Inóculo	Afluente	Fonte de carbono
BA1	Químico	SN	5 g de sacarose
BA2	Térmico	SN	5g de sacarose
BA3	Químico	SN	1,802g (1,63 gSTV) BMtrit
BA4	Térmico	SN	1,802g (1,63 gSTV) BMtrit
BA5	Químico	SN	SC
BA6	Térmico	SN	SC

Nota: SN: solução de nutrientes. SC: sem fonte de carbono (sem bagaço de mandioca e sem carboidrato). BMtrit: bagaço de mandioca triturado.

As bateladas BA1 e BA2 foram realizadas para demonstrar a atividade do lodo após os pré-tratamentos do inóculo, utilizando para tal a sacarose como fonte de carbono, que é tradicionalmente utilizada nos estudos de produção biológica de H₂. Nesse sentido, foram consideradas como controle. As bateladas BA5 e BA6 se referem ao branco, pois não foram adicionadas nenhuma fonte de carbono.

4.2.1.2 Ensaios para verificar a produção de H₂ em função do tipo de preparo – Etapa II

Etapa II: Nessa etapa foi avaliado o efeito do preparo do bagaço na produção de H₂. Para tanto, foi utilizado o bagaço *in natura* e o bagaço de mandioca seco, conforme ensaios descritos na Tabela 8. Nesses ensaios, foi utilizado o inóculo tratado termicamente, com base nos resultados obtidos na Etapa I. Os ensaios foram conduzidos por 15 dias, sendo realizada a quantificação e a caracterização do biogás, conforme a Etapa I.

Tabela 8 Resumo dos ensaios de produção de H₂ em batelada a partir de bagaço de mandioca *in natura* ou seco e água residuária de fecularia

Ensaio	Inóculo	Bagaço de Mandioca	Afluente
BA7	Térmico	18,18g (1,63 gSTV) BM <i>in natura</i>	SN
BA8	Térmico.	1,802g (1,63 g STV) BMtrit	ARF
BA9	Térmico	18,18g (1,63 gSTV) BM <i>in natura</i>	ARF
BA10	Térmico	SBM	ARF

Nota: SN: solução de nutrientes; ARF: água residuária de fecularia; SBM: sem bagaço de mandioca. BMtrit: bagaço de mandioca triturado.

Os ensaios foram realizados com intuito de produzir hidrogênio, sendo a batelada BA7 (BM *in natura* com SN) com o objetivo de verificar o potencial do BM sem nenhuma outra fonte de carbono; as bateladas BA8 e BA9 com BM e ARF foram realizadas a fim de avaliar o potencial da codigestão entre os dois resíduos da indústria. Por fim, o ensaio BA10 foi realizado para verificar o potencial de H₂ somente com a ARF, para avaliar o BM e sua relação com o aumento de produção de H₂, quando codigerido com a ARF.

4.2.2 Produção de hidrogênio nos ensaios em batelada (BA)

Os ensaios em BA foram realizados em frascos de Durham 500 mL, que consistem em ensaios de potenciais bioquímicos de hidrogênio (BHP). Foram utilizadas frações de bagaço de mandioca (equivalente a 1,63 g STV), 180 mL de solução de nutriente e/ou água residuária de fecularia, inóculo (20 mL), resultando no volume total de 200 mL. Em todos os ensaios o pH foi ajustado para $7,0 \pm 0,05$ com soluções de NaOH 1M e HCl 1M (DENG et al., 2019). Os frascos foram fluxionados com nitrogênio (N₂) para estabelecer condições anaeróbias, lacrados com septos de borracha, incubados em temperatura de 32°C e operados até o término da produção de hidrogênio. A agitação foi realizada manualmente, uma vez ao dia durante 5 min, para melhorar o contato entre o substrato e os microrganismos, durante a etapa de reação (MICHELAN et al., 2009). O volume de gás foi medido por meio de seringa acoplada no septo nos horários de leitura (nos três primeiros dias a cada 24 h e depois a 48 h, sempre nos mesmos horários), com um medidor de pressão, com objetivo de zerar a pressão no meio e, conseqüentemente, o gás era analisado em cromatografia gasosa (Figura 10).



Figura 10 Leitura de gás e de pressão nos ensaios em batelada.

O volume final do gás foi obtido após a correção para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP). Todos os ensaios foram realizados em duplicatas. As variáveis respostas incluem: produção acumulada de biogás (PAB, mL), produção acumulada de hidrogênio (PAH, mL) e rendimento por carga aplicada (RMCA, mL gSTV⁻¹). Após a determinação das condições nas bateladas realizadas na Etapa II, iniciou-se a operação no reator AnSBBR.

4.2.3 Fase II: avaliação da produção de hidrogênio em reator AnSBBR

As condições que apresentaram resultados melhores de produção de hidrogênio na Fase I, foram aplicadas em um reator acidogênico (AnSBBR), conforme apresentado na Figura 11, em que é demonstrado o esquema do sistema que foi utilizado para a produção de bio-hidrogênio em um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (RATUSZNEI et al., 2000). O reator apresenta capacidade total de 6,0 L e capacidade útil de, aproximadamente, 4,3 L. operado em temperatura de 32°C.

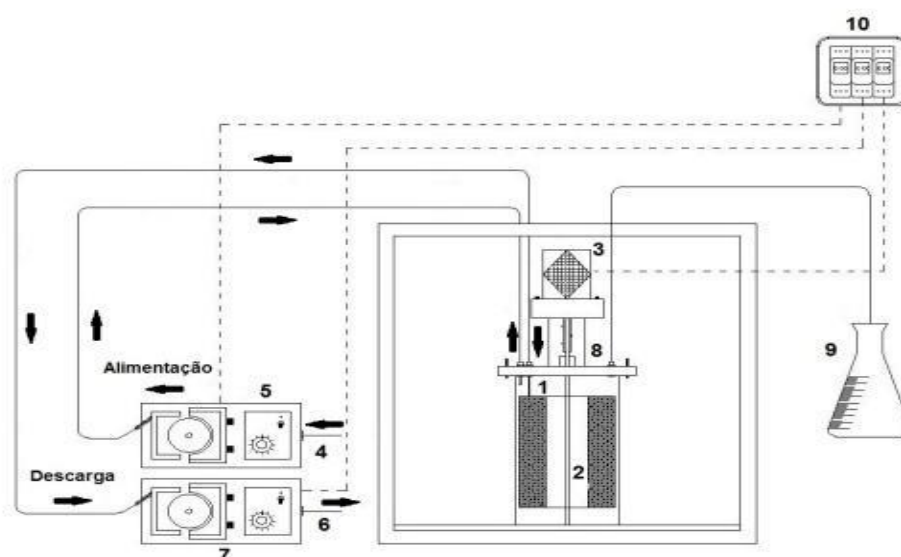


Figura 11 Representação esquemática do reator AnSBBR.

Legenda: 1. Reator em Pexiglass; 2. Cesto para imobilização da biomassa; 3. Sistema de agitação; 4. Entrada afluente; 5. Bomba peristáltica dosadora entrada; 6. Saída efluente; 7. Bomba peristáltica dosadora de descarga; 8. Saída do biogás; 9. Sistema de medição do biogás; 10. Sistema de automação.

Fonte: Tonello et al. (2018).

O meio suporte foi o próprio bagaço de mandioca juntamente com um material chamado polietileno de baixa densidade (PEBD) (ANDREANI, 2017) para imobilizar a biomassa. A escolha desse material PEBD foi por suas características, que favorecem a colonização por bactérias hidrolíticas, fermentativas e não redutoras de sulfato (SILVA et al., 2006). O material foi confinado em um cesto em aço inox perfurado, de 18 cm de altura, 7 cm de diâmetro interno e 17,5 cm de diâmetro externo. Para evitar a saída da biomassa, uma tampa do mesmo material foi fixada ao cesto (Figura 12).



Figura 12 Cesto utilizado na imobilização da biomassa.

Fonte: Tonello (2017).

O sistema de agitação mecânica foi constituído por impelidores do tipo turbina (MICHELAN et al., 2009). Para a realização das etapas de operação em batelada sequencial (alimentação, agitação e descarga) foram utilizadas bombas peristálticas dosadoras, comandadas por temporizadores digitais que controlam o acionamento/parada das bombas e do sistema de agitação.

O volume de biogás produzido diariamente foi mensurado em frasco Mariotte, preenchido com água, conectado à saída de gás, localizado na parte superior do reator. O volume final foi obtido após a correção para as condições normais de temperatura e de pressão (CNTP).

4.2.3.1 Condições experimentais e modo de alimentação

A alimentação do reator foi realizada em modo batelada, utilizando solução de nutriente em algumas condições e água residuária de fecularia em outras, conforme exemplificadas no item 4.1. Inicialmente foi inserido no reator o bagaço de mandioca, previamente inoculado com inóculo termicamente tratado, conforme o melhor resultado da Etapa II da Fase I (item 4.2.1), em que o inóculo foi adicionado 10% do volume de trabalho do reator.

O reator foi operado conforme a origem da fonte de carbono, advindo do bagaço de mandioca e da água residuária (ARF ou sintética), conforme as condições dos ensaios, com o pH ajustado para 6,0 com solução de bicarbonato de sódio (500 mg L^{-1}) para fornecer alcalinidade ao sistema (TREVISAN, 2020).

As condições dos ensaios realizados no reator AnSBBR (Fase II) estão descritas na Tabela 9. Nos ensaios E1, E2, E3, E6 e E7, a carga orgânica volumétrica aplicada foi calculada em função da concentração de carboidratos no afluente e do tempo de ciclo. No ensaio E5 foi introduzido somente o bagaço de mandioca no reator, caracterizando-se como o único substrato aplicado. Em todos os ensaios o bagaço de mandioca foi introduzido no reator em uma única vez, exceto no ensaio E4, em que o reator foi alimentado com bagaço de mandioca seco e triturado, diluído na água residuária, na concentração de $1,2 \text{ g L}^{-1}$, de acordo com a metodologia descrita por Chavedej et al. (2019).

Tabela 9 Condições experimentais avaliadas no AnSBBR (Fase II)

Condição	Substrato	BM	PMS (m/m) BM+PEBED	CA (mgCT L ⁻¹)	*COV (gCT L ⁻¹ d ⁻¹)	TC (h)	NC (Ciclos d ⁻¹)	Dias de operação
E1	Sacarose + BM	seco	6/94	5000	9,3	6	4	40
E2	Sacarose + BM	seco	100/0	5000	9,3	6	4	27
E3	Sacarose + BM	seco	40/60	5000	9,3	6	4	23
E4**	BM	AG – BMtrit	0/100	1,2gSTV L ⁻¹ ***	2,4 gSTV L ⁻¹ d ⁻¹	6	4	20
E5	BM	<i>in natura</i>	50/50	58 gSTV****	0,48 gSTV L ⁻¹ d ⁻¹ ****	24	1	30
E6	BM + ARF	<i>in natura</i>	50/50	5000	2,5	24	1	43
E7	BM +ARF	<i>in natura</i>	50/50	12000	6	24	1	10

Notas: CA: Concentração Afluente; COV: Carga orgânica volumétrica aplicada*calculada em função do carboidrato total do afluente; **Alimentação gradual; ***Concentração de afluente a partir de sólidos voláteis totais do bagaço de mandioca seco; ****Carga orgânica volumétrica aplicada calculada com base da concentração do efluente; TC: Tempo de ciclo; NC: Número de ciclos; SL: Substrato líquido; PEBED: Polietileno de baixa densidade; PMS: Proporção de meio suporte; BMtrit: Bagaço de mandioca seco e triturado; ARF: Água residuária de fecularia; BM: Bagaço de Mandioca.

A operação do sistema foi realizada de acordo com os ciclos típicos da batelada sequencial: (i) alimentação, em que o reator é carregado com o líquido a ser tratado e reação, (ii) só a reação e (iii) descarga, etapa que ocorre ao término do ciclo de operação. A agitação foi iniciada durante a alimentação e mantida até o final da etapa de reação.

O BM e as cargas orgânicas foram substituídos quando paravam de produzir hidrogênio, sendo o reator desativado. Em seguida, foi higienizado, iniciando uma nova condição de operação.

O reator foi monitorado a partir de coletas do afluente e efluente quatro vezes por semana. Nessas amostras foram avaliados os parâmetros apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 Parâmetros de monitoramento do reator AnSBBR e suas respectivas referências

Parâmetro	Local da coleta	Referência
Alcalinidade/AVT	Afluente e efluente	Ripley, Boyle e Converse (1986); Silva (1977)
Carboidrato Total	Afluente e efluente	Dubois et al. (1956)
DQO	Afluente e efluente	APHA (2005)
pH	Efluente	APHA (2005)
Série de sólidos	Afluente e efluente	APHA (2005)
Ácidos e álcoois	Efluente	Silva (1977)
Volume de biogás	Saída de gás	Penteado et al. (2013)
Composição do biogás	Saída de gás	Penteado et al. (2013)

Nota: Acidez volátil total (AVT).

4.2.4 Fase III: produção de hidrogênio com inóculo advindo da microbiota nativa do bagaço de mandioca

As bateladas da Fase III foram realizadas segundo a metodologia descrita por Valdez-Vazquez et al. (2020), que avaliaram a microbiota nativa presente no bagaço de agave. O processo de obtenção do inóculo foi realizado em um biorreator semicontínuo, adicionando o BM, com carga de 15 gST kg⁻¹ d⁻¹ e tempo de residência de 6,6 dias à temperatura ambiente, pois o BM era retirado e adicionada outra quantidade *in natura*, durante o período de 80 d, simulando o processo de silagem.

Ao término do período de 80 dias o inóculo estava pronto para uso nos ensaios de produção de hidrogênio com o bagaço de mandioca como substrato, sendo então determinado o teor de sólido totais voláteis.

Os ensaios de produção de hidrogênio (BHP) foram realizados em frascos de Durham de 500 mL, com volume de trabalho de 200 mL, contendo 1,63 gSTV de bagaço de mandioca (*in natura* ou BMtrit) como substrato e 25,97 g de microbiota aclimatada (inóculo), equivalente a 2,32 gSTV. A relação de substrato/microrganismo (S/X) foi de 0,7 (g STV/ g STV), juntando SN ou ARF, conforme demonstrado na Tabela 11.

Tabela 11 Ensaios de produção de hidrogênio em batelada (BHP) com a microbiota nativa do bagaço de mandioca como inóculo

Ensaios	Inóculo	Substrato	Afluente
BA11	MBA	18,18 g (1,63gSTV) de BM <i>in natura</i>	SN
BA12	MBA	18,18 g (1,63gSTV) de BM <i>in natura</i>	5 gCarb.L ⁻¹ ARF
BA13	MBA	1,802 g (1,63gSTV) de BM BMtrit	SN
BA14	MBA	1,802 g (1,63gSTV) de BM BMtrit	5 gCarb.L ⁻¹ ARF
BA15	MBA	SC	SN

Nota: MBA: microbiota aclimatada; BM: Bagaço de mandioca; SN: Solução de nutrientes; ARF: água residuária de fecularia. SC: sem carbono.

O pH dos frascos (BHP) foi ajustado para $7,0 \pm 0,05$, com soluções de NaOH 1M e HCl 1M. Os frascos foram purgados com nitrogênio gasoso (N₂) por 5 minutos para manter as condições de anaerobiose e, em seguida, incubados em estufa a 32°C (DENG et al., 2019).

Com base nos resultados obtidos nos ensaios de BHP 11 a 15 (Tabela 11), foram realizados os ensaios de produção de H₂ no reator AnSBBR (Figura 12) com o inóculo oriundo da biomassa nativa do bagaço de mandioca. As condições desse ensaio estão descritas na Tabela 12.

Tabela 12 Condições do ensaio de produção de hidrogênio no reator AnSBBR com inóculo oriundo da microbiota nativa do bagaço de mandioca

Condição	E8
SL	ARF
Fonte de carbono	BM+ARF
BM	<i>in natura</i>
Inóculo	MBA
PMS (m/m) - BM+PEBED	50/50
CA (mgCT L ⁻¹)	5000
*COV (gCT L ⁻¹ d ⁻¹)	2,5
TC (h)	24
NC (Ciclos d ⁻¹)	1
Dias de operação	20

Nota: CA: Concentração afluente; COV: Carga orgânica volumétrica aplicada*calculada em função do carboidrato total do afluente (CT); TC: Tempo de ciclo; NC: Número de ciclos; SL: Substrato líquido; ARF: Água residuária de fecularia; BM: Bagaço de mandioca; PEBED: Polietileno de baixa densidade; MBA: microbiota aclimatada.

4.3 Métodos analíticos

4.3.1 Fase líquida

Foram analisados os seguintes parâmetros para o afluente, o efluente do reator e o bagaço da mandioca (antes e depois do pré-tratamento): pH, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV), sólidos suspensos totais (SST),

sólidos suspensos voláteis (SSV) e nitrogênio total, segundo o *Standard methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 2005). O carboidrato total (CT) foi analisado seguindo metodologia de Dubois et al. (1956). A alcalinidade parcial (AP), alcalinidade intermediária (AI), alcalinidade total (AT) e os ácidos voláteis totais (AVT) foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Ripley, Boyle e Converse (1986).

As determinações dos ácidos graxos voláteis do afluente e efluente (acético, butírico, propiônico) e ácido láctico foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em sistema Shimadzu® equipado com coluna Aminex® HP-87H (300mm x 7,8mm Bio-Rad), forno CTO-20^a à temperatura de 47 °C, controlador CBM-20A, detector UV com arranjo de diodos SPD-20A em comprimento de onda de 208 nm e bomba LC-20AT. A fase móvel foi composta por água ultrapura Milli-Q (Millipore®) acidificada com 0,005% de H₂SO₄ em fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL (LAZARO et al., 2012; CERQUEIRA et al., 2011).

4.3.2 Fase gasosa

O biogás foi coletado na mangueira que liga o reator ao gasômetro e analisado por cromatografia gasosa em sistema Shimadzu® 2010 equipado com coluna capilar Carboxen® 1010 plot (30m x 0,53mm x 0,30µm). A instrumentação foi realizada de acordo com a metodologia de Peixoto et al. (2011). Gás de arraste: argônio; Temperatura do injetor: 200°C; Temperatura do detector: 230°C; Detector de condutividade térmica (TCD); Volume de amostra: 500µL; Vazão do ar de make-up (AR): 8mL.min⁻¹; Programa de temperatura do forno: temperatura inicial de 40°C (2 min); 1^a taxa de aquecimento: 5°C.min⁻¹ até 60°C; 2^a taxa de aquecimento: 25°C.min⁻¹ até 200°C; temperatura final 200°C (5 min).

O cálculo da concentração molar de hidrogênio no biogás foi por meio de uma curva de calibração. O número de mols de H₂ na amostra foi determinado pela equação dos gases ideais (Equação 7). Em que P, corresponde à pressão atmosférica (atm); V é o volume de gás injetado (500 µL); n, o número de mols; R é a constante universal dos gases ideais (0,082 atm.L/mol.K) e T é a temperatura absoluta (K):

$$PV = nRT \quad (7)$$

O desempenho do reator foi verificado por meio das seguintes variáveis respostas: Volume acumulado de biogás (PVB); Eficiência de remoção da matéria orgânica; Produtividade molar (PrM) e; Rendimento molar de hidrogênio (RMC).

4.3.3 Caracterização do bagaço de mandioca

A composição do bagaço de mandioca consistiu em determinar lipídios, cinzas e fibras (extração sequencial), quantificando celulose, hemicelulose e lignina. Na análise de lipídios utilizou-se a extração com éter de petróleo no sistema *Soxhlet*. A amostra de bagaço foi seca até peso constante, triturada e pesada 2 a 5 g de amostra, posteriormente foi inserida no extrator *Soxhlet* e adicionado éter de petróleo (120 mL), aguardando a extração por um período de 6 h. Por fim, a amostra foi encaminhada para a estufa a 60°C, para remover os resquícios do solvente (SLUITER et al., 2008).

Os teores de hemicelulose, celulose e lignina foram determinados conforme metodologia proposta por Van et al. (1991), equivalente à determinação por meio de detergentes neutros e ácidos, e ácido concentrado (determinando-se os teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina).

4.3.4 Desempenho das bateladas

Na condução dos ensaios em batelada (BA) foram realizadas análises de açúcares totais, carbono total, DQO e sólidos totais, sólidos totais fixos e sólidos totais voláteis, no final do processo. As leituras de volume e qualidade do gás produzido foram realizadas ao longo dos ensaios. As variáveis respostas foram a produção volumétrica acumulada de hidrogênio (PAH) (mL) e a porcentagem de hidrogênio (%).

4.3.5 Desempenho do reator: cálculos da produção de hidrogênio

Para avaliar o desempenho, os ensaios incluíram: eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO (ϵ_{DQO} , em %), eficiência de remoção de carboidrato totais (ϵ_{Carb} , em %), produção volumétrica de hidrogênio (PV_{H_2} – L L⁻¹d⁻¹) e rendimento de hidrogênio (HY, mLH₂ g⁻¹Carb e molH₂ g⁻¹Carb).

4.4 Fundamentos teóricos

A quantificação dos parâmetros para avaliação do reator AnSBBR, seguiram a metodologia descrita por de Manssouri et al. (2013) e Inoue et al. (2014).

A determinação da eficiência de remoção de matéria orgânica na forma de DQO, de carboidratos e sólidos totais voláteis em amostras brutas (ε_B), em que: C_{AFL} são as concentrações de carboidratos em amostras do afluente e C_{EFL} se refere às concentrações de carboidratos ou de sólidos totais voláteis em amostras do efluente não filtradas (B), são apresentados conforme demonstra a Equação 8.

$$\varepsilon_R \% = \frac{C_{AFL} - C_{EFL}}{C_{AFL}} \times 100 \quad (8)$$

A carga orgânica volumétrica aplicada (COV), corresponde à quantidade de matéria orgânica aplicada em função do tempo e do volume de meio do reator, em termos de carboidratos ($\text{gCT} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). V_A corresponde ao volume de água residuária alimentada ao reator por ciclo. N é o número de ciclos por dia e V_R o volume total de água residuária contida no reator por ciclo, conforme apresentado na Equação 9.

$$COV = \frac{(V_A \times N) \times C_{AFL}}{V_R} \quad (9)$$

A produtividade molar volumétrica (PrM) é definida como a quantidade de bio-hidrogênio (H_2) gerada em função da unidade de tempo e volume útil do reator ($\text{molH}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$). Em que n_{H_2} é a quantidade molar de hidrogênio produzido por dia, e V_R é o volume total de água residuária no reator por ciclo, conforme apresentado na Equação 10.

$$PrM = \frac{n_{\text{H}_2}}{V_R} \quad (10)$$

O rendimento molar entre hidrogênio produzido e matéria orgânica aplicada na forma de carboidratos (RMCA) é definido como a quantidade de hidrogênio produzido (mol H_2) em função da matéria orgânica aplicada em STV ou de carboidratos totais (KgCT), expresso em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgSTV}^{-1}$ ou em $\text{molH}_2 \cdot \text{KgCT}^{-1}$ (Equação 11).

$$RMCA = \frac{n_{\text{H}_2}}{N \times V_A \times C_{AFL}} \quad (11)$$

A recuperação total de energia no sistema a partir de fermentação de resíduos para a produção de hidrogênio foi estimada de acordo com a metodologia de Nualsri et al. (2016), multiplicando-se a produção volumétrica pelo teor de energia de hidrogênio ($10,8 \text{ kJ L}^{-1}$) (Equação 12).

$$RTE = PVH_2 * 10,8 \quad (12)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo ocorreu em três fases principais (Fase I: ensaios de bateladas (BA), para verificar o efeito do tratamento químico e térmico do inóculo, juntamente com a água residuária e com o bagaço de mandioca; Fase II: avaliar a produção de hidrogênio em um reator AnSBBR a partir da codigestão de água residuária de fecularia e solução de nutrientes com o BM; Fase III: avaliar o inóculo advindo da Microbiota nativa do bagaço de mandioca a fim de produzir hidrogênio).

5.1 Fase I: ensaios em bateladas (BA)

5.1.1 ETAPA I: pré-tratamento do inóculo sobre a produção de hidrogênio

Na Etapa I foram avaliados os pré-tratamentos do inóculo, (químico e térmico) a fim de produzir hidrogênio a partir da adição de sacarose, bagaço de mandioca triturado (BMtrit) e SN (Solução de nutrientes) nos ensaios em batelada:

- BA1: inóculo pré-tratamento químico com SN e sacarose;
- BA2: inóculo pré-tratamento térmico com SN e sacarose;
- BA3: inóculo pré-tratamento químico com SN e BMtrit;
- BA4: inóculo pré-tratamento térmico com SN e BMtrit;

Na Tabela 13 são apresentados os resultados obtidos no ensaio em batelada referentes aos parâmetros: pH, acidez volátil, metabólitos intermediários, sólidos totais, totais (voláteis e suspensos), concentração de carboidratos e DQO.

Tabela 13 Resultados dos parâmetros avaliados nos ensaios em Bateladas (BA1 a BA4)

Bateladas		BA1	BA2	BA3	BA4
pH		5,05	5,95	4,81	5,09
Acidez volátil (mg HAc L ⁻¹)		978	684	1122	1158
Metabólitos intermediários (mg.L ⁻¹)	HLa	271,77	165,67	52,25	126,86
	HAc	495,01	308,12	677,87	757,20
	HBu	1016,05	452,23	1126,55	977,46
Soma dos metabolitos (mg.L ⁻¹)		1782,83	926,02	1856,67	1861,52
Sólidos totais(mg.L ⁻¹)		6076,25	5951,25	6716,25	7893,75
Sólidos totais voláteis (mg.L ⁻¹)		3208,75	3505	4660	6155
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)		2320,00	1875,00	4537,50	2755,00
Carboidratos (mg L ⁻¹)		272,77	211,69	812,13	636,59
DQO (mg L ⁻¹)		6254,62	7057,04	7575,90	8444,69
PAB (mL)		263,97	117,54	240,79	321,42
PAH2 (mL)		78,11	8,15	73,69	84,71
RMCA (mLH ₂ gSTV ⁻¹)		18,16	1,89	45,21	51,97

Nota: Valores médios. ND: Não detectado. PAB: produção acumulada de biogás. PAH2: produção acumulada de hidrogênio. RMCA: RMCA: Volume de hidrogênio em relação à carga aplicada.

Legenda: Bateladas BA1: inóculo pré-tratamento químico com SN e sacarose; BA2: inóculo pré-tratamento térmico com SN e sacarose; BA3: inóculo pré-tratamento químico com SN e BMtrit; BA4: inóculo pré-tratamento térmico com SN e BMtrit.

Observou-se a variação do pH do efluente de 4,11 a 5,95. Situação similar ocorreu para o parâmetro DQO, que obteve variação de 3,5 a 8,4 g L⁻¹. A quantidade de carboidratos na saída variou de 0,21 a 0,81 g L⁻¹. Na Tabela 13, nota-se que a concentração final dos carboidratos foi maior na Batelada BA3, provavelmente devido ao tratamento químico do inóculo e à adição do bagaço de mandioca triturado que, conseqüentemente, influenciou a liberação do carboidrato no efluente. Nas Bateladas BA1 e BA2 os valores de carboidratos no efluente foram menores, quando comparados com outras bateladas (BA3 e BA4). Esse valor pode estar relacionado com a adição da sacarose e do bagaço de mandioca, pois, nas BA1 e BA2 foi adicionada somente a sacarose como substrato e na BA3 e BA4 bagaço de mandioca seco. Ainda, observou-se que, nesses ensaios, a fonte de carbono foi a sacarose, com concentrações de 272,7 e 211,7 mg L⁻¹, que pode ser convertida rapidamente em metabólitos solúveis. Nos ensaios BA3 e BA4 a fonte de carbono foi o bagaço de mandioca.

Na Figura 13 são apresentados os resultados dos subprodutos da fermentação (metabólitos). Em todos os ensaios foram identificados os ácidos láctico, acético e butírico, não havendo produção dos ácidos propiônico e fórmico. Na literatura foi reportado que os principais metabólitos solúveis, quando o inóculo foi submetido ao tratamento térmico, foram os ácidos acético, propiônico e butírico (WANG; WAN., 2008).

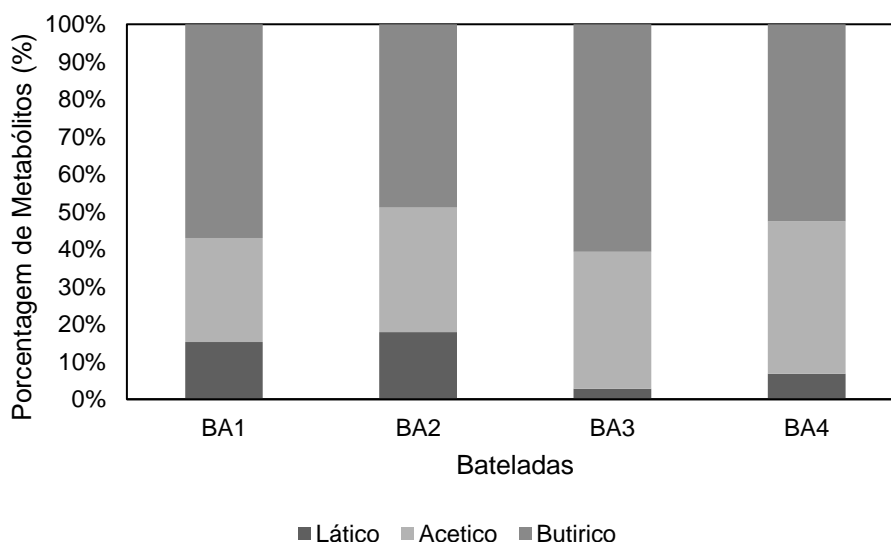


Figura 13. Proporção de metabólitos solúveis nas bateladas (BA1 a BA4).

Legenda: Bateladas - BA1: inóculo pré-tratamento químico com SN e sacarose; BA2: inóculo pré-tratamento térmico com SN e sacarose; BA3: inóculo pré-tratamento químico com SN e BMtrit; BA4: inóculo pré-tratamento térmico com SN e BMtrit.

Os resultados apresentados na Tabela 13 indicam que a concentração de ácido acético (308,12 mg/L) na batelada BA2 com tratamento térmico e solução de nutrientes, juntamente com a sacarose, foi inferior às outras bateladas (BA1, BA3 e BA4). Segundo Wang e Wan (2008), as concentrações de ácido acético nos metabólitos solúveis dos testes com inóculo pré-tratado com ácido, choque térmico, aeração e clorofórmio foram inferiores ao teste sem nenhum pré-tratamento, o que pode influenciar indiretamente na atividade de algumas bactérias consumidoras de hidrogênio.

Nas bateladas BA1 e BA3 observa-se que houve predominância do ácido butírico, representando 57% e 61% dos metabólitos quantificados, respectivamente. Tal comportamento pode estar relacionado ao tratamento químico, ao qual o inóculo foi submetido nessas bateladas. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Chen et al. (2001), que relataram uma elevada concentração de ácido butírico nos metabólitos solúveis, quando pré-trataram o inóculo com ácido-base utilizando glicose como substrato.

As bateladas BA1 a BA4 apresentaram concentrações de ácido láctico, no entanto as bateladas BA3 (inóculo pré-tratamento químico com SN juntamente com BMtrit) e BA4 (inóculo pré-tratamento térmico com SN juntamente com BMtrit) foram inferiores comparadas às outras bateladas, representando 3% e 7%, respectivamente.

No entanto, nas bateladas com sacarose (BA1 e BA2), foram obtidos resultados com concentrações mais elevadas de ácido láctico (Tabela 13). Os valores indicaram que podem resultar em uma competição pelo substrato entre as bactérias produtoras de ácido láctico e as bactérias produtoras de hidrogênio e, conseqüentemente, uma baixa produção de hidrogênio (TREVISAN, 2020).

Nas Figuras 14 a) e b) são apresentados os resultados de produção volumétrica de biogás, percentual de hidrogênio (H₂) e dióxido de carbono (CO₂) na composição do biogás.

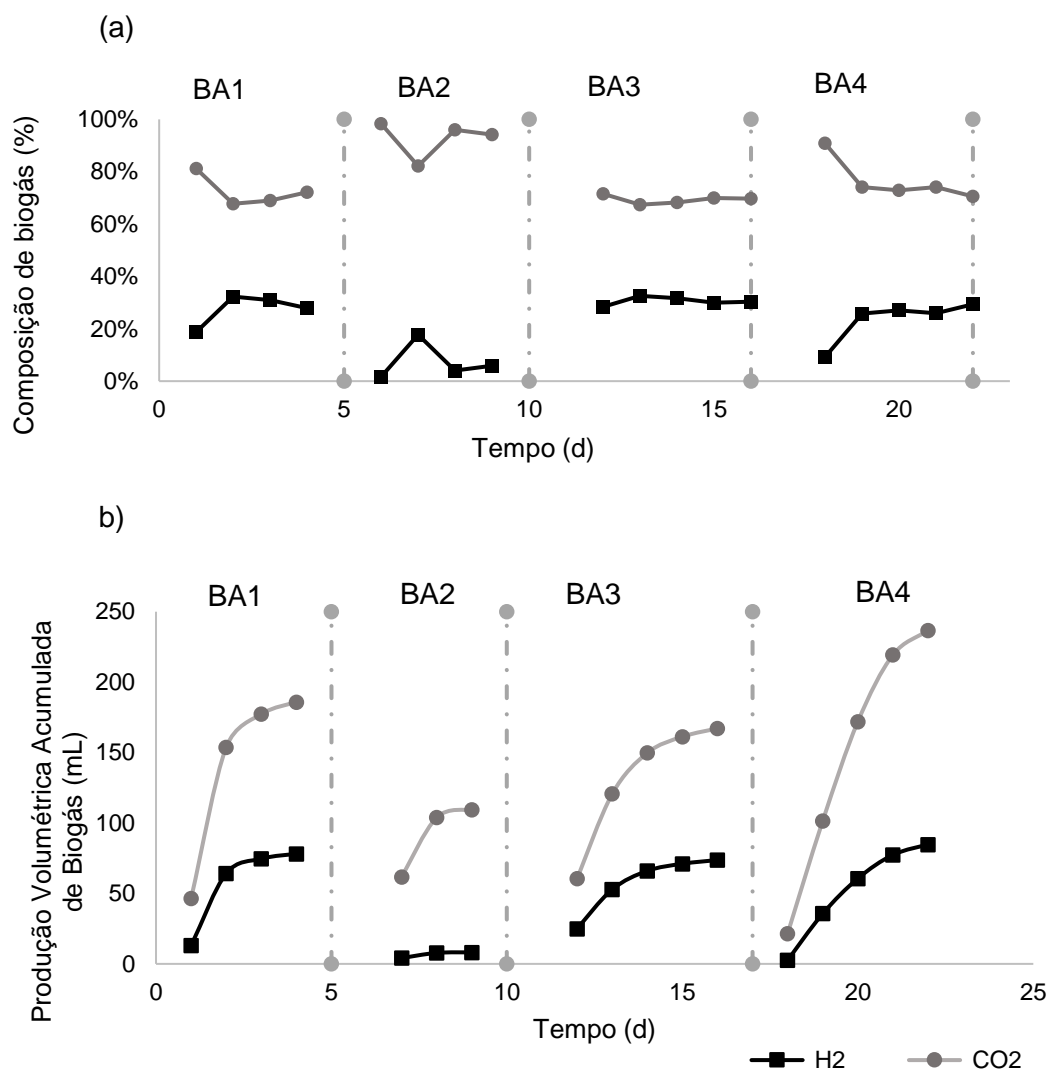


Figura 14 Valores médios de hidrogênio (H₂) (-■-) e dióxido de carbono (CO₂) (-●-): a) Porcentagem de Biogás (%); e b) Produção volumétrica acumulada de biogás.

Legenda: Bateladas (BA1: inóculo pré-tratamento químico com SN e sacarose; BA2: inóculo pré-tratamento térmico com SN e sacarose; BA3: inóculo pré-tratamento químico com SN e BMtrit; BA4: inóculo pré-tratamento térmico com SN e BMtrit).

Observou-se que as bateladas BA5 (inóculo pré-tratamento químico com SN; e BA6 (inóculo pré-tratamento térmico com solução de nutrientes) não produziram biogás em seu processo. Esse fato pode estar relacionado à falta de substrato em comparação às outras bateladas. Além disso, as bateladas BA1, BA3 e BA4 obtiveram uma porcentagem de hidrogênio na composição do biogás de no máximo: 31%, 33% e 29%, respectivamente. Porém, a batelada BA2 (inóculo pré-tratamento térmico com SN juntamente com sacarose) atingiu 18% de hidrogênio em seu segundo dia de análise, o que pode estar relacionado ao tratamento térmico do inóculo; além disso, a sacarose

adicionada na solução de nutriente foi consumida nos primeiros dias e depois houve um decréscimo na composição (Figura 14, a).

A produção volumétrica acumulada de biogás das bateladas apresentou padrões semelhantes entre as bateladas BA1, B3 e BA4 (Figura 14, b), atingindo valores de 78,11; 73,69 e 84,71 mL H₂, respectivamente.

Na batelada BA2, observou-se que a produção volumétrica foi inferior, quando comparada com as outras bateladas, alcançando 8,15 mL H₂. Nessa batelada, foi adicionado o inóculo pré-tratado térmico juntamente com solução de nutriente e com sacarose. GUO et al. (2010) salientam que os produtos gerados no processo, como o ácido láctico, estão envolvidos em uma via que não produz hidrogênio.

A maior produção de hidrogênio ocorreu na batelada BA4 (inóculo pré-tratado termicamente, solução de nutriente e bagaço de mandioca triturado como fonte de carbono). As bactérias consumidoras de sacarose influenciaram na liberação de uma parte da matéria orgânica presente no farelo da mandioca e pode ter gerado o produto final: o hidrogênio. Entretanto, não foi consumido todo o bagaço de mandioca, pois no efluente obtiveram-se concentrações de sólidos voláteis totais de 6,1 gSTV L⁻¹.

A produção de volumétrica acumulada de hidrogênio pode estar relacionada com as cargas orgânicas volumétricas implementadas, na forma de STV por meio do rendimento. O rendimento de hidrogênio a partir de carga aplicada nos ensaios em bateladas foram de 18,16; 1,18; 45,21; e 51,97 mLH₂ gSTV⁻¹, nas bateladas BA1, BA2, BA3 e BA4, respectivamente. Nota-se que as duas primeiras bateladas BA1 e BA2, que trataram o inóculo química e termicamente, respectivamente, junto com solução de nutriente com sacarose (5 gCarb L⁻¹), obtiveram rendimentos de carga aplicada bem diferentes um do outro, dando ênfase à batelada BA1 que atingiu maior valor de rendimento por carga aplicada, o que pode estar relacionado com a carga de carbono da sacarose neste ensaio nos ensaios.

Nas bateladas que foram utilizados o bagaço triturado como fonte de carbono (BA3 e BA4), os resultados foram valores semelhantes de rendimento de hidrogênio por carga aplicada (45,21 e 51,97 mLH₂ gSTV⁻¹, respectivamente). A batelada BA4 atingiu maiores valores de rendimento de H₂ por carga aplicada em comparação com as demais bateladas (BA1, BA2 e BA3), haja vista que na batelada BA4 foi inserido bagaço de mandioca triturado com o inóculo tratado termicamente com solução de nutriente, demonstrando ser o tratamento de inóculo mais eficaz na produção de hidrogênio. Tena, Perez e Solera (2019) avaliaram a influência do tratamento térmico do inóculo de um reator anaeróbio semicontínuo, que tratou resíduo do lodo ativado (100 °C por 15 min) na codigestão do lodo e água residuária do processamento de vinho, e obtiveram a produção volumétrica acumulada de hidrogênio de 243 mL.

5.1.2 ETAPA II: ensaios para verificar a produção de H₂ em função do tipo de preparo – Etapa II

Na Etapa II foi avaliada a produção de hidrogênio a partir da codigestão do bagaço de mandioca (BM) com a solução de nutrientes (SN) e codigestão do bagaço de mandioca com a água residuária de fecularia (ARF) em Bateladas. Os ensaios em bateladas seguem: BA7: BM *in natura* com SN; BA8: BMtrit com ARF; BA9: BM *in natura* com ARF; e BA10: ARF.

Na Tabela 16 são apresentados os resultados dos parâmetros pH, acidez volátil, metabólitos intermediários, sólidos (totais, voláteis totais e suspensos totais), carboidratos e DQO do efluente das bateladas (BA7 a BA10). A quantidade adicionada de bagaço de mandioca foi equivalente a 1,63 gSVT L⁻¹. Os valores de pH nessas bateladas variaram de 4,47 a 5,58. O valor da DQO permaneceu alto, com baixa conversão da matéria orgânica, pois no processo acidogênico a remoção completa da matéria orgânica é baixa. A concentração de carboidratos totais iniciais foi de 5 gL⁻¹ e no efluente das bateladas resultou em uma faixa de 0,5 a 2,3 g L⁻¹. Nesse sentido, foi possível observar que houve uma remoção de carboidratos nas bateladas testes, mesmo naquelas em que foi adicionado o bagaço de mandioca.

Tabela 14 Resultados dos parâmetros de monitoramento e indicadores de desempenho das Bateladas

Bateladas		BA7	BA8	BA9	BA10
pH		5,16	4,47	4,57	5,58
Acidez volátil (mg HAc L ⁻¹)		414	660	876	483
Metabólitos intermediários (mg.L ⁻¹)	HLa	399,76	1139,55	499,46	209,45
	HAc	980,96	590,85	1523,60	389,11
	HPr	ND	ND	328,57	159,35
	HBu	991,62	894,70	657,11	435,22
Totais de metabólitos (mg.L ⁻¹)		2372,34	2625,1	3008,74	1193,13
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)		9205	8078,33	9058,33	5131,66
Sólidos totais voláteis (mg.L ⁻¹)		7566,67	6518,33	5736,66	3558,33
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)		6110,00	5985,00	5215,00	2415,00
Carboidratos (mg L ⁻¹)		2326,38	2326,31	1008,19	594,17
DQO (mg L ⁻¹)		9711,67	1192,39	8143,02	10254,67
PAB (mL)		341,62	459,27	233,78	199,67
PAH2 (mL)		100,99	165,97	49,92	22,35
RMCA (mLH ₂ gSTV ⁻¹)		61,96	49,63	14,94	13,07

Nota: Valores médios. ND: Não detectado. .PAB: produção acumulada de biogás. PAH2: produção acumulada de hidrogênio. RMCA: Volume de hidrogênio em relação à carga aplicada;

Legenda: BA7: BM *in natura* com SN; BA8: BMtrit com ARF; BA9: BM *in natura* com ARF; e BA10: ARF.

A batelada BA10 foi a que apresentou menor concentração de carboidratos, atingindo em média 88% de remoção. Entretanto, a concentração de DQO foi superior às demais bateladas, o que pode estar relacionado à quantidade de sólidos presente na água residuária ($10,70 \text{ g L}^{-1}$). Nas bateladas BA9 e BA10, foram obtidos valores de concentração de ácido propiônico de 328,57 e $159,35 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, e, em comparação a outras bateladas (BA7 e BA8), não produziram ácido propiônico.

A produção de ácido propiônico pode estar associada ao consumo de hidrogênio (SREETHAWONG et al., 2010), já que a produção de hidrogênio nessas bateladas (BA9 e BA10) foi menor que nas demais. Em contrapartida, todas as bateladas (BA7 a BA10) apresentaram concentrações de ácidos láctico, acético e butírico.

Os maiores valores de rendimentos de hidrogênio, em relação a sólidos (Tabela 14), foram observados no ensaio BA7, resultando em $61,96 \text{ mLH}_2 \text{ gSTV}^{-1}$, haja vista que a BA7 utilizou bagaço de mandioca *in natura* com solução de nutriente sem sacarose, entretanto, quando foi adicionada água residuária de fecularia no lugar da sintética (batelada BA9), os valores de rendimento de hidrogênio por carga aplicada foram inferiores ao ensaio BA7 ($14 \text{ mLH}_2 \text{ gSTV}^{-1}$).

Portanto, o ensaio BA7 com apenas uma fonte de carbono (BM *in natura*) apresentou rendimento de H₂ maior de quando foram adicionadas duas fontes (BM *in natura* e ARF), BA9. Tais valores, indicaram que não houve efeito nenhum no rendimento por carga aplicada quando adicionado BM *in natura* com ARF, podendo estar relacionado com inibidores presentes na ARF. Estudos obtidos na literatura e que trabalharam com ARF a fim de produzir hidrogênio, resultaram em prejuízos à produção de hidrogênio pela presença de bactérias inibidoras do processo (ROSA et al., 2016; GOMES et al., 2016; ANDREANI et al., 2019).

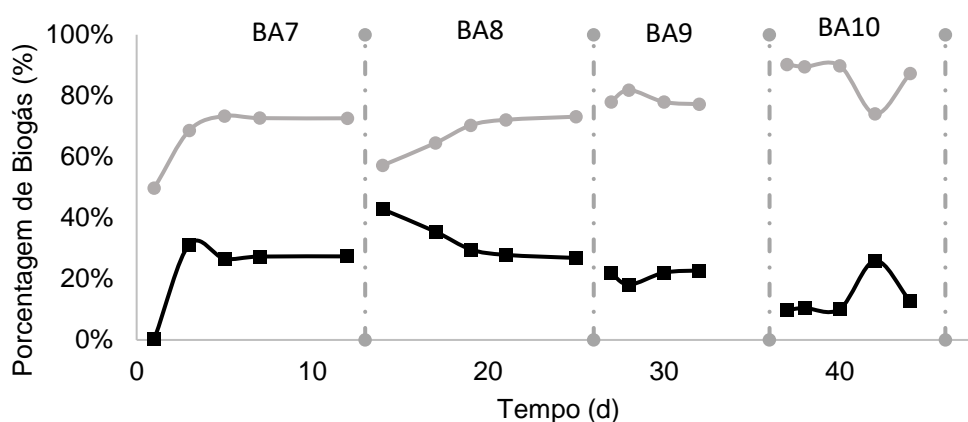
Luo et al. (2010) avaliaram a produção de hidrogênio a partir de efluentes de mandioca em ensaios em batelada com concentração de carboidrato de $19,79 \text{ gCarb L}^{-1}$ e verificaram rendimento de hidrogênio de $53,8 \text{ mLH}_2 \text{ gSTV}^{-1}$, em condições termofílicas. Porém, quando se utilizou apenas ARF (BA10), foram obtidos valores menores de rendimento de hidrogênio por carga aplicada ($13,07 \text{ mLH}_2 \text{ gSTV}^{-1}$), em comparação às demais bateladas (BA7, BA8 e BA9), tal diferença pode estar relacionada apenas à água residuária de fecularia sem o BM.

As bateladas BA8 e BA9, que receberam bagaço e ARF, apresentaram resultados bem diferentes de rendimento de hidrogênio por carga aplicada, visto que em um ensaio foi utilizado o BM_{trit} e no outro o BM *in natura*, atingindo 49,69 e $14,94 \text{ mLH}_2 \text{ gSTV}^{-1}$, respectivamente. Nota-se que, quando foi utilizado o BM_{trit} com ARF, o rendimento por carga orgânica aplicada foi maior que o BM *in natura*. Esse resultado pode estar relacionado com a desagregação da parede lignocelulósica por

meio de tratamento térmico e da trituração que o BM foi submetido antes do ensaio (secagem a 60 °C e trituração), facilitando para os microrganismos o acesso ao material orgânico presente no BM.

Nas Figuras 15 a) e b) são apresentados a composição do biogás em porcentagem e a produtividade volumétrica acumulada de hidrogênio e de dióxido de carbono. A batelada BA7 (BM *in natura* com SN) apresentou, por alguns dias, uma porcentagem média de hidrogênio em 27%. A batelada BA8 (BM seco e triturado juntamente com água residuária de fecularia) teve um pico de porcentagem no primeiro dia (14,43% H_2) e depois um decréscimo durante o período da batelada.

a)



b)

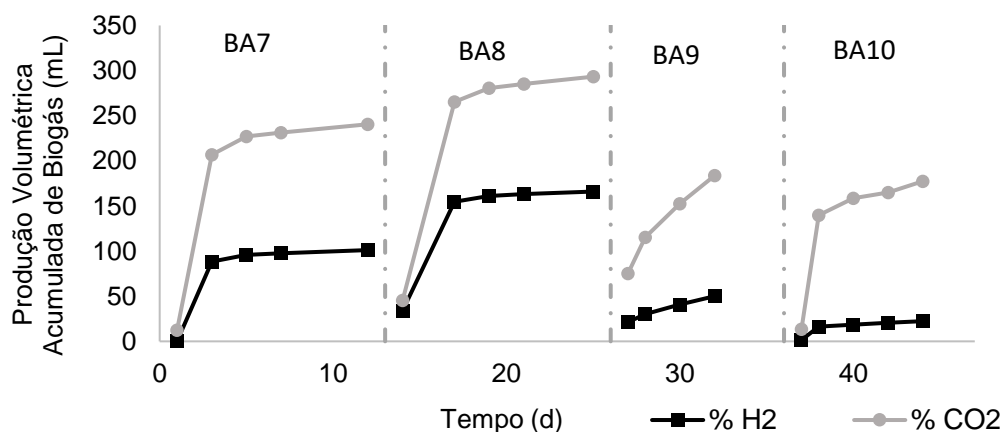


Figura 15 Valores médios de hidrogênio (H_2) (■) e dióxido de carbono (CO_2) (●); a) Composição do biogás (%); b) produção volumétrica acumulada de biogás ($mL d^{-1}$), por tempo de condução.

Legenda: Bateladas BA7: BM *in natura* com SN; BA8: BMtrit com ARF; BA9: BM *in natura* com ARF; e BA10: ARF.

As bateladas BA9 e BA10 apresentaram baixo valor de produção volumétrica acumulada de hidrogênio (Figura 15, b), atingindo valores máximos de $50 mL H_2 d^{-1}$, que foram avaliadas com o bagaço de mandioca *in natura* juntamente com ARF e somente

ARF, respectivamente. Nessas bateladas foram obtidos valores baixos de ácido propiônico (328 e 159 mg/L, respectivamente) e de produção de hidrogênio. Uma das causas pode ser um possível desvio das rotas para produzir hidrogênio e inibição das bactérias produtoras de hidrogênio.

As bateladas BA7 e BA8 atingiram produção volumétrica acumulada de hidrogênio de 100,99 e 165,97 mL_{H₂} d⁻¹, respectivamente, com batelada de BM *in natura* e SN e outra batelada com BM triturado juntamente com ARF. A batelada BA8, que resultou valor máximo em comparação as demais bateladas, pode estar associada à codigestão entre o bagaço de mandioca triturado e ARF, pois a biomassa lignocelulósica foi desintegrada no processo de moagem.

Há estudos na literatura que codigeriram resíduos de mandioca com resíduos ricos em carboidratos, como o de Lucas et al. (2015), que avaliaram a produção de hidrogênio em sistemas de bateladas em uma temperatura de 30 °C em período de 70 h, a partir de resíduos de processamento de mandioca, laticínios e cítricos sem suplementação nutricional, obtendo resultados com maior produção de hidrogênio e bateladas com resíduos de mandioca (97,9 mL). Outros estudos avaliaram a produção de hidrogênio em bateladas com resíduos sintéticos (sacarose), como o de Chen et al. (2004) que empregaram reatores em bateladas a 36°C, pH 5,5 e 2,2 g_{SAC}.L⁻¹ e observaram um maior rendimento de hidrogênio de 202 mL_{H₂} g_{SAC}⁻¹ em um período de 10 h.

5.1.3 Considerações finais da Fase I

O ensaio BA4 da primeira etapa das bateladas (inóculo tratado termicamente com solução de nutriente e como fonte de carbono o bagaço de mandioca triturado) apresentou a maior produção volumétrica acumulada (84,71 mL H₂). Assim como nos ensaios em batelada sobre tratamento de inóculo, na Etapa II foi observada a maior produção volumétrica acumulada de hidrogênio no ensaio BA8 (inóculo tratado termicamente com água residuária de fecularia juntamente com o bagaço de mandioca seco e triturado). Os resultados da Fase I indicaram que o bagaço de mandioca poderia ser utilizado como substrato para a produção de hidrogênio durante o processo fermentativo em reator batelada, como o AnSBBR.

5.9.2 FASE II – Avaliação da produção de hidrogênio em reator AnSBBR

Na Fase II, foi avaliado o desempenho de um reator anaeróbio em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR) na produção de H_2 a partir do bagaço de mandioca juntamente com a solução de nutriente e a água residuária real. Seguindo os seguintes ensaios no reator AnSBBR, E1: com SN, sacarose ($5gCT L^{-1}$) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose ($5gCT L^{-1}$), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose ($5gCT L^{-1}$), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) ($1,2gSTV L^{-1}$), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E6: ARF ($5gCT L^{-1}$), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h.

5.2.1 Desempenho do sistema

O uso do bagaço de mandioca em reator AnSBBR foi analisado quanto ao seu desempenho para adesão dos microrganismos e como substrato na fermentação da solução de nutriente e com ARF. Para tal, foram conduzidos sete ensaios com COV variando entre 2,5 e 9,3 $gCarb L^{-1}d^{-1}$, com bagaço de mandioca (triturado ou *in natura*), e substrato líquido (SN e ARF). A concentração afluente foi mantida fixa em 5 $gCarb L^{-1}$, exceto no último ensaio que foi de 12 $gCarb L^{-1}$ para ver o potencial do reator com a máxima concentração de carboidrato.

Os indicadores de desempenho do reator são apresentados na Tabela 15. A eficiência média de conversão de carboidratos totais foi de 76,04%, 62,80%, 45,67%, 87,53%, 92,66% e 91,73% nos ensaios E1, E2, E3, E4, E6 e E7, respectivamente. Nota-se que os ensaios que apresentaram conversão de carboidratos inferior a 90% foram operados em um tempo de ciclo de 6 h, indicando que o tempo de ciclo não foi suficiente para a degradação dos carboidratos presentes no substrato (E1 a E4). Já os ensaios E6 e E7 obtiveram o seu tempo de ciclo de 24 h, nesses ensaios, o bagaço de mandioca adicionado foi *in natura* juntamente com a água residuária de fecularia, diferentemente dos demais ensaios em que foram com SN. No ensaio E5 não houve conversão do carboidrato e não houve carga orgânica volumétrica aplicada devido ao modo que foi introduzido o bagaço de mandioca dentro do reator, sendo diretamente colocado dentro e de forma *in natura* juntamente com a solução de nutriente. Foram utilizados sólidos totais voláteis como parâmetros de conversão da matéria orgânica.

Tabela 15 Resultados dos indicadores de estabilidade operacional dos ensaios realizados no reator AnSBBR (E1 a E7)

Parâmetro*	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
pH efluente (u)	4,49 ⁽²¹⁾	4,26 ⁽¹²⁾	5,22 ⁽¹³⁾	7,51 ⁽⁹⁾	6,33 ⁽⁶⁾	4,96 ⁽¹⁹⁾	5,00 ⁽⁷⁾
Acidez volátil (mg HAc.L ⁻¹)	555,42 ⁽²¹⁾	961 ⁽¹²⁾	723,07 ⁽¹³⁾	31,2 ⁽⁹⁾	1188 ⁽⁶⁾	628,76 ⁽¹⁹⁾	1585,93 ⁽⁷⁾
Metabólitos							
intermediários (mg.L ⁻¹)							
HLa	444,64 ⁽¹⁷⁾	1170,18 ⁽²⁾	85,77 ⁽⁵⁾	ND	ND	290,94 ⁽³⁾	ND
HFO	116,71 ⁽⁶⁾	112,04 ⁽²⁾	148,17 ⁽⁵⁾	ND	ND	15,44 ⁽⁵⁾	ND
HAc	677,35 ⁽¹⁷⁾	873,68 ⁽⁴⁾	339,01 ⁽⁵⁾	27,30 ⁽³⁾	97,74 ⁽⁴⁾	92,24 ⁽⁹⁾	69,15 ⁽²⁾
HBu	78,91 ⁽¹⁰⁾	1183,60 ⁽²⁾	597,47 ⁽⁴⁾	ND	ND	135,51 ⁽³⁾	ND
HPr	188,54 ⁽¹⁷⁾	138,93 ⁽⁴⁾	238,48 ⁽⁵⁾	ND	215,34 ⁽⁴⁾	192,00 ⁽⁷⁾	220,62 ⁽²⁾
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)	2807,28 ⁽²¹⁾	4349,04 ⁽¹²⁾	6181,66 ⁽⁹⁾	595,25 ⁽⁹⁾	1154,37 ⁽⁸⁾	4504,44 ⁽¹⁹⁾	5563,92 ⁽⁷⁾
Sólidos voláteis totais (mg.L ⁻¹)	1843,45 ⁽²¹⁾	2865,045 ⁽¹²⁾	5025,66 ⁽⁹⁾	280,25 ⁽⁹⁾	938,43 ⁽⁸⁾	2608,05 ⁽¹⁹⁾	3125,35 ⁽⁷⁾
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)	173,33 ⁽²¹⁾	64,72 ⁽¹²⁾	77,40 ⁽⁹⁾	241,66 ⁽⁹⁾	226,65 ⁽⁸⁾	501,94 ⁽¹⁹⁾	3195,71 ⁽⁷⁾
Sólidos suspensos voláteis (mg.L ⁻¹)	151,34 ⁽²¹⁾	59,44 ⁽¹²⁾	72,59 ⁽⁹⁾	66,16 ⁽⁹⁾	205,5 ⁽⁸⁾	451,38 ⁽¹⁹⁾	2290,71 ⁽⁷⁾
Remoção de DQO (εSF%)	20,38 ⁽⁷⁾	17,80 ⁽⁴⁾	32,00 ⁽⁸⁾	53,63 ⁽⁵⁾	ND	29,85 ⁽⁸⁾	33,95 ⁽³⁾
Remoção Carboidratos (εCF%)	76,04 ⁽¹⁹⁾	69,01 ⁽¹¹⁾	45,67 ⁽¹²⁾	85,17 ⁽⁶⁾	ND	91,73 ⁽¹⁶⁾	96,96 ⁽⁶⁾
COVA (gCarb.L ⁻¹ .d ⁻¹)	9,6 ⁽²¹⁾	10,99 ⁽¹²⁾	10,97 ⁽¹²⁾	1,44 ⁽⁵⁾	ND	2,23 ⁽¹⁶⁾	6,51 ⁽⁶⁾
**COVA (gSTV.L ⁻¹ .d ⁻¹)	8,0	8,0	8,0	280,8	ND	2,00	4,76

Nota: *Os valores entre parênteses indicam o número de amostras utilizadas no cálculo da média; **Calculado a partir do STV do afluente; COVA: Carga orgânica volumétrica aplicada. ND: Não Detectado.

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L-1) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L-1), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L-1), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L-1), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L-1 e TC 24h; E6: ARF (5gCT L-1), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L-1 e TC 24h.

O pH influencia diretamente a ação da enzima hidrogenase e o metabolismo dos microrganismos fermentativos (HWAMG et al., 2004; ELBESHISHY et al., 2017). Na Figura 16, são apresentados os valores de pH do efluente, que variou de 3,0 a 7,88, em todos os ensaios, visto que o pH do afluente foi ajustado para 6,0.

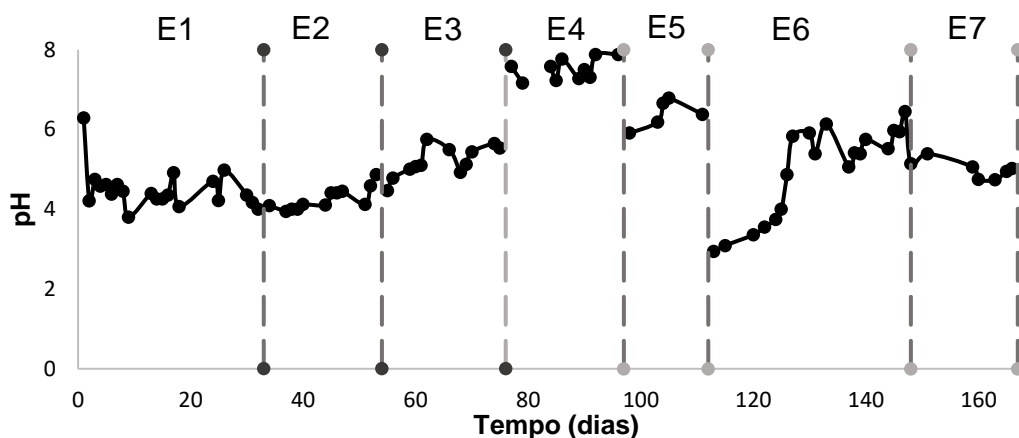


Figura 16 Valores de pH efluente nos ensaios E1 a E7 no reator AnSBBR.

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L⁻¹) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L⁻¹), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L⁻¹ e TC 24h; E6: ARF (5gCT L⁻¹), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L⁻¹ e TC 24h.

Observou-se que os ensaios E1, E2, E3 apresentaram valores de pH semelhantes, considerando que o primeiro ensaio foi com uma proporção menor de BM em relação aos outros ensaios. Com pH inferior a 4,5, há alteração da atividade metabólica dos microrganismos do gênero *Clostridium*, cessando a produção de hidrogênio e, conseqüentemente, podendo produzir solventes, como acetona e álcool (MIZUNO et al., 2000; KIM et al., 2004; LIN et al., 2012; MICOLUCCI et al., 2014; GHIMIRE et al., 2015; RUGGERI; TOMMASI; SANFILIPPO, 2015; ROY; DAS, 2016; MOTA et al., 2018). Esses álcoois são formados para retirar o H₂ do meio, consumindo o H₂, reduzindo então a produção de H₂.

Os ensaios E4 e E5 resultaram em valores de pH entre 6 e 8, podendo estar relacionado ao modo de alimentação dos ensaios, pois foram diferentes: E4 foi alimentado gradualmente com apenas o BM triturado diluído em água na concentração de 1,2gSVT L⁻¹, sem sacarose e no ensaio E5 foi introduzido o bagaço de mandioca *in natura* juntamente com a solução de nutriente sem nenhuma outra fonte de substrato (sem sacarose na sua alimentação), ou seja, o bagaço foi introduzido de uma única vez no cesto do reator no início do ensaio (58 gSVT).

Os ensaios E6 e E7 foram alimentados com água residuária de fecularia e foi adicionado BM *in natura*, resultando em valores de pH próximos (4,96 e 5,0, respectivamente). Nessas condições (E6 e E7), quando se utiliza o BM *in natura*, minimiza-se o pH, o que pode estar relacionado à quantidade de amido presente no BM que não está prontamente disponível no substrato líquido que tem sacarose (sintético), glicose, frutose e outros carboidratos na ARF. Há pesquisadores que reportam que o pH desejável em reatores e que resultam em máximas produção de hidrogênio por digestão anaeróbia varia entre 4,5 e 6,5 (KHANAL et al., 2004; LEE; VERMAAS; RITTMANN, 2010).

As Figuras 17 a-g apresentam os principais produtos intermediários, identificados e caracterizados durante o processo fermentativo nos ensaios E1 a E7, os ácidos: láctico (HLa), acético (HAc) e butírico (HBu). Ocasionalmente, observou-se a produção de traços do ácido fórmico (HFo) e propiônico (HPr), o que pode estar relacionado ao consumo de hidrogênio, que ocorre com o acúmulo de ácido propiônico (LEE et al., 2008; LEE; VERMAAS; RITTMANN, 2010).

Os resultados apresentaram a formação de HAc (Tabela 15), a qual foi predominante durante a fermentação anaeróbia, com concentrações médias de 677,35, 873,68, 339,01, 27,30, 97,74, 92,24 e 69,12 mg L⁻¹, nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7, respectivamente. Nota-se que o ensaio E4 (Figura 17 d), com menor fornecimento de substrato (carbono) (bagaço de mandioca diluído na solução de nutrientes), resultou em valor de HAc inferior (27,30 mg L⁻¹) aos dos outros ensaios, visto que a concentração no afluente foi menor de 1,2gSTV L⁻¹, ou seja, se há menos carbono vai formar menos ácidos.

De fato, as maiores concentrações de HAc ocorreram com a introdução do BM dentro do reator em apenas uma única vez, conseqüentemente, havendo produção de hidrogênio, visto que a partir da fermentação de substratos ricos em carboidratos, associam-se às vias fermentativas que geram como metabólitos ácido acético, o que leva teoricamente, a maiores rendimentos de hidrogênio, em comparação com a rota associada à produção de ácido butírico. (SÁ et al., 2014).

O ácido láctico foi encontrado nos ensaios E1, E3 e E6, nos primeiros dias de análises, tendo em vista que os ensaios iniciais foram alimentados com solução de nutriente juntamente com o bagaço de mandioca seco. Em contrapartida, o E6 foi alimentado com o BM *in natura* juntamente com a água residuária de fecularia, e se nota na Figura 17 f que o ácido láctico foi consumido integralmente durante o ensaio. A conversão de carboidratos em ácido láctico é comum em reatores acidogênicos alimentados com ARF, uma vez que as bactérias lácticas são microrganismos naturalmente presentes nas raízes da mandioca (ROSA et al., 2016).

No entanto, em reatores produtores de hidrogênio, os microrganismos produtores de ácido láctico podem ter efeitos inibitórios devido à presença de outras bactérias não produtoras de hidrogênio (NOIKE et al., 2002).

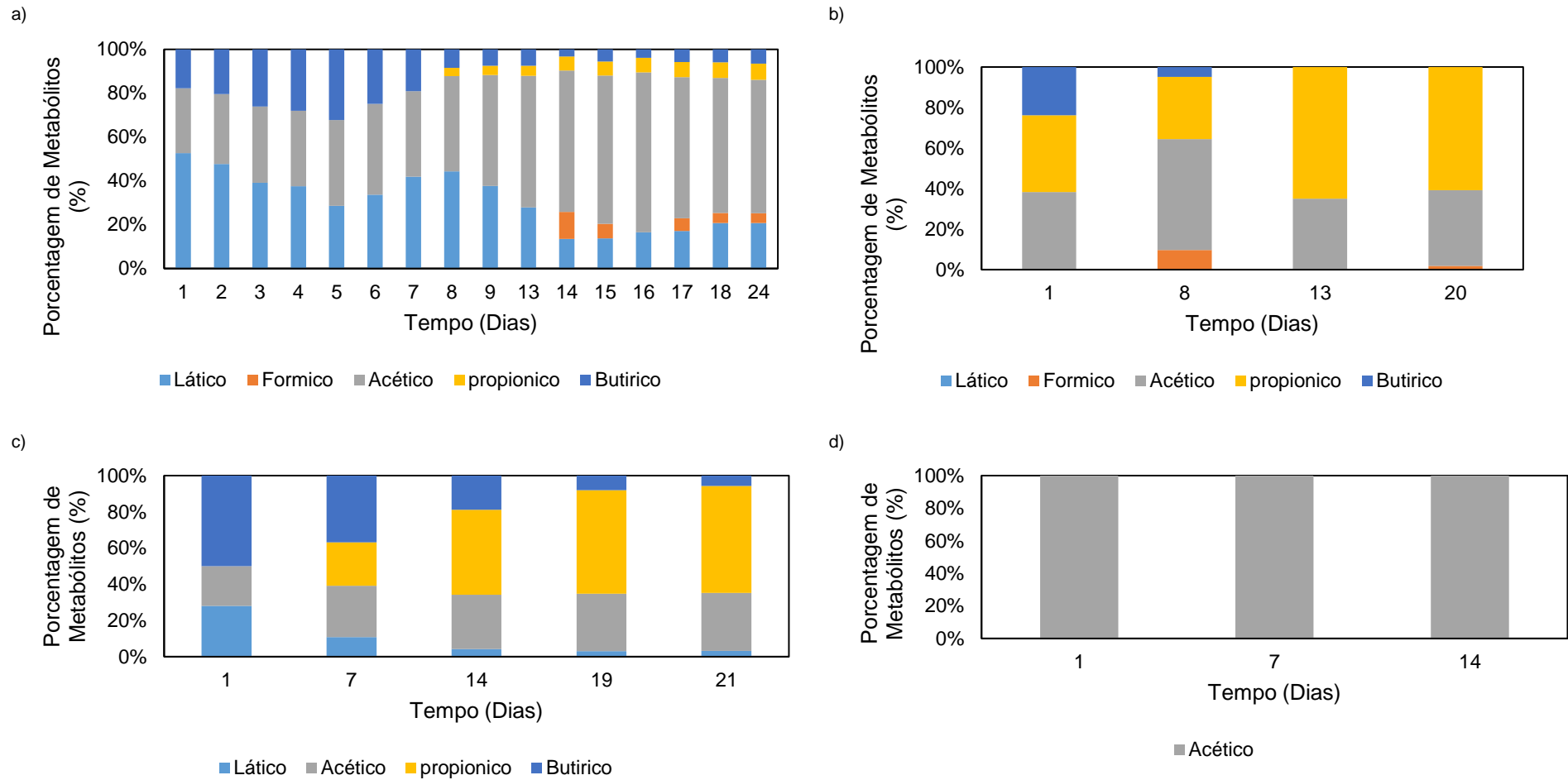


Figura 17 Proporção de metabólitos solúveis quantificados ao longo da operação dos ensaios: a) E1; b) E2; c) E3 e d) E4.

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L-1) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L-1), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L-1), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L-1), meio suporte MS e TC 6h.

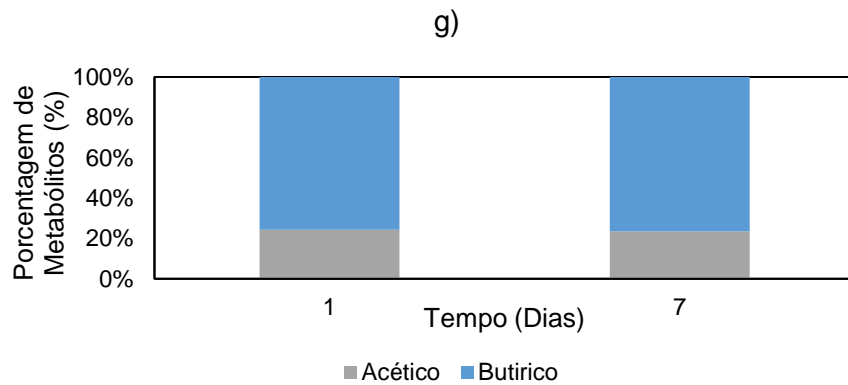
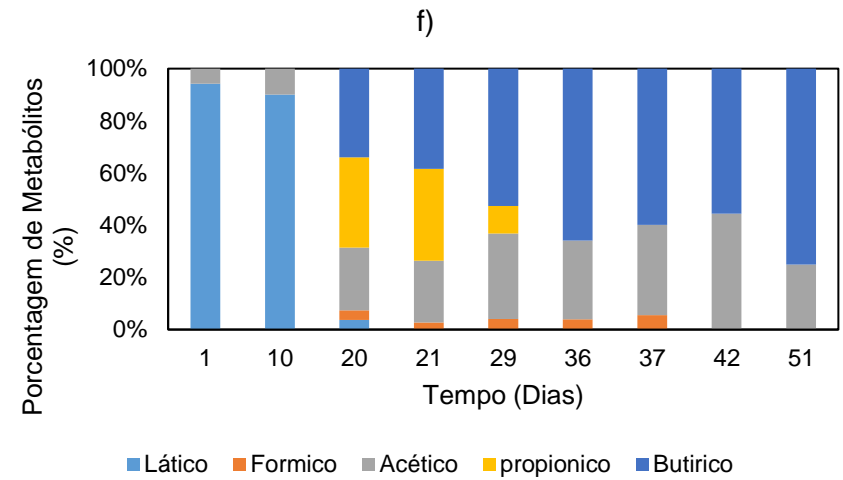
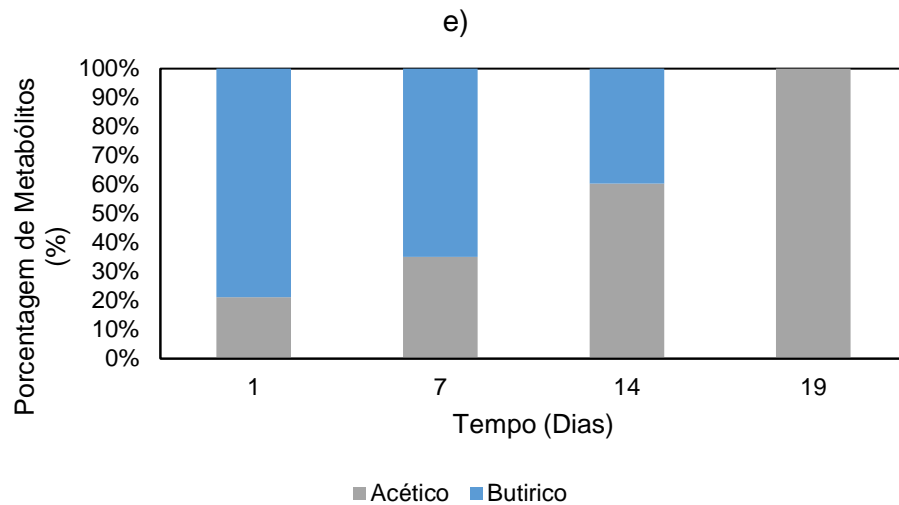


Figura 17 Proporção de metabolitos solúveis quantificados ao longo da operação dos ensaios: e) E5; f) E6; g) E7.

Legenda: E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L-1 e TC 24h; E6: ARF (5gCT L-1), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L-1 e TC 24h.

No efluente dos ensaios E2 e E3, foi observado aumento na concentração de ácido propiônico de 61 e 59% (Figura 17 b e c), respectivamente. Esses ensaios adicionaram BM seco com solução de nutriente com sacarose; por outro lado o que diferenciou de um ensaio a outro foi que no E2 adicionou-se o BM seco sem nenhum meio de suporte, para os microrganismos além de consumirem aderirem no BM, e o E3 foi 40/60 de meio suporte e BM seco.

A presença de ácido propiônico no sistema pode estar relacionada com o consumo de hidrogênio (SREETHAWONG et al. 2010). Além disso, a alteração nas rotas metabólicas dos microrganismos é um fator que pode levar a presença do ácido propiônico (CORBARI et al., 2019). Manssour et al. (2013) operaram um reator AnSBBR alimentado com solução de nutriente e atingiram concentrações de ácido propiônico (com 3,3% de ácido propiônico) sobre carga orgânica volumétrica de 12,2 gCarb L⁻¹d⁻¹, valor inferior ao E2 e E3 obtido neste estudo, com carga orgânica menor, quando comparado com estudos com SN. Tal resultado, pode estar relacionado com microrganismos presentes no bagaço de mandioca e com o BM seco pode ter influenciado a proliferação desses microrganismos produtores de ácido propiônico.

Na Figura 18 a-b, são apresentados sólidos totais voláteis e suspensos voláteis no efluente dos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 E e E7, em que foram quantificadas concentrações de 1,84, 2,86, 5,02, 0,28, 0,93, 2,6 e 3,12 gSVT L⁻¹, respectivamente. correspondentes a todo material orgânico que compõe a amostra. Tais valores indicam que, nos ensaios com maiores valores de sólidos voláteis totais (E3 e E7), verificou-se maior arraste de material orgânico no efluente do reator.

Por outro lado, os ensaios E4 e E5 resultaram em menores concentrações de SVT, quando comparados aos demais ensaios, o que pode estar relacionado com a quantidade de carga orgânica (2,4 gSTV L⁻¹d⁻¹ e 0,48 gSVT L⁻¹d⁻¹, respectivamente) adicionada no processo. Entretanto, comparando-se esses ensaios, no E4 foi adicionado BMtrit durante a alimentação de forma gradual, segundo a metodologia citada no item 4.2.2, sem outra fonte de carbono, sugerindo que a falta de carbono no sistema não foi o suficiente para os microrganismos conseguirem consumir e gerar hidrogênio.

Segundo Chavadej et al. (2019), com carga orgânica de 1,2 gSTV L⁻¹ adicionada em ARF, verificaram a produção de hidrogênio e aumento na concentração de ácido acético em reator UASB e quando alteraram a concentração de carga orgânica (acima do nível ótimo de BM, 1,2 gSTV L⁻¹) não houve degradação do BM e resultou em baixos rendimentos de hidrogênio, ou seja, os autores observaram que quanto maior a carga orgânica, menor a produção de hidrogênio, sendo inversamente proporcional. No ensaio E5, foi introduzido dentro do cesto do reator o BM *in natura* e alimentado com SN, o

valor indica que a carga orgânica no reator foi inferior aos demais ensaios, além de possível inibição na produção de hidrogênio.

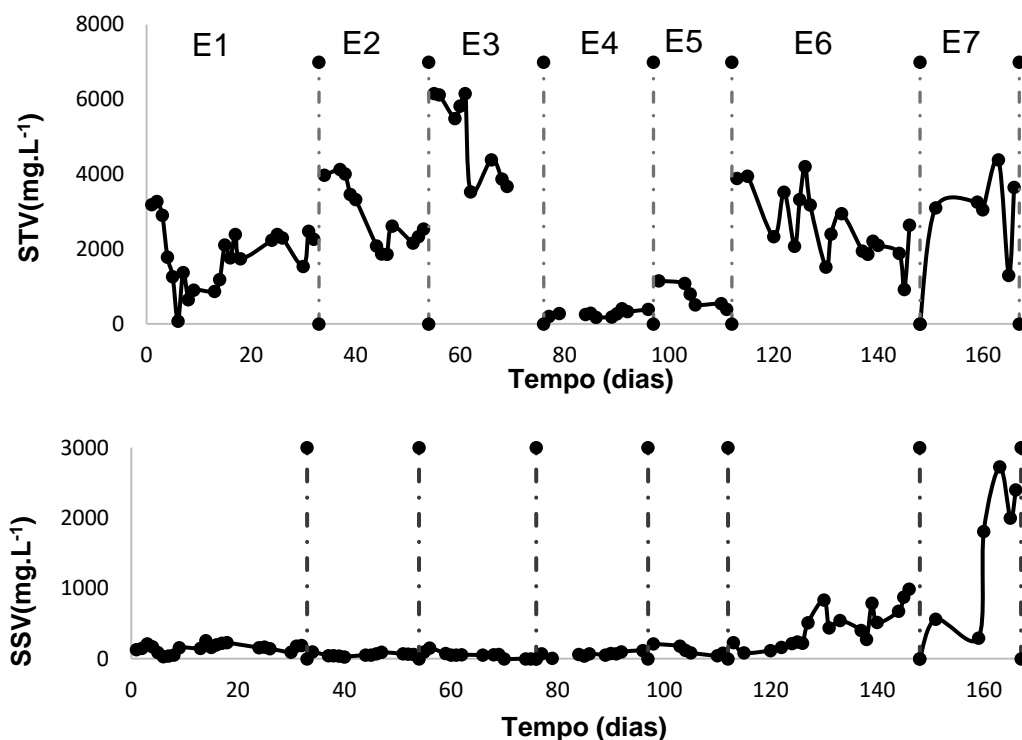


Figura 18 Valores de a) sólidos voláteis totais e; b) sólidos suspensos voláteis no efluente dos ensaios realizados no reator AnSBBR (E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7).

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L⁻¹) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L⁻¹), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L⁻¹ e TC 24h; E6: ARF (5gCT L⁻¹), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L⁻¹ e TC 24h.

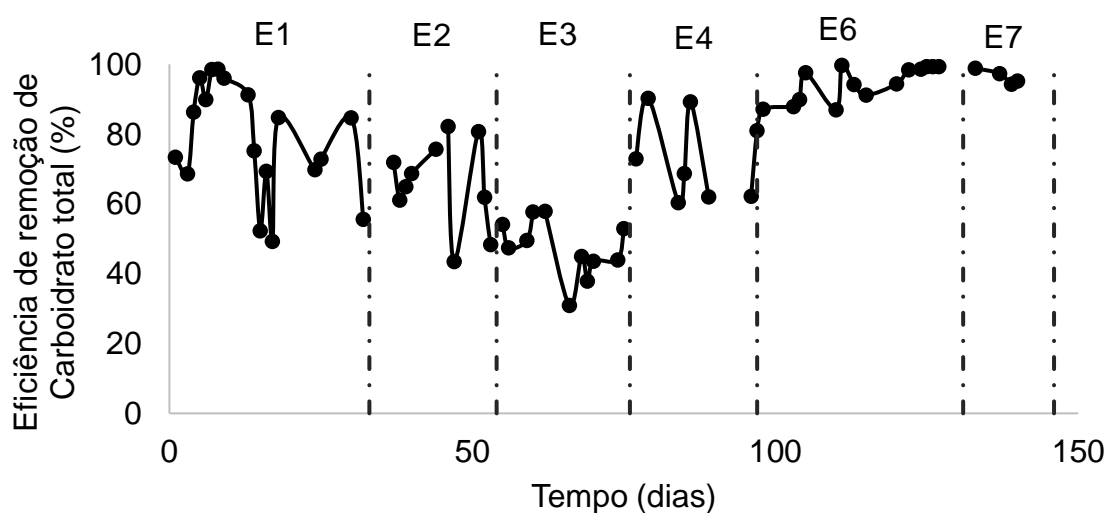
Com a análise dos sólidos suspensos voláteis é possível estimar a concentração de microrganismos presentes no efluente do reator. Diante disso, as concentrações de SSV foram inferiores a 1,0 gSSV L⁻¹, exceto no ensaio E7 que resultou valor médio de 2,2 gSSV L⁻¹, sendo que no E7 foi adicionado BM *in natura* com ARF, demonstrando maiores concentrações de carga orgânica aplicada (6,0 gCT L⁻¹d⁻¹), juntamente com a quantidade de BM.

5.2.1.1 Eficiência de remoção de matéria orgânica no AnSBBR

A eficiência de remoção de DQO geralmente é baixa em reatores acidogênicos, uma vez que a matéria orgânica é convertida em produtos do metabolismo

intermediário, como ácidos orgânicos voláteis e álcoois, que permanecem no sistema (SÁ et al., 2014). Em contrapartida, a eficiência de remoção de carboidratos totais indica que houve degradação parcial da matéria orgânica presente no substrato, visto que os carboidratos são substratos preferenciais para os microrganismos produtores de hidrogênio (DAMASCENO et al., 2003; CHAVADEJ et al., 2019) e a ARF é rica em carboidratos prontamente disponíveis, como também o BM que há em sua composição de amido e que pode ser consumido e convertido em hidrogênio. Na Figura 19 a-b, é apresentada a eficiência de remoção de matéria orgânica na forma de carboidratos totais e DQO nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7.

a)



b)

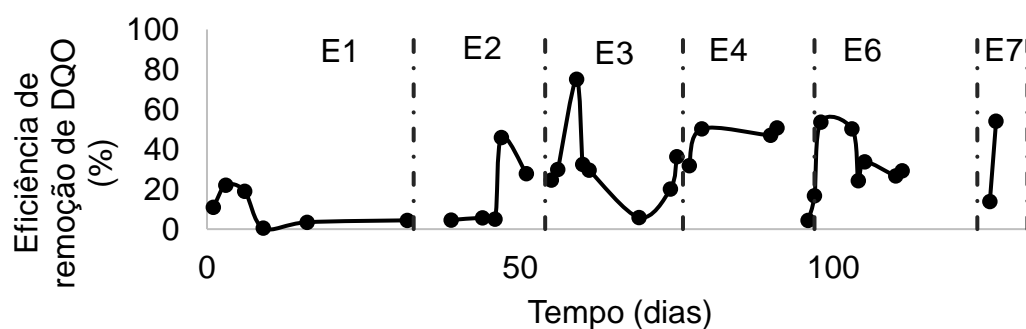


Figura 19 Eficiência de remoção de matéria orgânica: a) na forma de carboidrato total e b) na forma de DQO, nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 no reator AnSBBR.

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L⁻¹) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L⁻¹), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L⁻¹), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L⁻¹ e TC 24h; E6: ARF (5gCT L⁻¹), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L⁻¹ e TC 24h.

Os valores com maior eficiência de remoção de carboidrato total foram nos ensaios E6 e E7, com médias de 91,73% e 96,43%, respectivamente, visto que nestes ensaios foram utilizados BM *in natura* com ARF, com cargas de 2,51 e 6,16 gCarb L⁻¹ d⁻¹ e concentrações de afluente de 5,0 e 13,0 gCT L⁻¹, respectivamente. Tais valores indicam que o amido e o carboidrato foram degradados. Entretanto, nos ensaios E1, E2, E3 e E4 os resultados obtidos foram inferiores a 90%.

No ensaio E5, não houve eficiência de remoção de carboidratos e nem de DQO, pois o BM *in natura* foi introduzido uma vez só no reator a fim de produzir hidrogênio sem nenhuma outra fonte de carboidrato e sua alimentação foi com SN.

5.2.2 Desempenho do reator em relação à produção de hidrogênio no AnSBBR

Os resultados dos parâmetros operacionais em relação à produção de hidrogênio e seus respectivos valores médios (N, PrM, PrME, RMCA, RMCR, PVH e PVB), composição do biogás nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7, estão apresentados na Tabela 19. Nota-se que os valores das variáveis PVH, PVB e PrM foram influenciados pela quantidade de bagaço de mandioca adicionada, o modo de introduzir o substrato (BM), o tempo de detenção hidráulica e além da adição de outros substratos no afluente. Os maiores valores foram obtidos nos ensaios E1, E2 e E3. Para os ensaios E4, E5, E6 e E7, essas variáveis apresentaram valores muito reduzidos, indicando que a quantidade ou o modo que foi introduzido o substrato desses ensaios pode ter causado inibição aos microrganismos presentes no meio, visto que no E4 foi adicionada uma quantidade de carga orgânica inferior de BM_{trit} (concentração de 1,2gSTV L⁻¹), SN com alimentação gradual do meio suporte e TC 6h; E5: SN, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E6: ARF (5gCT L⁻¹), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, e TC 24h; E7: ARF (12gCT L⁻¹), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte e TC 24h.

Tabela 16 Parâmetros operacionais dos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 operados no reator AnSBBR

Parâmetro	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	
N (molH ₂ .d ⁻¹)	1,09	0,75	0,76	0	0,02	0,39	0,10	
PrM (molH ₂ .m ⁻³ .d ⁻¹)	253,23	189,22	190,39	0,023	5,46	84,65	25,63	
RMCA (molH ₂ .kg ⁻¹ Carb)	27,23	15,39	33,83	0,83	0	32,20	7,67	
PVH (LH ₂ .L ⁻¹ .d ⁻¹)	0,58	0,51	0,56	0	0,001	0,158	0,04	
PVB (Lbiogás.L ⁻¹ .d ⁻¹)	2,23	2,63	1,81	0,54	0,01	1,22	0,49	
Composição do biogás*	H2%	25,11	12,24	20,85	0,08	8,86	5,12	8,55
	CO2 (%)	74,89	87,76	81,75	99,92	91,14	94,88	91,45

Nota: Valores máximos; *Valores médios. N: Quantidade molar de hidrogênio. PrM: Produtividade molar volumétrica. RMCA: Volume de hidrogênio em relação à carga aplicada; PVH: Produção volumétrica de hidrogênio; PVB: Produção volumétrica de biogás.

Legenda: E1: com SN, sacarose (5gCT L-1) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose (5gCT L-1), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose (5gCT L-1), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) (1,2gSTV L-1), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de 58gSTV L-1 e TC 24h; E6: ARF (5gCT L-1), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de 12gCT L-1 e TC 24h.

O biogás foi constituído por frações de H_2 menor que de CO_2 , atingindo no máximo 25,11% de H_2 no ensaio E1 (pouca quantidade de BM e alimentado com sacarose na SN). Em nenhum dos ensaios houve produção de metano (CH_4). O modo que foi introduzido o bagaço de mandioca afetou negativamente a produção de hidrogênio, como pode ser observada a redução no teor de porcentagem de H_2 no ensaio E4, que resultou em 0,08%. Esse ensaio foi alimentado com o BM, uma fonte de carbono juntamente com SN. Outro ensaio que operou com apenas uma fonte de carbono, o ensaio E5, mas com o BM *in natura* e direto no reator, resultou em uma porcentagem de hidrogênio 8 vezes maior que a do ensaio E4. Em contrapartida, comparando-se os ensaios E5 e E7, com a adição de outra fonte de carbono (ARF) com uma carga de $12gCT L^{-1}$, a composição de hidrogênio foi semelhante.

Na Figura 20, são apresentados os perfis de produção volumétrica e rendimento de hidrogênio por carga aplicada ao reator, ao longo dos ensaios. O comportamento observado para a produção volumétrica de hidrogênio assemelha-se ao observado para o rendimento de carga aplicada.

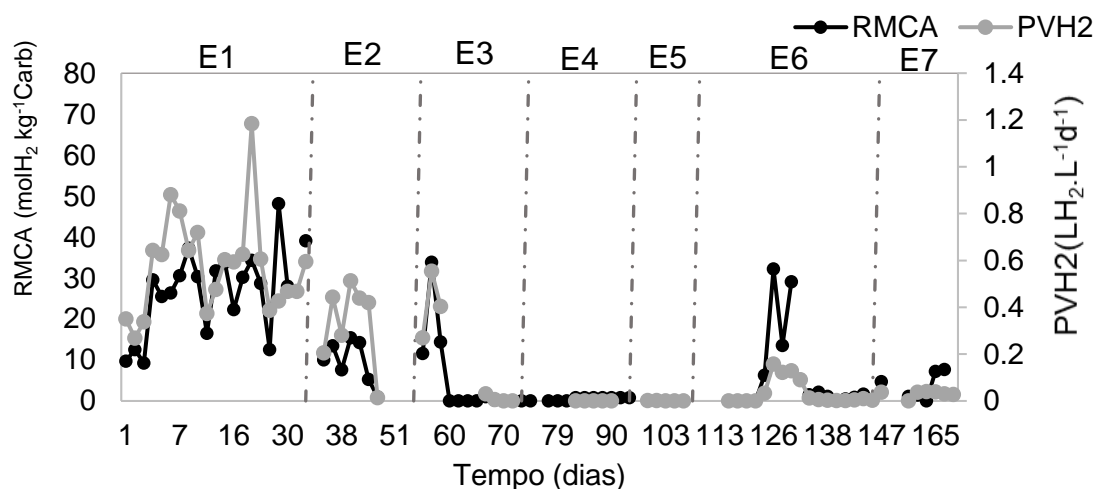


Figura 20 Produção volumétrica (PVH2) e rendimento (RMCA) de hidrogênio ao longo dos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 no reator AnSBBR.

Legenda: E1: com SN, sacarose ($5gCT L^{-1}$) 6/94 de BM (triturado) e meio suporte MS e TC 6h; E2: SN com sacarose ($5gCT L^{-1}$), 100/0 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E3: SN com sacarose ($5gCT L^{-1}$), 40/60 de BM (quebrado) e meio suporte MS e TC 6h; E4: SN com alimentação gradual do BM (triturado) ($1,2gSTV L^{-1}$), meio suporte MS e TC 6h; E5: 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração do BM de $58gSTV L^{-1}$ e TC 24h; E6: ARF ($5gCT L^{-1}$), 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS e TC 24h; E7: ARF, 50/50 de BM (*in natura*) e meio suporte MS, concentração de $12gCT L^{-1}$ e TC 24h.

O BM seco foi fornecido uma única vez dentro do reator e alimentado com SN com sacarose (Ensaio E1), atingindo valor máximo de produção volumétrica de $1,18 LH_2 L^{-1} d^{-1}$, em comparação com os ensaios E2 e E3, que operaram na mesma

condição que o E1, porém com quantidades de BM diferentes (E2: só BM seco, e E3: 40/60 de BM e meio suporte, no cesto). Esse resultado demonstrou que valores maiores de BM não obtiveram diferença entre os resultados de produção volumétrica (0,51 e 0,56 $\text{LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, E2 e E3, respectivamente).

A produção volumétrica de apenas uma única fonte de substrato (E4 e E5), sendo BMtrít ou BM *in natura*, alcançou resultados próximos a 0 $\text{LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Os ensaios E6 e E7 também apresentaram comportamento semelhante aos ensaios anteriores (E4 e E5), mas a partir da codigestão de ARF com BM *in natura*. Tal comportamento pode estar associado ao BM adicionado no sistema desses ensaios (E4 a E7) que, provavelmente, influenciaram os microrganismos produtores de hidrogênio, provavelmente inibindo o processo.

O rendimento de hidrogênio por carga aplicada nos ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 foi de 27,32, 8,90, 4,69, 0,83, 5,87 e 4,08 $\text{molH}_2 \text{ kg}^{-1}\text{Carb}$, respectivamente (Figura 21), em especial, com a menor quantidade de BM adicionado no sistema (E1) e concentração de 5 $\text{gCarb L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, foi obtida máxima de RMCA. Manssouri et al. (2013) e Inoue et al. (2014) estudaram a produção de hidrogênio a partir da solução de nutriente com sacarose em um AnSBBR com COV acima de 9,0 até 27,0 $\text{gDQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e TDH de 4 e 2 h e observaram que a estratégia de alimentação e as cargas orgânicas mais elevadas produziram um efeito significativo na produção de bio-hidrogênio, alcançando uma produção diária de hidrogênio de 33,3 – 54,9 $\text{mol H}_2 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, quando adicionaram carga orgânica de 12,5 - 13,5 $\text{gCarb L}^{-1}\text{d}^{-1}$ e os maiores rendimentos por carga aplicada foi de 2,8 e 4,0 $\text{molH}_2 \text{ kgSac}^{-1}$, respectivamente.

Há estudos na literatura que discutem limitações ocasionadas por alterações de TDH que reduzem os teores de hidrogênio no gás, pois alteram a comunidade microbiana, causando a substituição de bactérias produtoras de hidrogênios por microrganismos consumidores de hidrogênio (PARK et al., 2019; CASTELLÓ et al., 2020).

Andreani et al. (2019), analisaram a produção de hidrogênio na ARF em um reator AnSBBR e verificaram redução de 2,4 $\text{LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para 0,45 $\text{LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ com o tempo de ciclo de 4 h para 2 h, possivelmente associada à produção de metabólitos intermediários e proliferação de bactérias produtoras do ácido lático. Corbari et al. (2019) verificaram aumento na produção e rendimento de hidrogênio de 229 $\text{mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e 0,2 $\text{molH}_2 \text{ molCarb}^{-1}$ para 467 $\text{mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e 0,3 $\text{molH}_2 \text{ molCarb}^{-1}$, respectivamente, com a redução do tempo de ciclo de 4 h para 2 h em um UAFBR.

Rosa et al. (2014) avaliaram o tempo de detenção hidráulica na produção de hidrogênio em reator de leito fluidificado a partir da mistura da ARF com glicose. Os

autores obtiveram melhores produções de hidrogênio em TC de 4 e 2 h, 0,46 e 2,9 $\text{LH}_2 \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectivamente.

Os resultados nos ensaios E6 e E7 operaram em TDH 24 h, entretanto com efluente real ARF, com BM *in natura*. Notou-se que foi inferior aos reportados na literatura com ARF, o que possivelmente se deve a alguns fatores, como: i) o BM *in natura* pode ter influenciado por não conter substrato suficiente, além de inibir os microrganismos produtores de hidrogênio; ii) a sacarose presente no afluente (ensaios com codigestão – E1, E2, E3, E6 e E7), foi consumida rapidamente e convertida em subprodutos da digestão nas primeiras horas da condição.

A presença de bactérias lácticas, como microrganismos competidores, está entre os fatores que podem prejudicar a produção de hidrogênio quando a ARF é utilizada como substrato, por competirem com bactérias produtoras de hidrogênio (NOIKE et al., 2002; LACERDA et al., 2005; ROSA et al., 2016; ANDREANI et al., 2019). Neste estudo, o ensaio E6 apresentou uma quantidade de HLa alta nos primeiros dias (representando 97% dos metabólitos presentes) e pode ter influenciado a baixa produção de hidrogênio.

No ensaio E2 foi adicionado BM seco e quebrado sem nenhum outro meio suporte, com objetivo de usar materiais orgânicos e lignocelulósicos como materiais suporte para os microrganismos aderirem, a fim de que fossem codigeridos durante a fermentação. Nota-se que os valores obtidos para o rendimento e a produção de hidrogênio foram maiores (Figura 21) que os ensaios E3 e E4, pois esses ensaios utilizaram BM seco juntamente com meio suporte de polietileno.

Há uma lacuna na literatura sobre o uso de materiais semelhantes ao bagaço de mandioca como material suporte em experimentos com longos tempos de duração. Na literatura, os estudos que abordaram a fermentação de ARF e SN com imobilização celular utilizaram aparatos de polietileno (TORRES et al., 2017; TONELLO et al., 2018; ANDREANI et al., 2019; CORBARI et al., 2019), materiais naturais como bambu (ANDREANI et al., 2015; TORRES et al., 2017), esponja vegetal, argila expandida (CHANG; LEE; LIN, 2002), ágar, vidro e polímeros sintéticos (SATAR et al., 2017).

Liu et al. (2019) avaliaram quatro bateladas para coproduzir hidrogênio e butanol a partir de solução de nutriente com glicose com concentração de 60 g L^{-1} e avaliar a composição do bagaço de cana-de-açúcar por meio de imobilização de biomassa em um ASBR. Verificaram alteração na composição do material suporte em um período de 3 dias e produtividade de hidrogênio de até $9,67 \text{ LH}_2 \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$.

Plangklang et al. (2012) avaliaram a imobilização celular no bagaço de cana de açúcar, utilizando solução de nutriente com sacarose em 5 bateladas com concentrações de 25 gL^{-1} em um período de 24 h. Verificaram máximas de PVH_2 e rendimento de H_2 de $3,06 \text{ LH}_2 \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ e $1,34 \text{ molH}_2 \text{ molCarb}^{-1}$, respectivamente.

Diante do resultado da Fase II, a condição E1 foi a que apresentou melhores resultados (BM seco e alimentado com SN, COV 9,3 gCarb L⁻¹ d⁻¹ e TDH 6h), com 1,18 LH₂ L⁻¹ d⁻¹, promovendo uma taxa de produção de energia de 12,74 kJ L⁻¹ d⁻¹.

5.2.3 Considerações finais da Fase II

O ensaio E1 (9,3 gCarb L⁻¹d⁻¹ e TC de 6 h) com BM seco e quebrado, adicionado uma única vez a quantidade de 6/94 m.m⁻¹ de BM/MS, alimentado com SN com sacarose de substrato, apresentou maior produtividade volumétrica (1,18 LH₂ L⁻¹ d⁻¹). Assim, como nos ensaios em bateladas (Fase I), observou-se predominância da rota metabólica de ácido acético, representando a maior parte dos metabólitos gerados na fermentação da ARF. Por outro lado, a adição em maiores quantidades de BM *in natura* ou BM seco não favoreceu os microrganismos produtores de hidrogênio, contribuindo para a redução na produção de hidrogênio.

5.3 FASE III: produção de hidrogênio com inóculo advindo da microbiota nativa do bagaço de mandioca

Na terceira Fase foram avaliados ensaios em bateladas, sendo os ensaios: BA11: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARS e sacarose; BA12: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARF; BA13: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARS e sacarose; BA14: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARF; BA15: inóculo da microbiota aclimatada do BM com ARS e sacarose. Avaliando em reator acidogênico AnSBBR (E8) com a microbiota nativa do bagaço de mandioca, juntamente com efluentes real e sintético.

5.3.1 Bateladas com microbiota nativa do bagaço de mandioca sobre a produção de hidrogênio

Na Tabela 17 são apresentados os dados de desempenho das bateladas BA11, BA12, BA13, BA14 e BA15, referentes ao pH, à concentração de sólidos totais, voláteis totais e suspensos totais, metabólitos intermediários, concentração de carboidratos e DQO do efluente.

O pH do efluente variou de 4,13 a 4,45 e a concentração de carboidrato variou de 6,9 a 3,9 g L⁻¹. Nota-se que a concentração final de carboidratos foi maior para as bateladas BA11 e BA12 (6,9 e 6,4 g L⁻¹), devido à adição do BM *in natura* juntamente com o BM autofermentado, que pode ter influenciado a liberação de carboidratos no meio. Por outro lado, o BA11 não adicionou sacarose ou outra fonte de substrato e apresentou maior valor de concentração de carboidrato. Isso mostra que ainda havia carboidratos para os microrganismos consumirem no meio. Já ao BA12 foi adicionado 5,0 g Carb L⁻¹ de ARF, juntamente com o BM autofermentado e o BM *in natura*. Comparando-se BA11 e BA12, nota-se que, independente da adição de outra fonte de carboidrato, permaneceu semelhante a concentração de carboidrato no efluente.

Tabela 17 Resultados dos parâmetros de desempenho das bateladas realizadas com inóculo oriundo do BM autofermentado

Bateladas		BA11	BA12	BA13	BA14
pH (u)		4,18	4,45	4,3	4,13
Acidez volátil (mg HAc L ⁻¹)		1050	1752	1158	1782
Metabólitos intermediários (mg.L ⁻¹)	HAc	169,14	115,23	144,12	187,40
	HBu	114,65	104,83	80,59	92,93
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)		9973	11821	7240	10050
Sólidos totais voláteis (mg.L ⁻¹)		8131	9006	5163	7164
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)		7916	11472	2789	5268
Carboidratos (mg L ⁻¹)		6923,48	6408,87	4360,05	5030,96
DQO (mg L ⁻¹)		12221,51	12378,37	11473,38	11479,42
PAB (mL)		169,90	99,19	134,22	97,69
PAH2 (mL)		24,03	0,06	12,38	0,01

Nota: Valores médios. PAB: produção acumulada de biogás. PAH2: produção acumulada de hidrogênio.

Legenda: BA11: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARS e sacarose; BA12: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARF; BA13: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARS e sacarose; BA14: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARF; BA15: inóculo da microbiota aclimatada do BM com ARS e sacarose.

Na batelada BA15, adicionou BM autofermentado com ARS sem sacarose, considerando como uma batelada controle, para poder comparação com as demais e analisar melhor o BM autofermentado em relação aos parâmetros.

Em relação aos resultados dos parâmetros de metabólitos intermediários, nas bateladas realizadas apresentaram apenas ácido acético e ácido butírico em seus efluentes com maiores concentrações de ácido acético nas bateladas BA11 e BA14 (169,14 e 187,40 mg L⁻¹, respectivamente). Nesses ensaios em bateladas, adicionou-se o inóculo da microbiota nativa do BM com BM *in natura* e ARS sem sacarose, e BMtrit com ARF, BA11 e BA14, respectivamente, possivelmente tais valores de ácido acético foram influenciados na batelada BA11 pela adição da sacarose e na BA14 pela ARF.

As bateladas BA11 e a BA12, adicionaram inóculo da microbiota nativa do BM e BM *in natura*, e diferem por uma adicionar ARS com sacarose e a outra ARF. Nota-se que os resultados dos parâmetros de desempenho foram semelhantes, não tendo diferença nessas bateladas (BA11 e BA12). Os resultados dos parâmetros de desempenho das bateladas BA13 e BA14, foram similares aos das primeiras bateladas (BA11 e BA12), vistos que as BA13 e BA14, também adicionaram ARS com sacarose e ARF, respectivamente, mas utilizaram BMtrit. Esses comportamentos podem estar associados com o inóculo de todas as bateladas e suas cargas orgânicas semelhantes, visto que as concentrações foram de 4,72 gSTV L⁻¹ (somatório de sólidos totais voláteis adicionados nas bateladas com ARS com sacarose, mais BM e MBA - inóculo da microbiota nativa do BM), e 5,66 gSTV L⁻¹ (somatório de sólidos totais voláteis adicionados nas bateladas com ARF, mais BM e MBA - inóculo da microbiota nativa do BM).

As Figuras 21 a-b apresentam a porcentagem de hidrogênio e CO₂, e a produção volumétrica de hidrogênio acumulada. Em média, a concentração de hidrogênio no biogás representou 20%, 0,01%, 12%, 0,01% e 2% para as bateladas BA11, BA12, BA13, BA14 e BA15, respectivamente. Não foi verificada a presença de metano no biogás. A produção volumétrica acumulada de hidrogênio para cada batelada foi de 24,03, 0,06, 12,38, 0,015 e 0,22 mLH₂, respectivamente nas bateladas BA11, BA12, BA13, BA14 e BA15. Pode-se notar que houve uma redução na produção de hidrogênio quando foi adicionada ARF (BA12 e BA14). Tais valores estão associados com culturas mistas presentes no ARF, que podem inibir a produção de hidrogênio. Na literatura, reporta-se que há microrganismos competidores presentes na ARF, que prejudicam a produção de hidrogênio (LACERDA et al., 2005; ROSA et al., 2016; ANDREANI et al., 2019).

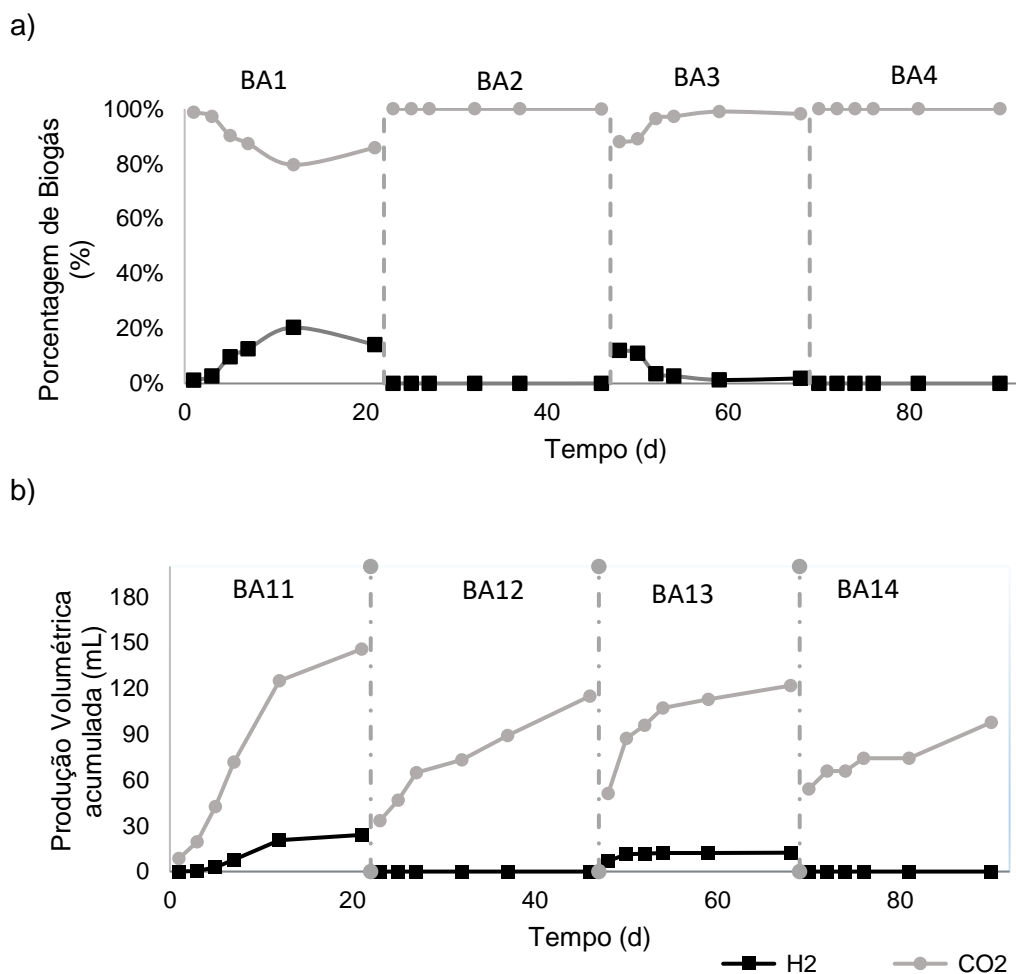


Figura 21 Valores médios de hidrogênio (H₂) (-■-) e dióxido de carbono (CO₂) (-●-). a) Percentagem de biogás e b) produção volumétrica acumulada de hidrogênio e CO₂ no biogás nas bateladas.

Legenda: BA11: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARS e sacarose; BA12: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARF; BA13: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARS e sacarose; BA14: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARF; BA15: inóculo da microbiota aclimatada do BM com solução de nutrientes.

Nas bateladas BA11 e BA13, foram observadas as maiores produções volumétricas acumuladas de hidrogênio (24,03 e 12,38 mL H₂, respectivamente). Tais resultados foram inferiores aos da literatura que atingiram faixas entre 50 e 95 mL H₂ (LIN et al., 2007). Lin et al. (2007) avaliaram a produção de hidrogênio em teste de potencial bioquímico de hidrogênio (BHP), com glicose de meio de substrato e em culturas puras. Essa diferença pode estar relacionada à presença de outros microrganismos competidores de hidrogênio, por ser uma cultura mista presente nas bateladas. Para Tena, Perez e Solera (2019), a produção volumétrica acumulada foi de 391 e 298 mL H₂ em bateladas, a partir de codigestão de lodo com água residuária do processamento de vinho e com lodo acidogênico juntamente com água residuária de vinho, que foram utilizados como substratos em potencial bioquímico de hidrogênio. No

presente estudo, o fator de interferência foi a fermentação do BM para ativar a microbiota nativa que se manteve abaixo do relatado pela literatura, pois utilizam a codigestão de resíduos, que é uma cultura mista e pode inibir esse processo.

Os resultados de rendimento de hidrogênio por carga aplicada, em termos de STV, nas bateladas foram obtidos a partir da produção volumétrica acumulada, conforme descrito na Tabela 18.

Tabela 18 Resultados de rendimento de hidrogênio por carga orgânica aplicada

Bateladas	RMCA (mLH ₂ gSTV ⁻¹)
BA11	6,08
BA12	0,01
BA13	2,18
BA14	0,00

Nota: RMCA: Volume de hidrogênio em relação à carga aplicada.

Legenda: BA11: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARS e sacarose; BA12: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BM *in natura* com ARF; BA13: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARS e sacarose; BA14: inóculo da microbiota aclimatada do BM, BMtrit com ARF; BA15: inóculo da microbiota aclimatada do BM com ARS e sacarose.

Os comportamentos observados para o parâmetro de RMCA, nas bateladas BA12 e BA14, foram muito semelhantes, resultando em valores próximos a zero. Tal comportamento pode estar associado à alimentação dessas bateladas, visto que em ambas as bateladas foi adicionada ARF, diferenciando-se com o BM *in natura* (BA12) e BMtrit (BA14), respectivamente. Nos ensaios BA11 e BA12, quando adicionaram ARS com sacarose, apresentaram resultados de aproximadamente de 6 e 2 mLH₂ gSTV⁻¹, respectivamente, nessas bateladas foram adicionadas BM *in natura* e BMtrit. Esses valores podem estar relacionados com a adição da solução de nutriente sem nenhuma outra interferência de culturas mistas inibitórias de produção de hidrogênio.

Comparando as bateladas realizadas neste estudo, bateladas utilizando inóculo tratado termicamente e o inóculo da microbiota nativa, a maior produção volumétrica acumulada de hidrogênio (84,71 mL H₂) foi no ensaio em batelada BA8 (Fase I – inóculo tratado termicamente com água residuária de fecularia juntamente com o farelo de mandioca seco e triturado); a maior PAH₂ (24 mLH₂), com inóculo da microbiota nativa, foi com BA11 (Adicionada BM *in natura* com ARS e sacarose), que produziu 3,5 vezes menos do que o inóculo de lodo de estação de tratamento de esgoto tratado termicamente, sendo mais viável a utilização desse inóculo ao invés de utilizar o inóculo da microbiota nativa, que pode até inibir a produção de hidrogênio.

5.3.2 Desempenho do reator: Avaliação Operacional e Produção de hidrogênio a partir do inóculo oriundo da microbiota nativa do BM

a) Desempenho do AnSBBR a partir do BM e a microbiota nativa

Na Tabela 19, são apresentados os dados de desempenho do AnSBBR, referentes à pH, acidez volátil, metabólitos intermediários, concentração da série de sólidos, remoção de DQO e carboidrato e carga orgânica volumétrica aplicada e removida.

Tabela 19 Desempenho do AnSBBR no ensaio com inóculo da microbiota nativa

Parâmetro	E8
pH efluente (u)	5,98
Acidez volátil (mg HAc.L ⁻¹)	2591,19
Sólidos totais (mg.L ⁻¹)	6081,73 ⁽¹³⁾
Sólidos voláteis totais (mg.L ⁻¹)	3729,80 ⁽¹³⁾
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)	708,31 ⁽¹³⁾
Sólidos suspensos voláteis (mg.L ⁻¹)	649,77 ⁽¹³⁾
Remoção de DQO (εSF%)	31,50 ⁽⁹⁾
Remoção de carboidratos (εCF%)	93,76 ⁽¹²⁾
COVA (gCarb.L ⁻¹ .d ⁻¹)	2,14 ⁽¹²⁾
**COVA (gSTV.L ⁻¹ .d ⁻¹)	4,76

Notas: *Os valores entre parênteses indicam o número de amostras utilizadas no cálculo da média; **Calculado a partir do SVT do afluente; COVA: Carga orgânica volumétrica aplicada.

Legenda: E8: inóculo aclimatado da microbiota nativa do BM com BM *in natura* e ARF.

O pH neste ensaio resultou em uma faixa de 5,98, permanecendo relativamente estável durante a experimentação. Não houve variações bruscas de pH, demonstrando que o ensaio foi capaz de se autorregular para favorecer a atividade microbiana (ZAHED et al., 2016). A concentração de sólidos totais e sólidos voláteis totais resultou em 6,0 e 3,7 g L⁻¹, respectivamente, cujo valores indicam um baixo teor de sólidos voláteis totais no efluente a partir da codigestão de BM e ARF. Tena, Perez e Solera (2019) reportaram uma concentração de sólidos totais e sólidos totais voláteis de 34,99 e 27,67 g L⁻¹ quando adicionaram o inóculo acidogênico e o resíduo de vinícola, em reator batelada.

A eficiência de remoção de DQO foi em média de 31,5% no ensaio durante o tempo de operação. Silvia et al. (2017) e Silva et al. (2018) relataram que a remoção de DQO foi inferior a 20%, ao testarem a codigestão de resíduos alimentares, lodo de esgoto e glicerol bruto. Yang e Wang (2017) verificaram que a remoção de DQO foi inferior a 31,3 % e afirmam que a quantidade de bactérias que hidrolisam alguns determinados compostos orgânicos é inversamente proporcional à quantidade de compostos orgânicos solúveis para a produção de hidrogênio. Torquato et al. (2017)

obtiveram uma remoção de DQO de 41% na codigestão de águas residuárias da indústria de citros e vinhaça para a produção de hidrogênio. Por outro lado, a eficiência de remoção de carboidrato atingiu 93%, indicando que o tempo que o substrato permaneceu no AnSBBR foi suficiente para promover a degradação dos carboidratos.

Com relação aos metabólitos intermediários, uma grande quantidade de AGV foi produzida durante o teste. Ao final da condição, os ácidos dominantes foram butírico, acético, propiônico, fórmico e, por fim, uma quantidade menor de ácido láctico, conforme apresentado na Figura 22.

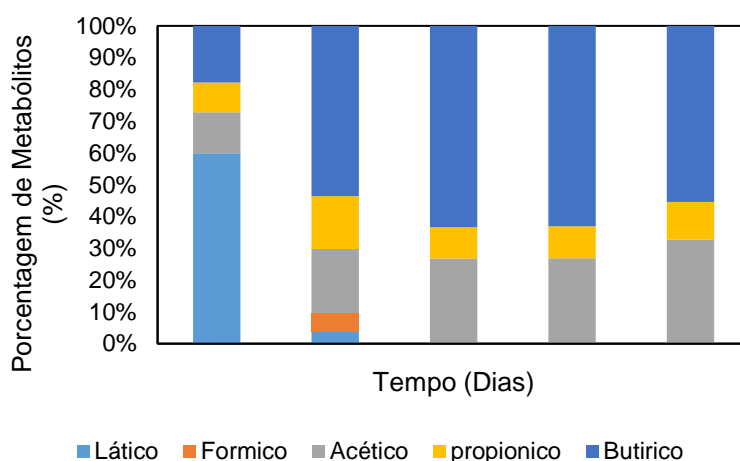


Figura 22 Metabólitos intermediários no ensaio E8.

Legenda: E8: inóculo aclimatado da microbiota nativa do BM com BM *in natura* e ARF.

Geralmente, a produção de hidrogênio via fermentação escura produz ácidos acético e butírico como subprodutos (NUALSRI et al., 2016). O ácido butírico foi predominante na condição testada, obtendo-se uma concentração de $1,6 \text{ g L}^{-1}$. Silva et al. (2017) consideram que a formação de ácido butírico é uma das vias mais eficazes para a produção de hidrogênio. Por outro lado, no início do processo houve uma produção de ácido láctico, representando 60% dos metabólitos formados. Tonello et al. (2018) e Andreani et al. (2019) citam que o ácido acético pode ser gerado no reator, pois pode ser proveniente do substrato ARF quanto do inóculo.

b) Efeito da adição do bagaço de mandioca na produção de hidrogênio no reator AnSBBR

Em média, a concentração de hidrogênio representou 9,75%, alcançando teores máximos de 20,65% no quinto dia de condição (Dia 5). Não foi verificada a presença de metano no biogás, sugerindo que o tratamento do BM para ativar a microbiota nativa e a condição operacional foram efetivos no controle dos microrganismos consumidores

de hidrogênio. O rendimento médio de hidrogênio por carga aplicada foi de $0,01 \text{ molH}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ Carb}$, enquanto a produção volumétrica média de hidrogênio foi de $0,062 \text{ LH}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ com produção máxima de hidrogênio de $178,40 \text{ mLH}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, conforme a Figura 23.

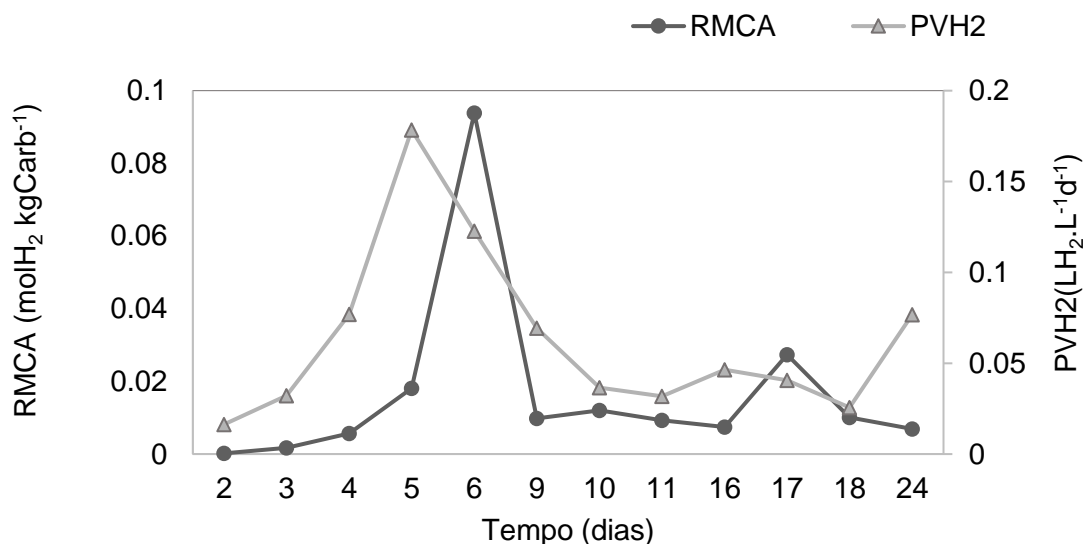


Figura 23 Rendimento de hidrogênio por carga aplicada e a produtividade volumétrica de hidrogênio no ensaio E8.

Legenda: E8: inóculo aclimatado da microbiota nativa do BM com BM *in natura* e ARF.

Inicialmente houve uma produção de 60% de ácido láctico na primeira semana; na semana seguinte obteve-se maior produção de ácidos acético (27%) e butírico (55%), coincidindo com o período de máxima produção volumétrica de hidrogênio. O ácido láctico pode ainda ser metabolizado por várias espécies bacterianas para formar ácido acético, etanol, CO_2 e hidrogênio sob condições anaeróbias (SAADY, 2011), o que poderia explicar em parte as quantidades observadas dos principais metabolitos em relação à produção volumétrica de hidrogênio neste período.

Observou-se que a redução de hidrogênio no ensaio produziu um aumento progressivo de ácido butírico durante o período do ensaio (de 18% para, aproximadamente, 60%). Louis e Flint (2009) mostraram que o ácido láctico produzido por bactérias lácticas pode ser usado por algumas bactérias estritamente anaeróbias, produtoras de butirato, na produção de altas concentrações de ácido butírico, interferindo na produção de hidrogênio.

Comparando os valores obtidos para a produção volumétrica e do rendimento de hidrogênio (Figura 23), nota-se que os maiores valores foram observados no período inicial. Wang et al. (2013) analisaram a codigestão da ARF e da biomassa de mandioca (7:1) em um reator de fluxo ascendente e verificaram uma produção de hidrogênio de

0,73 $\text{LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ nas 48 h iniciais. Batista et al. (2018) operaram reator anaeróbio de leito fluidificado, sequenciado por um reator anaeróbio de leito fixo alimentados com efluentes de suinocultura e ARF, verificaram maiores produções volumétricas de hidrogênio na primeira semana de operação com maior concentração de resíduo de suinocultura de 12 h.

Materiais orgânicos e lignocelulósicos usados como material suporte e ativação de microbiota nativa oferecem a possibilidade de serem codigeridos durante o processo de fermentação. Os estudos referentes ainda são preliminares, principalmente para operação de sistemas contínuos e para produção de bioenergias.

Valdez-Vazquez et al. (2020) avaliaram o pré-tratamento biológico com microbiota nativa do bagaço de Agave para a produção de metano. Tanto o bagaço de Agave quanto o BM são materiais ricos em carboidratos e liberam em seu processo de fermentação concentrações de ácidos graxos voláteis que são vias metabólicas para a produção de hidrogênio. Entretanto, há uma lacuna na literatura sobre o uso de materiais semelhantes ao bagaço de mandioca como material suporte, como ativação de microbiota nativa em experimentos com longa duração, em estudos que tenham avaliado a imobilização de cana de açúcar, utilizando solução de nutriente com sacarose e com glicose para a produção de hidrogênio (PLANGKLANG et al., 2012; LIU et al., 2019).

Comparando o ensaio E8, que obteve resultados máximos de produção volumétrica de hidrogênio nos primeiros dias ($0,178 \text{ LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), com o ensaio E6, que foi conduzido de modo semelhante à condição do ensaio E8, porém usou inóculo tratado termicamente da estação de tratamento de esgoto e a máxima produção volumétrica foi de $0,158 \text{ LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Fase II, item 5.1.2). Ainda, foi possível observar que ambos os ensaios do reator resultaram em valores semelhantes de produção volumétrica de hidrogênio, resultando que, independentemente do tipo de inóculo, nessas condições (codigestão de BM *in natura* com ARF), não há diferença nos resultados de produção volumétrica de hidrogênio.

5.3.3 Considerações finais da fase III

A batelada B11 com a microbiota nativa do BM e com solução de nutriente (sem fonte de carbono) apresentou a maior produção volumétrica acumulada (24 mLH_2), 3,5 vezes menor do que o inóculo de lodo de estação de tratamento de esgoto tratado termicamente. As bateladas preliminares apresentaram apenas os ácidos acético e butírico nos metabólitos intermediários, diferente das bateladas preliminares da Fase I.

Essa rota pode ter favorecido a degradação da estrutura do bagaço de mandioca e aumentando o substrato para os microrganismos.

O ensaio E8 (inóculo da microbiota nativa do BM juntamente com BM *in natura* e alimentado com ARF) atingiu máxima produção volumétrica de hidrogênio nos primeiros dias ($0,178 \text{ LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e rendimento de $0,09 \text{ molH}_2 \text{ kgCarb}^{-1}$. O incremento dessa biomassa no AnSBBR pode ter contribuído para a redução na produção de hidrogênio ($0,02 \text{ LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), observado ao final deste ensaio. Comparando com ensaio E6 (inóculo com BM *in natura* e ARF) não houve muita diferença nos resultados de produção volumétrica de hidrogênio ($0,158 \text{ LH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Diante do melhor resultado o E8 proveu uma taxa de produção energética de $1,83 \text{ kJ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e o ensaio E6 (Fase II) resultou em $1,70 \text{ kJ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

A partir da água residuária de fecularia de mandioca a produtividade e o rendimento variaram em função da configuração do reator e as condições operacionais impostas ao sistema, além disso pode variar a origem do substrato e a adição de outro substrato presente no sistema (Tabela 20). Neste estudo, nota-se que foram apresentados alguns resultados semelhantes a outros que utilizaram apenas ARF como substrato; por outro lado, a adição do bagaço de mandioca resultou na produção de uma bioenergia limpa e renovável, gerando uma taxa de produção de energia de $12,74 \text{ kJ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$; O ensaio E6 (BM *in natura* com inóculo tratado termicamente com ARF) resultou em $1,70 \text{ kJ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e a Fase III (E8) com o inóculo da microbiota nativa do BM junto com BM *in natura* e ARF no reator proveu uma taxa de produção energética de $1,83 \text{ kJ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Tabela 20 Comparativo da produção de hidrogênio entre estudos que utilizaram vários substratos e várias configurações de reator

Reator	Substrato	COV (g L ⁻¹ d ⁻¹)	TDH (h)	pH	E Carb (%)	PVH (LH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹)	RMCA	Referência
AnSBBR	ARF ^a	14	4	6,0	88	0,7	0,86 mol kg ⁻¹ Carb	Andreani et al. (2019)
AnSBBR	ARF ^a	12	4	6,0	82	0,45	1,5 mol kg ⁻¹ Carb	Andreani et al. (2019)
AnSBBR	ARF ^a	13,5	4	4,63	97,7	0,86	2,24molH ₂ Kg ⁻¹ Carb	Tonello et al. (2018)
AnSBBR	ARS ^a	12,2	4	5,0	93	33,3**	2,8 molH ₂ Kg ⁻¹ Subst	Manssouri et al. (2013)
AnSBBR	ARS ^a	13,5	4	5,0	99	54,9**	4,0 molH ₂ Kg ⁻¹ Subst	Inoue et al. (2014)
UAFBR	ARF ^a	35	3	6,0	93	1,1	840 mL g ⁻¹ Carb	Andreani et al. (2015)
UAFBR	ARF ^a	20	2	6,0	88	0,55	0,3 mol mol ⁻¹ Carb	Corbari et al. (2019)
AFBR	ARF ^b	10	12	5,0	-	1,7	2,0 mmol g ⁻¹ DQO	Rosa et al. (2016)
UASB	ARF ^b	80	-	5,5	-	0,64	15 mL g ⁻¹ Carb	Chavadej et al. (2019)
AnSBBR	SN/BM ^a	9,3	6	4,4	76,4	0,58	27,32 mol kg ⁻¹ Carb	Este trabalho
AnSBBR	ARF/BM/MBA ^a	2,5	24	5,9	93,7	0,17	0,01 molH ₂ Kg ⁻¹ Carb	Este trabalho

^a Em termos de carboidratos (gCarb L⁻¹d⁻¹); ^b Em termos de DQO (gDQO L⁻¹d⁻¹);**(molH₂.m⁻³.d⁻¹). SN: solução de nutriente. ARS: Água residuária sintética. ARF: água residuária de fecularia. BM: Bagaço de mandioca. MBA: inóculo da microbiota nativa do bagaço de mandioca.

6. CONCLUSÕES

Baseando-se nos objetivos propostos e nos principais resultados do estudo de valorização energética dos resíduos do processamento de mandioca em reator anaeróbio, foi possível concluir que:

O ensaio BA4 da primeira etapa (Etapa I) das bateladas (inóculo tratado termicamente com solução de nutrientes e como fonte de carbono bagaço de mandioca triturado) apresentou a maior produtividade volumétrica acumulada (84,71 mL H₂). A maior produção volumétrica acumulada de hidrogênio foi observada no ensaio BA8 (inóculo tratado termicamente com água residuária de fecularia juntamente com o bagaço de mandioca seco e triturado).

O ensaio E1, na Etapa II, (9,3 gCarb L⁻¹d⁻¹ e TC de 6 h) com BM seco e com SN com sacarose, apresentou maior produtividade volumétrica (1,18 LH₂ L⁻¹ d⁻¹). A adição do BM *in natura* e BMtri não favoreceu os microrganismos produtores de hidrogênio, contribuindo para a redução na produção de hidrogênio.

A batelada B11, com microbiota nativa do BM com solução de nutriente, da Etapa III, apresentou a maior produção volumétrica acumulada (24 mLH₂). No ensaio E8 (inóculo da microbiota nativa do BM juntamente com BM *in natura* e alimentado com ARF), foram obtidos valores de produtividade volumétrica de hidrogênio máximos nos primeiros dias (0,178 LH₂ L⁻¹ d⁻¹) e rendimento de 0,09 molH₂ kgCarb⁻¹.

Por fim, os ensaios E8 e E6, operaram de forma semelhante, porém o que diferiu, foi que o ensaio E6 que usou inóculo tratado termicamente da estação de tratamento de esgoto e obteve a máxima produção volumétrica de 0,158 LH₂ L⁻¹ d⁻¹ (Fase II). Resultando que, para ambos os ensaios no reator, não houve diferença nos valores de produção volumétrica de hidrogênio.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das conclusões desta pesquisa, sobre a produção de hidrogênio a partir da codigestão de bagaço de mandioca e água residuária de fecularia utilizando o modelo de reator AnSBBR, há algumas recomendações e sugestões para trabalhos futuros podem ser úteis, principalmente as relacionadas à operacionalidade da etapa experimental:

- i. Análise microbiológica do reator AnSBBR: investigar a cultura presente dentro do reator e presente no bagaço de mandioca autofermentado em temperatura ambiente e a sua relação com a entrada constante de microrganismos da água residuária de fecularia, além da dinâmica de colonização do bagaço de mandioca *in natura*.
- ii. Realizar ensaios microbiológicos na determinação das concentrações de compostos inibidores de produção de hidrogênio: tendo em vista as implicações de compostos inibitórios no desenvolvimento dos microrganismos produtores de hidrogênio.
- iii. A utilização do bagaço de mandioca na produção de outros produtos de valor agregado: além da produção de bio-hidrogênio e biometano, o bagaço de mandioca demonstra potencial para ser empregado em processos fermentativos, tendo em vista que produtos do metabolismo intermediário, como o ácido lático, são de grande interesse comercial.

REFERÊNCIAS

- ACAR, C.; DINCER, I. Comparative assessment of hydrogen production methods from renewable and non-renewable sources. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p.1–12, 2014.
- AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S. A.; CASTRO, C. E. F. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas: Instituto Agronômico, 2014. 452 p. (Boletim IAC. 200).
- AKUTSU, Y., LI, Y. Y., HARADA, H., & YU, H. Q. Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch. **International Journal of Hydrogen Energy**, 34(6), p. 2558-2566, 2009.
- ALBANEZ, R.; CHIARANDA, B. C.; FERREIRA, R. G; FRANÇA, A. L. P. HONÓRIO, C. D.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIT, M. Anaerobic biological treatment of vinasse for environmental compliance and methane production. **Applied Biochemical Biotechnology**, v. 178, n. 1, p. 21-43. 2016.
- ALVAREZ-CHAVEZ, B. J.; GODBOUT, S.; PALACIOS-RIOS, J. H.; LE ROUX, É.; RAGHAVAN, V. Physical, chemical, thermal and biological pre-treatment technologies in fast pyrolysis to maximize bio-oil quality: a critical review. **Biomass and Bioenergy**, v. 128, p. 105-333. 2019.
- AMIN, F. R., KHALID, H., ZHANG, H., RAHMAN, S. U., ZHANG, R., LIU, G., & CHEN, C. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **Amb Express**, 7, p. 1-12, 2017.
- ANDREANI, C. L. **Avaliação de reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR), visando à produção de hidrogênio a partir de água residuária de fecularia de mandioca**. 2017. 85 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017.
- ANDREANI, C. L.; TONELLO, T. U.; MARI, A. G.; LEITE, L. C.; CAMPAÑA, H. D.; LOPES, D. D.; GOMES, S. D. Impact of operational conditions on development of the hydrogen-producing microbial consortium in an AnSBBR from cassava wastewater rich in lactic acid. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 3, p. 1474-1482. 2019.
- ANDREANI, C. L.; TORRES, D. G. B.; SCHULTZ, L.; CARVALHO, K.Q.; GOMES, S. D. Hydrogen production from cassava processing wastewater in na anaerobic fixed be reactor with bamboo as a support material. **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 35, p. 578-587, 2015.
- ANGELIDAKI, I., KARAKASHEV, D., BATSTONE, D. J., PLUGGE, C. M., & STAMS, A. J. Biomethanation and its potential. **In Methods in enzymology**, Vol. 494, pp. 327-351, 2011.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; American Water Works Association - AWWA; Water Pollution Control Federation – WPCF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington DC: Association, American Public Health, 2005.
- ARAÚJO, I. R. C. A.; GOMES, S. D.; TONELLO, T. U.; LUCAS, S. D. M.; MARI, A. G.; VARGAS, R. J. Methane production from cassava starch wastewater in packed-bed reactor and continuous flow. **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 38, n. 2, p. 270-276, 2018.

AROOJ, M. F., HAN, S. K., KIM, S. H., KIM, D. H., & SHIN, H. S. Continuous biohydrogen production in a CSTR using starch as a substrate. **International journal of hydrogen energy**, 33(13), p. 3289-3294, 2008.

ASSAWAMONGKHOLSIRI, T.; REUNGSANG, A.; PATTRA, S. Effect of acid, heat and combined acid-heat pretreatments of anaerobic sludge on hydrogen production by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 6146-6153, 2013.

ATALLA, R. H.; VANDERHART, D. L. Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. **Science**. v. 223, p. 283-285. 1984.

BAGLEY, D. M.; BRODKORB, T. S. Modelling microbial kinetics in an anaerobic sequencing batch reactor – model development and experimental validation. **Water Environmental Research**, v. 71, p. 1320-1332. 1999.

BAKONYI, P.; BORZA, B.; ORLOVITS, K.; SIMON, N.; NEMESTÓTHY, K.; BÉLAFI-BAKÓ, K. Fermentative hydrogen production by conventionally and unconventionally heat pretreated seed cultures: A comparative assessment. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 39, n. 11, p. 5589-5596. 2014.

BARROS, R. N.; SANTOS, M. D. S. M.; CARDOSO, C. A. L.; BATISTOTE, M. A utilização de resíduos agroindustriais para produção de bioetanol. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 31-43. 2019.

BATISTA, E. A., DOS SANTOS AMORIM, N. C., VALOURA, L. R., MACÊDO, W. V., & DE AMORIM, E. L. C. (Produção de bio-hidrogênio e metano por meio da codigestão de manipueira e dejetos suínos. *Revista DAE*, 66(213), p. 48-58, 2018.

BEHERA, S.; ARORA, R.; NANDHAGOPAL, N.; KUMAR, S. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 36, p. 91-106. 2014.

BOHN, C.; GEINETES, S.; OLIVEIRA, L.; MEES, J. B. R. Sugestões para implementação de produção mais limpa em fecularias de mandioca. In: INTERNATIONAL WORKSHOP. ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 4, 2013, São Paulo. **Anais...** São Paulo: UNIP, 2013. P.1-10.

CAPPELLETTI, B. M., REGINATTO, V., AMANTE, E. R., & ANTÔNIO, R. V. Fermentative production of hydrogen from cassava processing wastewater by *Clostridium acetobutylicum*. **Renewable Energy**, 36(12), 3367-3372. 2011.

CARVALHO, P. L. P. F.; SILVA, R. L.; BOTELHO, R. M.; DAMASCENO, F. M.; ROCHA, M. K. H. E.; PEZZATO, L. E. Nutritional value of root and leaves of cassava for Nile tilapia. **Boletim do Instituto de pesca**. v. 38, n. 1. p. 61-69, 2012.

CARVALHO, J. V. C.; JORGE, L. M.; FREITAS, J. D.; TERHAAG, M. M. Desenvolvimento e aceitabilidade de cookies formulados a partir de bagaço de mandioca. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 21, n. 3, p. 193-199, set./dez. 2017.

CASTELLÓ, E., FERRAZ-JUNIOR, A. D. N., ANDREANI, C., DEL PILAR ANZOLAROJAS, M., BORZACCONI, L., BUITRÓN, G., CARRILLO-REYES, J., GOMES, S.D., MAINTINGUER, S. I., MORENO-ANDRADE, I., PALOMO-BRIONES R., ELÍAS RAZO-FLORES. E., SCHIAPPACASSE-DASATI, M., TAPIA-VENEGAS E., VALDEZ-VÁZQUEZ, I., VESGA-BARON, A., ZAIAT, M., ETCHEBEHERE, C. Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: possible causes and solutions. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 119, p. 109602, 2020

CEREDA, M. P. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. p. 210-217.

CERQUEIRA, M. B. R.; DIAS, A. N.; CALDAS, S. S.; SANTANA, F. B.; D'OCA, M. G. M.; PRIMEL, E. G. Validação de método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes de reatores anaeróbios empregando cromatografia líquida. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p.156-159, 2011.

CHAIRATTANAMANOKORN, P., PENTHAMKEERATI, P., REUNGSANG, A., LO, Y. C., LU, W. B., & CHANG, J. S. Production of biohydrogen from hydrolyzed bagasse with thermally preheated sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, 34(18), 7612-7617. 2009.

CHANG, J. S., LEE, K. S.; LIN, P. J. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, n. 11-12, p. 1167-1174. 2002.

CHAVADEJ, S.; WANGMOR, T.; MAITRIWONG, K.; CHAICHIRAWIWAT, P.; RANGSUNVIGIT, P.; INTANOO, P. Separate production of hydrogen and methane from cassava wastewater with added cassava residue under a thermophilic temperature in relation to digestibility. **Journal of biotechnology**, v. 291, p. 61-71. 2019.

CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 57, p. 56-64, 2001.

CHEN, C. C.; LIN, C. Y. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 695-699, 2004.

CHEN, Y., YIN, Y., WANG, J., Influence of butyrate on fermentative hydrogen production and microbial community analysis. *Int J Hydrogen Energy*, v. 46, p. 26825, 2021.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de água residuárias, Reatores anaeróbios**. 2. ed. [S.I.]:UFMG, 2007.

COMPANT, S., SAMAD, A., FAIST, H., & SESSITSCH, A. A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of advanced research**, 19, p. 29-37, 2019.

CORBARI, S.D.M.L., ANDREANI, C.L., TORRES, D.G.B., ENG, F.; GOMES, S. D. Strategies to improve the biohydrogen production from cassava wastewater in fixed-bed reactors. **International Journal Hydrogen Energy**, v. 44, p. 17214-23, 2019

CREMONEZ, P. A.; FEIDEN, A.; SANTOS, R. F.; ROSSI, E.; NADALETI, W. C.; ANTONELLI, J. Biodigestão anaeróbia no tratamento de águas residuárias de feculárias. **Acta Iguazu**, n. 2, p. 89-99, 2013.

DAGUE, R. R.; HABBEN, C. E.; PIDAPARTI, S. R. Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor. **Water Science Technology**, v. 26, p. 2429-2432, 1992.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M.P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragrans* using cassava Wastewater as substrate. **Process Biochemistry**, v 39, p. 411-414, 2003.

DENG, C., LIN, R., CHENG, J., & MURPHY, J. D. Can acid pre-treatment enhance biohydrogen and biomethane production from grass silage in single-stage and two-stage fermentation processes?. **Energy Conversion and Management**, 195, p. 738-747, 2019.

DEUBLEIN, D., & STEINHAUSER, A. Biogas from waste and renewable resources: an introduction. John Wiley & Sons. 2011.

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

DUDEK, K., BUITRÓN, G., & VALDEZ-VAZQUEZ, I. Nutrient influence on acidogenesis and native microbial community of Agave bagasse. **Industrial Crops and Products**, 170, p. 113751, 2021.

ELBESHISHY, E., DHAR, B. R., NAKHLA, G., LEE, H. S. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 79, p. 656-668, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Mandioca**. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/mandioca>>. Acesso em: 15 jun. 2019.

ENGEL, J. B. **Propriedades de espumas à base de amido de mandioca com incorporação de engaço de uva**. 2018. 138 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre - RS, 2018.

FERNANDES, B. S. **Produção de hidrogênio em reator anaeróbio de leito fixo**. 2008. 97 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2008.

FIORDA, F. A., SOARES JÚNIOR, M. S., SILVA, F. A. D., SOUTO, L. R. F., & GROSSMANN, M. V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 43, p. 408-416, 2013.

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

GOMES, S. D.; FUESS, L. T.; MAÑUNGA, T.; GOMES, P. C. F. L.; ZAIAT, M. Bacteriocins of lactic acid bacteria as a hindering factor for biohydrogen production from cassava flour Wastewater in a continuous multiple tube reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, p.8120-8131, 2016.

GUO, X. M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRÈRE, H.; STEYER, J. P. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. **International Journal of Hydrogen Energy**, Amsterdam, v. 35, p. 10660-10673, 2010.

HA, M. A.; APPERLEY, D. C.; EVANS, B. W.; HUXHAM, I. M.; JARDINE, W. G.; VIËTOR, R. J.; REIS, D.; VIAN, B.; JARVIS, M. C. Fine structure in cellulose microfibrils: NMR evidence from onion and quince. **Plant Journal**, v. 16, p. 183-190, 1998.

HWANG, M. H., JANG, N.J., HYUN, S.H., KIM, I.S., Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH, **Journal of Biotechnology**, v.111, p. 297–309, 2004.

INOUE, R. K. **Influência da carga orgânica e do tempo de enchimento na produção de biohidrogênio em AnSBBR com agitação tratando água residuária sintética**. 2013. 221 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2013.

INOUE, R. K.; LIMA, D. M. F.; RODRIGUES, J. A. D. RATUSZNEI, S. M., ZAIAT, M. Effect of Organic Loading Rate and Fill Time on the Biohydrogen Production in a Mechanically Stirred AnSBBR Treating Synthetic Sucrose-Based Wastewater. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, p. 2326-2349, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático de produção agrícola**. Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras. 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>. Acesso em: 01 agosto 2022.

INTANOO, P., RANGSANVICH, P. CHAVADEJ, S., Hydrogen and methane production from cassava wastewater using two-stage upflow anaerobic sludge blanket reactors (UASB) with an emphasis on maximum hydrogen production, **Int. J. Hydrogen Energy**, v.41, p.6107-6114, 2016.

JASKO, A. C.; ANDRADE J.; CAMPOS P. F.; PADILHA L.; PAULI R. B.; QUAST L. B.; SCHNITZLER, E.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de bagaço de mandioca *in natura* e após tratamento hidrolítico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, p. 427-441. 2011.

KAN, E. Effects of pretreatments of anaerobic sludge and culture conditions on hydrogen productivity in dark anaerobic fermentation. **Renewable Energy**, v. 49, p. 227-231. 2013.

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

KIM, I. S.; HWANG, M. H.; JANG, N. J.; HYUN, S. H.; LEE, S.T. Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 11, p. 1133-1140. 2004.

KRICH, K.; AUGENSTEIN, D.; BATMALE, J. P.; BENEMANN, J.; RUTLEDGE, B.; SALOUR D. Biometano a partir de resíduos de laticínios. M. Marsh (Ed.). Um livro de referência para a produção e uso de gás natural renovável na Califórnia: Kathleen Reuter , Western United Dairymen , p. 282. 2005

KUCZMAN, O.; TAVARES, M. H. F.; GOMES, S. D.; GUEDES, L. P. C.; GRISOTTI, G. Cassava starch extraction effluent treatment in a one phase tubular horizontal pilot reactor with support medium. **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 34, n. 6, p. 1270-1282, 2014.

KUMAR G., MUDHOO A., SIVAGURUNATHAN, P., NAGARAJAN, D., GHIMRE, A., LAY, C.H., Recent insights into the cell immobilization technology applied for dark fermentative hydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 219, p.725-737, 2016.

LACERDA, I.C., MIRANDA, R.L., BORELLI, B.M., NUNES, A.C.; NARDI, R.M.; LACHANCE, M.A.; ROSA, C. A.; Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil, **Int. Journal Food Microbiology**, v.105, p. 213–219, 2005.

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

LEAÑO, E. P.; BABEL, S. Effects of pretreatment methods on cassava wastewater for biohydrogen production optimization. **Renewable Energy**, v. 39, p. 339-346, 2012.

LEE, H.S., SALERNO, M.B., RITTMANN, B.E., Thermodynamic evaluation on H₂ production in glucose fermentation. **Environment Science Technology**, v.42, p.2401–7, 2008.

LEE, H. S.; VERMAAS, W.F.J.; RITTMANN, B. E. Biological hydrogen production: prospects and challenges. **Trends Biotechnology**. v. 28, n. 5, p. 262-271. 2010.

LEHTOMÄKI A., HUTTUNEN S., LEHTINEN TM, RINTALA J.A. Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production. **Bioresource Technology**. v. 99, p. 3267-3278. 2008.

LEITE W. R. M.; GOTTARDO, M.; PAVAN P.; FILHO P. B.; BOLZONELLA D. Performance and energy aspects of single and two phase thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge. **Renewable Energy**, v. 86, p. 1324–31, 2016.

- LEITE, J. A.; FERNANDES, B. S.; POZZI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 2, p. 579-586. 2008.
- LI, Y.C.; NISSILÄ, M. E.; WU, S. Y.; LIN, C. Y.; PUHAKKA, J. A. Silage as source of bacteria and electrons for dark fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p. 15518-15524, 2012.
- LIMA, D. M. F., ZAIAT, M. The influence of the degree of back-mixing on hydrogen production in an anaerobic fixed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 9630- 35, 2012
- LIN, P. Y., WHANG, L. M., WU, Y. R., REN, W. J., HSIAO, C. J., LI, S. L., & CHANG, J. S. Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: metabolic study and mathematical model simulation. **International Journal of Hydrogen Energy**, 32(12), p.1728-1735, 2007.
- LIN, C. Y., LAY, C. H., SEN, B., CHU, C. Y., KUMAR, G., CHEN, C. C., & CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis. **International journal of hydrogen energy**, 37(20), 15632-15642. 2012.
- LIN, L., YANG, L., XU, F., MICHEL, F.C., LI, Y. Comparison of solid-state anaerobic digestion and composting of yard trimmings with effluent from liquid anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v.169, p.439–446, 2014.
- LIN, L., YANG, L., LI, Y., Effect of feedstock components on thermophilic solid state anaerobic digestion of yard trimmings. **Energy Fuels**, v.29, p.3699–3706, 2015.
- LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S.; CHANG, J. S. Biohydrogen production in a three-phase fluidized bed bioreactor using sewage sludge immobilized by ethylene-vinyl acetate copolymer. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 13, p. 3298-3301. 2009.
- LIU, J., ZHOU, W., FAN, S., QIU, B., WANG, Y., XIAO, Z., ... & QIN, Y. Coproduction of hydrogen and butanol by *Clostridium acetobutylicum* with the biofilm immobilized on porous particulate carriers. **International Journal of Hydrogen Energy**, 44(23), p. 11617-11624, 2019.
- LOUIS, P., & FLINT, H. J. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. **FEMS microbiology letters**, 294(1), p. 1-8, 2009.
- LOVATO, G.; ALBANEZ, R.; STRACIERI, L.; ZAIAT, M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D. Design study of an AnSBBR for hydrogen production by co-digestion of whey with glycerin: Interaction effects of organic load, cycle time and feed strategy. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, p. 9567-9576, 2017.
- LUCAS, Shaiane Dal' Maso. Produção de hidrogênio e metano em reatores anaeróbios de leito fixo em série a partir de efluente de fecularia de mandioca. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade Estadual do Oeste do Parana, Cascavel, 104 f, 2015.
- LUCAS, S. D.; PEIXOTO, G.; MOCKAITIS, G.; ZAIAT, M.; GOMES, S. D. Energy recovery from agro-industrial wastewaters through biohydrogen production: Kinetic evaluation and technological feasibility. **Renewable Energy**, v. 75, p. 496 – 504, 2015.
- LUO, G., XIE, L., ZOU, Z., ZHOU, Q., WANG, J.-Y. Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: effects of temperature and pH. **Applied Energy**, v.87, p.3710–3717, 2010
- MANSSOURI, E. M. **Influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio em ASBBR com agitação tratando água residuária sintética**. 2012. 209 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

MANSSOURI, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M. Effects of Organic Loading, Influent Concentration, and Feed Time on Biohydrogen Production in a Mechanically Stirred AnSBBR Treating Sucrose-Based Wastewater. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 171, p. 1832-1854, 2013.

MARI, A.G., Produção de metano em reator AnSBBR a partir de efluente de fecularia de mandioca previamente acidificado: desempenho e viabilidade econômica. Tese de doutorado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2018.

MARI, A. G.; ANDREANI, C. L.; TONELLO, T. U.; LEITE, L. C.; FERNANDES, J. R., LOPES, D. D.; RODRIGUES, J.A.D.; GOMES, S. D. Biohydrogen and biomethane production from cassava wastewater in a two-stage anaerobic sequencing batch biofilm reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*. v. 45, n. 8, p. 5165-5174 2020.

MARTINEZ, D. G. **Produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos do processamento da mandioca**. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Energia na Agricultura) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR, 2016.

MAZLOOMI, K.; GOMES, C. Hydrogen as an energy carrier: Prospects and Challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.16, p.3024-3033, 2012.

MICHELAN, R.; ZIMMER, T. R.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; MORAES, D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of impeller type and mechanical agitation on the mass transfer and power consumption aspects of ASBR operation treating synthetic wastewater. *Journal of environmental management*, v. 90, p.1357-64, 2009.

MICOLUCCI, F.; GOTTARDO, M.; BOLZONELLA, D.; PAVAN, P. Automatic process control for stable bio-hythane production in two-phase thermophilic anaerobic digestion of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 39, 17563-17572. 2014.

MIZUNO, O.; SHINIA, M.; SUZUKI, K.; YAGUGUCHI, J.; NOIKE, T. Effect of pH on hydrogen production from noodle manufacturing wastewater. *Environmental Engineering Research*, v. 37, p. 97-106. 2000.

MKOMA, S. L.; MABIKI, F. P. Theoretical and practical evaluation of jatropha as energy source biofuel in Tanzania. BERNADES, M. A. S. **Economic Effects of Biofuel Production**, Luxembourg: Luxembourg Institute of Science and Technology, 2011. p. 181-200.

MOCKAITIS, G., BRUANT, G., GUIOT, S. R., PEIXOTO, G., FORESTI, E., & ZAIAT, M. Acidic and thermal pre-treatments for anaerobic digestion inoculum to improve hydrogen and volatile fatty acid production using xylose as the substrate. *Renewable Energy*, 145, p.1388-1398, 2020.

MOHAN, D., PITTMAN JR, C. U., STEELE, P. H. Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. *Energy & fuels*, v. 20, n. 3, p. 848-889. 2006.

MOTA, V. T.; JÚNIOR, A. F.; TRABLY, E.; ZAIAT, M. Biohydrogen production at pH below 3.0: Is it possible?. *Water research*, v. 128, p. 350-361. 2018.

NIELSEN, A. T.; AMANDUSSO, H.; BJORKLUND, R.; DANNETUN, H.; EJLERTSSON, J.; EKEDAHN, L. G.; LUNDSTRÖM, I.; SVENSSON, B. H.; Hydrogen production from organic waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 26, n. 6, p. 547-550, 2001.

NOIKE, T.; TAKABATAKE, H., MIZUNO, O.; OHBA, M. Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 27, p. 1367-1371, 2002.

NOVAES, L.F., SARATT, B.L., RODRIGUES, J.A.D., RATUSZNEI, S.M., DE MORAES, D., RIBEIRO, R., ZAIAT, M., FORESTI, E. Effect of impeller type and agitation on the

- performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p.1647–1656, 2010
- NUALSRI, C., KONGJAN, P., REUNGSANG, A. Direct integration of CSTR-UASB reactors for two-stage hydrogen and methane production from sugarcane syrup. *International Journal of Hydrogen Energy*; v. 41, p. 17884-17895, 2016
- OKUDOH, V.; TROIS, C.; WORKNEH, T.; SCHMIDT, S. The potential of cassava biomass and applicable technologies for sustainable biogas production in South Africa: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 1035-1052, 2014.
- OLIVEIRA, D. S.; PRINHOLATO, A. C.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. R.; ZAIT, M.; FORESTI, E. AnSBBR applied to the treatment of wastewater from a personal care industry: Effect of organic load and fill time. **Journal of Environmental Management**, v. 90 p. 3070– 3081, 2009.
- O-THONG, S.; HNIMAN, A.; PRASERTSAN, P.; IMAI, P. Biohydrogen production from cassava starch processing wastewater by thermophilic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.36, n. 5, p.3409-316, 2011.
- PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource technology**, v. 74, n. 1, p. 25-33. 2000.
- PARK, J.; SIN, Y.; KIM, J.S.; KIM, S.H., Effects of alginate immobilization on dynamic membrane formation and H₂ fermentation from galactose, **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 05, 2019.
- PATINVOH, R. J., OSADOLOR, O. A., CHANDOLIAS, K., HORVÁTH, I. S., & TAHERZADEH, M. J. Innovative pretreatment strategies for biogas production. **Bioresource technology**, 224, 13-24. 2017.
- PEIXOTO, G.; SAAVEDRA, N. K.; VARESCHE, M. B. A.; ZAIAT, M. Hydrogen production from soft-drink wastewater in an upflow anaerobic packed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 36, p. 8953-8966, 2011.
- PENTEADO, E. D.; LAZARO, C. Z.; SAKAMOTO, I. K.; ZAIAT, M. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, p. 6137-45, 2013
- PERERA, K. R. J.; KETHEESAN, B.; ARUDCHELVAM, Y.; NIRMALAKHANDAN, N. Fermentative biohydrogen production II: Net energy gain from organic wastes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 1, p. 167-178, 2012.
- PIEMONTE, V., DI PAOLA, L., CHAKRABORTY, S., BASILE, A. Sequencing batch reactors (SBRs) for BioH₂ production: reactor operation criteria. *International journal of hydrogen energy*, 39(10), p. 4863-4869 ,2014.
- PLANGKLANG, P., REUNGSANG, A., & PATTRA, S. Enhanced bio-hydrogen production from sugarcane juice by immobilized *Clostridium butyricum* on sugarcane bagasse. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(20), p.15525-15532, 2012.
- RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; CAMARGO, E. F. M.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 75, p. 127-132, 2000.
- REICHARDT, N., VOLLMER, M., HOLTROP, G., FARQUHARSON, F. M., WEFERS, D., BUNZEL, M., DUNCAN, S.H., DREW, J. E., WILLIAMS, L. M., MILLIGAN, G., PRESTON, T., MORRISON, D., FLINT, H. J., LOUIS, P. Specific substrate-driven changes in human faecal microbiota composition contrast with functional redundancy in short-chain fatty acid production. **The ISME journal**, 12(2), p. 610-622, 2018.

REN, N. Q.; GUO, W. Q.; WANG, X. J.; XIANG, W. S.; LIU, B. F.; WANG, X. Z.; DING, J.; CHEN, Z. B. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4318-4324, 2008.

RI, P. C.; KIM, J. S.; KIM, T. R.; PANG, C. H.; MUN, H. G.; PAK, G. C.; REN, N. Q. Effect of hydraulic retention time on the hydrogen production in a horizontal and vertical continuous stirred-tank reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 33, p. 17742-17749, 2019.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digester of High-Strength Wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. Environmental biotechnology: principles and applications, ed. McGraw-Hill Education Private, p. 753, 2001.

RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. New configurations and operations strategies of anaerobic biofilm reactors. Focus on Biotechnology Research. **Nova Science Publishers**, Inc. p. 1-58, 2006. Disponível em: <http://books.google.com.br/books/about/New+Configurations+and+Operation+Strategie+of+Anaerobic+Biofilm+Bioreactors+Applied+to+Wastewater+Treatment>. Acesso em: 28 jun. 2019.

ROSA, P. R. F.; GOMES, B. C.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L.; Characterization and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from fermentative bioreactors during hydrogen production using cassava processing wastewater, **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 1-9, 2016.

ROSA, P. R. F.; SANTOS, S. C.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Hydrogen production from cheese whey with ethanol-type fermentation: Effect of hydraulic retention time on the microbial community composition. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 10-19, 2014.

ROY, S.; DAS, D. Biohythane production from organic wastes: present state of art. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9391-9410, 2016.

RUGGERI, B.; TOMMASI, T.; SANFILIPPO, S. BioH₂ & BioCH₄ through anaerobic digestion: from research to full-scale applications. London: **Springer-Verlag**, 218 p. 2015.

SÁ, L. R. V.; CAMMAROTA, M. C.; FERREIRA-LEITÃO, V. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia – aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 857-867, 2014.

SAADY, N. M. C. Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 13172-13191, 2011.

SÁNCHEZ, A. S.; SILVA, Y. L.; KALID, R. A.; COHIM, E.; TORRES, E. A. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: New trends and review of alternatives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 1265-1275, 2017.

SATAR, I.; DAUD, W. R. W.; KIM, B. H.; SOMALU, M. R.; GHASEMI, M. Immobilized mixed-culture reactor (IMcR) for hydrogen and methane production from glucose. **Energy**, v. 139, p. 1188-1196, 2017.

SEARMSIRIMONGKOL, P.; RANGSUNVIGIT, P.; LEETHOCHAWALIT, M.; CHAVADEJ, S. Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using an anaerobic sequencing batch reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 12810-12821, 2011.

SILVA, A. J.; HIRASAWA, M. B.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. *Anaerobe*, v.12, p.93-98, 2006.

SILVA, O. **Manual prático e técnico de agricultura**. 2. ed. São Paulo: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1982. p. 524.

SILVA, M. O. S. **Análises físico-químicas para o controle das estações de tratamento de esgoto**. São Paulo: Cetesb, 1977. 226 p.

SILVA, V. L. M. M.; GOMES, W. C.; ALSINA, O. L. S. Utilização do bagaço de cana de açúcar como biomassa adsorvente na adsorção de poluentes orgânicos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 1 p. 27-32, 2007.

SILVA, F. M., MAHLER, C. F., OLIVEIRA, L. B., & BASSIN, J. P. Hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion system by co-digestion of food waste, sewage sludge and glycerol. **Waste Management**, 76, p. 339-349, 2018.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of extractives in biomass. **Laboratory Analytical Procedure (LAP). NRE**, p. 1-12, 2008. ISSN Report No. TP-510-42619.

SOARES, L. A. **Bioconversão anaeróbia do bagaço de cana-de-açúcar em produto de valor biotecnológico em condições termofílica e mesofílica**. 2017. 237 f. Tese (Doutorado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2017.

SREETHAWONG, T.; CHATSIRIWATANA, S.; RANGSUNVIGIT, P.; CHAVADY, S. Hydrogen production from cassava wastewater using a anaerobic sequencing batch reactor: Effects of operational parameters, COD: N ratio, and organic acid composition. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 4092-4102, 2010.

STAMATELATOU K., ANTONOPOULOU G., NTAIKOU I., LYBERATOS G. The effect of physical, chemical, and biological pretreatments of biomass on its anaerobic digestibility and biogas production. In: Mudhoo, A. (Ed.). **Biogas production: pretreatment methods in anaerobic digestion**. Hoboken – NJ: John Wiley & Sons, Inc, 2012. p. 55-90.

TAHERDANAK, M., ZILOUEI, H., KARIMI, K. The influence of dilute sulfuric acid pretreatment on biogas production from wheat plant. **International Journal of Green Energy**. V. 13, p. 1129–1134. 2016.

TENA, M.; PEREZ M.; SOLERA, R. Effects of several inocula on the biochemical hydrogen potential of sludge-vinasse co-digestion. **Fuel**, v. 258, 2019.

THANWISED, P.; WIROJANAGUD, W.; REUNGSANG, A. Effect of hydraulic retention time on hydrogen production and chemical oxygen demand removal from tapioca wastewater using anaerobic mixed cultures in anaerobic baffled reactor (ABR). **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 15503-15510, 2012.

TONELLO, T. U. **Influência da carga orgânica na produção de bio-hidrogênio a partir de resíduo de fecularia em reator AnSBBR em batelada alimentada**. 2017. 44 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR, 2017.

TONELLO, T. U; ANDREANI, C. L.; MARI, A. G.; FERNANDES, J. R.; GOMES, S. D. Biohydrogen production in AnSBBR in fed-batch from starch effluent: influence of organic load. **Engenharia Agrícola**, v. 38, n. 5, p. 768-775. 2018.

TORQUATO, L. D., PACHIEGA, R., CRESPI, M. S., NESPECA, M. G., DE OLIVEIRA, J. E., & MAINTINGUER, S. I. Potential of biohydrogen production from effluents of citrus

processing industry using anaerobic bacteria from sewage sludge. **Waste management**, 59, 181-193. 2017.

TORRES, D.G.B., LUCAS, S.D.M., ANDREANI, C.L., CARVALHO, K.Q., COELHO, S.R.M., GOMES, S.D. Hydrogen production and performance of anaerobic fixed-bed reactors using three support arrangements from cassava starch wastewater. **Engenharia Agrícola**, v.37, p.160-72, 2017.

TREVISAN, A. P. Atributos do reator anaeróbio contínuo de tubos múltiplos no controle da carga orgânica volumétrica específica na fase acidogênica visando à produção de hidrogênio. Tese (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR. 101 f, 2020.

TRIOLO, J. M.; SOMMER, S. G.; MOLLER, H. B.; WEISBJERG, M. R.; JIANG, X. Y. A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential. **Bioresource technology**, v. 102, n. 20, p. 9395-9402. 2011.

VALDEZ-VAZQUEZ, I., ALATRISTE-MONDRAGÓN, F., ARREOLA-VARGAS, J., BUITRÓN, G., CARRILLO-REYES, J., LEÓN-BECERRIL, E., MENDEZ-ACOSTA, H.O., WEBER, B. A comparison of biological, enzymatic, chemical and hydrothermal pretreatments for producing biomethane from Agave bagasse. **Industrial Crops and Products**, 145, p. 112160, 2020.

VALDEZ-VAZQUEZ, I., MORALES, A. L., & ESCALANTE, A. E. History of adaptation determines short-term shifts in performance and community structure of hydrogen-producing microbial communities degrading wheat straw. *Microbial Biotechnology*, 10(6), p. 1569-1580, 2017.

VALDEZ-VAZQUEZ, I.; SPARLING, R.; RISBEY, D., RINDERKNECHT-SEIJA N.; POGGI-VARALDO, H. M. Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 17, p. 1907-1913. 2005.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v. 74, n. 10, p. 3583, 1991.

VAVILIN, V.A., RYTOW, S.V., AND LOKSHINA, L.Y. Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria, **Bioresource Technol.** 54(2), 171–177, 1995.

VERSINO, F.; LÓPEZ, O. V.; GARCÍA, M. A. Sustainable use of cassava (*Manihotes culenta*) roots as raw material for biocomposites development. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 79-89. 2015.

WANG, W.; XIE, L.; LUO, G.; ZHOU, Q. Enhanced fermentative hydrogen production from cassava stillage by co-digestion: the effects of different co-substrates. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, 2013.

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. **Hydrogen Energy**. v. 34. p. 799–811. 2009.

WU, S. Y.; LIN, C. N.; CHANG, J. S.; LEE, K. S.; LIN, P. J. Microbial hydrogen production with immobilized sewage sludge. **Biotechnology progress**, v. 18, n. 5, p. 921-926. 2002.

YANG, L.; LU, M.; CARL, S.; MAYER, J. A.; CUSHMAN, J. C.; TIAN, E.; LIN, H. Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 76, p. 43-53. 2015.

ZABED, H. M., AKTER, S., YUN, J., ZHANG, G., AWAD, F. N., QI, X., & SAHU, J. N. Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass

for biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 105, p. 105-128, 2019.

ZAHED, O., JOUZANI, GS, ABBASALIZADEH, S., KHODAIYAN, F., & TABATABAEI, M. Coprodução contínua de etanol e xilitol a partir de hidrolisado de palha de arroz em biorreator de membrana. *Folia microbiologica* , 61 , p. 179-189, 2016.

ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M.; BORZANI, W. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater: a developing technology. **Applied Microbial Biotechnology**, v. 55, p. 29-35, 2001.

ZAMPIERI, D. **Expressão do complexo celulolítico em *Penicillium echinulatum***. 2011. 99 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul - RS, 2011.

ZENATTI, D. C.; COSTA, A. A.; HERMES, E.; VILVERT, R. M.; DIAS, L. C. Quantificação de açúcares redutores em hidrolisado do bagaço da mandioca para o uso na produção de metano. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**. p. 616-627. 2015.

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in energy and combustion science**, v. 42, p. 35-53. 2014.

ZHU, L. D., HILTUNEN, E., ANTILA, E., ZHONG, J. J., YUAN, Z. H., & WANG, Z. M. Microalgal biofuels: Flexible bioenergies for sustainable development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 30, p. 1035-1046, 2014.

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