

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

ALEXANDRE RODRIGUES RIBEIRO

Produção fermentativa de hidrogênio e metabólitos solúveis a partir do hidrolisado da casca
da batata em reatores em batelada

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2020

ALEXANDRE RODRIGUES RIBEIRO

Produção fermentativa de hidrogênio e metabólitos solúveis a partir do hidrolisado da casca da batata em reatores em batelada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

R484p Rodrigues Ribeiro, Alexandre
 Produção fermentativa de hidrogênio e
 metabólitos solúveis a partir do hidrolisado da casca
 da batata em reatores em batelada / Alexandre
 Rodrigues Ribeiro; orientador Edson Luiz Silva. São
 Carlos, 2020.

 Dissertação (Mestrado) - Programa de
 Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e
 Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento --
 Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
 São Paulo, 2020.

 1. Biohidrogênio. 2. Planejamento experimental. 3.
 Resíduo lignocelulósico. 4. Celulose. 5. Pré-tratamento
 fisico-químico. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **ALEXANDRE RODRIGUES RIBEIRO**.

Título da dissertação: "Produção fermentativa de hidrogênio e metabólitos solúveis a partir do hidrolisado da casca da batata em reatores em batelada".

Data da defesa: 01/07/2020.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Edson Luiz Silva**
(Orientador)
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

Prof. Dr. **Arnaldo Sarti**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP- Araraquara)

Aprovado

Dra. **Camila Abreu Borges da Silva Rabelo**
(Pós-Doutoranda/EESC-USP)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

*À minha Avó Eliete e aos meus Pais
pela a força que me oferecem e por serem minha base
de ser humano.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo que faz por mim, por sua infinita bondade e generosidade e por não deixar nunca minha essência partir de mim.

Ao professor Dr. Edson Luiz Silva pela orientação, apoio, ensinamentos e por ter me possibilitado chegar até aqui.

À Capes pelo apoio financeiro concedido por meio da Bolsa de Mestrado.

À Escola de Engenharia de São Carlos (USP) e ao Departamento de Engenharia Química (UFSCar) pelo suporte ao desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos docentes Profa. Dra. Márcia Damianovic, Profa. Dra. Maria do Carmo Calijuri, Prof. Dr. Eugenio Foresti e Prof. Dr. Valdir Schalch da Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento (USP) pelos conhecimentos transmitidos nas disciplinas ofertadas.

Aos colegas do LCAII/DEQ/UFSCar: Camila, Schayanna, Priscilla, Lívia, Andreza, e Lucas, pelos ensinamentos e companhia durante estes dois anos. À Schayanna, Priscilla e Lívia, obrigado pelos ensinamentos, convívio e por levar mais alegria ao laboratório.

Ao Lucas, obrigado pela paciência e disponibilidade de ajudar e ensinar sempre que pode. Você foi um grande suporte para este trabalho.

À Camila por ser meu braço direito neste trabalho, pelos conselhos dados, pela calma ao me ensinar e pela disponibilidade que sempre teve em me ajudar pessoalmente e profissionalmente.

À Andreza por fazer parte desta jornada comigo e pelos momentos de descontração e levezas durante estes dois anos.

Aos meus amigos que tornaram meus dias mais felizes em São Carlos (Andreza, Gabriel, Ana Paula e Camila.)

Aos meus colegas de turma, em especial, Carol Barbosa, André, Dimas, Rômulo e Luciana, obrigado pelos bons momentos.

À minha mãe e ao meu Pai que mesmo distantes me oferecem carinho e suporte para conseguir seguir em frente. Obrigado pelo carinho, amor e força.

Às minhas Avós Eliete e Zeli por todo amor e por serem pra mim inspiração de força, fé e bondade.

Aos meus familiares por sempre acreditarem em mim e pelo amor com que sempre me recebem ao retornar para casa.

A todas as pessoas que conheci durante estes dois anos e que fizeram parte da minha vida, contribuindo de alguma forma para meu crescimento pessoal e profissional.

Meus agradecimentos.

“A essência divina está presente em todos os lugares. Na água, na terra e no ar. Está Presente em nós, nos reinos animal, mineral e vegetal. Está em todo o universo, nos universos paralelos e no multiverso, pois Ela advém de Deus e Ele é onipresente, Onipotente e Onisciente”

Roberto José Faria de Gusmão

RESUMO

RIBEIRO, A. R. **Produção fermentativa de hidrogênio, em reatores em batelada, a partir da casca da batata**. 2020. 199 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

Nesta pesquisa foram avaliadas as fermentações da casca de batata sem e com pré-tratamento físico-químico utilizando os hidrolisantes NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄ a fim de favorecer a produção de hidrogênio (H₂). Para a otimização dos experimentos foi realizado um Planejamento Experimental utilizando Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) e análise da Metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology*, RSM). Os efeitos individual e interativo das variáveis: concentração de casca de batata (38,79 a 81,21 g.L⁻¹) e as proporções de NaOH 6M e HCl 30% (1,59 a 4,41% v.v⁻¹) e H₂SO₄ (2,17 a 7,83% v.v⁻¹) foram analisados com intuito de determinar os valores ótimos para a produção de H₂. Os ensaios foram realizados, sob condição mesofílica (37 °C), pH 7,00 e agitação de 150 rotações por minuto, a partir de uma cultura mista pré-tratada termicamente e meio nutricional Del Nery. O aumento das concentrações de cascas de batatas influenciou de forma positiva as produções de H₂ em todos os ensaios. De forma distinta, a proporção de hidrolisante foi significativa somente nas fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com H₂SO₄, reduzindo a produção de H₂ à medida que se eleva as proporções deste hidrolisante ácido. A maior produtividade de H₂ de 1060,10 mL H₂.L⁻¹ ocorreu na fermentação utilizando 81,21 g.L⁻¹ de casca hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ NaOH 6M. Nas fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com HCl 30% e H₂SO₄ foram observadas as máximas produções de 655,40 mL H₂.L⁻¹ e 268,49 mL H₂.L⁻¹, respectivamente. As produções dos ácidos acéticos (1,27 g.L⁻¹) e butíricos (1,45 g.L⁻¹) se destacaram sobre os demais metabólitos solúveis nas fermentações das cascas de batatas.

Palavras-chave: Biohidrogênio. Planejamento experimental. Resíduo lignocelulósico. Celulose. Pré-tratamento físico-químico.

ABSTRACT

RIBEIRO, A. R. **Fermentative hydrogen production, in batch reactors, from potato peels.** 2020. 199 f. Dissertation (Master's) - São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2020.

In this research, potato peel fermentations without and with physical-chemical pretreatment were evaluated using hydrolyzers, 6M NaOH, 30% HCl and H₂SO₄ in order to favor the production of hydrogen (H₂). For the optimization of the experiments, an Experimental Design was carried out using a Rotational Central Compound Design (DCCR) and analysis of the Response Surface Methodology (RSM). The individual and interactive effects of the variables: potato peel concentration (38.79 to 81.21 g.L⁻¹) and the proportions of 6M NaOH and 30% HCl (1.59 to 4.41% v.v⁻¹) and H₂SO₄ (2.17 to 7.83% v.v⁻¹) were analyzed in order to determine the optimal values for the production of H₂. The tests were carried out, under mesophilic condition (37 ° C), pH 7.00 and agitation of 150 rotations per minute, from a mixed culture pre-treated with heat and Del Nery nutritional medium. The increase in the concentrations of potato peels positively influenced the H₂ production in all tests. In a different way, the proportion of hydrolyzate was significant only in the fermentation of potato peels hydrolyzed with H₂SO₄, reducing the production of H₂ as the proportions of this acid hydrolyzer increase. The highest productivity of H₂ of 1060.10 mL H₂.L⁻¹ occurred in the fermentation using 81.21 g.L⁻¹ of hydrolyzed peel with 3.00% v.v⁻¹ 6M NaOH. In the fermentation of potato peels hydrolyzed with 30% HCl and H₂SO₄, the maximum yields of 655.40 mL H₂.L⁻¹ and 268.49 mL H₂.L⁻¹ were observed, respectively. The production of acetic (1.27 g.L⁻¹) and butyric (1.45 g.L⁻¹) acids stood out over the other soluble metabolites in potato peel fermentations.

Keywords: Biohydrogen. Experimental planning. Lignocellulosic residue. Cellulose. Physico-chemical pre-treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Arranjo estrutural da parede celular de materiais lignocelulósicos	39
Figura 2 - Etapas para a produção de biocombustíveis a partir de resíduos lignocelulósicos casca de batata.....	41
Figura 3 - Produção anual de batata inglesa no Brasil entre os anos de 2009 e 2018	50
Figura 4 - Aplicações industriais da batata	53
Figura 5 - Casca da batata inglesa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) cortada.....	67
Figura 6 - Fluxograma das etapas de corte e trituração da casca de batata utilizada nos ensaios preliminar e de planejamento experimental	68
Figura 7 - Fluxograma da etapa de pré-tratamento físico-químico da casca de batata.....	69
Figura 8 - Fluxograma das etapas de pré-tratamento térmico do inóculo e de montagem dos reatores	74
Figura 9 – Validação dos modelos de produção de H ₂ e ensaio de otimização das fermentações das cascas hidrolisadas	78
Figura 10 - Fluxograma geral das metodologias empregadas	81
Figura 11 - Produção volumétrica acumulada de H ₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante H ₂ SO ₄ em diferentes proporções	86
Figura 12 - Produção volumétrica acumulada de H ₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante HCl 30% em diferentes proporções	94
Figura 13 - Produção volumétrica acumulada de H ₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante NaOH 6M em diferentes proporções	102
Figura 14 - Produção de ácidos orgânicos e álcoois nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M; HCl 30% e H ₂ SO ₄	111
Figura 15 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M em diferentes proporções	114
Figura 16 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% em diferentes proporções	119
Figura 17 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com H ₂ SO ₄ em diferentes proporções.....	124
Figura 18 - Efeito da proporção de H ₂ SO ₄ sobre as cinéticas das fermentações com 75,00 g.L ⁻¹ de casca de batata entre os reatores 1 (7,00% v.v ⁻¹) e 2 (3,00% v.v ⁻¹)	127
Figura 19 - Efeito da proporção de HCl 30% sobre as cinéticas das fermentações com 75,00 g.L ⁻¹ de casca de batata entre os reatores 1 (4,00% v.v ⁻¹) e 2 (2,00% v.v ⁻¹)	129

Figura 20 – Efeito da proporção de NaOH 6M sobre as cinéticas das fermentações com 75,00 g.L ⁻¹ de casca de batata entre os reatores 1 (4,00% v.v ⁻¹) e 2 (2,00% v.v ⁻¹).	131
Figura 21 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de H ₂ SO ₄ na produção de H ₂ (mL.L ⁻¹).	133
Figura 22 - Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de H ₂ SO ₄ sobre a produção de H ₂	134
Figura 23 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de HCl 30% na produção de H ₂ (mL.L ⁻¹).	137
Figura 24: Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de HCl 30% sobre a produção de H ₂	138
Figura 25 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de NaOH 6M na produção acumulada de H ₂ (mL.L ⁻¹)	141
Figura 26 - Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de NaOH 6M sobre a produção de H ₂	142
Figura 27 - Validação do modelo de produção de H ₂ nas fermentações da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M; HCl 30% e H ₂ SO ₄	144
Figura 28 - Ensaio de otimização da produção de H ₂ na fermentação de casca de batata hidrolisada com três compostos químicos distintos (NaOH 6M; HCl 30% e H ₂ SO ₄)	146
Figura 29 – Cinéticas das fermentações da casca de batata hidrolisadas nas condições otimizadas e da fermentação da casca sem hidrólise química.	149
Figura 30 - Concentrações de SSV iniciais e finais nos reatores, em cada ensaio (NaOH 6M; HCl 30% e H ₂ SO ₄).	159
Figura 31 - Estrutura da casca de batata inglesa cortada com (a) e sem (b) trituração (escala: 200 μm x 200 μm)	163
Figura 32 - Estrutura da casca de batata inglesa cortada com trituração seguida de hidrólise química com (c) NaOH 6M e H ₂ SO ₄ (d) (escala: 40 μm x 40 μm).	164

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estequiometria e variação da energia livre de Gibbs (ΔG_0) das reações de acidogênese, acetogênese e metanogênese.....	32
Tabela 2 - Produção de H_2 a partir de biomassa vegetal sob condições mesofílicas em fermentação em batelada.....	37
Tabela 3 - Estudos de pré-tratamento em resíduos orgânicos como etapa principal da fermentação	46
Tabela 4 - Produtos com valor agregado a partir de ensaios em batelada com resíduo da batata	55
Tabela 5 - Estudos com a metodologia estatística multivariada para otimização da produção de H_2	64
Tabela 6 - Variáveis do planejamento fatorial e seus respectivos valores decodificados para os ensaios com NaOH e HCl como hidrolisantes	70
Tabela 7 - Variáveis do planejamento fatorial e seus respectivos valores decodificados para o ensaio com H_2SO_4 como hidrolisante	71
Tabela 8 - Matrizes do Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) para os ensaios em bateladas	72
Tabela 9 - Composição do meio nutricional Del Nery adicionada nos ensaios em batelada... 73	73
Tabela 10 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com H_2SO_4 em diferentes proporções.....	83
Tabela 11 - Composição e produção volumétrica de H_2 no ensaio utilizando H_2SO_4 em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata.....	89
Tabela 12 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com HCl 30% em diferentes proporções.....	91
Tabela 13 - Composição e produção volumétrica de H_2 no ensaio utilizando HCl 30% em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata.....	96
Tabela 14 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com NaOH 6M em diferentes proporções.....	99
Tabela 15 - Composição e produção volumétrica de H_2 no ensaio utilizando NaOH 6M em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata.....	105
Tabela 16 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M em diferentes proporções	109

Tabela 17 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com HCl 30% em diferentes proporções	116
Tabela 18 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com H ₂ SO ₄ em diferentes proporções	122
Tabela 19 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante H ₂ SO ₄ na otimização da produção acumulada de H ₂	135
Tabela 20 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante HCl 30% na otimização da produção acumulada de H ₂	139
Tabela 21 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante NaOH 6M na otimização da produção acumulada de H ₂	143
Tabela 22 - Parâmetros cinéticos na fermentação da casca de batata sem hidrólise química e hidrolisada com NaOH 6M; HCl 30% e H ₂ SO ₄ em condições otimizadas	151
Tabela 23 - Porcentagem de cinzas; lignina; celulose e hemicelulose na casca de batata <i>in natura</i> e após hidrólise química.....	152
Tabela 24 - Proporção de glicose, xilose e arabinose em resíduos lignocelulósico comparando com as cascas de batatas hidrolisadas neste estudo.	155
Tabela 25 – Relações alimentos/microrganismos dos reatores nas fermentações com distintas concentrações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M, HCl 30% e H ₂ SO ₄ em diferentes proporções	161
Tabela 26 - Compilação das fermentações da casca de batata com os melhores rendimentos dos metabólitos produzidos	168

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AMG	Enzima amiloglucosidase
APHA	American Public Health Association
BuOH	Butanol
C:N:P	Razão Carbono: nitrogênio: fósforo
CaCl ₂ · 2H ₂ O	Cloreto de cálcio dihidratado
CaCO ₃	Bicarbonato de cálcio
CH ₄	Metano
CH ₄ N ₂ O	Composto orgânico
CO ₂	Dióxido de carbono
CoCl ₂	Cloreto de Cobalto
CSTR	Reator tanque agitado contínuo (<i>Continuous Stirred-Tank Reactor</i>)
DCCR	Delineamento do composto central rotacional
DQO	Demanda química de oxigênio
DQO: N: P	Relação Demanda química de oxigênio: nitrogênio: fósforo
Eq.	Equação
EtOH	Etanol
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FeCl ₃ .6H ₂ O	Cloreto de ferro hexahidratado
FeSO ₄	Sulfato de Ferro
GC	Enzima genecor
H ₂	Hidrogênio
H ₂ O	Água
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HAc	Ácido acético
HBu	Ácido butírico
HCa	Ácido capróico
HCl 30%	Ácido clorídrico 30%
HIsoBu	Ácido isobutírico
HIsoVal	Ácido isovalérico
HLa	Ácido láctico
HMa	Ácido málico

HPLC	Cromatografia líquida (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HPr	Ácido propiônico
HSu	Ácido succínico
HVa	Ácido valérico
IPHE	Parceria internacional para a economia do hidrogênio
K ₂ HPO ₄	Fosfato dipotássico
KH ₂ PO ₄	Fosfato monopotássico
M	Molar
MetOH	Metanol
MgSO ₄ 7H ₂ O	Sulfato de magnésio heptahidratado
N	Normal
Na ₂ HPO ₄	Fosfato dissódico
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH 6M	Hidróxido de sódio 6 molares
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amônio
NH ₄ NO ₃	Nitrato de amônio
NiSO ₄ .6H ₂ O	Sulfato de Níquel hexahidratado
pH	potencial Hidrogeniônico
RPM	Rotação por minuto
RSM	Metodologia de superfície de resposta (<i>Response surface methodology</i>)
SeO ₂	Dióxido de Selênio
sp.	Espécie
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
STV	Sólidos totais voláteis
UASB	Reator anaeróbico de fluxo ascendente (<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>)
USEPA	Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos
5-HMF	5-Hidroximetilfurfural
%H ₂	Percentual de hidrogênio

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

e	Valor de Euler (2,718281828)
H	Produção acumulada de H ₂
KJ	Quilojoule
$m.v^{-1}$	Massa por volume
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
Nm	Nanômetro
°C	Grau celsius
P	Potencial máximo de produção de H ₂
$p.p^{-1}$	Peso por peso
$p.p^{-1}$	Peso por peso
R_m	Taxa máxima de produção de H ₂
rpm	Rotação por minuto
s	segundo
t	Temperatura
$v.v^{-1}$	Volume por volume
X_0	Valor real do ponto central
x_i	Valor codificado da variável independente
X_i	Valor real da variável independente
Y	Variável resposta
α	Nível axial
β_0	Constante
Bi	Coefficiente do efeito linear
Bii	Coefficiente do efeito quadrático
Bij	Coefficiente da interação dos efeitos
ΔX_i	Diferença (intervalo) entre os valores das variáveis independentes
λ	Tempo de início da fermentação
%	Por cento
\pm	Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
2	OBJETIVOS	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1	CENÁRIO ENERGÉTICO E O H ₂ COMO ALTERNATIVA	28
3.2	PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE H ₂ POR FERMENTAÇÃO ESCURA	30
3.2.1	Fatores que afetam a fermentação escura.....	33
3.3	SUBSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS.....	36
3.3.1	Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos	41
3.4	BATATA INGLESA	49
3.5	CASCA DE BATATA COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DE VALOR AGREGADO	54
3.6	PRODUÇÃO DE H ₂ A PARTIR DA CASCA DA BATATA	57
3.7	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO PARA PRODUÇÃO DE BIOHIDRODGENIO.....	60
3.8	CONSIDERAÇÕES	64
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
4.1	SUBSTRATO.....	67
4.1.1	Pré-tratamento físico-químico da casca de batata inglesa.....	68
4.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO NA OTIMIZAÇÃO DOS ENSAIOS.....	69
4.3	MEIO NUTRICIONAL	72
4.4	INÓCULO E MONTAGEM DOS REATORES.....	73
4.5	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	74
4.5.1	Determinação da composição da casca de batata	75
4.5.2	Produção e composição do Biogás	76
4.5.3	Determinação de Álcoois e Ácidos Orgânicos Voláteis.....	76
4.6	VALIDAÇÃO DO MODELO DE PRODUÇÃO H ₂ E ENSAIO DE OTIMIZAÇÃO 77	
4.7	ANÁLISES CINÉTICAS.....	78
4.8	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DA CASCA DE BATATA.....	79
4.9	DESCRIÇÃO GERAL DOS EXPERIMENTOS.....	79
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82

5.1	DESEMPENHO FERMENTATIVO DA CASCA DE BATATA HIDROLISADA COM DIFERENTES HIDROLISANTES QUÍMICOS	82
5.1.1	Fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4	82
5.1.2	Fermentação da casca de batata hidrolisada com o HCl 30%	90
5.1.3	Fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M	98
5.1.4	Produtos metabólicos solúveis nos ensaios.....	106
5.2	PARÂMETROS CINÉTICOS	125
5.3	AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DO DELINEAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL	131
5.4	VALIDAÇÃO DAS PRODUÇÕES DE H_2 NAS FERMENTAÇÕES DA CASCA DE BATATA COM AS MELHORES CONDIÇÕES DE CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO E PROPORÇÃO DE HIDROLISANTE E ENSAIO DE OTIMIZAÇÃO.....	143
5.5	COMPOSIÇÃO DE CASCA DA BATATA <i>IN NATURA</i> E HIDROLISADA	151
5.6	MATÉRIA ORGÂNICA E SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS.....	156
5.7	MICROSCOPIA DA CASCA DA BATATA.....	162
5.8	COMPILAÇÃO DOS MELHORES RENDIMENTOS DE H_2 E METABÓLITOS SOLÚVEIS.....	166
6	CONCLUSÕES.....	172
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	173
	REFERÊNCIAS.....	174

1 INTRODUÇÃO

O aumento da geração de resíduos sólidos agroindustriais tem ocorrido principalmente devido aos processos de globalização e urbanização (SILVA et al., 2017). Esses resíduos em sua grande maioria são dispostos inapropriadamente no meio ambiente, causando poluição ambiental. (SEKOAI; AYENI; DARAMOLA, 2017). Estima-se que o Brasil gere cerca de 200 milhões de toneladas de resíduos agrícolas por ano (LOPES et al., 2020). Grande parte destes resíduos são lignocelulósicos, sendo estes os mais abundantes no Brasil e no mundo. As composições destas biomassas são distintas, porém, se constituem principalmente de lignina e carboidratos formados por celulose e hemicelulose. Fazem parte desta biomassa os resíduos florestais (madeiras, grama, folhas e capim), frações orgânicas de resíduos sólidos municipais e como restos de comida (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019), como a mandioca (PHOWAN; DANVIRUTAI, 2014), o milho (PAN et al., 2010), a beterraba (EKER; ERKUL, 2018), o café (MENEZES et al., 2014) e a batata (ZHOU, ELBESHBISHY; NAKHLA, 2013).

A batata inglesa é consumida por mais de 14,3% da população mundial diariamente, representando a terceira cultura alimentar mais importante no mundo. No Brasil foram produzidas 3,6 milhões toneladas de batata em 2018 em grandes áreas agrícolas (119,1 mil hectares) (IBGE, 2019). Contudo, com o intenso consumo de batata também ocorre ampla geração de resíduos, como a casca. A composição da casca de batata consiste em 80 a 95% de sólidos voláteis totais e 75-85% de umidade (ZHOU; ELBESHBISHY; NAKHLA, 2013). A casca de batata também apresenta 13,4% de celulose; 9,5% de hemicelulose e 8% de lignina, sendo o restante constituído de amido, proteína, carbono, nitrogênio, fósforo, potássio e compostos fenólicos (FRIEDMAN, 2006). Os carboidratos presentes na casca de batata (amido, celulose e hemicelulose) podem ser utilizados para as fabricações de produtos farmacêuticos (FRIEDMAN, 2006). Além disso, a casca pode ser utilizada na produção de álcoois (HOSSAIN et al., 2018), ácidos orgânicos (LIU et al., 2005), metano (CH₄) (DURRUTY; ZARITZKY; GONZÁLEZ, 2013) e H₂ (SEKOAI, YORO; DARAMOLA, 2018) por meio de processos biológicos fermentativos.

A digestão anaeróbia é um processo biológico complexo formado por uma série de reações bioquímicas. Este processo é dividido nas etapas de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Nesta última etapa ocorre a formação de CH₄ por meio da conversão de acetato (metanogênese acetoclástica) ou a partir do consumo de H₂ e de CO₂ (metanogênese hidrogenotrófica) (MOSEY, 1983). Desta forma, o processo de digestão anaeróbia deve ser

interrompido na etapa de acidogênese quando se pretende produzir o H₂, ácidos orgânicos e álcoois. Este processo é denominado fermentação escura (WANG; WAN, 2009). Alguns fatores influenciam os produtos metabólicos gerados na fermentação escura. Os principais fatores são o tipo de inóculo, a temperatura, o pH e o pré-tratamento dos substratos (ELBESHBISHY et al., 2017; KUMAR; MOHAN, 2018; GRESES et al., 2020).

Na casca de batata, a lignina encontrada é uma molécula complexa e impermeável que atua como uma barreira à degradação da parede celular do resíduo e dificulta a conversão de carboidratos em metabólitos pelos microrganismos (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019). Entretanto, podem ser aplicados alguns pré-tratamentos que consistem em alterar a estrutura física da casca da batata e diminuir o teor de lignina e a cristalinidade da celulose, facilitando a conversão dos carboidratos pelos microrganismos. Os pré-tratamentos podem ser por meio de métodos físicos, químicos e biológicos. Estes métodos podem ser aplicados individualmente ou combinados. A escolha do método pode contribuir para a formação dos compostos metabólicos líquidos ou gasosos, e nos rendimentos obtidos (SARATALE et al., 2008). A combinação dos métodos físico e químico podem aumentar o rendimento de açúcar a partir de celulose e hemicelulose, pois minimiza as perdas de açúcares fermentáveis (pentoses, xiloses, glicose) (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019).

Métodos de pré-tratamentos são utilizados para elevar a produção de H₂ a partir da fermentação de resíduos lignocelulósicos. No estudo de Ruggeri e Tommasi (2012) foram avaliados os efeitos das hidrólises alcalina e ácida a partir dos compostos NaOH e HCl, respectivamente, na produção H₂ a partir da fermentação do resíduo de mercado (restos de frutos e vegetais). Na fermentação do resíduo de mercado sem pré-tratamento foram produzidos 23,00 mL H₂.L⁻¹, enquanto nas fermentações com HCl e NaOH foram produzidos 304,00 e 590,00 mL H₂.L⁻¹, respectivamente. As hidrólises alcalinas (NaOH) e ácidas (HCl) do resíduo de mercado aumentaram a produção fermentativa de H₂ em 92,43 e 96,10%, respectivamente. Com o mesmo intuito de aumentar a produção de H₂, Lai et al. (2014) analisaram a fermentação do bagaço de cana hidrolisado com H₂SO₄. Os autores avaliaram os efeitos da proporção de hidrolisante (0,20 a 4,00% v.v⁻¹) e a duração da reação de hidrólise química (30 a 150 minutos) que podem afetar a maximização da produção H₂. Estes fatores foram então otimizados por meio de Metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology*, RSM) para o melhor rendimento de H₂. As condições ótimas observadas foram de proporção de 2,30% v.v⁻¹ de H₂SO₄, a temperatura de 115 °C, durante 114,20 minutos, elevando 82,24% a produção de H₂.

As condições fermentativas podem ser analisadas com o propósito de otimizar os experimentos e maximizar a produção de metabólitos solúveis e H_2 . A otimização do processo fermentativo auxilia no aumento do seu desempenho, pois reduz o número de experimentos, conseqüentemente, economizando tempo e material e mantendo a quantidade de informações obtidas (MONTGOMERY, 2012). Muitos trabalhos utilizam o Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) como ferramenta para planejar seus experimentos e definir sua região experimental (RABELO et al., 2018). Em seguida, a metodologia de análise por superfície de resposta pode ser aplicada avaliando o conjunto de dados obtidos das fermentações. Esta metodologia determina as condições ótimas de operação visando os melhores resultados (SOARES et al., 2017).

Apesar da casca de batata hidrolisada possuir alto potencial de produzir H_2 por meio da fermentação escura (ELBESHBISHY; NAKHLA, 2013; KHAWLA et al., 2014), há uma carência de trabalhos que averiguem a otimização deste processo a partir de técnicas de planejamento experimental. Há também a necessidade de avaliar as influências de pré-tratamentos e outras variáveis que interfiram na produtividade do processo como o pH, temperatura e tempo de fermentação e método de pré-tratamento. A utilização de compostos químicos como o NaOH, HCl e H_2SO_4 são alternativas interessantes para hidrolisar a casca de batata, porém, pouco avaliadas no seu pré-tratamento. Outro fator importante na produtividade de H_2 a partir do processo fermentativo de casca de batata é a concentração de substrato. Contudo, o efeito da concentração de casca de batata utilizada no início da fermentação sobre a produção de H_2 também foi pouco estudado nos trabalhos da literatura. Dado o exposto foi avaliada, na presente Dissertação de Mestrado, a otimização da produção fermentativa de H_2 por meio de técnicas de Planejamento Experimental e otimização estatística de processos. Foi analisada a influência das concentrações de casca de batata e das proporções de H_2SO_4 , HCl 30% e NaOH 6M na produção de H_2 .

2 OBJETIVOS

Avaliar a otimização da produção acumulada de H₂, em ensaios em bateladas, sob condições anaeróbicas e mesofílicas (37 °C), pH 7,00, usando casca de batata inglesa sem e com pré-tratamento (trituração seguida de hidrólise química), analisando os efeitos individuais e interativos das concentrações de cascas de batatas e das proporções de três compostos hidrolisantes distintos, H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M, sobre o volume máximo acumulado de H₂ e a produção de metabólitos solúveis.

Com propósito de atingir o objetivo geral foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- i. Avaliar a produção volumétrica acumulada de H₂ nos reatores dos ensaios com a casca de batata pré-tratada e da casca fermentada sem pré-tratamento.
- ii. Analisar a influência das proporções dos hidrolisantes sobre os parâmetros cinéticos nos três ensaios com a casca de batata pré-tratada com os hidrolisantes.
- iii. Observar a produção de álcoois e ácidos orgânicos nos ensaios em bateladas comparando os efeitos das variáveis concentração de casca de batata e proporção de hidrolisante sobre os rendimentos.
- iv. Avaliar, estatisticamente, os efeitos individuais e interativos das variáveis: concentração de casca de batata e da proporção de composto hidrolisante na produção de H₂ por meio de técnicas de Planejamento Experimental e otimização estatística de processos.
- v. Verificar a validação do modelo de delineamento do composto central rotacional (DCCR), com as condições nas faixas ótimas previstas, a fim de validar o modelo de produção acumulada de H₂ em função da concentração de substrato e proporção de hidrolisante e correlacionar com os valores previstos.
- vi. Comparar as concentrações de lignina, celulose, hemicelulose e remoção de carboidratos na casca de batata *in natura* e nas cascas após passar pela trituração e hidrólise química.
- vii. Analisar via microscopia eletrônica as mudanças na superfície da casca de batata após passar por uma trituração e, em seguida, hidrólise ácida ou básica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente seção deste trabalho possui uma contextualização deste estudo com intuito de melhor compreensão dos objetivos, material e métodos, discussão dos resultados e da elaboração das conclusões. Os temas incluem: H₂ como alternativa de geração de energia aos combustíveis fósseis; utilização de substratos lignocelulósicos para produção fermentativa de H₂ e metabólitos solúveis; pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos objetivando o melhor desempenho do processo fermentativo; produção crescente de batata e alternativas de utilização de seus resíduos; a casca de batata como potencial substrato para a produção fermentativa H₂ e metabólitos solúveis; e planejamento fatorial de experimentos como ferramenta estatística para otimização de resultados.

3.1 CENÁRIO ENERGÉTICO E O H₂ COMO ALTERNATIVA

A crescente demanda energética associada ao aumento populacional faz com que a exploração dos combustíveis fósseis, que são recursos naturais não-renováveis ocorra de forma intensiva (ELBESHBISHY et al., 2017). De acordo com a Agência Internacional de Energia (*International Energy Agency* -IEA) (2018) as energias oriundas de biomassas e fontes hidráulicas e eólicas, correspondem apenas a 14,00% da matriz energética mundial. Contudo, os combustíveis fósseis constituem 81,10% do cenário energético mundial, sendo que o petróleo, carvão e gás natural correspondem a 31,90; 27,10; 22,10%, respectivamente, da produção de energia no mundo. No Brasil, as energias não renováveis correspondem a 57,10% do cenário energético. A biomassa vegetal constitui 25,00% da matriz energética nacional. Já o petróleo (36,40%), gás natural (13,00%) e carvão (5,70%) contribuem em cerca de 55,10% na produção de energia nacional (BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL, 2018). O uso intensivo de combustíveis fósseis acarreta problemas ambientais, como a poluição atmosférica a nível global pela emissão de gases do efeito estufa (ELBESHBISHY et al., 2017).

Em 2018 foi observado o aumento de 2,30% da demanda mundial de energia. Aproximadamente 45,00% do aumento na demanda mundial energética correspondem a utilização de gás natural nos países China e EUA. As emissões globais de dióxido de carbono (CO₂), um dos principais gases do efeito estufa, oriundas da produção de combustíveis fósseis aumentaram 1,70% em 2018 (AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA, 2018). Segundo os dados do Atlas Global de Carbono (*Global Carbon Atlas*) (2018) 10.065 megatoneladas (Mt) de CO₂ foram gerados em 2018 pela China, o país que mais emite este poluente na atmosfera

desde 2005. Os Estados Unidos (5.416 Mt) e a Índia (2.654 Mt) seguem o segundo e terceiro lugar, respectivamente, de maiores emissores de CO₂. No Brasil foram emitidos cerca de 457 Mt de CO₂, colocando o Brasil como o décimo quarto maior emissor deste gás no planeta em 2018. De acordo com os dados da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Agency*, EPA), o CO₂ contribuiu em aproximadamente 81,60% do total de gases de efeito estufa no país no ano de 2016 (KARAPINAR et al., 2020). Segundo a Administração Nacional Oceânica e Atmosférica (*National Oceanic and Atmospheric Administration* - NOAA) (2020) dos Estados Unidos, as emissões mundiais de CO₂ na atmosfera em 2017 superaram os recordes registados, ultrapassando 415 partes por milhão (ppm). Com base neste cenário energético atual e nas emissões de poluentes na atmosfera surgiu a necessidade de aumentar a contribuição das fontes renováveis e limpas da matriz energética mundial, ou seja, fontes de energia que eliminam a geração de CO₂ e outros gases do efeito estufa para a atmosfera, como a produção de H₂ (WANG et al., 2013; SARMA et al., 2015; REN et al., 2016).

O H₂ é um biocombustível que surge como alternativa aos combustíveis fósseis. Ele tem despertado interesse por ser uma fonte de energia limpa. Nas células de combustível o H₂ é combinado com oxigênio sem gerar CO₂, o único subproduto é a água (ACAR; DINCER, 2014). O teor de energia por massa do H₂ é mais elevado (120 MJ.kg⁻¹) quando comparado aos demais combustíveis, como o etanol (45,6 MJ.kg⁻¹), gás natural (54,40 MJ.kg⁻¹) e gasolina automotiva (46,40 MJ.kg⁻¹) (NI et al., 2006; DUTTA, 2014). Além disso, este gás pode ser utilizado na produção de produtos químicos, produtos eletrônicos, gorduras e óleos hidrogenados na indústria alimentícia, indústrias de fertilizantes e processamento de aço. Além desses usos, o H₂ é utilizado como combustível no refino de petróleo (GADOW et al., 2013) e para a combustão direta em motores de combustão interna (ACAR; DINCER, 2014).

Apesar das vantagens de utilização de H₂, seu átomo é encontrado na natureza apenas em combinação com outros elementos, principalmente com o oxigênio na água, associado a hidrocarbonetos, nos organismos dos seres vivos e combustíveis fósseis (LÉON, 2008; ACAR; DINCER, 2014). Porém, sua forma livre e reduzida não é encontrada no meio ambiente, necessitando de métodos de produção, muitas vezes com elevados custos (KAPDAN, 2006). Os processos de síntese de H₂ são classificados em físico-químicos e biológicos. A eletrólise (YING et al., 2020) e a gaseificação de carvão (AL-ZAREER, DINCER E ROSEN, 2020) são exemplos de processos físico-químicos. A biofotólise (SENGMEE et al., 2017), a fotofermentação (GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2018) e a fermentação escura (MENEZES; SILVA, 2019) fazem parte dos processos biológicos.

De acordo com Hallenbeck (2009), a eletrólise possui algumas desvantagens em seu processo. Além de boa parte da energia capturada ser perdida no processo, sua máxima eficiência é de até 65,00%. Outra desvantagem da eletrólise é o gasto elevado de eletricidade para produzir H₂ de qualidade questionável. Porém, a maior parte do H₂ produzido é oriundo do processo de gaseificação de carvão, responsável por 90,00% do H₂. Nesse processo as principais desvantagens são a utilização de produtos de origem fóssil e os elevados valores de pressão e temperatura (KIM; KIM, 2011).

A utilização de processos biológicos para a produção de H₂ vem crescendo e ganhando notoriedade devido ao baixo custo, a facilidade de operação, a natureza ambientalmente adequada, a possibilidade de se utilizar distintos subprodutos e resíduos e taxas elevadas de produção (ELBESHBISHY et al., 2017; FERREIRA et al., 2018; YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019; FREITAS; MENEZES; SILVA, 2020). A biofotólise converte a energia do sol em energia química, seguida da decomposição molecular da água e posterior protonação do íon H⁺, produzindo moléculas de H₂ (MOHAN; PANDEY, 2013). A fotofermentação acontece devido à ação das bactérias fotossintéticas. Estas bactérias utilizam a energia solar para produzir moléculas de H₂, a partir de substratos orgânicos (HALLENBECK; BENEMANN, 2002). Há ainda a fermentação escura, na qual, as bactérias convertem o substrato em ácidos orgânicos, álcoois, CO₂ e H₂ (ELBESHBISHY et al., 2017).

3.2 PRODUÇÃO BIOLÓGICA DE H₂ POR FERMENTAÇÃO ESCURA

A digestão anaeróbia é um processo mediado por microrganismos, constituída por uma série de reações bioquímicas complexas. Este processo é dividido em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Na Tabela 1 estão apresentadas as principais reações de conversão da matéria orgânica em CH₄. Na hidrólise ocorre a conversão de substratos complexos em moléculas dissolvidas mais simples e fermentáveis (BUNDHOO; MOHEE, 2016). Na acidogênese os açúcares, como a glicose, são convertidos em ácidos orgânicos, álcoois, H₂ e CO₂ (MATHEWS; WANG, 2009). Na acetogênese os microrganismos fermentativos oxidam os produtos da acidogênese gerando acetato, H₂ e CO₂. Denomina-se de sintrofismo as relações sinérgicas e sucessivas entre as diferentes comunidades microbianas, que utilizam como substrato os produtos de uma das etapas do processo, como a utilização dos ácidos orgânicos pelas bactérias acetogênicas para a formação do acetato (SAADY, 2013). Na etapa de metanogênese existem duas vias metabólicas principais: a metanogênese acetoclástica,

na qual o acetato é convertido à CH_4 , e a metanogênese hidrogenotrófica, em que ocorre a conversão do H_2 e do CO_2 em CH_4 (MOSEY, 1983).

Algumas reações de acetogênese não ocorrem espontaneamente sob condições ambientais padrões (pH neutro, 25 °C e 1 atm), como a reação do propionato, butirato e etanol à acetato. Nestes casos é necessária a remoção de H_2 do meio (redução da pressão parcial de H_2) para que possa ocorrer a reação no sentido de formar acetato. Um dos mecanismos de remoção de H_2 do meio é por meio do seu consumo pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas. Quando a pressão parcial de H_2 no meio está entre 10^{-4} e 10^{-6} atm, torna as reações termodinamicamente favoráveis para posterior formação de acetato que será convertido a CH_4 e CO_2 (LETTINGA et al., 1999). Portanto, devido ao consumo de H_2 na etapa de metanogênese, quando o interesse se concentra no biocombustível H_2 o processo de digestão anaeróbia deve ser interrompido na etapa de acidogênese. Este processo biológico é denominado fermentação escura (WANG; WAN, 2009).

Tabela 1 - Estequiometria e variação da energia livre de Gibbs (ΔG^0) das reações de acidogênese, acetogênese e metanogênese

Acidogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol ⁻¹)
Glicose → Ac. Acético	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2CO_2 + 2H^+ + 4H_2$	-206
Glicose → Ac. Propiônico	$C_6H_{12}O_6 + 2H^+ \rightarrow 2CH_3CH_2COO^- + 2H_2 + 2H^+$	-356
Glicose → Ac. Butírico	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COO^- + 2CO_2 + H^+ + 2H_2$	-255
Acetatogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol⁻¹)
Propionato → Acetato	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + HCO_3^- + 3H_2O$	+76,10
Butirato → Acetato	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2 H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2 H_2$	+48,10
Etanol → Acetato	$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H^2$	+9,60
Lactato → Acetato	$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	-4,20
Bicarbonato → Acetato	$2HCO_3^- + 4H_2 + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$	-70,30
Metanogênese	Reação	ΔG^0 (kJ.mol⁻¹)
Acetato → Metano	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + CO_2 + 2HCO_3^-$	-31,00
Hidrogênio e Dióxido de Carbono → Metano	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135,60
Formiato → Metano	$4HCOO^- + H_2O + H^+ \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-32,60

Fonte: Adaptado de Harper; Pohland; Frederick (1986).

Em decorrência da diminuição do rendimento de H₂ devido à atividade metanogênicas foram desenvolvidas diferentes formas para selecionar as bactérias produtoras de H₂ em culturas mistas. A escolha dos métodos depende principalmente do inóculo e substratos utilizados. Existem controvérsias a respeito de qual seria o mais eficaz na seleção dos produtores de H₂ e inibição dos microrganismos consumidores (CHEONG; HANSEN, 2006). Dentre estes procedimentos existem alguns métodos químicos seletivos (WANG; WAN, 2009). O procedimento consiste na utilização de compostos químicos como o 2-bromoetanossulfonato e o clorofórmio que afetam as rotas metabólicas envolvidas no consumo de H₂. Estas rotas são afetadas, pois estes compostos alteram diretamente o mecanismo enzimático da cultura microbiana (KOSSE; LÜBKEN; WICHERN, 2016; CAVALCANTE et al., 2017). Contudo, os efluentes gerados desses processos apresentam qualidade ambiental duvidosa e o alto custo desses compostos encarece a produção fermentativa de H₂ (CAVALCANTE et al., 2017).

Outros métodos muito utilizados são: o controle de pH e o tratamento térmico. Os dois baseiam-se na morfologia das espécies microbianas do processo de digestão anaeróbia. O método de controle de pH consiste em reduzi-lo até ficar ácido, pois, as atividades das arqueias metanogênicas geralmente são inibidas em valores de pH ácidos (abaixo de 5,00) (WANG et al., 2009). O procedimento térmico, permite que as bactérias gram-positivas do gênero *Clostridium*, capazes de formar esporos, permaneçam atuando na fermentação. Porém, arqueias metanogênicas quando submetidas à elevadas temperaturas são inativadas, parando de atuar sobre o processo. Este método tem sido utilizado em diferentes trabalhos (KIM; HAN; SHIN, 2006; LAY et al., 2012; PHOWAN; DANVIRUTAI, 2014; VI, SALAKKAM; REUNGSANG, 2017; SEKOAI, YORO; DARAMOLA, 2018) pois é considerado simples e proporcionam bons resultados (WONG; WU; JUAN, 2014). Ao inibir a metanogênese, o controle das rotas de acidogênese no processo fermentativo (Tabela 1) se dá por meio da regulação das condições operacionais (WANG; WAN, 2009).

3.2.1 Fatores que afetam a fermentação escura

Durante a fermentação, o piruvato, produto da conversão da glicose, é oxidado em acetil coenzima A (acetil-CoA), por meio de duas possíveis rotas metabólicas que dependerão dos microrganismos presentes e das condições do meio: (1) via formiato-liase ou (2) via ferredoxina reduzida. Em ambas as vias o acetil-CoA gerado produz outros produtos, como ácidos orgânicos e álcoois (HALLENBECK; GHOSH, 2009). Com base no produto final formado pode haver a presença ou ausência de NADH residual para a conversão em H₂. Se, por exemplo,

o produto final for ácido acético, haverá residual de NADH, e conseqüentemente a conversão em H₂ (BUNDHOO; MOHEE, 2016). O máximo rendimento de H₂ na fermentação escura é de 4 mol H₂.mol. L⁻¹ glicose na conversão de glicose a ácido acético. Este valor representa estequiometricamente apenas 33,00% do valor máximo de 12 mols de H₂ que uma molécula de glicose completamente oxidada pode gerar (LEVIN; PITT; LOVE, 2004). A produção de vários álcoois e ácidos orgânicos simultânea com a produção de H₂ influencia na redução do rendimento de H₂, além de ocasionar o acúmulo destes subprodutos. Altas concentrações destes álcoois e ácidos orgânicos podem contribuir para um nível de inibição do crescimento microbiológico, e conseqüentemente para a diminuição da produção de H₂ (ELBESHBISHY et al., 2017). Os principais fatores que influenciam as rotas seguidas na fermentação escura, e conseqüentemente, a conversão do substrato à H₂ são: o inóculo, a temperatura, o pH e o substrato utilizado (HALLENBECK; GHOSH, 2009; WANG; WAN, 2009).

A produção fermentativa de H₂ pode ser obtida usando culturas puras ou mistas. As culturas puras necessitam de condições operacionais estéreis, elevando os custos do processo (MENEZES; SILVA, 2019). Em contrapartida, as culturas mistas eliminam essa necessidade, possuindo maior tolerância à complexidade e à variabilidade de substratos devido sua maior adaptabilidade metabólica (HEIJNE et al., 2017; PARK et al., 2018; PINHO et al., 2019; POIRIER et al., 2020). Contudo, a coexistência de microrganismos em culturas mistas pode dificultar o controle metabólico do processo fermentativo. Esta dificuldade ocorre devido às competições interespecíficas de microrganismos produtores e consumidores de H₂. As competições, por sua vez, podem afetar a produção de H₂ no processo (CABROL et al., 2017). Torna-se necessário, desta forma, a otimização de fatores do meio com intuito de aumentar o controle metabólico do sistema. Entre os fatores que podem ser manipulados estão os valores e variação de pH e temperatura, a concentração de matéria orgânica e a fonte de substrato escolhida (HALLENBECK; GHOSH, 2009).

O pH possui influência sobre as atividades microbianas e podem afetar a geração de H₂. Este fator pode afetar a estrutura das bactérias produtoras de H₂, e ocasionar alterações nas rotas metabólicas. De acordo com Mota et al. (2018) ainda não há um consenso sobre o melhor pH para a produção de H₂. Valores entre 4,50 e 6,50, geralmente, são utilizados com este propósito (ELBESHBISHY et al., 2017). Em pH abaixo de 4,00 a solventogênese é favorecida, influenciando no rendimento de H₂ do processo (MOTA et al., 2018; LOPES et al., 2020).

As culturas mistas podem ser condicionadas a diferentes faixas de temperaturas. Este parâmetro exerce importante influência no desempenho fermentativo (ELBESHBISHY, 2017). As faixas de temperatura utilizadas nesses processos podem ser classificadas em mesofílicas

(25-40 °C), termofílicas (40-65 °C) e hipertermofílicas (65-80 °C) (KIRTAY, 2011; ELBESHBISHY et al., 2017). A faixa termofílica (40 a 65 °C) apresenta vantagens sobre a produção de H₂, como a maior facilidade de seu desprendimento da massa líquida, por ser menos solúvel em elevadas temperaturas. No entanto, a fermentação que ocorre nessas condições necessita de maior quantidade de energia para manter as elevadas temperaturas. Esta desvantagem torna a produção de H₂ técnica e economicamente desfavorecida (HAWKES et al., 2007). Em condições de temperatura mesofílicas (25 a 40 °C) existe uma maior diversidade microbiana e a maior parte das bactérias produtoras de H₂ (*Clostridium* sp., *Enterobacter* sp. e *Bacillus* sp.). Estas bactérias são fisiologicamente ativas em intervalos estritos de temperatura. Alguns trabalhos desenvolvidos apontam melhores resultados em faixa mesofílicas (LEE, LIN; CHANG, 2006; FERREIRA et al., 2018). As melhores temperaturas, porém, variam de acordo com a cultura bacteriana selecionada, origem do inóculo e o substrato utilizado (ELBESHBISHY et al., 2017).

O substrato pode variar de acordo com a atividade agroindustrial, o clima e a temperatura média de um país. A variedade de fontes de matérias orgânicas utilizadas como substrato na obtenção do H₂ vem aumentando. Os substratos utilizados na fermentação podem ser de fontes orgânicas simples, geralmente utilizadas para constituir águas residuárias sintéticas, como a glicose (SATAR et al., 2017; LIU; WANG, 2017; PETROSYAN et al., 2020) e a sacarose (MOTA et al., 2018). Há ainda, os substratos oriundos de resíduos e subprodutos gerados em processos industriais como a polpa da mandioca (PHOWAN; DANVIRUTAI, 2014), melão (REN et al., 2006; FREITAS; MENEZES; SILVA, 2020) resíduo vegetal de cozinha (LEE et al., 2010), soro de queijo (LOPES et al., 2017), glicerol (SENGMEE et al., 2017), vinhaça (RAMOS; SILVA, 2020), caldo de cana (MENEZES; SILVA, 2019) e a casca da batata (SEKOAI; AYENI; DARAMOLA, 2017). Os substratos complexos apresentam vantagens sobre os sintéticos por serem abundantes e de baixo custo. Entretanto, podem conter algumas impurezas que podem diminuir a eficiência do processo fermentativo (SILVA et al., 2009; PANAGIOTOPOULOS et al., 2015; EKER; ERKUL, 2018).

Segundo Van Ginkel, Sung e Lay (2001), a conversão de resíduos orgânicos em H₂ apresentam importantes funções, tanto na produção de energia renovável, como na redução de resíduos orgânicos. Além disso, grandes quantidades de resíduos orgânicos são geradas pelo setor agrícola e industrial. A disposição incorreta destes resíduos polui sistemas ambientais, gerando gases tóxicos (BROOMFIELD; DAVIES; HARRISON, 2006) e criando condições propícias para o crescimento de vetores de doenças (ASHTON, 2008). Considerando que os resíduos agrícolas são formados de substratos complexos e podem ser biodegradados por

consórcios microbianos, a fermentação torna-se uma tecnologia fundamental para a geração de H₂ a partir desses resíduos lignocelulósicos (GUO et al., 2010; NISSILÄ; LAY; PUHAKKA, 2014).

Na literatura vem ganhando destaque os resíduos denominados lignocelulósicos para a produção de H₂ (Tabela 2). A justificativa apontada por diversos trabalhos utilizando alga (PARK et al., 2013), beterraba (EKER; ERKUL, 2018), capim (CUI; SHEN 2012), talho de milho (SAMSON; MANIKKANDA, 2017), batata doce (LAY et al., 2012) e polpa de mandioca (PHOWAN, REUNGSANG; DANVIRUTAI, 2010) como substratos orgânicos, são suas elevadas disponibilidades (IZMIRLIOGLU; DEMIRCI, 2015) e suas composições ricas em carboidratos (50-60%) (GALBE; ZACCHI, 2012).

3.3 SUBSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS

O uso de biomassa de primeira geração oriunda de culturas alimentares apenas para a produção de combustível vem entrando em debates. Portanto, o emprego de biomassa não comestível de segunda geração é recomendado para esta finalidade, pois consistem em matérias-primas lenhosas, resíduos agrícolas ou alimentares (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019). A produção agrícola está associada à geração de grandes quantidades de resíduos denominados lignocelulósicos. Estima-se que o Brasil produza cerca de 200 milhões de toneladas de resíduos agrícolas por ano (LOPES et al., 2020). A biomassa lignocelulósica é a matéria-prima mais abundante no mundo. Fazem parte desta biomassa também os resíduos florestais (madeiras, grama, folhas e capim), e frações orgânicas de resíduos sólidos municipais (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019).

Tabela 2 - Produção de H₂ a partir de biomassa vegetal sob condições mesofílicas em fermentação em batelada

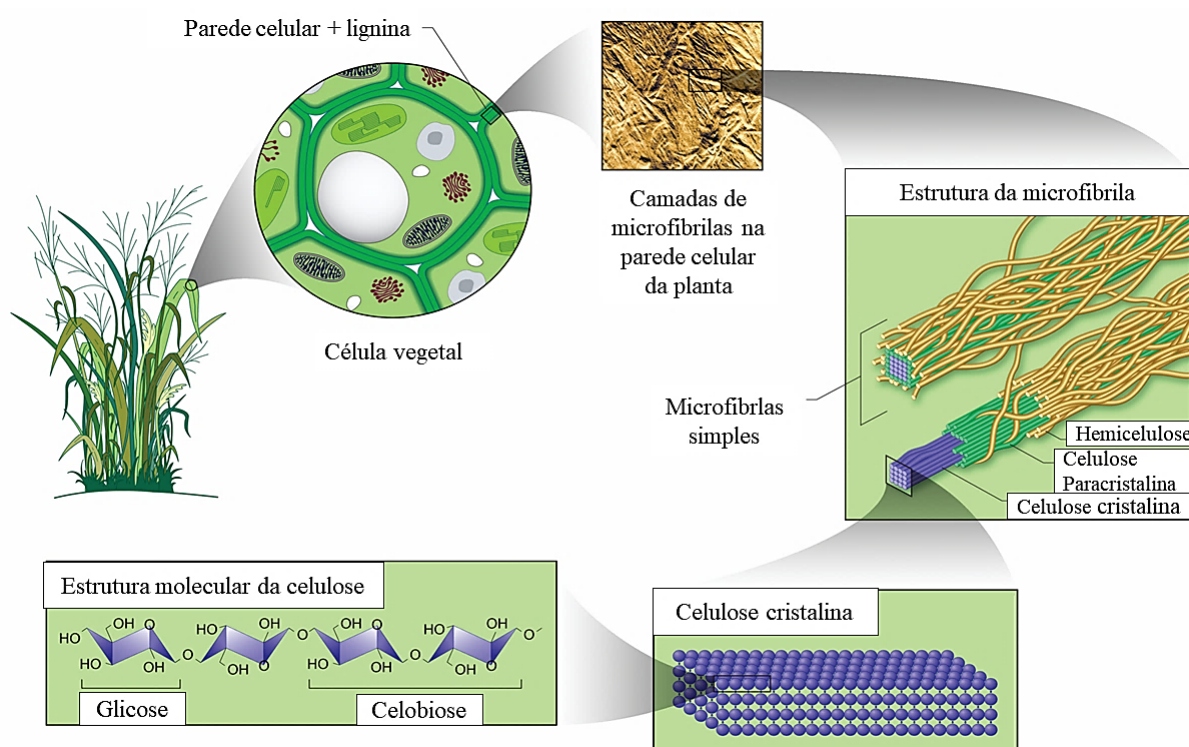
Tipo de operação	pH	Temperatura (C°)	Inóculo	Biomassa vegetal	Concentração de biomassa vegetal (g.L⁻¹)	Rendimento de H₂	Referência
Batelada (anaeróbio)	7,00	36	Composto de estrume de vaca	Resíduos de milho	15,00	149,69 mL H ₂ . g ⁻¹ de SVT	Zhang et al. (2007)
Batelada (anaeróbio)	5,50	37	<i>Clostridium butyricum</i>	Bagaço da cana de açúcar	20,00	1,73 mol H ₂ . mol ⁻¹ de açúcar total	Pattra et al. (2008)
Batelada (anaeróbio)	8,00	36	Efluente de leite	Espiga de milho	10,00	107,90 mL H ₂ . g ⁻¹ de SVT	Pan et al. (2010)
Batelada (anaeróbio)	5,50	36	<i>Clostridium butyricum</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>	Polpa da mandioca	25,00	345,80 mL H ₂ . g ⁻¹ DQO consumido	Phowan, Reungsang e Danvirutai (2010)
Batelada (anaeróbio)	-	35	Cultura mista	Alga marinha	20,00	109,60 mL H ₂ .g ⁻¹ de DQO	Jung, Kim e Shin (2011)

Tabela 2 - Produção de H₂ a partir de biomassa vegetal sob condições mesofílicas em fermentação em batelada (continuação)

Tipo de operação	pH	Temperatura (C°)	Inóculo	Biomassa vegetal	Concentração de biomassa vegetal (g.L⁻¹)	Rendimento de H₂	Referência
Batelada (anaeróbio)	6,70	37	Cultura mista	Batata doce	150,00	1,24 mol.H ₂ .mol ⁻¹ hexose	Lay et al. (2012)
Batelada (anaeróbio)	7,00	35	Cultura mista	Capim	12,50	72,21 mL.g ⁻¹ de substrato seco	Cui e Shen (2012)
Batelada (anaeróbio)	>5,30	35	Cultura mista	Alga vermelha	15,00	37,00 mL.g ⁻¹ de substrato seco	Park et al. (2013)
Batelada (anaeróbio)	7,00	25	Cultura mista	Batata	-	De matéria seca	Panagiotopoulos et al. (2015)
Batelada (anaeróbio)	-	37	Cultura mista	Beterraba	60,00	109,83 mL H ₂ . g ⁻¹ de carbono orgânico total	Eker e Erkul (2018)

A biomassa lignocelulósica é formada por celulose, hemicelulose e lignina, que correspondem aos três polímeros mais abundantes no mundo (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019). A celulose e hemicelulose são envoltas pela lignina, uma macromolécula aromática complexa. Estes três polímeros formam as microfibrilas celulósicas que constitui a base da parede celular vegetal (CANILHA et al., 2012). Na Figura 1 está apresentado o arranjo estrutural de um resíduo lignocelulósico.

Figura 1- Arranjo estrutural da parede celular de materiais lignocelulósicos



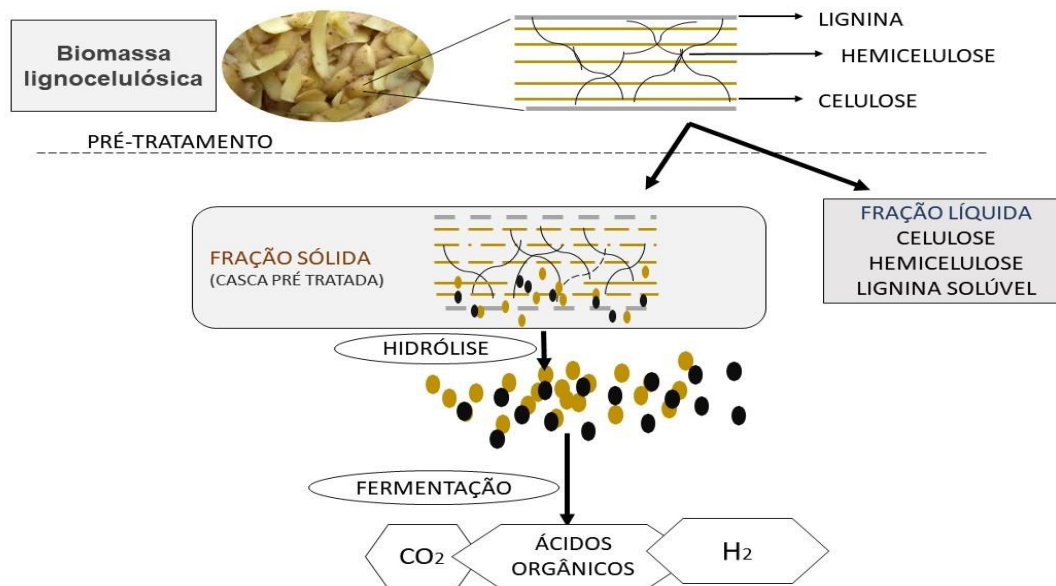
Fonte: Modificado de <https://public.ornl.gov/site/gallery>

Dependendo do material lignocelulósico a composição é distinta, porém, se constituem principalmente de carboidratos formados por celulose e hemicelulose que podem ser fermentadas. A celulose compreende cerca de 40,00 a 45,00% da composição da biomassa lignocelulósica. A maior parte da estrutura da celulose é bem estruturada e cristalina, e em menor porcentagem de sua composição é amórfica. Esta pequena parte sem forma da celulose é preferida para degradação por ser mais facilmente degradada. As ligações intramoleculares de H₂ existentes na celulose a tornam rígida por natureza (NISSILÄ; LAY; PUHAKKA, 2014). Já, a hemicelulose constitui 30,00% da biomassa. Este polímero é composto por moléculas heterogêneas, formando cadeias de vários açúcares, como pentoses, hexoses e ácidos urônicos.

A composição destes açúcares fermentáveis varia dependendo do substrato (NISSILÄ; LAY; PUHAKKA, 2014; YADAV et al., 2018). Na lignina, as ligações cruzadas de monômeros fenólicos a torna uma molécula complexa e grande. Sua estrutura é impermeável e atua como uma barreira à degradação da parede celular da planta e ao estresse oxidativo causado pelos microrganismos. A porcentagem de lignina na biomassa varia entre 3,00 e 56,00%, dependendo principalmente da origem e tipo de resíduo (SARIPAN; REUNGSANG, 2014; NISSILÄ; LAY; PUHAKKA, 2014; YADAV et al., 2018; YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019).

Devido à complexidade da estrutura cristalina da célula vegetal, do tamanho das partículas e à presença de materiais associados, como hemicelulose e lignina, a degradação da biomassa celulósica por microrganismos torna-se reduzida sem o auxílio de pré-tratamentos (GALBE; ZACCHI, 2012), pois dificulta a quebra da estrutura rígida e a disponibilização da celulose e hemicelulose em açúcares para as bactérias (MA et al., 2013). Desta forma, é necessária a realização de pré-tratamento da matéria lignocelulósica previamente a sua utilização como substrato para a produção de biocombustíveis. O pré-tratamento tem a função de aumentar a velocidade de bioconversão do substrato. Nesta etapa ocorre a deslignificação do material lignocelulósico e há a modificação do tamanho, da estrutura e da composição química da célula vegetal (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019). Na Figura 2 é apresentado o fluxograma do processo de fermentação escura de resíduos lignocelulósicos, que se inicia pelo pré-tratamento dos resíduos. As etapas correspondem a seguinte ordem: i) Pré-tratamento do resíduo lignocelulósico, ii) Hidrólise da celulose hemicelulose em açúcares fermentáveis (pentoses e hexoses) e iii) Fermentação dos açúcares simples (conversão em produtos metabólicos) (KUMAR et al., 2015).

Figura 2 - Etapas para a produção de biocombustíveis a partir de resíduos lignocelulósicos casca de batata



Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

3.3.1 Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos

Para a fermentação de materiais lignocelulósicos, inicialmente a celulose é degradada em glicose. As etapas do processo de hidrólise ocorrem simultaneamente (PERCIVAL ZHANG; HIMMEL; MIELENZ, 2006). Segundo Rasmussen, Sørensen e Meyer. (2014), as hemiceluloses podem ser facilmente hidrolisadas em pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glicose, galactose e manose) e, então, transformados em biocombustíveis e outros produtos químicos de valor agregado, como o 5-hidroximetilfurfural (HMF), o ácido levulínico e o xilitol. Dependendo do pré-tratamento escolhido pode ocorrer a perturbação à hemicelulose muito severa, ocasionando a liberação não controlada de produtos da degradação da hemicelulose, como o furfural e o hidroximetil furfural. Estes compostos podem se comportar como inibitórios, afetando a atividade enzimática dos microrganismos na fermentação, pois podem romper a parede da célula microbiana (KO et al., 2015). A inibição depende fortemente da concentração destes produtos na degradação da biomassa, da capacidade de tolerância dos microrganismos e do tipo de pré-tratamento escolhido (YADAV et al., 2018).

O pré-tratamento físico é largamente utilizado em resíduos lignocelulósicos, consistindo em reduzir ou alterar a área de superfície da biomassa, tornando-o passível de digestão e solubilização pelos microrganismos. Neste tratamento são utilizados instrumentos mecânicos

como o moedor e a prensa de parafuso. A redução de tamanho das partículas auxilia a diminuir a cristalinidade da celulose. Os elevados gastos de eletricidade é uma das principais desvantagens deste pré-tratamento, pois pode distorcer a equação do ganho líquido de energia (YADAV; PARITOSH; VIVEKANAND, 2019). Zhao et al. (2006) sugerem combinar o pré-tratamento físico com o pré-tratamento químico ou biológico para obter ganho de energia líquida positivo.

De acordo com Yadav, Paritosh e Vivekanand (2019), no pré-tratamento biológico as enzimas ou microrganismos atuam na quebra da estrutura rígida do material e realizam a deslignificação da biomassa. O fungo é usado para realizar pré-tratamento biológico por sua propriedade de desestruturar a lignina e a hemicelulose de forma seletiva, tornando a biomassa lignocelulósica mais propensa a ataques enzimáticos. No entanto, como desvantagem os métodos de pré-tratamento biológicos possuem tempo reações mais longos (AHMAD; SILVA; VARESCHE, 2018).

Nos procedimentos físico-químicos biomassa lignocelulósica é exposta a elevadas pressões e temperatura por um determinado período. Neste pré-tratamento a biomassa pode ser submetida a soluções com ácidos ou bases combinados com condições de altas pressões e temperaturas. Os métodos hidrotérmicos e explosão a vapor fazem parte deste pré-tratamento. Assim como os procedimentos físicos, este método possui como desvantagens a utilização intensiva de energia (HUANG et al., 2015).

Nos pré-tratamentos químicos são utilizados compostos químicos para romper a estrutura de lignina. Estes compostos podem ser alcalinos, ácidos, solventes orgânicos, líquidos iônicos e cloretos de íons metálico. A hidrólise alcalina e ácida são as estratégias mais exploradas e com menores custos entre todos os pré-tratamentos químicos (REN et al., 2010). Os produtos químicos ácidos e alcalinos mais comumente utilizados no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica para a produção de H_2 são o ácido clorídrico (HCl) (CHANG et al., 2011; HAN et al., 2012), o ácido sulfúrico (H_2SO_4) (DATAR et al., 2007; CAO et al., 2009; CHONG et al., 2013), o hidróxido de sódio (NaOH) (FANGKUM; REUNGSANG, 2011; RUGGERI; TOMMASI, 2012), o hidróxido de potássio (KOH) (LIU et al., 2015; XIE et al., 2018) e o hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$ (RODRIGUES; JACKSON; MONTROSS, 2016; CHANG et al., 2017).

Os diferentes métodos de pré-tratamento podem ser aplicados individualmente ou combinados. A escolha do método pode definir a efetividade da produção de compostos metabólicos líquidos ou gasosos (SARATALE et al., 2008). Por exemplo, o método químico pode ser usado após o procedimento físico para aumentar rendimento de açúcar a partir de

celulose e hemicelulose. Esta combinação reduz a perda de açúcares, diminui a formação de subprodutos que inibem o processo, e proporcionam maior relação custo-benefício na recuperação a lignina. A escolha do método de pré-tratamento depende do substrato utilizado e do produto de interesse (NISSILÄ; LAY; PUHAKKA,2014). Na Tabela 3 estão apresentados exemplos de pré-tratamentos aplicados a resíduos lignocelulósicos. Fermentações da biomassa lignocelulósica utilizando hidrolisantes químicos (DATAR et al., 2007; PATTRA et al., 2008; CAO et al., 2009; PAN et al., 2010; CUI; SHEN, 2012; RUGGERI; TOMMASI, 2012; PARK et al., 2013; MENEZES et al., 2014; PANAGIOTOPOULOS et al., 2015; SOARES et al., 2017) ou biológicos (LO et al., 2009; PANAGIOTOPOULOS et al., 2015) para pré-tratar os resíduos utilizados estão sendo investigadas com o propósito de melhorar a conversão de carboidratos em produtos de valor agregado.

O composto químico H_2SO_4 é uma das alternativas avaliada para hidrolisar a biomassa lignocelulósica em trabalhos da literatura. Datar et al. (2007) realizaram o pré-tratamento do sabugo de milho com H_2SO_4 objetivando a produção de H_2 . Este estudo foi realizado em reatores em batelada, com pH de 5,50, agitação de 40 rpm e com cultura mista oriunda de estação de tratamento de efluente. A massa seca de sabugo de milho (523,00 g) foi submetida a um pré-tratamento neutro, na qual foi embebecida com água e a uma hidrólise ácida utilizando uma solução com 1,20% v.v⁻¹ de H_2SO_4 por cerca de 2 horas de duração. Em seguida, o sabugo hidrolisado foi submetido a explosão a vapor sob uma temperatura entre 190 a 220 °C com um tempo de reação entre 1 e 3 minutos. Antes da fermentação, o pH das fermentações foram ajustado para 7,00 com $Ca(OH)_2$ com intuito de remover compostos fenólicos derivados da lignina. A produção de H_2 a partir destas condições de pré-tratamento do sabugo de milho foi de 2,84 mol. H_2 . mol⁻¹ de hexose para o pré-tratamento sem a utilização do ácido e 3,00 mol. H_2 . mol⁻¹ de hexose para o pré-tratamento ácido.

A produção fermentativa de H_2 foi avaliada por Pattra et al. (2008) que, assim como Datar et al. (2007), utilizaram o H_2SO_4 como composto químico para hidrolisar a biomassa lignocelulósica. Os autores utilizaram como substrato o bagaço de cana pré-tratado com 0,50% v.v⁻¹ de H_2SO_4 a temperatura de 121 °C, durante 60 minutos, e como inóculo a cultura pura de *Clostridium butyricum*. Nas condições de pH 5,50 e concentração de 20,00 g.L⁻¹ de bagaço hidrolisado foi obtido uma produção de 2,48 g.L⁻¹ de ácido acético e foi gerado um rendimento de 1,73 mol H_2 .mol⁻¹ de açúcar total. Os açúcares liberados a partir da hidrólise ácida foram 11,00 g.L⁻¹ de glicose, 11,29 g.L⁻¹ de xilose e 2,22 g.L⁻¹ de arabinose, considerados valores altos de dos açúcares liberados a partir da hidrólise do bagaço sem casca. Os autores observaram

que na hidrólise com 0,25% v.v⁻¹ de H₂SO₄ ocorreu uma diminuição de 29,79% na liberação de açúcar total a partir da hidrólise ácida.

Cao et al. (2009) consideraram o pré-tratamento da palha de milho utilizando a hidrólise ácida diluída de H₂SO₄ para a produção fermentativa de H₂. O experimento foi realizado em reatores em batelada sob condições termofílicas de temperatura de 60 °C, utilizando cultura pura de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. Os autores avaliaram diferentes concentração de H₂SO₄ (0,25 a 4,00 % v.v⁻¹) e distintos tempos de reações da hidrólise (entre 30 e 180 minutos). A melhor produção de H₂ (3305,00 mL H₂.L⁻¹) obtida por Cao et al. (2009) foi utilizando a palha de milho pré-tratada a uma proporção de 1,69% de H₂SO₄ com um tempo de reação de 117 minutos. Esta produção foi 68,32% superior a obtida a partir do pré-tratamento com 4,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ durante 180 minutos (1047,00 mL H₂.L⁻¹).

A produção de H₂ avaliada por Park et al. (2013) foi realizada a partir da alga marinha vermelha hidrolisada, variando-se as proporções de H₂SO₄, utilizado como hidrolisante ácido, entre 0,50 e 1,50% p.p⁻¹, a temperatura de reação entre 120 e 180 °C e a razão sólido/líquido entre 5,00 e 15,00% p.v⁻¹. Entre os três fatores analisados, a temperatura teve efeito mais significativo para a eficiência da hidrólise e, conseqüentemente, na produção de H₂. O processo fermentativo ocorreu em reatores em batelada sob a temperatura de 35 °C, pH acima de 5,30 e agitação de 150 rpm. As condições de pré-tratamento com temperatura de 164 °C, proporção de H₂SO₄ de 0,50% p.p⁻¹ e uma relação de 12,70% de sólido/líquido produziu um rendimento cumulativo máximo de 37,00 mL.g⁻¹ de massa alga vermelha seca. Em fermentações com a alga vermelha hidrolisada com 1,5 % p.p⁻¹, temperatura de 120 °C e uma relação de 10,00% de sólido/líquido não houve produção de H₂.

Outro composto químico identificado em trabalhos da literatura para hidrolisar a biomassa lignocelulósica é o NaOH. Ruggeri e Tommasi (2012), utilizando o NaOH como hidrolisante do substrato, avaliou a produção fermentativa a partir dos resíduos orgânicos de mercado compostos por frutas e vegetais. O resíduo foi triturado e pré-tratado por hidrólise alcalina com NaOH a um pH de 12,50. A fermentação ocorreu em reatores em batelada sob a temperatura de 30 °C, pH de 7,20 e agitação de 200 rpm com uma concentração inicial de 410 g.L⁻¹. Durante a fermentação devido à alta redução de pH, houve a necessidade de ajuste adicionando NaOH 2 N. A partir das condições de pré-tratamento e fermentação mencionadas o resíduo orgânico de mercado hidrolisado produziu um volume de 590,00 mL.L⁻¹ de H₂, notando que o pré-tratamento aumentou a eficiência de produção de H₂ em até 96,10% em relação a fermentação com o resíduo orgânico de mercado sem pré-tratamento químico.

Menezes et al. (2014) analisaram o pré-tratamento da polpa de café utilizando concentrações distintas de NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para a produção de etanol. Foram testadas distintas concentrações de hidrolisantes (0,00 a 8,00 g.L^{-1}) e diferentes tempos de pré-tratamento (16,50 a 33,40 minutos). O pré-tratamento mais eficiente para a produção de etanol foi observado com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH na ausência de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, durante 25 minutos. Esta etapa foi realizada em autoclave com 100,00 g de polpa e 100 mL de solução alcalina. A fermentação ocorreu em reatores em bateladas sob a temperatura de 30 °C, sem controle de pH e uma concentração inicial de 155,00 g da polpa do café hidrolisada durante 48 horas, produzindo 13,66 g.L^{-1} de etanol. Os autores observaram que sem o pré-tratamento alcalino ocorreu a diminuição de 81,45% da glicose liberada no meio líquido para a fermentação. A hidrólise alcalina possibilitou uma maior quantidade de açúcares para ser fermentada.

Os efeitos dos pré-tratamentos da biomassa do capim sobre a produção fermentativa de H_2 foram analisados por Cui e Shen (2012) utilizando a hidrólise alcalina (NaOH). Diferentes proporções (entre 0,50 e 8,00% p.v⁻¹) de NaOH foram testadas com objetivo de analisar qual oferece melhor rendimento de H_2 . A reação do pré-tratamento teve como duração 30 minutos. O pH a fermentação do capim hidrolisado foi ajustado para 7,00 para o processo de fermentação. A fermentação ocorreu em reatores em batelada sob temperatura de 35 ° C, pH inicial 7,00 e agitação de 120 rpm. São apresentados pelos resultados que a eficiência da produção de H_2 com o substrato pré-tratado 0,50% p.v⁻¹ de NaOH possibilitou um rendimento de 19,25 mL.g^{-1} de grama seca, 77,19% maior que o observado na fermentação do substrato não tratado (4,39 mL.g^{-1} de grama seca).

Tabela 3 - Estudos de pré-tratamento em resíduos orgânicos como etapa principal da fermentação

Pré-tratamento	Tipo de operação	Temperatura (°C)	Substrato (g.L ⁻¹)	Produção	Referência
Explosão a vapor (1,20% (L.L ⁻¹) de H ₂ SO ₄ , 190 - 220 °C)	Batelada	35 °C	Sabugo de milho (523,00 g de massa seca)	2,84 mols H ₂ .mol ⁻¹ hexose ⁻¹	Datar et al. (2007)
Hidrólise ácida (0,50% v.v ⁻¹ de H ₂ SO ₄ , 121 °C, 60min)	Batelada	37 °C	Bagaço da cana (20,00 g DQO.L ⁻¹ de açúcar total)	1,73 mol H ₂ .mol ⁻¹ total sugar	Pattra et al. (2008)
Bacteriano fúngico (<i>Clostridium</i> TCW1)	Batelada	37 °C	Celulose (20,00 g DQO.L ⁻¹)	0,50 mol H ₂ .mol ⁻¹ hexose	Lo et al. (2009)
Hidrólise ácida (1,69% v.v ⁻¹ de H ₂ SO ₄)	Batelada	60 °C	Palha de milho (2,11 g.L ⁻¹ de glicose)	3305,00 mL.L ⁻¹	Cao et al. (2009)
Hidrólise ácida (120 mL HCl 0,50M, 121 °C, 15 min) + Hidrólise enzimática (<i>Saccharomyces cereviciae</i> var. <i>bayanus</i>)	Batelada	32 °C	Casca de batata (40,00 g)	7,60 g.L ⁻¹ de etanol	Arapoglou et al. (2010)

Tabela 3 - Estudos de pré-tratamento em resíduos orgânicos como etapa principal da fermentação (continuação)

Pré-tratamento	Tipo de operação	Temperatura (°C)	Substrato (g.L⁻¹)	Produção	Referência
Hidrólise enzimática (2,10 mL de uma solução alfa-amilase comercial; 90 ° C; pH de 5,40; 2 h)	Batelada	80 °C	Casca de batata (14,00 g.L ⁻¹)	3,80 moles de H ₂ . g ⁻¹ glicose	Mars et al. (2010)
Hidrólise Alcalina (NaOH pH 12,50)	Batelada	30 °C	Resíduo orgânico (410,00 g.L ⁻¹)	590 mL H ₂ .L ⁻¹	Ruggeri e Tommasi (2012)
Hidrólise ácida 6,00% (kg. L ⁻¹) H ₂ SO ₄ , 120 °C, 15 min	Batelada	35 °C	Cacho de frutos de óleo de palma (5,00 g de açúcar. L ⁻¹)	2,38 mol H ₂ .mol ⁻¹ hexose	Chong et al. (2013)
Hidrólise Alcalina (4,00% de NaOH por 25 min)	Batelada	30 °C	Polpa de café (155,00 g.L ⁻¹)	Etanol (0,4 g etanol. g glicose ⁻¹)	Menezes et al. (2014)
Hidrotérmico (210 °C por 15 min)	Batelada	60 °C	Bagaço de cana (2,00 g.L ⁻¹)	H ₂ (18 mmol. L ⁻¹)	Soares et al. (2017)
Hidrólise ácida (15% v.v ⁻¹ de H ₂ SO ₄ , 121 °C, 30 min)	Contínuo	55 °C	Hidrolisado celulósico (2,00 g.L ⁻¹)	279,90 mL H ₂ .h ⁻¹ L	Lopes et al. (2020)

O HCl também pode ser observado na literatura como hidrolisante de resíduos lignocelulósicos para a produção fermentativas de produtos de valor agregados. Pan et al. (2010) com intuito de utilizar o sabugo de milho como substrato para a produção de H₂, avaliaram a fermentação deste resíduo sem e com pré-tratamento químico, utilizando o composto HCl. As proporções de hidrolisantes (HCl: 0,10 a 2,00%), pH (4,00 a 9,00) e concentração de sabugo hidrolisado (5,00 e 30,00 g.L⁻¹) variaram, identificando-se que a condição ideal encontrada de pré-tratamento para o sabugo de milho foi de 1,00% p.p⁻¹ de HCl hidrolisada sob uma temperatura de 100 °C durante 30 minutos. Os autores, realizaram os ensaios em bateladas sob a temperatura de 36 °C e rotação de 120 rpm, utilizando como inóculo a microflora anaeróbia natural da biomassa. O pH 8,00 foi usado para a máxima produção de H₂ em uma concentração de substrato de 10,00 g.L⁻¹. O rendimento máximo de H₂ encontrado foi de 107,90 ml. g⁻¹ de sólidos voláteis totais e taxa de produção de H₂ de 4,20 mL.g⁻¹ TSV.h⁻¹. O rendimento de H₂ a partir da espiga de milho hidrolisada foi 87,85% superior ao da espiga de milho sem pré-tratamento. Portanto, o pré-tratamento ácido teve um papel crucial na produção de H₂.

O efeito do pré-tratamento do capim hidrolisado com HCl sobre a produção fermentativa de H₂ foi investigado por Cui e Shen (2012). Os autores avaliaram a influência de distintas proporções de HCl (entre 0,50 e 8,00% p.v⁻¹) na hidrólise do capim que teve como duração 30 minutos. A produção de H₂ foi analisada em fermentação sob temperatura de 35 °C, pH inicial 7,00 e agitação de 120 rpm. Cui e Shen (2012) verificaram que a fermentação do capim hidrolisado com 4,00% p.v⁻¹ de HCl acarretou no rendimento cumulativo máximo de H₂ de 72,21 mL.g⁻¹ de grama seca, valor 93,53% superior ao observado na fermentação do capim sem hidrólise ácida.

De forma diferente, alguns trabalhos investigam a utilização de hidrolisantes biológicos como bactérias ou enzimas no pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos para a produção fermentativa de H₂. O pré-tratamento do capim, bagaço de cana e α-celulose foram avaliadas por Lo et al. (2009) a partir de sete diferentes bactérias celulolíticas isoladas (*Clostridium* sp.) para a produção de H₂. Todas as culturas utilizadas para hidrolisar o material celulósico foram capazes de hidrolisar. As fermentações ocorreram sob a temperatura de 37 °C e pH de 7,50. Entre os sete diferentes isolados bacterianos, a melhor produção de H₂ foi de 270,00 mL.L⁻¹ a partir da α-celulose hidrolisada por inóculo *Clostridium butyricum*. Esta produção foi 94,14 e 92,65% superior às observadas nas fermentações com capim e bagaço de cana hidrolisados, respectivamente, também por *Clostridium butyricum*.

A combinação de métodos para aumentar a eficiência da produção de H₂ pode ser verificada no trabalho de Panagiotopoulos et al. (2015). Os autores analisaram os efeitos das combinações de hidrolisantes químicos e biológicos sobre a fermentação de distintos resíduos lignocelulósicos utilizados para a produção de H₂. Panagiotopoulos et al. (2015) hidrolisaram os resíduos da palha de trigo e de cevada com H₂SO₄ diluído e subsequentemente uma preparação comercial de celulase (GC 220). Já o bagaço de sorgo doce e o miscanthus foram pré-tratados com NaOH e GC 220. Cascas da batata e grãos de trigo foram hidrolisados com uma alfa-amilase comercial e amiloglicosidase comercial (AMG 300). Foram pré-tratados ainda um bolo de cenoura com GC 220 e farelo de trigo auto-hidrolisado e pré-tratado também com AMG 300 e GC 220. As fermentações ocorreram sob temperatura ambiente e pH ajustado para 7,00. Os resultados possibilitaram verificar que para os resíduos grãos de trigo, palha de cevada, miscanthus, palha de trigo e cascas de batata, os rendimentos foram de 68,10 a 77,30 kg H₂.t⁻¹ de matéria-prima seca. No entanto, o bagaço de sorgo sacarino apresentou o maior potencial de rendimento de H₂, proporcionando rendimento de 103,40 kg H₂.t⁻¹ de matéria prima seca, utilizando NaOH e GC 220. Este resultado foi até 34,13% superior aos observados nas outras fermentações.

Um resíduo que vem ganhando destaque nos trabalhos de produção de produtos de valor agregado é o resíduo da batata. Este vegetal possui uma das maiores culturas alimentar do mundo e sua elevada produção vem gerando resíduos que necessitam ter destinação adequada. Arapoglou et al. (2010) afirmam que há uma preocupação considerável das indústrias de batata causada pelo problema da disposição final de resíduos de batata. A composição destes resíduos, porém, possuem elementos de interesse comercial como o amido, glicoalcalóides e compostos fenólicos que podem ser utilizados para diversos fins (GÓMEZ-HEINCKE et al., 2017). A utilização deste resíduo como potencial substrato para a produção de produtos com valor agregado tem despertado interesse muitos grupos de pesquisa.

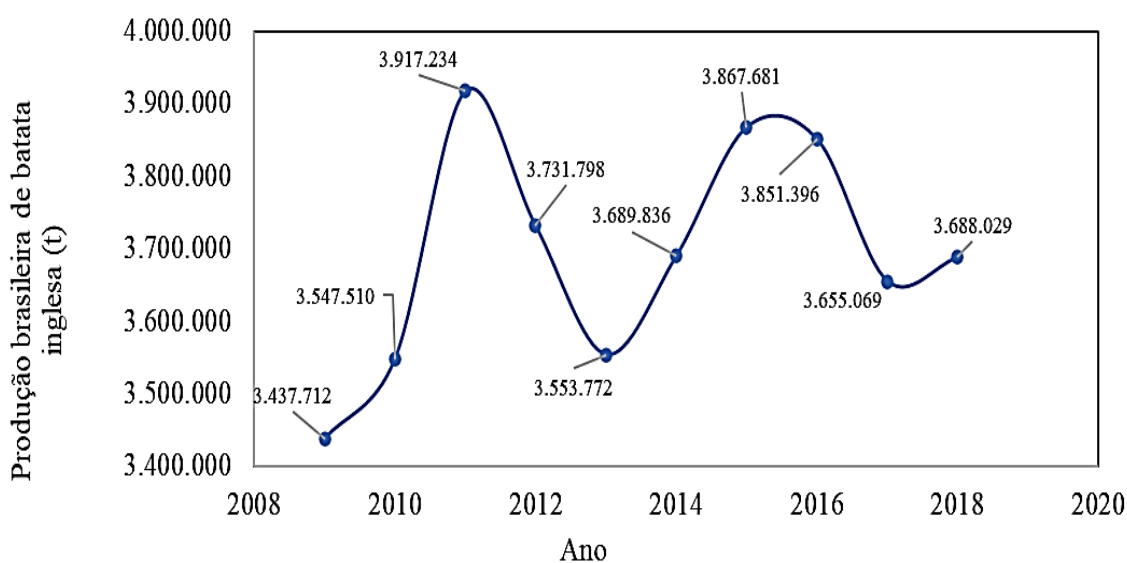
3.4 BATATA INGLESA

A *Solanum tuberosum* L., mais conhecida como batata inglesa é um vegetal com grande base energética, rica em proteínas de alta qualidade, quantidades consideráveis de vitaminas e importante sais minerais, essenciais para a nutrição de um indivíduo. A composição da batata consiste em cerca de 80,00% de água, seguido de 16,00% de carboidratos, principalmente o amido. Consiste também em 1,00% a 2,00% de fibra, concentrada na casca, e 0,10% a 0,70% de açúcares simples, como glicose, frutose e sacarose. As proteínas são os nutrientes mais

abundantes no tubérculo, com cerca de 2,00% de sua composição, depois dos carboidratos. O tubérculo ainda é fonte de potássio, ferro, magnésio e fósforo, possuindo também um baixo teor de sódio (EMBRAPA, 2015).

Conforme a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (2015), a batata inglesa, é a terceira maior cultura alimentar no mundo, e a commodity não grão de maior importância. Mais de um bilhão de pessoas consomem batata diariamente no planeta. Nacionalmente, a batata inglesa é a hortaliça que apresenta maior notoriedade, sendo produzida aproximadamente 3,60 milhões toneladas no ano de 2018, em uma área de cerca de 119,10 mil hectares, obtendo uma produtividade de 31,32 kg. ha⁻¹ (IBGE, 2019). Na Figura 3 são apresentados os valores de produção de batata por ano no Brasil entre os anos de 2009 e 2018. O agronegócio da batata envolve em torno de 5 mil produtores de sete estados brasileiros (Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Goiás e Bahia). A maior parte desta produção é comercializada *in natura*, e apenas 10% são destinadas ao processamento industrial para a produção de pré-fritas congeladas, chips e batata palha, por exemplo.

Figura 3 - Produção anual de batata inglesa no Brasil entre os anos de 2009 e 2018



Fonte: Adaptado de IBGE, 2019

Segundo Fernandes e Soratto (2012), o estilo de vida mais agitado associado aos processos de globalização e urbanização tem transformado a forma de consumir os produtos industrializados mais prática, aumentando a velocidade de produção. O uso doméstico de batata a granel vem diminuindo, em contraste com o aumento do consumo de batata pré-frita congelada. O consumo de batata chips e batata palha por ano, por exemplo é de cerca de 375,00

e 100,00 gramas por pessoa, respectivamente. Contudo, somente uma porcentagem de aproximadamente 26,00% (82 mil toneladas) do consumo nacional da batata pré-frita congelada é abastecido como produto processado no Brasil. O restante dos produtos de batata é importado da Argentina e de países da União Europeia. No mundo, mais da metade da produção da batata é comercializada de forma fresca, no entanto, existe uma parcela significativa que é convertida em produtos industriais, como as pré-fritas, a farinha e o amido. Os seus subprodutos podem ser utilizados como ingredientes na ração animal.

Além das formas tradicionais de consumo de batata, como alimento e ingredientes em receitas, existe a indústria não alimentícia, onde o consumo da batata é destinado para diversos fins, como mostrado na Figura 4. A fécula da batata, amido retirado sob a forma de farinha, é utilizada em diversos setores econômicos, na indústria farmacêutica, na indústria de madeira como aglutinante, na indústria têxtil como adesivo e na indústria de papel como agente de textura (PRIEDNIECE et al., 2017).

O amido presente nas batatas possui diversas aplicações. Este elemento quando transformado em gel é utilizado em produtos farmacêuticos como agente de enchimento e na fabricação de comprimidos. O amido também tem o potencial de ser usado em nanotecnologias, com características vantajosas na fabricação de dispositivos médicos, como os nanotubos (GRAÇA; PEREIRA, 2000). Em alguns países da região da Escandinávia, por exemplo, o tubérculo passa por trituração e aquecimento para converter este elemento em açúcares e, logo após, ocorre a fermentação seguida pela destilação, produzindo bebidas alcoólicas como a vodka (EMBRAPA, 2015). O amido, além disso, pode ser utilizado para a produção de poliestireno, que gera produtos biodegradáveis descartáveis, como o bioplástico. Este produto pode ser utilizado como substituto dos plásticos, minimizando os impactos negativos ao meio ambiente. As vantagens da utilização do bioplástico constituído de amido é sua biodegradabilidade e grande disponibilidade da matéria-prima (SAGNELLI et al., 2016). As proteínas das batatas também podem ser utilizadas na fabricação de bioplásticos adequados para embalagens de alimentos, produção de filmes e aplicações de medicamentos (GÓMEZ-HEINCKE et al., 2017).

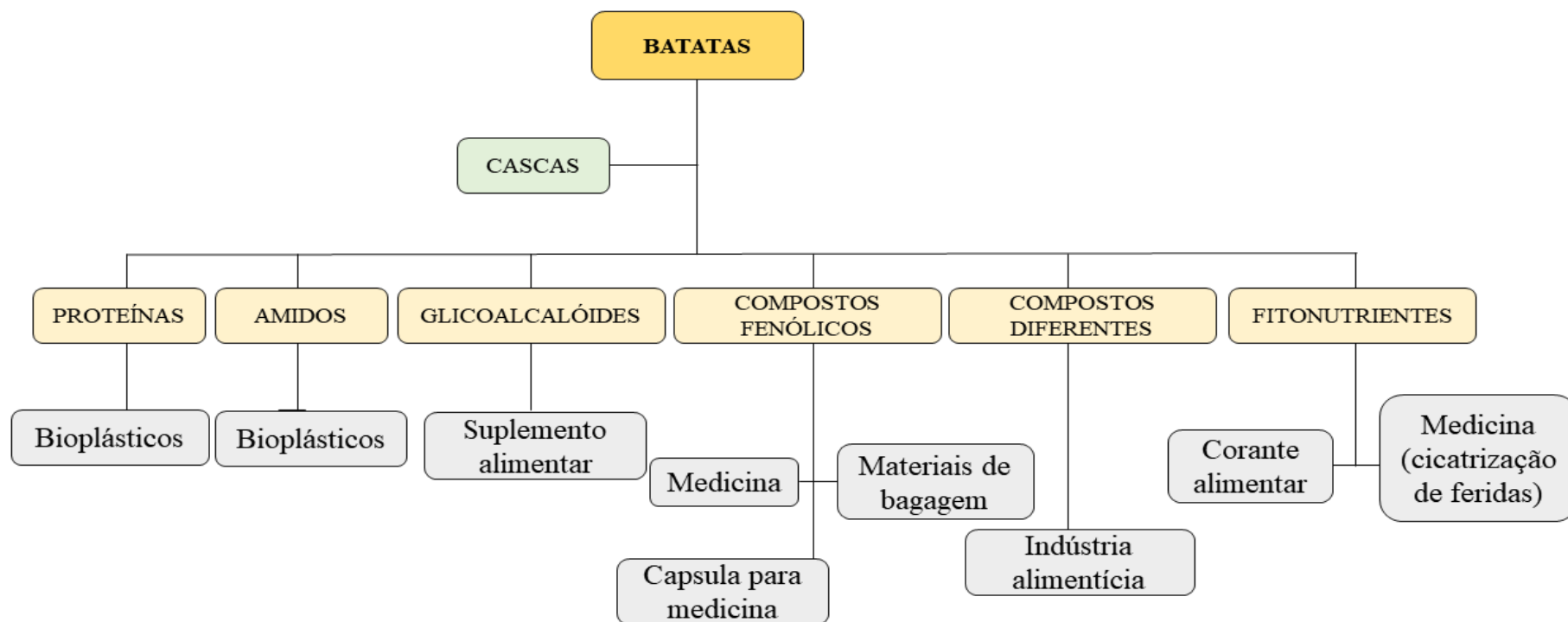
Outros componentes presentes na batata como os compostos fenólicos e glicoalcalóides são utilizados no setor farmacêutico e na medicina. A maioria dos compostos fenólicos são constituídos em quase 90,00% de ácido clorogênico que pode ser hidrolisado em ácidos quínico e cafeico. O ácido quínico pode servir como matéria-prima para produção de diversos medicamentos, e o ácido cafeico mostra alta atividade contra bactérias. Os glicoalcalóides da batata são utilizados em produtos farmacêuticos como antibióticos, antialérgicos, antipiréticos,

compostos anti-inflamatórios e hiperglicêmicos. Este componente, também, pode oferecer benefícios como suplemento alimentar, permitindo diminuir os níveis de colesterol, alergias, dores e inflamações e teor de açúcar no sangue, e glicogênio nos fígados. Estes compostos podem ser encontrados, em certas concentrações, na casca da batata (FRIEDMAN, 2006).

A casca de batata assim como outras partes do vegetal possui elementos como os compostos fenólicos e glicoalcalóides que possuem aplicações. Este componente da batata pode servir de alimento para animais desde que estejam cozidos, fornecendo uma boa nutrição a baixo custo. O amido encontrado na casca pode ser liquefeito e fermentado para gerar álcool como combustível. Estima-se que cada 8,00 a 10,00 kg de resíduo possa gerar 1,00 L de etanol (EMBRAPA, 2015). De acordo com Friedman, et al. (2017), os produtos potenciais que podem ser produzidos a partir de cascas de batata são o biodiesel, o ácido lático, o biossorvente para remover toxinas da água e o biogás metano. As frações de lignina e de suberina que podem ser extraídas da casca podem produzir antioxidantes e produtos químicos bioativos (LIANG; MCDONALD, 2014).

A casca representa a maior parte dos desperdícios de batata. O processo de retirada de casca de uma batata típica pode gerar de 6,00 a 10,00% de resíduos e processos de corte podem gerar um desperdício adicional de 15,00% (LIANG; MCDONALD, 2014). As sobras deste vegetal representam entre 50,00% e 60,00% da matéria-prima (MALDONADO et al., 2014). As abordagens de utilização dos resíduos de batata, para a produção de biocombustíveis e produtos de valor agregado, permitem que ocorra a minimização de fluxos de resíduos, redução da pegada de carbono, mitigação dos gases do efeito estufa e geração de uma variedade de bioprodutos (LIANG; MCDONALD, 2014) líquidos como o biobutanol (HIJOSA-VALSERO, PANIAGUA-GARCÍA e DÍEZ-ANTOLÍNEZ, 2018), bioetanol (HOSSAIN et al., 2018; CHOHAN et al., 2020) e ácido lático (LIU et al., 2005; AFIFI, 2011); e produtos gasosos como o CH₄ (DURRUTY, ZARITZKY; GONZÁLEZ, 2013) e o H₂ (MARS et al., 2010; LAY et al., 2012; VI, SALAKKAM; REUNGSANG, 2017; SEKOAI, YORO; DARAMOLA, 2018).

Figura 4 - Aplicações industriais da batata



Fonte: Adaptado de Priedniece et al (2017)

3.5 CASCA DE BATATA COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS DE VALOR AGREGADO

Os resíduos industriais da produção de batata podem ser utilizados para sintetizar produtos de valor agregado na fermentação escura. Esta forma de utilização do resíduo permite um gerenciamento econômico e ambientalmente correto (IZMIRLIOGLU; DEMIRCI, 2015). Segundo Vi, Salakkam e Reungsang (2017), a produção de biocombustíveis e bioenergias como o metano e H₂ estão sendo cada vez mais utilizados para fermentar resíduos de baixo valor, em particular aqueles que contêm altos níveis de matéria orgânica biodegradável, como resíduos de batata. Na Tabela 4 são apresentados alguns dos produtos gerados a partir do resíduo da batata.

Khawla et al. (2014) afirmam que apesar de a composição da batata conter os principais nutrientes necessários para o crescimento dos microrganismos para a produção de biocombustíveis e produtos de valor agregado, o baixo teor de açúcares fermentáveis (entre 0,32% ± 0,13%) na fermentação sem o pré-tratamento inicial faz com que a fermentação da matéria-prima não seja tão eficiente e, portanto, há a necessidade da mudança da estrutura deste resíduo para disponibilizar em maiores concentrações seus carboidratos. Na literatura são observados diversos trabalhos que utilizam a etapa do pré-tratamento como etapa importante para a fermentação desta biomassa.

Afifi (2011) visando a máxima produção de ácido lático a partir do resíduo líquido do processamento de batata variou algumas condições de cultivo. Estas variações ocorreram na temperatura (entre 25 e 55 °C), pH (entre 3,00 e 7,00) e tempo de reação (entre 0 e 6 dias). As condições ótimas para a máxima produção obtida de ácido lático ocorreram, nos reatores em batelada inoculados com 1 mL de *Lactobacillus casei* incubados a 37 °C, durante 4 dias, com pH ajustado por 3,50. A produção máxima foi de 16,09 g.L⁻¹ de ácido lático, em meio nutricional com extrato de levedura, glicose, presença de extrato de malte, galactose e sulfato de manganês, representando as condições nutricionais mais preferíveis para obtenção da máxima produção do ácido.

A produção de ácido lático realizada por Liang, Mcdonald e Coats (2014) ocorreu sob condições não estéreis na fermentação da casca de batata. Os reatores em bateladas não tiveram controle de pH, a cultura mista utilizada era indefinida, oriunda de uma estação de tratamento de água residuária. Liang, Mcdonald e Coats (2014) verificaram variados processos de pré-tratamento e hidrólise enzimáticas (casca não gelatinizada com e sem enzimas hidrolíticas, e

casca gelatinizada com e sem enzimas), temperatura (35 e 50 °C) e carga de sólidos (20,00; 40,00 e 60,00 g.L⁻¹). Os máximos rendimentos de ácido lático, ácido acético e etanol sem adição de enzimas hidrolíticas foram, respectivamente, 0,22; 0,06; 0,05 g.g⁻¹ e a maior concentração de ácido lático de 14,70 g.L⁻¹. Estes valores máximos ocorreram no biorreator com carga sólida inicial de 60,00 g.L⁻¹ a 35 °C. A utilização de casca de batata para a produção de ácido lático nessas condições mostrou ser uma alternativa potencial para reduzir o custo de produção do ácido lático, pois utiliza um fluxo de resíduo com baixos custos, sem que haja a necessidade de usar biorreatores estéreis com culturas puras.

Tabela 4 - Produtos com valor agregado a partir de ensaios em batelada com resíduo da batata

Tipo de Operação	Condições do meio	Inóculo	Produto	Referência
Batelada	10,00% v.v ⁻¹ (batata), 27 ° C e 170 rpm	<i>Rhizopus oryzae</i>	Ácido lático	Liu et al. (2005)
Batelada	16,09 g.L ⁻¹ de substrato; 32°C; pH 3,50	<i>Lactobacillus casei</i>	Ácido lático	Afifi (2011)
Batelada	Carga sólida inicial de 60,00 g.L ⁻¹ a 35 °C, sem controle de pH	Cultura mista indefinida		Liang, McDonald e Coats (2014)
Batelada	10,00% v.v ⁻¹ (batata); 35 ° C; pH 6,00	<i>Clostridium beijerinckii</i> , <i>C. acetobutylicum</i> , <i>C. saccharobutylicum</i> e <i>C. saccaroperbutylaceticum</i> . <i>C. saccharobutylicum</i>	Bioetanol	Hijosavalsero, Paniagua-garcía e Díez-antolínez (2018)
Batelada	40,00 g.L ⁻¹ (casca de batata); 25,00 g.L ⁻¹ (extrato de malte); 30 °C; 150 rpm	28 culturas de microrganismos amilolíticos	Bioetanol	Hossain et al. (2018)
Batelada	40 °C pH 5,78 12,25% m.v ⁻¹ Sólidos carregados	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bioetanol	Chohan et al. (2020)

Avaliando o pré-tratamento na casca para a produção de bioetanol, Arapoglou et al. (2010) verificaram o efeito da hidrólise neste resíduo fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus*. A hidrólise ocorreu sob a concentração de 40,00 g de casca, utilizando-se 120,00 mL do ácido HCl 0,5 M. A polpa foi submetida a temperatura de 121 °C durante 15 minutos. Após a hidrólise o pH foi corrigido para 4,15 com NaOH 1 M. Foi realizado, posteriormente uma hidrólise enzimática na casca. Os hidrolisados de amido obtidos por ácidos e enzimaticamente, foram submetidos a fermentação em reatores em bateladas, durante 48 horas. As condições fermentativas utilizadas foram: pH 5,00, temperatura de 32 °C, e agitação de 100 rpm. A hidrólise enzimática com uma combinação de três enzimas produziu 7,60 g.L⁻¹ de etanol. Este valor é 44,86% superior ao observado em outras condições de hidrólise enzimática. Os resultados demonstram um alto potencial para a produção de etanol a partir da casca da batata.

Hijosa-valsero, Paniagua-garcía e Díez-antolínez (2018) analisaram a produção de bioetanol a partir da casca de batata do processamento da fabricação de salgadinhos. Esta biomassa lignocelulósica foi submetida a diversos pré-tratamentos físico-químicos com objetivo de favorecer a liberação de açúcares e reduzir a geração de inibidores de fermentação. Entre os métodos físico-químicos a auto-hidrólise foi o tratamento mais eficiente. A casca foi submetida a temperatura de 140 °C foi durante 56 minutos mais eficaz sem composto hidrolisante. A fermentabilidade dos experimentos foi verificada com seis linhagens de *Clostridium* sp. sob a temperatura de 35 °C e pH de 6,0 e agitação de 100 rpm, produzindo com *C. saccharoperbutylacetonicum* 1,80 g.L⁻¹ de acetona, 1,00 g.L⁻¹ de etanol e 8,10 g.L⁻¹ de butanol, durante 120 horas de fermentação. Os autores observaram que a produção de etanol aumentou em 40,00% a partir da fermentação com *C. saccharoperbutylacetonicum*.

Investigando a produção do bioetanol a partir da biomassa amilácea do bioprocessamento do resíduo da casca de batata, Hossain et al. (2018) realizou uma extensa triagem para selecionar, entre vinte e oito microrganismos, a melhor cultura. As triagens foram realizadas de diferentes amostras ambientais, como o solo de cultivo de batata, o pó de serra, o composto e o sumo de tamareira. Após a identificação molecular foi realizada a otimização dos fatores temperatura entre 25 e 50 °C, pH entre 4,00 e 8,00 para a incubação dos diferentes microrganismos, sob uma temperatura de 30 °C, durante 72 horas. O modelo Plackett-Burman foi usado para triagem inicial de oito variáveis (extrato de malte, triptona, MgSO₄ 7H₂O, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, CaCl₂· 2H₂O, Na₂HPO₄ e NaCl) em fermentação realizada a uma temperatura de 30 °C. Logo após foi utilizado o modelo Box-Behnken com os nutrientes que afetaram a produção de etanol (extrato de malte, a triptona e o KH₂PO₄). A partir dos resultados obtidos

nota-se que com *Wickerhamia sp.* houve uma maior produção de etanol ($30,40 \text{ g.L}^{-1}$). Usando o modelo de superfície de resposta, $40,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata seca e $25,00 \text{ g.L}^{-1}$ de extrato de malte foram determinados como ótimos e produziram $21,70 \text{ g.L}^{-1}$ de etanol, valor $64,37\%$ superior ao observado na fermentação somente com o resíduo da casca de batata.

Chohan et al. (2020) realizaram pré-tratamento físico-químico da casca de batata para produzir bioetanol. O efeito de fatores, como temperatura e pH foram analisados na sacarificação e fermentação simultâneas. A casca foi imersa em solução de $3,68\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl e incubadas a $69,62 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2,57 horas em um banho de água. Em seguida, os reatores de pré-tratamento foram autoclavados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 minutos. A condição ótima de fermentação ocorreu a temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, pH de 5,78 e carregamento de $12,25\% \text{ p.v}^{-1}$ de sólidos. A concentração máxima de bioetanol de $22,54 \text{ g.L}^{-1}$ foram observados em condições ótimas de processo. Em fermentação com carregamento de $20,00\% \text{ p.v}^{-1}$ de sólidos, pH 5,50 e temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C}$ a produção de etanol ($0,21 \text{ g.L}^{-1}$) foi $99,06\%$ inferior a observada nas condições ótimas de fermentação.

Os trabalhos analisaram diferentes produtos de valor agregados líquidos com distintas técnicas de pré-tratamento, ou sem o auxílio desta etapa para a fermentação da casca da batata. Comparando a produção de bioetanol nos trabalhos de Arapoglou et al. (2010) e Chohan et al. (2020) observou-se diferenças. A produção utilizando a combinação dos métodos físico e químico (com composto químico HCl) foi de $22,54 \text{ g.L}^{-1}$ de bioetanol (CHOHAN et al., 2020). Produção $66,28\%$ superior à observada com a combinação de métodos químico (composto HCl) e biológico (hidrólise enzimática) de $7,60 \text{ g.L}^{-1}$ de bioetanol (ARAPOGLOU et al. 2010).

Além de produtos líquidos, a produção de H_2 é uma abordagem também muito atraente utilizando o resíduo da casca de batata. Na literatura podem ser encontrados alguns trabalhos que utilizam esta biomassa a produção fermentativa de H_2 (LAY et al., 2012; ZHOU, ELBESHBIHY; NAKHLA; 2013; VI, SALAKKAM; REUNGSANG, 2017). Este processo é vantajoso tanto para produzir energia limpa como para oferecer novas alternativas de utilização deste resíduo.

3.6 PRODUÇÃO DE H_2 A PARTIR DA CASCA DA BATATA

Zhou, Elbeshbishy e Nakhla (2013) afirmaram que o resíduo da batata é um excelente substrato para produzir H_2 por causa de sua composição. Conforme o trabalho de Vi, Salakkam e Reungsang (2017), alguns fatores-chave favorecem diretamente a produção de H_2 em processos biológicos, a partir da batata-doce, usada como substrato. Dentre estes fatores,

destaca-se a composição da batata, que inclui um alto teor de amido de aproximadamente 50,00 a 80,00% com base no peso seco, e elementos traços importantes para a via do H₂, como magnésio, potássio, cobre, manganês e fósforo.

Mars et al. (2010) analisaram a produção de H₂ a partir de cascas de batatas vaporizadas, não tratadas e cascas de batatas hidrolisadas por microrganismos termofílicos extremos das espécies *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* e *Thermotoga neapolitana*. O amido da casca da batata foi liquefeito por solução alfa-amilase e incubado a 90° C, em pH de 5,40 por 2 horas em um reator de 10,00 L agitado entre 30 e 60 rpm. O *C. saccharolyticus* foi cultivado a 70° C e *T. neapolitana* a 80° C, em pH mantido em 6,90 ± 0,10. Quando a casca de batata hidrolisada ou a casca não tratada foi adicionada em cerca de 10,00 a 14,00 g. L⁻¹ de unidades de glicose, ambas as linhagens cresceram bem e produziram H₂ com rendimentos razoáveis de 2,40 e 3,80 moles de H₂ por unidades de glicose, e nenhuma produção significativa de lactato. Por meio dos resultados inferiu-se que a casca da batata sem e com hidrólise química são substratos muito adequados para produção de H₂ fermentativo em cargas moderadas de substrato.

Com propósito de observar a produção de H₂ e etanol, Lay et al. (2012) utilizaram um cultivo em batelada de batata-doce sob temperatura de 37 °C. Os autores observaram as produções de H₂ e etanol a partir de distintos inóculos, como as bactérias nativas do resíduo da batata-doce, esterco de vaca e lodo de esgoto, dominados por *Clostridium* sp. Lay et al. (2012) verificaram que o lodo de esgoto possibilitou maiores produções de H₂ (120,00 mmol H₂. L⁻¹) e etanol (7.845 mg O₂.L⁻¹), elevando a produção de H₂ em até 67,50% em relação a fermentação somente com as bactérias nativas. Em seguida, os autores avaliaram os efeitos das condições iniciais de pH entre 4,00 e 9,00 e das concentrações iniciais de batata-doce entre 30,00 e 240,00 g.L⁻¹. Inferiu-se que a estratégia de inocular sementeira externa aumentou a produção de H₂ a partir da batata-doce com potencial pico de produção cumulativo de H₂ de 192,00 mmol H₂. L⁻¹ do reator e 4.669 mg O₂.L⁻¹ de etanol, utilizando o lodo do esgoto municipal, após 96,50 horas. Analisou-se que o aumento da concentração de batata-doce pode melhorar os valores das taxas de produção de H₂ e etanol em até 98,43% e 80,25%, respectivamente.

Segundo Izmirliglu e Demirci (2015), a utilização de resíduos industriais de batata faz com que ocorra o gerenciamento destes resíduos de forma econômica e ambientalmente correta. Desta maneira, a partir do rico conteúdo de carbono e nitrogênio e a abundância e disponibilidade destes resíduos, os autores realizaram em um meio otimizado por fermentação em batelada, consistindo em 40,40 g.L⁻¹ de resíduo de batata hidrolisado, 50,00 g.L⁻¹ de extrato de malte e 4,84 g. L⁻¹ de MgSO₄. 7H₂O, em uma temperatura de 30 °C e um pH de 5,50, utilizando como inóculo a *Saccharomyces cerevisiae*. A produção de etanol observada pelos

autores nas condições otimizadas de nutrientes e concentração de resíduo de batata foi de 24,60 g.L⁻¹ após 48 horas de fermentação. Esta produção de etanol foi 52,72% superior à observada em fermentação somente com o resíduo da batata e 30,77% superior à observada na fermentação com 40,40 g.L⁻¹ de resíduo de batata hidrolisado, 5,00 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 20,00 g.L⁻¹ de extrato de malte e 2,00 g.L⁻¹ de MgSO₄. 7H₂O.

A produção de H₂ a partir de batata doce como substrato foi avaliada por Vi, Salakkam e Reungsang (2017). Os pesquisadores verificaram o efeito de três fatores importantes que afetam a produção de H₂ a partir de este substrato em fermentação em batelada: a concentração de amido de batata-doce, o pH inicial e a concentração de FeSO₄. O trabalho realizado utilizou como inóculo um lodo coletado de um reator de manta de lodo de fluxo ascendente em uma estação de tratamento de efluentes, tratado termicamente, antes da inoculação, para inibir o crescimento das bactérias consumidoras de H₂. Os ensaios em bateladas foram realizados a uma temperatura em torno dos 30 °C, testando-se uma faixa de pH de 5,00 a 8,00, e diferentes concentrações iniciais de substrato (15,00-40,00 g.L⁻¹) e concentrações de FeSO₄ (120,00 - 5,00 mg.L⁻¹). Após a otimização dos três fatores principais, observaram uma máxima produção de H₂ acumulativa de 3.501 mL de H₂. L⁻¹ obtida a partir de uma concentração de 27,63 g.L⁻¹ de amido de batata-doce, 6,05 de pH inicial e uma concentração de 63,17 mg.L⁻¹ de FeSO₄. Esta produção obtida nas condições otimizadas foi 72,99% superior a observada nas condições com 15,00 g.L⁻¹ de amido de batata-doce, 5,00 de pH inicial e uma concentração de 120,00 mg.L⁻¹ de FeSO₄.

Analisando o rendimento de H₂ a partir do resíduo da batata, Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) verificaram as condições ótimas de fermentação em reatores em batelada. A cultura mista utilizada foi pré-tratada através de choque térmico à 90 °C por 30 min para prevenir o crescimento de arqueias metanogênicas e ativar as bactérias bio-geradoras de esporos e, em seguida, cultivada em um meio nutricional específico. As condições ótimas determinadas no ensaio foram de pH de 7,86; tempo de fermentação de 82,56 horas, temperatura de 37,87 °C e uma concentração de 39,56 g.L⁻¹ de concentração de resíduo de batata. O rendimento máximo obtido foi de 68,54 mL de H₂ por grama de sólidos voláteis totais. Após otimização dos parâmetros os pesquisadores obtiveram um rendimento de 79,43 mL de H₂ por grama de sólidos voláteis totais no ensaio de validação do modelo estatístico utilizado para o planejamento experimental utilizado. Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) observaram a partir da otimização dos experimentos houve um aumento de até 83,12% no rendimento de H₂.

Sekoai, Yoro e Daramola (2018) com intuito de observar o efeito da pulverização do gás N₂ e da imobilização dos microrganismos sobre a fermentação escura para produção de H₂,

utilizaram o resíduo da batata e uma cultura anaeróbio tratada termicamente à 90 °C por 15 min. O resíduo da batata usado como substrato foi pré-tratado por processo físico. As condições operacionais da fermentação em batelada foram: temperatura de 37,80 °C, pH de 5,50 e tempo de fermentação de 82,58 horas. No ensaio onde as células foram imobilizadas, o reator foi inoculado com 130,00 g de pérolas de alginato. Um rendimento de 294,83 mL.H₂. g⁻¹ de sólidos voláteis totais foi obtido no sistema com imobilização, sendo este valor 1,80 e 2,50 vezes maior do que os sistemas de células suspensas com e sem aspersão de nitrogênio, respectivamente. A aspersão do gás nitrogênio e imobilização dos microrganismos foi fundamental para otimização da produção fermentativa de H₂ a partir dos resíduos da batata.

Os trabalhos vistos permitiram observar a necessidade da etapa de pré-tratamento como fase importante da fermentação do resíduo da batata para a produção de H₂ (MARS et al., 2010; LAY et al., 2012). Dentre as técnicas de pré-tratamento apresentadas, Mars et al (2010) notaram uma maior produção de H₂ realizando a hidrólise enzimática entre a casca de batata sem e com o pré-tratamento. Lay et al. (2012), também observaram um bom rendimento de H₂ triturando a casca de batata. Contudo, apesar da importância desta etapa, a utilização de outros pré-tratamentos como alternativas para aumentar a produtividade de H₂ a partir do resíduo da batata são poucos explorados. Técnicas de pré-tratamento usando métodos físico-químicos, com compostos ácidos ou alcalinos, assim como utilizados para outros substratos, como o sabugo de milho (DATAR et al. 2007), bagaço de cana (PATTRA et al., 2008), palha de milho (CAO et al., 2009) e polpa de café (MENEZES et al., 2014), necessitam ser avaliados para a casca de batata. O efeito de cada composto químico, assim como a influência de suas concentrações e de outros fatores podem influenciar a produtividade de H₂. Estes fatores devem ser analisados e o efeito individual ou da combinação de vários fatores podem ser avaliados por meio de planejamento estatístico.

3.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO PARA PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO

A otimização de um processo tem como objetivo aumentar o seu desempenho, para que o melhor benefício possível deste processo seja alcançado. A otimização usando metodologias estatísticas com diversas variáveis analisa o efeito de interação entre os fatores nos resultados finais. Estas técnicas possuem como vantagem reduzir o número de experimentos, economizar tempo e material, mantendo a quantidades de informações obtidas elevadas (MONTGOMERY, 2012). As metodologias de planejamento estatístico diferem-se da metodologia denominada de

“uma-variável-por-vez”, pois esta analisa apenas a influência de um parâmetro por vez, deixando os outros constantes. As principais desvantagens de quando se analisa uma variável por vez são a não avaliação dos efeitos mútuos entre os fatores analisados, o maior número de experimentos necessários para a finalização do estudo, aumentando também a duração dos ensaios e os gastos com as despesas dos experimentos (JO et al., 2008).

De acordo com Bezerra et al. (2008), deve-se definir os experimentos que serão realizados na região experimental da pesquisa. Na literatura, alguns trabalhos que visam otimizar seus experimentos e maximizar a produção utilizam o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para definir sua região experimental (MENEZES et al., 2014; SOARES et al., 2017; SAMSON; MANIKKANDAN, 2017; RABELO et al., 2018). Este modelo de planejamento é adequado para dois ou mais fatores independentes que podem influenciar na variável resposta. Os fatores referem-se às variáveis independentes no processo que serão as suas condições de operação, geralmente analisadas em cinco níveis ($-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$).

Os efeitos dos fatores independentes podem ser analisados a partir do ajuste do conjunto de dados experimentais em uma equação polinomial. Por meio desta equação de ajuste pode-se inferir estatisticamente sobre os resultados experimentais (BEZERRA et al., 2008). Uma das mais importantes metodologias de análise destes dados é a RSM. Esta metodologia multivariada baseia-se no ajuste polinomial dos dados experimentais, com objetivo de determinar as condições de operação do processo que permitirá um valor ótimo para a variável resposta. Uma superfície de resposta é a representação gráfica da faixa ótima de uma variável resposta em função de um ou mais fatores do processo (BEZERRA et al., 2008; CHU et al., 2012; SHANMUGAM et al., 2014; SOARES et al., 2017).

O planejamento experimental possui enorme relevância nos processos biológicos de produção de H_2 , levando em consideração a complexidade destes sistemas e a influência de múltiplas variáveis sobre a sua produção (ZHANG; REN; WANG, 2015). Com base nisto, o planejamento experimental tem sido utilizado para otimizar diversos fatores de produção biológica de H_2 , como mostrado em trabalhos apresentados na Tabela 5. Nestes casos, a variável resposta obtida a partir da otimização dos fatores refere-se à produção de H_2 .

A produção fermentativa de H_2 , utilizando consórcio microbiano e a polpa da mandioca foi avaliada por Lee et al. (2008). Neste estudo foram analisadas as influências dos efeitos de três fatores, sobre o rendimento de H_2 . Os fatores avaliados foram a temperatura (37 e 55 °C), o pH (entre 5,50 e 7,00) e a concentração de substrato (entre 8,00 e 32 ,00 g.L⁻¹). A polpa da mandioca utilizada como substrato foi pré-tratada termicamente entre 90 e 95 °C. As condições

ótimas determinadas para uma máxima produção de H₂ foram: temperatura de 37 °C, pH 6,00 e concentração de amido de 24,00 g.L⁻¹. A variável resposta representada pela produção de H₂ nestas condições foi de 9,47 mmol H₂. g⁻¹ de amido, rendimento 89,48% superior ao observado na fermentação sob temperatura de 37,00 °C, pH 7,00 e concentração de amido de 16,00 g.L⁻¹.

Lai et al. (2014) analisaram os fatores que afetam a maximização da produção de H₂ a partir do bagaço de cana pré-tratado quimicamente com H₂SO₄. Os experimentos ocorreram em ensaios em bateladas, utilizando cultura pura de *Thermoanaerobacterium aotearoense*. Os fatores analisados foram as proporções de H₂SO₄ (0,20 a 4,00%) e a duração da reação de hidrólise química (30 a 150 minutos). O processo fermentativo deste estudo ocorreu sob a temperatura de 55 °C durante 12 horas. As condições ótimas de pré-tratamento ocorreram a uma proporção de 2,30% v.v⁻¹ de H₂SO₄, a temperatura de 115 °C, durante 114,20 minutos, gerando um rendimento máximo de 1,86 mol H₂.mol⁻¹ de açúcar total. A partir da otimização dos experimentos os autores observaram a maximização da produção de H₂ (mL) em até 81,24%.

O DCCR foi utilizado por Soares et al. (2017) para otimizar a produção de H₂ a partir de bagaço de cana pré-tratado hidrotermicamente. Os fatores analisados no planejamento fatorial foram a concentração de extrato levedura entre 0,58 e 3,32 g.L⁻¹ e a temperatura da fermentação entre 35,80 e 64,20 °C. O pré-tratamento do bagaço de cana ocorreu a temperatura de 200 °C durante 10 minutos e 16bar de pressão. A fermentação foi realizada em reatores em batelada com pH 6,00, utilizando cultura mista de reator UASB e uma concentração inicial de 2,00 g.L⁻¹ do bagaço de cana hidrolisado. A produção máxima acumulada de H₂ ocorreu utilizando as condições ótimas de 3,00 g.L⁻¹ de extrato de levedura a uma temperatura de 60 °C. Nestas condições, o valor da produção de H₂ foi de obtida de 17,17 mmol H₂. L⁻¹. Os autores verificaram que em concentração mais baixa de extrato de levedura (2,00 g.L⁻¹) e menor temperatura (35,80 °C) a produção de H₂ (3,50 mmol H₂. L⁻¹) foi 79,61% inferior a observada nas condições otimizadas da fermentação.

Samson e Manikkandan (2017) a partir do talho de milho pré-tratado, identificaram por planejamento de Plackett-Burman os componentes mais significantes do meio de cultura, como a glicose, o extrato de levedura, o extrato de malta, a peptona e o NaCl. A partir dos fatores mais significativos, aplicaram o DCCR para avaliar as concentrações ótimas de cada elemento. Na etapa de pré-tratamento o talho de milho foi hidrolisado com 1,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ e autoclavado durante 75 min. Na fermentação os fatores analisados por DCCR foram o pH (entre 6,50 e 7,50), a temperatura (entre 32 e 36 °C) e a duração de fermentação (entre 40 e 44 horas). As condições ótimas obtidas pela RSM foram de pH 7,00, temperatura de 34,50 °C e 42,50

horas de fermentação, com os valores ótimos dos elementos utilizados (19,25 g.L⁻¹ de glicose, 5,64 g.L⁻¹ de peptona, 1,64 g.L⁻¹ de extrato de malta, 3,16 g L⁻¹ de extrato de levedura e 4,31 g L⁻¹ de NaCl). A otimização de todos os fatores testados permitiu uma máxima produção de H₂ de 0,91 mol H₂ mol⁻¹, valor em até 27,47% superior ao observado na fermentação com pH de 6,50, temperatura de 32 °C e duração de 42,50 horas.

Rabelo et al. (2018) avaliaram os efeitos individuais e mútuos da concentração de bagaço de cana entre 0,80 e 9,20 g.L⁻¹ e do pH entre 4,60 e 7,40 sobre a produção fermentativa H₂ e de ácidos graxos voláteis. Os experimentos ocorreram em reatores em batelada sob a temperatura de 37 °C, utilizando consórcio microbiano autóctone e alóctone a esse resíduo. A avaliação utilizou DCCR e RSM para a otimização dos experimentos e maximização da produção de H₂ e ácidos butírico e succínico. As condições otimizadas obtidas foram de 7,00 g.L⁻¹ do bagaço de cana hidrolisado e pH de 7,20. Estas condições permitiram uma produção máxima de 23,10 mmol H₂.L⁻¹. Os ácidos butírico (0,66 a 1,88 g.L⁻¹) e succínico (1,06 a 1,65 g.L⁻¹) foram os principais ácidos graxos voláteis produzidos no processo de fermentação. Este resultado foi 98,57% superior ao observado nas condições de 5,00 g.L⁻¹ e pH 4,60 (0,33 mmol H₂.L⁻¹). De acordo com os resultados, o planejamento fatorial e a superfície de resposta foram ferramentas úteis para alcançar altas taxas de produção de H₂ usando *Clostridium*, *Bacillus* e *Enterobacter* do consórcio fermentativo e *Clostridium* e *Paenibacillus*, bactérias autóctones do bagaço de cana.

A combinação da mucilagem de café e o resíduo orgânico do lixo de mercado atacadista foi analisada por Cárdenas et al. (2019) para a produção de H₂. Nesta análise três fatores foram avaliados para a otimização dos experimentos: temperatura entre 30 e 40 °C, pH entre 5,0 e 8,0 e concentração de substrato entre 20 e 60 g.L⁻¹. Este substrato foi pré-tratado em autoclave a uma temperatura de 121 °C durante 15 minutos. As condições otimizadas da fermentação foram de temperatura a 30 °C, de concentração de substrato a 60,00 g O₂.L⁻¹ e de pH 7,00. A produção máxima obtida nestas condições foi de 25,90 L de H₂ obtida em uma proporção de 8: 2 de mucilagem do café: resíduos orgânicos. Os autores verificaram que em condições com 20 g O₂.L⁻¹, pH 6,00, temperatura de 30 °C e uma proporção de 2:8 de mucilagem do café: resíduos orgânicos não houve produção de H₂. Estes resultados reafirmam a necessidade de realizar o planejamento dos experimentos por ferramentas estatísticas com intuito de otimizar os experimentos e maximizar a produção de H₂.

Tabela 5 - Estudos com a metodologia estatística multivariada para otimização da produção de H₂

Substrato	Pré-tratamento	Fatores analisados	Valores otimizados	Produção	Referência
Batata doce	Sem pré-tratamento	pH e concentração inicial de substrato	pH 6,50 e concentração de batata 150,00 g. L ⁻¹	1,32 mmol H ₂ . g ⁻¹ DQO.	Chu et al. (2012)
Bagaço de cana de açúcar	Hidrólise ácida (H ₂ SO ₄ 2,30% a temperatura de 115 °C durante 114,20 min)	% de ácido e duração e tempo de reação (pré-tratamento)	2,30% de H ₂ SO ₄ durante 114,20 min.	1,86 mol H ₂ .mol ⁻¹ de açúcar total	Lai et al. (2014)
Talho de milho	Hidrólise ácida (H ₂ SO ₄ 1,00% e autoclave 75 min)	pH, temperatura e tempo de fermentação	pH 7,00; 34,50 °C e 42,5 h	0,79 mol H ₂ .mol ⁻¹	Samson e Manikkanda (2017)
Casca de batata doce	Sem pré-tratamento	Concentração de casca e FeSO ₄ ; pH inicial	27,63 g.L ⁻¹ de casca; 63,17 mg. L ⁻¹ ; pH 6,05	3501,00 mL H ₂ .L ⁻¹	Vi; Salakkam e Reungsang (2017)
Bagaço de cana	Hidrotérmico (200 °C por 10 min)	Concentração de extrato de levedura e temperatura	3,00 g L ⁻¹ de extrato de levedura e 60 °C	17,17 mmol H ₂ . L ⁻¹	Soares et al. (2017)
Bagaço de cana	Hidrotérmico (121 °C por 15 min)	Concentração de substrato e pH	7,00 g.L ⁻¹ de bagaço e pH 7,20	23,10 mmol H ₂ . L ⁻¹	Rabelo et al. (2018)
Mucilagem de café e resíduo orgânico	Hidrotérmico (121 °C por 15 min)	DQO do substrato, temperatura e pH	60,00 g.L ⁻¹ , 30 °C e pH 7,00	25,90 LH ₂	Cárdenas et al., (2019)

3.8 CONSIDERAÇÕES

Diante do exposto nesta revisão de literatura, a produção de H₂ é uma alternativa energética limpa e sustentável que tem grande potencial de complementar a matriz energética mundial. Esta produção tem como característica vantajosa a possibilidade de ser gerado a partir

de diversas fontes, permitindo que países privilegiem as matérias primas disponíveis em sua região, como aquelas que tem sua demanda crescente. A conversão em H_2 de resíduos orgânicos de segunda geração, como os resíduos lignocelulósicos, apresentam aspectos importantes tanto na produção de energia renovável, como na redução e gerenciamento destes resíduos. O aumento da geração de resíduos sólidos ocorre principalmente devido aos processos de globalização e urbanização e, conseqüentemente, alta demanda decorrente do estilo de vida populacional. O resíduo da batata inglesa, por exemplo, vem crescendo, pois, a batata é a hortaliça com a terceira maior cultura alimentar no mundo, ocupando milhares de hectares para sua produção. Uma grande quantidade de resíduos de batata é produzida a cada ano oriundos dos processos da produção agrícola e alimentar. Este é um resíduo rico em sua composição de componentes, como o amido, compostos fenólicos e glicoalcalóides, que apresentam diversas aplicações em setores como o farmacêutico e medicinal.

Os componentes presentes na batata podem ser encontrados em certas concentrações na sua casca, que representa a parte mais desperdiçada do vegetal. Os carboidratos presentes neste resíduo podem ser utilizados como substrato para os microrganismos em processos de fermentação escura. Estes carboidratos podem ser convertidos pelos microrganismos em H_2 . Contudo, um ponto importante desta revisão, é a necessidade de pré-tratamento do resíduo lignocelulósico por ele possuir uma estrutura de lignina complexa e rígida que necessita de auxílio para ser desestruturada. A escolha de um pré-tratamento eficiente permite um aumento da produtividade de H_2 na fermentação devido à maior disponibilização de açúcares fermentáveis para a realização dos processos biológicos seguintes, como a hidrólise bacteriana e fermentação. Na literatura, ainda são pouco explorados a utilização de pré-tratamento como etapa do primórdio para a fermentação do resíduo da batata inglesa. Alternativas como os processos físico-químicos para a hidrólise deste resíduo são necessárias quando se pretende aumentar o potencial de geração de H_2 .

Os fatores que podem influenciar a geração de H_2 precisam ser averiguados. Ferramentas estatísticas de planejamento fatorial como o DCCR e a RSM avaliam os efeitos individuais e mútuos dos fatores, oferecendo vantagens de diminuir o número de experimentos e maximizar a produtividade de H_2 fermentativo. A partir de variados trabalhos vistos na literatura, percebe-se que existem muitos fatores que podem afetar o desempenho fermentativo. A partir de uma variedade de fatores que podem ser analisados, nota-se a maior importância de alguns. A concentração de substrato é um dos fatores bastante observado na produção de H_2 (LEE et al., 2008; CHU et al., 2012; LIANG, MCDONALD; COATS, 2014; VI; SALAKKAM; REUNGSANG, 2017; RABELO et al., 2018; CÁRDENAS et al., 2019). A procura para

otimizar o fator relacionado com o pré-tratamento do ensaio, como a proporção dos hidrolisantes também é visto em vários estudos de resíduos lignocelulósicos.

Apesar da realização do estudo da produção de H₂ a partir da casca de batata apresentar alto potencial (ARAPOGLOU et al., 2010; ZHOU, ELBESHBISHY; NAKHLA, 2013; KHAWLA et al., 2014), há a carência de maiores averiguações dos efeitos de pré-tratamentos e outras variáveis que interfiram na produtividade do processo. Os compostos químicos muito utilizados para hidrolisar outros substratos lignocelulósicos são o NaOH (RUGGERI; TOMMASI, 2012; MENEZES et al., 2014), HCl (PAN et al., 2010; HAN et al., 2012) e H₂SO₄ (CAO et al., 2009; PARK et al., 2013). De acordo com estes trabalhos, as faixas de concentrações analisadas para pré-tratar a biomassa lignocelulósica variam de 0,50 a 55,00% v.v⁻¹ para o H₂SO₄; de 0,50 a 15,00% v.v⁻¹ para o NaOH e de 0,20 a 4,00% v.v⁻¹ para o HCl. Estes mesmos compostos, no entanto, são pouco explorados para a hidrólise da casca de batata. Para esta biomassa alguns estudos como o de Mars et al., 2010 e de Arapoglou et al. (2010) avaliaram o efeito de pré-tratamento sobre a produção de bioetanol.

Alguns trabalhos avaliam o efeito da concentração de substrato no rendimento de H₂ do final da fermentação (LEE et al., 2008; CHU et al., 2012; VI; SALAKKAM; REUNGSANG, 2017; RABELO et al., 2018; CÁRDENAS et al., 2019). As faixas de concentrações nos trabalhos que utilizam resíduos lignocelulósicos dependem dentre outros fatores da fonte de substrato. Para Ruggeri e Tommasi (2012) a concentração de biomassa lignocelulósica utilizada foi de 410,00 g.L⁻¹ de resíduos orgânicos de legumes e frutos (resíduo de mercado). Diferentemente, Rabelo et al. (2018) fermentando o bagaço da cana utilizaram 7,00 g.L⁻¹ de biomassa para obter o melhor rendimento de H₂. A concentrações de casca de batata utilizada no início da fermentação é um fator importante na produtividade de H₂, porém o efeito desta variável ainda foi pouco estudado nos trabalhos da literatura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados os materiais utilizados e a metodologia empregada neste trabalho. Os ensaios em batelada e as análises físico-químicas foram realizados no Laboratório de Controle Ambiental II (LCA II), do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). A otimização dos experimentos foi realizada por DCCR e a análise dos efeitos dos fatores avaliados sobre a produção de H₂ (concentração de substrato e proporção de hidrolisantes) foi realizada por meio de RSM com auxílio do programa *STATISTICA* 10.0[®]. A análise microscópica da casca de batata foi realizada no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE), na UFSCar.

4.1 SUBSTRATO

A casca da batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.) (Figura 5) foi utilizada como substrato para produção fermentativa de H₂ nos ensaios em batelada. As batatas foram adquiridas em supermercados, localizados no município de São Carlos -SP. A casca de batata foi cortada e sua massa medida de acordo com a concentração pré-determinada por planejamento estatístico para cada reator. As concentrações de casca de batata avaliadas foram de 38,79 g L⁻¹; 45,00 g L⁻¹; 60,00 g L⁻¹; 75,00 g L⁻¹; e 81,21 g L⁻¹.

Figura 5 - Casca da batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.) cortada



Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

4.1.1 Pré-tratamento físico-químico da casca de batata inglesa

Para a realização do pré-tratamento a massa da casca de batata cortada foi triturada em água destilada com auxílio de um liquidificador, formando uma polpa. A quantidade de hidrolisante (NaOH, HCl 30% e H₂SO₄) utilizada neste trabalho baseou-se nos valores utilizados para outros resíduos lignocelulósicos. Em testes preliminares os valores expostos na literatura foram ajustados para a biomassa deste trabalho, dependendo do composto químico utilizado. Para as hidrólises, foram adicionadas diferentes proporções de hidrolisantes à polpa da casca de batata (expressas em % de volume de hidrolisante por volume de trabalho do frasco (500 mL)). As proporções dos compostos analisados foram de (expressas em % v.v⁻¹): 1,59; 2,00; 3,00; 4,00 e 4,41 para os hidrolisantes NaOH e HCl 30%; e 2,17; 3,00; 5,00; 7,00; 7,83 para o H₂SO₄, como apresentadas na Figura 6.

Figura 6 - Fluxograma das etapas de corte e trituração da casca de batata utilizada nos ensaios preliminar e de planejamento experimental



Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

A polpa de batata foi submetida a hidrólise com as diferentes proporções dos compostos ácidos (HCl 30% e H₂SO₄) e alcalino (NaOH 6M), durante 1 hora, em estufa a 55 °C. Após a hidrólise, o pH da polpa hidrolisada foi ajustado para valores entre 7,00 e 8,00 previamente à adição de inóculo, como visualizado na Figura 7.

Figura 7 - Fluxograma da etapa de pré-tratamento físico-químico da casca de batata



* Para os hidrolisantes NaOH e HCl 30%: 1,59% v.v⁻¹; 2,00% v.v⁻¹; 3,00% v.v⁻¹; 4,00% v.v⁻¹ e 4,41% v.v⁻¹.

Para o H₂SO₄: 2,17% v.v⁻¹; 3,00% v.v⁻¹; 5,00% v.v⁻¹; 7,00% v.v⁻¹; 7,83% v.v⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO NA OTIMIZAÇÃO DOS ENSAIOS

Foi empregado um DCCR (planejamento fatorial 2²) com propósito de analisar os efeitos de duas variáveis independentes sobre a produção acumulada de H₂ (mL.L⁻¹). As variáveis analisadas foram as proporções de compostos hidrolisantes (NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄) na etapa de pré-tratamento, e a concentração de substrato (polpa hidrolisada da casca da batata). Para avaliar os efeitos de diferentes condições na fermentação foram determinados, para cada variável independente cinco valores distintos. Estes valores podem ser representados por valores codificados -1,41; -1,00; 0,00; +1,00; +1,41. Cada valor codificado corresponde a um nível da faixa de valores analisadas no planejamento. Os valores codificados expressam na faixa analisada i) -1,41: o menor valor da variável independente (ponto axial inferior); ii) -1,00: o segundo menor valor da variável independente, iii) 0,00: o valor intermediário da faixa de variação (ponto central); iv) +1,00: o segundo maior valor da variável independente, v) +1,41 o maior valor da variável independente (ponto axial superior).

Nesse estudo, as duas variáveis independentes: X₁ – Concentração de casca de batata hidrolisada (g.L⁻¹); X₂ – Proporção de composto hidrolisante (% v.v⁻¹) (porcentagem associada ao volume dos frascos, na qual as cascas de batatas foram hidrolisadas) foram investigadas em

8 experimentos (reatores), realizados em duplicatas (16 reatores), e um ponto central (nível 0) realizado com 3 repetições.

As variáveis testadas foram codificadas de acordo com a Equação (1):

$$x_i = \left(\frac{X_i - X_0}{\Delta X_i} \right) \quad (1)$$

Em que x_i é o valor codificado da variável independente (concentração de casca de batata ou proporção de hidrolisante) e X_i é o valor real da variável independente, X_0 é o valor real do ponto central e ΔX_i é a diferença (intervalo) entre os valores das variáveis independentes.

O intervalo e o nível das respectivas variáveis independentes do processo para os ensaios que utilizaram NaOH 6M e HCl 30% como hidrolisantes são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 - Variáveis do planejamento fatorial e seus respectivos valores decodificados para os ensaios com NaOH e HCl como hidrolisantes

Código	Variáveis	-1,41	-1,00	0,00	+1,00	+1,41
X₁	Concentração de casca de batata (g.L ⁻¹)	38,79	45,00	60,00	75,00	81,21
X₂	Proporção de hidrolisante (%)	1,59	2,00	3,00	4,00	4,41

Os valores de X_1 (Concentração de casca de batata hidrolisada) para o ensaio experimental realizado com o composto H₂SO₄ foi semelhantes aos valores dos ensaios com os compostos NaOH 6M e HCl 30% (entre 38,79 e 81,21 g.L⁻¹). Porém, para esta fermentação da casca de batata com H₂SO₄ foram atribuídos distintos valores para a variável X_2 (Proporção de hidrolisante) e intervalos maiores de um nível ao outro do planejamento fatorial, como mostrado na Tabela 7. Os diferentes valores de proporção para este ensaio foram baseados nos trabalhos da literatura (variação entre H₂SO₄; de 0,50 a 55,00% v.v⁻¹) e nos ensaios preliminares que testaram uma faixa de proporções entre 1,00 e 8,00% v.v⁻¹ para este ácido na hidrólise da casca de batata.

Tabela 7 - Variáveis do planejamento fatorial e seus respectivos valores decodificados para o ensaio com H₂SO₄ como hidrolisante

Código	Variáveis	-1,41	-1,00	0,00	+1,00	+1,41
X₁	Concentração de casca de batata (g.L ⁻¹)	38,79	45,00	60,00	75,00	81,21
X₂	Proporção de hidrolisante (%)	2,17	3,00	5,00	7,00	7,83

O planejamento do tipo DCCR é baseado em uma equação polinomial de segunda ordem para as variáveis estudadas, como apresentado pela Equação (2):

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum \beta_{ii} x_i^2 \quad (2)$$

Em que Y representa a variável resposta, β_0 a constante, β_i o coeficiente do efeito linear, β_{ii} o coeficiente do efeito quadrático, β_{ij} o coeficiente da interação dos efeitos, x_i e x_j o nível codificado das variáveis X_i (fator: concentração de casca de batata hidrolisada) e X_j (fator: proporção de composto hidrolisante). Para este estudo a variável resposta representa a produção acumulada de H₂, em mL.L⁻¹. A Equação quadrática (2) foi usada para grafar as superfícies de resposta para os efeitos das variáveis independentes sobre a variável resposta (Y - produção fermentativa de H₂).

As matrizes dos planejamentos experimentais propostas pelo DCCR estão apresentadas na Tabela 8. Os experimentos realizados para cada composto hidrolisante são denominados de ensaios. Nos 3 ensaios (ensaio 1: NaOH 6M; ensaio 2: HCl 30%; ensaio 3: H₂SO₄) as condições operacionais dos reatores foram mantidas constantes. O pH foi ajustado 7,00; a temperatura em 37 °C e rotação em 150 rpm.

Os resultados do DCCR foram submetidos a testes ANOVA, realizado para obter-se o valor de Fcalculado e compará-lo ao Ftabelado. O modelo é considerado estatisticamente significativo quando o valor de Fcalculado é maior que o valor de Ftabelado. Todos os testes estatísticos foram realizados utilizando o programa *STATISTICA 10.0*[®]. A RSM foi aplicada com o conjunto de dados do DCCR para a obtenção das faixas ótimas de produção acumulada

de H₂, mostrando graficamente os efeitos individuais e das combinações das variáveis independentes analisadas sobre a produção de H₂.

Tabela 8 - Matrizes do Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) para os ensaios em bateladas

Reator	Concentração de casca de batata (X ₁)		Proporção de hidrolisante (X ₂)		
	(g.L ⁻¹)	x _i	NaOH 6M, HCl 30% (% v.v ⁻¹)	H ₂ SO ₄ (% v.v ⁻¹)	x _j
1	75,00	+1,00	4,00	7,00	+1,00
2	75,00	+1,00	2,00	3,00	-1,00
3	45,00	-1,00	2,00	3,00	-1,00
4	45,00	-1,00	4,00	7,00	+1,00
5	81,21	+1,41	3,00	5,00	0,00
6	60,00	0,00	4,41	7,83	+1,41
7	38,79	-1,41	3,00	5,00	0,00
8	60,00	0,00	1,59	2,17	-1,41
9	60,00	0,00	3,00	5,00	0,00
10	60,00	0,00	3,00	5,00	0,00
11	60,00	0,00	3,00	5,00	0,00

Legenda: x_i: valor codificado da variável concentração da casca de batata; x_j: valor codificado da variável proporção de hidrolisante

4.3 MEIO NUTRICIONAL

Foi adicionada uma solução de nutrientes aos reatores com objetivo de complementar as necessidades metabólicas dos microrganismos. O meio nutriente utilizado foi proposto por Del Nery (1987), com os seguintes reagentes químicos e suas concentrações, mostrados na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição do meio nutricional Del Nery adicionada nos ensaios em batelada

Nutrientes	Concentração (mg. L⁻¹)
CH ₄ N ₂ O	125,0
NiSO ₄ .6H ₂ O	1,00
FeSO ₄ .7H ₂ O	5,00
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,50
CaCl ₂ .2H ₂ O	47,00
CoCl ₂	0,08
SeO ₂	0,07
KH ₂ PO ₄	85,00
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	21,70
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	33,40

Fonte: Adaptado de Del Nery (1987)

4.4 INÓCULO E MONTAGEM DOS REATORES

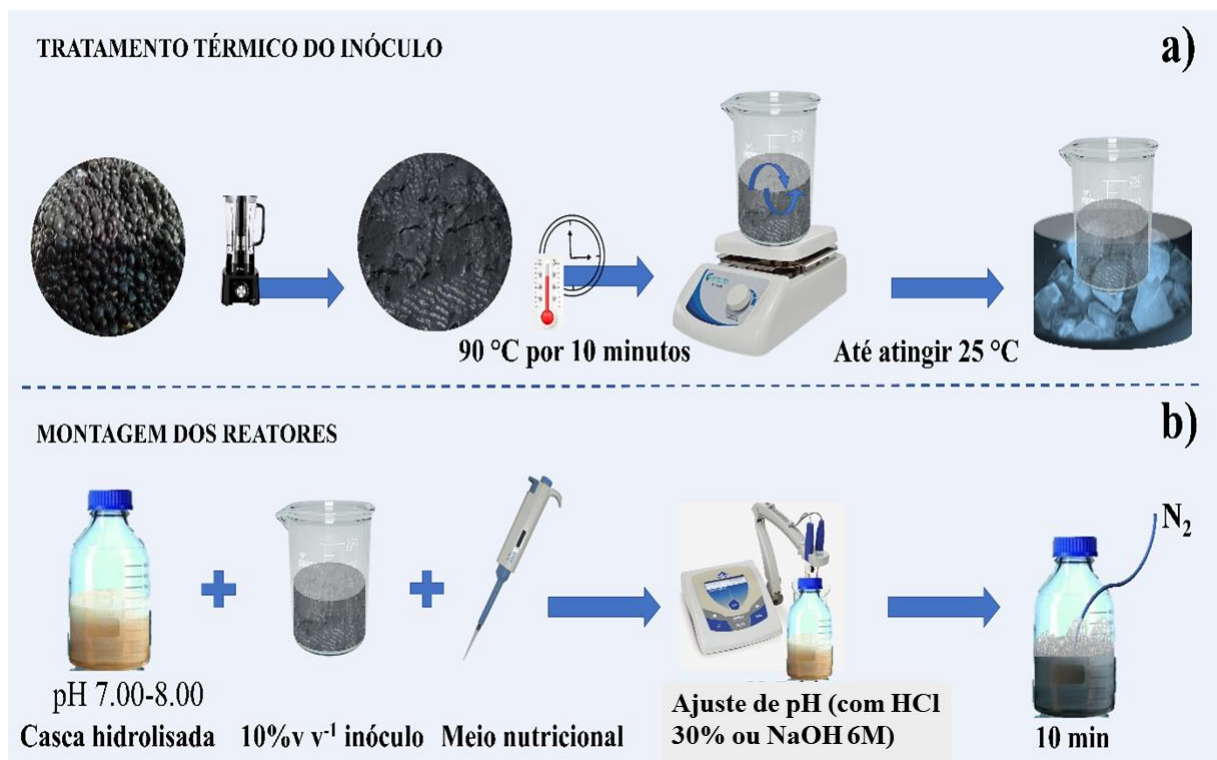
O inóculo utilizado para fermentação escura de casca de batata no presente trabalho foi proveniente de lodo granular metanogênico, oriundo de um reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, UASB) mesofílico destinado para o tratamento das águas residuárias geradas no abatedouro de aves, Avícola Dacar S/A (Tietê/SP).

Objetivando-se a seleção das bactérias geradoras de H₂ o lodo foi tratado termicamente de acordo com a metodologia proposta por Kim, Han e Shin (2006). O método consistiu em aquecer o lodo a temperatura de 90 °C por 10 minutos sob constante homogeneização. Em seguida foi aplicado um choque térmico no lodo em banho de gelo até atingir a temperatura de 25 °C (MAINTINGUER et al., 2008).

A montagem dos reatores em batelada ocorreu após o pré-tratamento térmico do inóculo. Foram utilizados frascos Duran[®] de 1 L (500 mL de volume de trabalho). Nestes frascos foram adicionados: a polpa hidrolisada com a casca de batata e o meio nutricional Del

Nery. A inoculação ocorreu com o lodo pré-tratado a 10,00% v.v⁻¹ do volume de trabalho do frasco Duran[®] de acordo com o exposto por Soares et al. (2018). O pH do meio líquido foi ajustado para 7,00 com auxílio de HCl 30% e NaOH 6M. Em seguida foi purgado gás N₂ durante 10 minutos para favorecer as condições anaeróbias. Os frascos, então, foram selados com rolhas de borracha e transportados para a incubadora a 37 °C e agitação de 150 rpm. O pré-tratamento do lodo (a), e a inoculação e a montagem dos reatores (b) são apresentados no fluxograma da Figura 8.

Figura 8 - Fluxograma das etapas de pré-tratamento térmico do inóculo e de montagem dos reatores



Fonte: Elaborado pelo autor (2020)

4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

As análises de pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Fixos (SSF), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) e Sólidos Voláteis Totais (SVT) foram realizadas de acordo com o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 2012). A determinação da concentração total de carboidratos solúveis na amostra líquida de cada reator foi mensurada pelo método espectrofotométrico (DUBOIS et al., 1956). Para a concentração de sulfato no meio líquido foi

realizada a análise por meio do método turbidimétrico SulfaVer 4® da Hach 8051, aceito pela USEPA para análises de águas residuárias.

4.5.1 Determinação da composição da casca de batata

Foram utilizadas 4 amostras para a determinação da composição da casca de batata em diferentes condições: i) casca de batata *in natura*, ii) casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M, iii) casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%; iv) casca hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (todas as proporções correspondem aos valores determinados para os pontos centrais da matriz de planejamento de cada hidrolisante). Para o preparo das amostras, foi realizada a secagem em estufa a 55 °C por 24 horas das 4 amostras de casca de batata. Em seguida, as amostras foram moídas em moinho de facas, tornando as amostras secas e homogêneas. A composição de cada casca foi analisada com base nas concentrações de celulose, hemicelulose (carboidratos), lignina, umidade e cinzas.

A metodologia de determinação de carboidratos proposta por Sluiter et al. (2006) foi realizada de acordo com o protocolo do National Renewable Energy Laboratory. Foram pesados uma massa de amostra seca e homogênea de 0,30 g ± 0,10 g e inicialmente retirou-se os extrativos (compostos que não são constituintes da parede celular vegetal) utilizando etanol por 5 horas, e água destilada por 1 hora. Além disso, determinou-se a lignina Klason, lignina solúvel (205 nm) e cinzas.

Durante a análise de lignina realizou-se hidrólise do material lignocelulósico utilizando uma proporção de 72,00% p.p⁻¹ de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Em seguida, o material foi deixado a 30 °C por 1 hora em banho maria, diluído com 42 mL de água destilada, submetidos à autoclave (121 °C e 1 atm) por 1 hora. Por fim, com as amostras em temperatura ambiente, foi ajustado o pH entre 5,0 e 9,0 com bicarbonato de cálcio (CaCO₃) e finalmente as alíquotas líquidas foram filtradas (1,2 µm) (SLUITER et al., 2006). A partir deste hidrolisado foi determinada a composição de carboidratos por cromatografia líquida, sendo considerado que na biomassa lignocelulósica os monossacarídeos ligam-se em cadeias. Portanto, os monossacarídeos quantificados foram corrigidos com o fator de hidratação de 0,88 para pentoses (xilose e arabinose) e 0,90 para hexoses (glicose, galactose e manose). Após a correção foram obtidos os teores de glicana (polímero de glicose), xilana (polímero de xilose), galactana (polímero de galactose), arabinana (polímero de arabinose) e manana (polímero de manose) (AHMAD et al., 2018).

Os carboidratos foram quantificados em HPLC (Shimadzu®) equipado com coluna Aminex HPX-87P (300 mm x 7,8 mm, BioRad) e software Class-VP (Shimadzu®). H₂SO₄ 0,005M (0,01N) foi utilizado como fase móvel e temperatura do forno foi mantida a 43 °C.

4.5.2 Produção e composição do Biogás

A medição da produção volumétrica do biogás gerado foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Walker et al. (2009), em que o volume do biogás é mensurado baseado no deslocamento da coluna contendo uma solução salina e acidificada. As condições das soluções salinas acidificadas foram determinadas com base nas mudanças das características do biogás. Desta forma, a acidificação e salinização das soluções tinham como intuito barrar a dissolução do biogás no meio líquido.

A análise para determinação dos componentes presentes no biogás produzido foi realizada por Cromatografia Gasosa de acordo com a metodologia exposta por Santos et al. (2014). Para tanto, 1,0 mL de amostra do biogás foi coletada no dos reatores utilizando-se uma seringa gás tight. O teor de H₂ (% H₂) foi determinado pela quantidade de H₂, em moles, dividida pela quantidade total de todos os constituintes (H₂ e CO₂), expresso em moles. Os limites de detecção para a análise da composição do biogás por cromatografia foram 0,902 µmol para H₂ e 0,474 µmol para o CO₂. O gás coletado foi analisado em cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu modelo GC-2010, Japan, equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna capilar Carboxen 1010 PLOT (30 m x 0,53 mm) Sigma-Aldrich, sendo o argônio utilizado como gás de arraste.

4.5.3 Determinação de Álcoois e Ácidos Orgânicos Voláteis

A determinação e quantificação de álcoois e ácidos orgânicos voláteis foram realizadas por cromatografia gasosa, segundo o método de *headspace*, com sistema acoplado de amostrador automático de injeção de amostras. O gás coletado do *headspace* foi analisado em cromatógrafo marca Shimadzu modelo GC-17A equipado com detector de ionização de chama (FID, *Flame Ionization Detector*) e coluna capilar DB-WAX, de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, com Hélio como gás de arraste (PARANHOS; SILVA, 2018).

Foram analisados os graus de acidificação das fermentações da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄ em distintas proporções. Este parâmetro tem como objetivo identificar os reatores onde foram observadas maiores biotransformações de

matéria orgânica em ácidos orgânicos durante a etapa de acidogênese do processo de fermentação. O grau de acidificação pode ser calculado de acordo com a Equação (3). Σ metabólitos solúveis representa a soma de todas as concentrações de álcoois e ácidos orgânicos (expressas em DQO equivalente), por exemplo, ácido acético: 1,07 mg.L⁻¹; ácido propiônico: 1,51 mg.L⁻¹ e ácido butírico 1,82 mg.L⁻¹. DQO_{inicial} representa a concentração inicial de matéria orgânica.

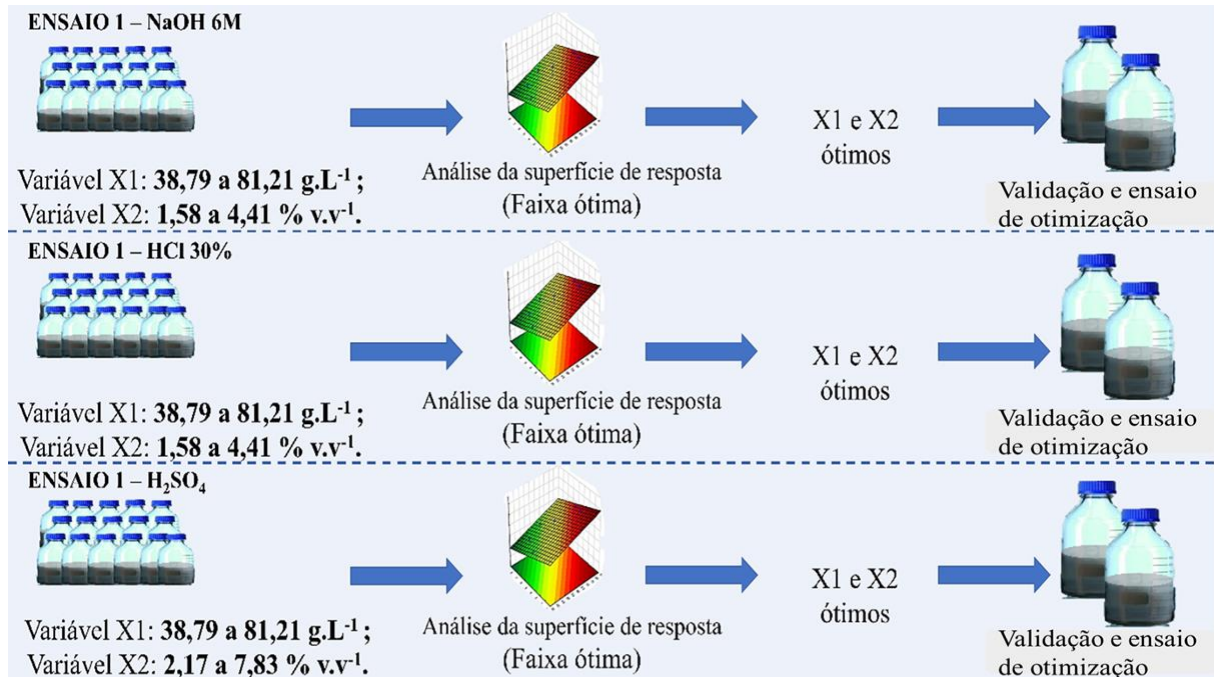
$$\text{Grau de acidificação} = \Sigma \text{ metabólitos solúveis} / \text{DQO}_{\text{inicial}} \quad (3)$$

4.6 VALIDAÇÃO DO MODELO DE PRODUÇÃO H₂ E ENSAIO DE OTIMIZAÇÃO

A fim de validar os modelos utilizados para a produção de H₂ com base nos experimentos analisados pelo planejamento estatístico para ensaios desenvolvidos com as cascas de batatas hidrolisadas com cada um dos três hidrolisantes (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄) foi utilizado o programa *STATISTICA 10.0*[®]. A validação do modelo foi realizada com as variáveis otimizadas estipuladas para a produção de hidrogênio. Desta maneira, foi realizada a análise gráfica dos resultados da produção acumulada de H₂ na faixa ótima das superfícies de respostas, utilizando RSM. Com base nestas análises foram identificados os valores das variáveis independentes dos experimentos (melhores concentrações de casca de batata e proporções de cada um dos três hidrolisantes) que possibilitaram as maiores produções de H₂, como no fluxograma apresentado na Figura 9. Por fim, os volumes máximos acumulados de H₂ predito pelo modelo e o obtido experimentalmente foram comparados com intuito de se determinar o grau de precisão do modelo.

Com base na superfície de resposta foram selecionados os valores de concentração de casca de batata e proporção de hidrolisante que possibilitaram maiores produções de H₂. Em seguida, foram realizadas novas fermentações com os valores de concentração de casca de batata e proporção de cada composto químico otimizados. Foi montado um reator, em duplicata, para a fermentação de otimização com cada um dos três hidrolisantes. As condições fermentativas de pH (7,0), temperatura (37 °C), agitação (150 rpm), volume de trabalho dos frascos Duran[®] (500 mL) foram mantidos. As similaridades entre as produções de H₂ das fermentações do ensaio de otimização e das fermentações realizadas anteriormente nas mesmas condições foram verificadas para a certificação dos valores de produção obtidos.

Figura 9 – Validação dos modelos de produção de H₂ e ensaio de otimização das fermentações das cascas hidrolisadas



Legenda: Variável X₁: Concentração de casca de batata; Variável X₂: proporção de hidrolisante

Fonte: Elaboração pelo autor (2020)

4.7 ANÁLISES CINÉTICAS

Os dados de produção acumulada de H₂ foram ajustados por meio da equação de Gompertz, modificada por Zwietering et al. (1990). A partir desta equação modificada (Equação (4)) foi possível estimar o potencial de produção de acumulada de H₂, a taxa máxima de produção de H₂ e o tempo da fase lag (tempo para iniciar a fermentação).

$$H = P * \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m * e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (4)$$

Em que:

H = Produção acumulada de H₂ (mL.L⁻¹); P = Potencial máximo de produção de H₂ (mL.L⁻¹);
 R_m = Taxa máxima de produção de H₂ (mL.L⁻¹.h⁻¹); $e = 2,718281828$; λ = Tempo de início da fermentação (h) (fase lag.)

Foram selecionadas distintas condições da casca de batata inglesa para a realização dos ajustes na equação. As condições selecionadas foram: i) fermentação da casca de batata sem pré-tratamento; ii) fermentação com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada a 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de hidrolisante, nos ensaios com NaOH 6M e HCl 30%, e 7,00 e 3,00% v.v⁻¹ no

ensaio com H_2SO_4 ; e iii) fermentações das cascas nos experimentos do ensaio de otimização (reatores selecionados na faixa ótima de produção de H_2).

A avaliação das condições do ponto (ii) teve o intuito de avaliar o efeito de diferentes proporções de hidrolisante utilizando a mesma concentração da casca de batata hidrolisada ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$). Os dados de produção acumulada de H_2 pelo tempo de fermentação foram ajustados ao modelo de Gompertz modificado utilizando o software *STATISTICA 10.0*[®].

4.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DA CASCA DE BATATA

Foi realizada a microscopia eletrônica com o microscópio de medição a laser 3D LEXT OLS4000, projetado para geração de imagens em nível de nanômetro, medição 3D e medição de rugosidade, no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE), na UFSCar. As análises tiveram como objetivo auxiliar na observação e compreensão da estrutura física (rugosidade) da casca da batata e o efeito do pré-tratamento (trituração e hidrólise química) sobre a estrutura rígida da parede celular vegetal. O LEXT OLS4000 emprega um sistema confocal duplo recém-desenvolvido, permitindo que o este aparelho capture uma imagem nítida das amostras que apresentam níveis de refletividade extremamente variados (OLYMPUS, 2020).

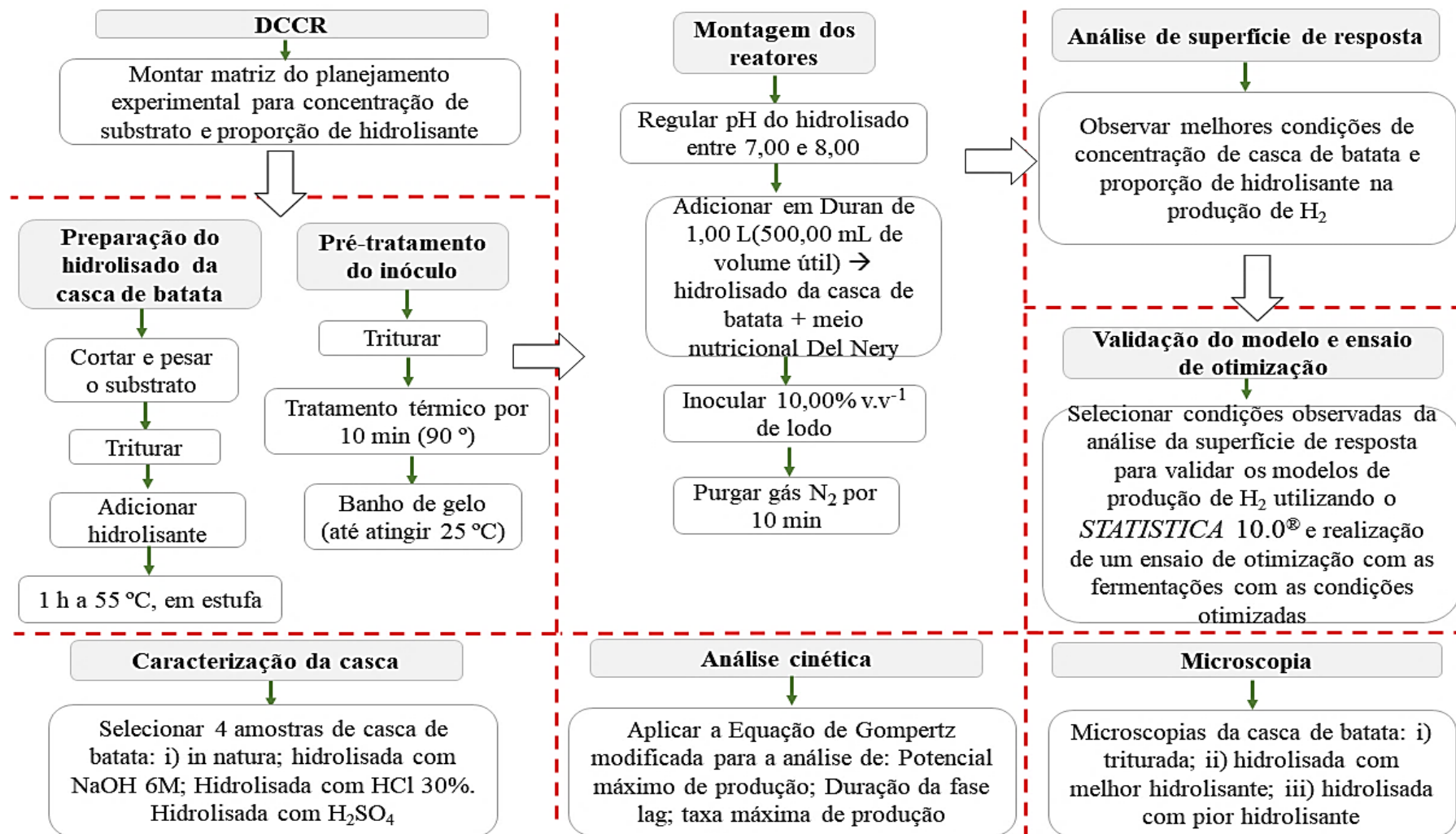
Foram escolhidas 4 amostras. As duas primeiras tiveram o intuito de observar o efeito da trituração na estrutura lignocelulósica, comparando-a com a estrutura da casca inteira. Desta forma foram analisadas: i) a casca de batata inglesa *in natura* cortada; ii) a casca de batata *in natura* cortada e triturada. As amostras iii) e iv) foram analisadas para observar a ação dos compostos hidrolisantes na estrutura do resíduo da batata inglesa. Foram selecionados apenas o melhor e o pior compostos químicos sobre a produção acumulada de H_2 . A condição da amostra iii) é a casca cortada, triturada e hidrolisada com o melhor hidrolisante e a amostra iv) a casca cortada, triturada e hidrolisada como pior hidrolisante (proporções dos compostos selecionadas correspondente aos pontos centrais da matriz do DCCR).

4.9 DESCRIÇÃO GERAL DOS EXPERIMENTOS

Os ensaios realizados foram desenvolvidos de acordo com as etapas descritas: i) foram analisadas as matrizes do DCCR no Planejamento Experimental, com auxílio do programa *STATISTICA 10.0*[®], para obter o número de ensaios realizados e a configuração das condições experimentais; ii) a casca de batata foi preparada (cortada e pesada) para o pré-tratamento

(trituração e hidrólise química a 55 °C, em estufa, por 1 hora); iii) ajuste do pH (entre 7,00 e 8,00) da casca de batata hidrolisada; iv) tratamento térmico do lodo a 90 °C durante 10 minutos, e banho de gelo para o choque térmico; v) inoculação; vi) adição de solução nutricional Del Nery; vii) ajuste de pH do reator para 7,00; viii) purga do gás N₂ durante 10 minutos; ix) fermentação da casca de batata em incubadoras com rotação de 150 rpm e temperatura de 37 °C. Estas etapas foram desenvolvidas para todos os ensaios (ensaio 1: NaOH 6M; ensaio 2: HCl 30%; ensaio 3: H₂SO₄; ensaio 4: otimização). Este último ensaio foi realizado com base nas fermentações nas faixas ótimas de concentração de casca de batata hidrolisada e proporção de hidrolisante (NaOH 6M, HCl 30% ou H₂SO₄) sobre a produção de H₂, identificadas por superfícies de respostas. Os parâmetros cinéticos: potencial máximo de H₂; tempo para o iniciar fermentação (fase lag) e taxa máxima de produção de H₂ foram analisados para as fermentações do ensaio de otimização. Estes parâmetros cinéticos também foram avaliados para verificar a influência da proporção de hidrolisante nos reatores 1 e 2 de cada ensaio fermentativo (ensaio 1:NaOH 6M; ensaio 2: HCl 30%; ensaio 3: H₂SO₄). Por fim, foram realizadas análises da composição e microscópicas da casca da batata *in natura*. Nas análises de composição ainda foram avaliadas as cascas hidrolisadas com cada um dos três compostos químicos. Na análise microscópica foram observadas a estrutura da casca da batata após a trituração, e após a hidrólise química com o melhor e o pior hidrolisante para a produção fermentativa de H₂. Na Figura 10 estão apresentados os experimentos realizados.

Figura 10 - Fluxograma geral das metodologias empregadas



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESEMPENHO FERMENTATIVO DA CASCA DE BATATA HIDROLISADA COM DIFERENTES HIDROLISANTES QUÍMICOS

Nesta subseção são avaliados o desempenho da fermentação escura da casca de batata hidrolisada com três distintos compostos químicos (H_2SO_4 ; HCl 30% e NaOH 6M). Os efeitos da concentração de substrato (casca de batata hidrolisada) e proporções de hidrolisantes (H_2SO_4 ; HCl 30% e NaOH 6M) foram observados sobre as mudanças de pH, a conversão de carboidratos totais, a fração de H_2 , sua produção e rendimento por grama de carboidrato consumido e por grama de casca de batata adicionada. Os ensaios realizados com H_2SO_4 , HCl 30% e NaOH 6M resultaram em diferentes performances e, conseqüentemente, produções variadas de H_2 . Todos os 3 ensaios (NaOH; HCl 30% e H_2SO_4) ocorreram sob as seguintes condições operacionais: temperatura de 37 °C, pH inicial $7,00 \pm 0,10$ e agitação rotacional de 150 rpm, em incubadoras. Os resultados apresentados são as médias dos reatores que representam cada um dos onze experimentos da matriz do planejamento experimental para cada hidrolisante.

5.1.1 Fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4

O ensaio da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 durou 18 dias (432 horas). Na Tabela 10 é exposto o conjunto de dados com os valores iniciais e finais de pH, concentração de carboidrato total disponibilizados após a hidrólise química (carboidrato inicial) e após a fermentação (carboidrato final) e conversão de carboidrato. Durante o processo fermentativo da casca hidrolisada com H_2SO_4 ocorreu a variação do valor de pH inicial 7,00 para os valores entre 5,01 (reator 3: 45,00 g.L^{-1} de casca e 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) e 6,56 (reator 7: 81,21 g.L^{-1} de casca e 5,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4). A redução de pH pode ser explicada pela conversão de carboidratos totais em produtos do processo fermentativo, como os metabólitos solúveis, CO_2 e H_2 (BUNDHOO; MOHEE, 2016).

As concentrações de carboidratos totais logo após a hidrólise química com H_2SO_4 (concentração de carboidrato inicial) nos reatores variou entre 0,43 e 2,12 g.L^{-1} nos reatores 7 (38,79 g.L^{-1} de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de hidrolisante) e 1 (75,00 g.L^{-1} de casca de batata/ 7,00% v.v⁻¹ de hidrolisante), respectivamente. A concentração de carboidrato inicial do reator 1 (75,00 g.L^{-1} de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) foi de 2,12 g.L^{-1} . No reator 2 (75,00 g.L^{-1} de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) a concentração

de carboidrato inicial foi de 1,41 g.L⁻¹. Nos reatores 1 e 2 foram adicionados a mesma concentração de casca de batata (75,00 g.L⁻¹). Entretanto, após a hidrólise com maior volume de H₂SO₄ no reator 1 (7,00% v.v⁻¹) foi liberado no meio líquido 33,5% a mais de carboidratos do que no reator 2 (3,00% v.v⁻¹). Isto demonstra que para a fermentação de casca de batata, a disponibilização de carboidrato é influenciada pela quantidade de H₂SO₄ utilizada na hidrólise. A mesma performance pode ser observada comparando os reatores 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄). A maior quantidade de hidrolisante no reator 4 disponibilizou maior concentração de carboidrato (1,00 g.L⁻¹) do que o reator 3 (0,75 g.L⁻¹).

Tabela 10 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com H₂SO₄ em diferentes proporções

Reator	pH Inicial	pH Final	C inicial (g.L⁻¹)	C final (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (%)
1	7,03	5,12	2,12	1,22	0,90	42,50
2	7,07	5,14	1,41	0,18	1,23	86,90
3	7,03	5,01	0,75	0,10	0,75	86,87
4	7,08	5,86	1,00	0,20	0,80	79,52
5	7,07	5,50	1,66	0,38	1,28	76,87
6	7,06	5,53	1,52	0,73	0,79	51,97
7	7,01	6,56	0,43	0,14	0,29	66,32
8	7,01	5,05	0,59	0,16	0,43	72,34
Central	7,06	5,87	0,84	0,15	0,69	82,32

Legenda: C inicial: concentração inicial de carboidrato; C final: concentração final de carboidrato. **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **reator ponto central** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄).

As concentrações de carboidrato no final das fermentações variaram entre 0,10 e 1,22 g.L⁻¹, nos reatores 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄), respectivamente. A conversão de e 1,23 g.L⁻¹ de carboidrato foi observada no reator com 75,00 g.L⁻¹ de casca pré-tratada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator 2). Já no reator 1 com a mesma concentração de casca de batata (75,00 g.L⁻¹) hidrolisada, porém, com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ houve uma conversão de 0,90 g.L⁻¹ de carboidratos. Estes reatores são ambientes anaeróbios ricos em biomassa lignocelulósica em decomposição, na qual a celulose é convertida biologicamente por ação de uma variedade de comunidades de microrganismos. De acordo com Rabelo et al. (2018) os produtos da hidrólise bacteriana da celulose ficam disponíveis como fontes de carbono e energia para outros microrganismos que habitam o mesmo ambiente como as não celulolíticas, tornando-se a base de muitas interações microbianas. A presença das bactérias não celulolíticas ainda favorecem a hidrólise da celulose, pois previnem a inibição da celulase por acúmulo de celobiose. Com base nestas informações, foi observado que em ambos os reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) ocorreram as interações entre as diferentes comunidades microbianas e, conseqüentemente, as hidrólises bacteriana da celulose, seguida da fermentação e conversão dos carboidratos em H₂. No reator 2 com uma menor proporção de hidrolisante (3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) a concentração convertida de carboidratos foi ligeiramente superior (0,32 g.L⁻¹ superior), sugerindo que em menores proporções de H₂SO₄ favorece a fermentação.

Fangkum e Reungsang (2011) realizaram o pré-tratamento do bagaço de cana com 1,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ e observaram uma conversão de 86,19% de carboidratos. As condições operacionais utilizadas pelos autores foram de 37 °C e agitação de 150 rpm, com valor inicial de pH de 6,50. O resultado de conversão de carboidratos analisado por Fangkum e Reungsang (2011) foi semelhante ao do reator 2 do presente trabalho (86,90%) em que a casca de batata foi hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. O aumento da proporção de H₂SO₄ na fermentação da casca de batata diminuiu a conversão de carboidratos (reator 1: 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄; conversão de carboidrato de 42,50%). Porém, a influência das proporções na conversão de carboidratos em outros substratos, como o bagaço de cana, é diferente. A proporção de 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ utilizada para hidrolisar a casca de batata é 66,60% superior a proporção utilizada por Fangkum e Reungsang (2011) (1% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e o efeito das duas proporções sobre a conversão de carboidratos foi semelhante (99,18% de similaridade).

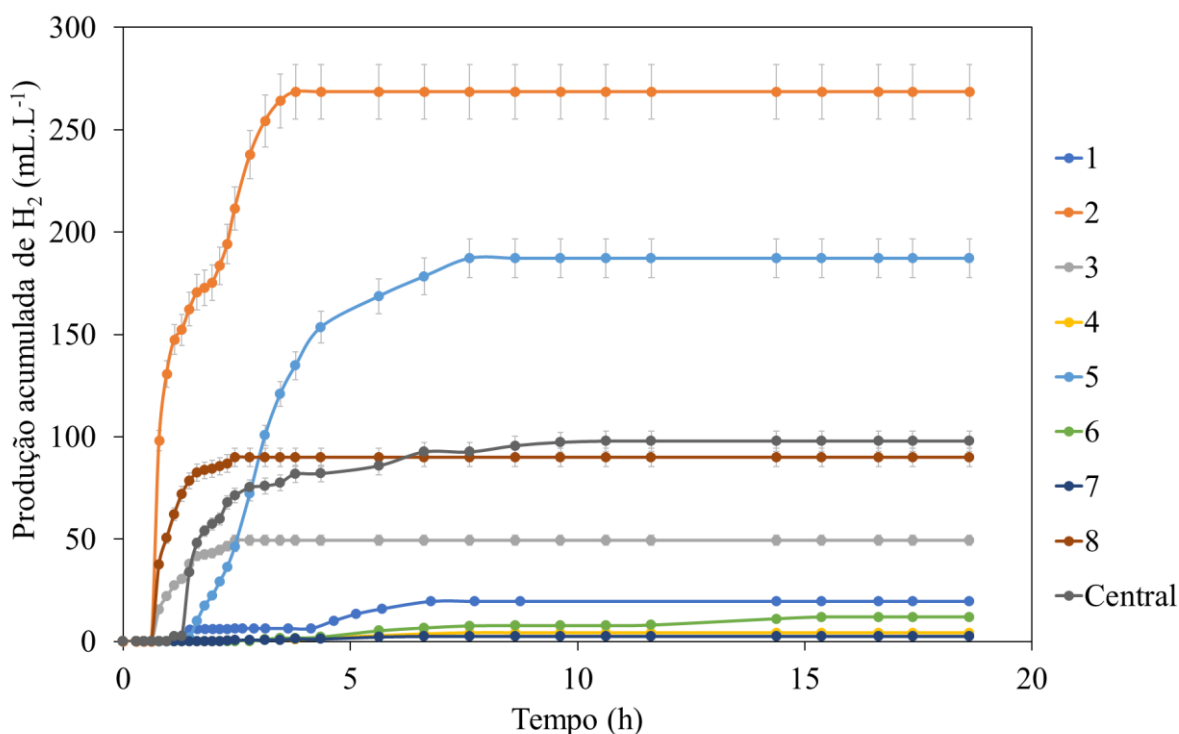
Na Figura 11 são apresentadas as produções volumétricas de H₂ de todos os experimentos em que foi utilizada a casca de batata hidrolisada com H₂SO₄. As diferentes

condições de concentração de substrato e proporção de H_2SO_4 ocasionaram diferentes produções de H_2 e distintas durações para as fermentações iniciarem. Os diferentes tempos de duração da fase lag (fase de adaptação dos microrganismos) variaram entre 18 e 75 horas nos reatores 8 (60,00 g.L^{-1} de casca de batata/ 2,17% v.v^{-1} de hidrolisante) e 6 (60,00 g.L^{-1} de casca de batata/ 7,83 % v.v^{-1} de hidrolisante), respectivamente. A diferença entre as fases lag dos reatores 6 (75h) e 8 (18 h) foi de 57 horas. A concentração de casca de batata hidrolisada para os dois reatores foi de 60,00 g.L^{-1} , porém no reator 6 (7,83 % v.v^{-1}) a quantidade de H_2SO_4 foi 72,3 % superior ao do reator 8 (2,17% v.v^{-1}). A elevada proporção de H_2SO_4 pode ter desfavorecido as condições do meio para os microrganismos e contribuído para elevar a duração (75 h) pra o início da conversão dos carboidratos em H_2 .

Cao et al. (2009) realizaram o pré-tratamento da palha de milho com uma proporção de H_2SO_4 de 1,69% v.v^{-1} e observaram uma fase lag de somente 4 horas. Semelhante ao presente trabalho, os autores afirmaram que elevadas proporções de H_2SO_4 desfavorecem a fermentação do resíduo. A proporção de H_2SO_4 (1,69% v.v^{-1}) utilizada por Cao et al. (2009) foi inferior aos valores utilizados nos experimentos do presente trabalho (entre 2,17% v.v^{-1} e 7,83 % v.v^{-1} de H_2SO_4) e sua fase lag durou 86,40% a menos que a duração do reator 8 (18 h), reator com uma menor fase lag neste experimento. Este resultado assegura a hipótese de influência da proporção de H_2SO_4 na duração da fase lag. Além deste fator, a temperatura utilizada por Cao et al. (2009) foi de 60 °C, superior a temperatura utilizada nos reatores do presente estudo (37 °C). A elevada temperatura pode também ter influenciado na velocidade das atividades dos microrganismos (ELBESHBISHY et al., 2017), e contribuído para o menor tempo (4 h) observado por Cao et al. (2009). Os autores utilizaram como inóculo a cultura pura de *T. thermosaccharolyticum*, microrganismos que apresentam alta performance metabólica em elevadas temperaturas. Na cultura mista utilizada na fermentação da casca de batata havia uma variabilidade de microrganismos e diferentes performances metabólicas.

A produção máxima acumulada de H_2 para os reatores do ensaio com a fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 variou entre 2,44 $\text{mL H}_2.\text{L}^{-1}$ e 268,49 $\text{mL H}_2.\text{L}^{-1}$ nos reatores 7 (38,79 g.L^{-1} de casca de batata; 5,00% v.v^{-1} de hidrolisante) e 2 (75,00 g.L^{-1} de casca de batata; 3,00% v.v^{-1} de hidrolisante), respectivamente. A produções de H_2 no reator 7 (2,44 $\text{mL H}_2.\text{L}^{-1}$) foi 99,10% inferior ao do reator 2 (268,49 $\text{mL H}_2.\text{L}^{-1}$). As concentrações convertidas de carboidratos nestes reatores foram de 0,29 e 1,23 g.L^{-1} para os reatores 7 (38,79 g.L^{-1} de casca de batata; 5,00% v.v^{-1} de H_2SO_4) e 2 (75,00 g.L^{-1} de casca de batata; 3,00% v.v^{-1} de H_2SO_4), respectivamente.

Figura 11 - Produção volumétrica acumulada de H₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante H₂SO₄ em diferentes proporções



Legenda: **1**- reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **2**- reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **3**- reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **4**- reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **5**- reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **6**- reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **7**-reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **8**- reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **central** – reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄).

O volume máximo acumulado de 3305,00 mL H₂.L⁻¹ foi produzido na fermentação da palha de milho hidrolisada com 1,69% v.v⁻¹ de H₂SO₄, realizada por Cao et al. (2009) em 60 °C. Diferentemente de Cao et al. (2009), Nissilä et al. (2012) hidrolisaram polpas de bétula e de coníferas com H₂SO₄ a proporção de 55,00% v.v⁻¹ produzindo o volume máximo acumulado de 75,60 mL H₂.L⁻¹ a partir da polpa de conífera e 616,00 mL H₂.L⁻¹ da polpa de bétula hidrolisadas. Nissilä et al. (2012) utilizaram condições operacionais semelhantes ao do presente trabalho (temperatura de 37 °C, pH 7,00 e agitação de 150 rpm). Ademais, Chong et al. (2013) registraram um volume máximo acumulado de 690,00 mL H₂.L⁻¹ com o cacho do fruto do dendezeiro hidrolisado, utilizando o composto H₂SO₄ a uma proporção de 6,00% v.v⁻¹ a 120 °C, durante 15 minutos. A fermentação do cacho de fruto do dendezeiro ocorreu sob condições operacionais de temperatura a 35 °C e pH 5,50. Os volumes máximos acumulados de H₂ produzidos nos trabalhos de Cao et al. (2009), Nissilä et al. (2012) e Chong et al. (2013) foram

respectivamente de 3305,00 mL H₂.L⁻¹, 616,00 mL H₂.L⁻¹, 690,00 mL H₂.L⁻¹. Estes valores são superiores (91,87%; 56,41%; 61,08%, respectivamente) ao volume máximo acumulado de H₂ obtido na fermentação do da casca de batata hidrolisados com H₂SO₄ (268,49 mL H₂.L⁻¹) neste trabalho. Estas diferenças podem ser explicadas devido às diferentes proporções de H₂SO₄, condições de pré-tratamento e composições dos resíduos.

De acordo com Taherdanak, Zilouei e Karimi (2016), a conversão de açúcares fermentáveis é afetada diretamente por fatores como a superfície acessível do resíduo, o índice de cristalinidade da celulose e lignina e o conteúdo de hemicelulose que constitui a biomassa lignocelulósica. As distintas biomassas lignocelulósicas apresentam diferentes composições de celuloses, hemiceluloses, lignina (parte celulósica) e amido (parte amilácea) que influenciam a eficiência da etapa de hidrólise do resíduo. A hidrólise da parte celulósica é mais difícil que a hidrólise da parte amilácea. Isto corrobora com os resultados das diferentes produções de H₂ observadas nas fermentações dos resíduos palha de milho (3305,00 mL H₂.L⁻¹), polpa de bétula (616,00 mL H₂.L⁻¹), polpa de conífera (75,60 mL H₂.L⁻¹), cacho de fruto do dendezeiro (690,00 mL H₂.L⁻¹) e casca de batata (268,49 mL H₂.L⁻¹) que possuem distintas composições. Além disto, os autores observaram que diferentes condições de pré-tratamento utilizando 1,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ para hidrolisar a planta do trigo influenciam a disponibilização dos açúcares fermentáveis. Taherdanak, Zilouei e Karimi (2016) verificaram que diferentes durações (10, 30, 60 e 120 minutos) de reações das hidrólises com H₂SO₄ proporcionam concentrações distintas de açúcares simples (glicose e xilose) na fermentação sob temperatura de 37 °C. Nas durações de 30 e 60 minutos foram observados os aumentos de 11,85 e 18,42%, respectivamente, das quantidades de açúcares fermentáveis disponibilizados no meio quando comparadas a fermentação do resíduo não tratado. Entretanto na hidrólise com 10 e 120 minutos duração foi verificado uma redução de 94,73 e 69,73% dos açúcares fermentáveis disponibilizados na fermentação. Estes resultados indicam ocorreu a degradação de glicose e xilose durante o pré-tratamento com durações de 10 e 120 minutos, sugerindo a necessidade de determinar as melhores condições de pré-tratamento.

Segundo Quéméneur et al. (2012), as distintas proporções de ácido na hidrólise e diferentes composições dos resíduos possibilitam efeitos diferentes da hidrólise ácida sobre a formação de ácidos solúveis, compostos fenólicos e derivados de furanos. Entre estes compostos o furfural inibe fortemente os rendimentos de H₂. Domański et al. (2020) avaliaram a fermentação de 14,28 g.L⁻¹ de palha de centeio hidrolisada com H₂SO₄ para a produção de H₂. Os autores analisaram a influência de diferentes proporções de H₂SO₄ (0,00; 1,00; 2,00; 5,00; 10,00 % v.v⁻¹) a 121 °C durante 1 hora sobre as produções de H₂ e de álcoois e ácidos

orgânicos voláteis. Domański et al. (2020) verificaram que apesar da proporção de 10,00 % v.v⁻¹ possibilitar a maior disponibilização de glicose no meio líquido (5,33 g.L⁻¹) em comparação as outras proporções de H₂SO₄ (0,00; 1,00; 2,00; 5,00% v.v⁻¹), a produção de H₂ foi reduzida em até 62,00%, indicando a inibição por compostos furanos. Na Tabela 11 são apresentados os rendimentos de H₂ por casca de batata adicionado e por cada grama de carboidrato consumido em cada reator. Os percentuais máximos de H₂ e os volumes acumulados deste biogás em cada reator também são expostos.

O percentual de H₂ obtidas nas fermentações da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ variou entre 7,52% (reator 4: 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 52,00 % (reator central: 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄). O melhor desempenho de produção de H₂ (268,49 mL H₂.L⁻¹) ocorreu na fermentação com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada a 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄, no reator 2. Foram produzidos, neste reator, 3,58 mL de H₂ por cada grama de casca de batata adicionada. A composição máxima de H₂ no meio foi de 48,06%. Contudo, no reator 7 somente 2,44 mL H₂.L⁻¹ foram produzidos. Neste reator (reator 7) foram fermentados 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% de H₂SO₄. O rendimento no reator 7 foi de 0,06 mL de H₂ por grama de casca adicionada, obtendo um percentual máximo de 27,62% de H₂.

O reator com menor rendimento de H₂ por carboidrato consumido foi o reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄), produzindo 5,32 mL.H₂. g⁻¹ de carboidrato consumido. Contudo, no reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) foi observado um rendimento de 218,78 mL.H₂. g⁻¹ de carboidrato consumido. De acordo com Boboescu et al. (2014) o sinergismo entre diferentes populações nos consórcios microbianos favorece a maior conversão de substratos. Os valores de rendimentos observados no presente estudo demonstram que elevadas proporções de H₂SO₄ (7,00% v.v⁻¹) desfavorecem as interações sinérgicas entre as bactérias que hidrolisam a celulose e as não celulolíticas, diminuindo a conversão da celulose em açúcares fermentáveis e posteriormente em H₂. No trabalho de Nissilä et al. (2012) os rendimentos obtidos a partir da polpa de conífera e da polpa de bétula hidrolisadas com H₂SO₄ a 55,00% v.v⁻¹ foram, respectivamente, de 32,00 ± 4,00 mL H₂.g⁻¹ de carboidrato consumido e 38,00 ± 29,00 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido com H₂SO₄ a 55,00% v.v⁻¹. Os rendimentos observados para a polpa de conífera (32,00 ± 4,00 mL H₂.g⁻¹ de carboidrato consumido) e polpa de bétula (38 ± 29 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido) hidrolisadas com 55,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foram 83,54 ± 85,37% e 69,37 82,63%, respectivamente, inferiores ao observado no reator 2, do presente trabalho, com a casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. O alto valor de proporção (55,00%

v.v⁻¹) utilizado por Nissilä et al. (2012) pode ter ocasionado a inibição das atividades dos microrganismos e, conseqüentemente, os baixos rendimentos de H₂ pela conversão dos carboidratos disponíveis.

Tabela 11 - Composição e produção volumétrica de H₂ no ensaio utilizando H₂SO₄ em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata

Reator	% de H₂	Volume acumulado de H₂ (mL.L⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de casca adicionada (mL.g⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de carboidrato consumido (mL.g⁻¹)
1	25,91	19,46	0,26	21,58
2	48,06	268,49	3,58	218,78
3	43,13	49,46	1,10	76,24
4	7,52	4,22	0,09	5,32
5	37,62	187,20	2,31	146,55
6	28,13	11,90	0,20	15,00
7	27,62	2,44	0,06	8,65
8	38,29	90,02	1,50	211,91
Central	52,00	97,84	1,63	141,13

Legenda: Reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄); reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄).

Proporção elevada de H₂SO₄ (7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) apesar de facilitar a maior liberação de carboidratos no meio líquido (2,12 g.L⁻¹ (reator 1)), desfavorece a hidrólise bacteriana e a conversão dos carboidratos disponíveis em H₂, ocasionando baixo rendimento de H₂ por carboidrato consumido (21,58 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido). Por outro lado, baixas proporções de H₂SO₄ (3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator 2)) possibilitam uma boa disponibilização de carboidratos no meio líquido (1,41 g.L⁻¹ (reator 2)), um maior consumo de carboidrato e,

consequentemente, um maior rendimento de H₂ por carboidrato consumido (218,78 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido).

5.1.2 Fermentação da casca de batata hidrolisada com o HCl 30%

O ensaio com a casca de batata hidrolisada com HCl 30% durou 9 dias (216 horas). Na Tabela 12 são apresentados os valores de pH do início e final da fermentação, as concentrações de carboidratos disponibilizados após a hidrólise do substrato com HCl 30% (carboidrato inicial) e no final da fermentação (carboidrato final), assim como o seu percentual consumido. Durante a fermentação da casca hidrolisada com HCl 30% ocorreu a redução do valor de pH inicial 7,00 para o valor de $4,70 \pm 0,10$ em todos os reatores. Esta redução pode ser explicada pela conversão de carboidratos no meio líquido em produtos da fermentação escura, como os metabólitos solúveis, CO₂ e H₂.

As concentrações iniciais de carboidratos nos reatores do ensaio da fermentação da casca de batata pré-tratada com HCl 30% variaram entre 0,26 e 0,65 g.L⁻¹, nos reatores 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%), respectivamente. O reator central possui uma concentração de casca de batata (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata) 35,35% superior a concentração de casca de batata do reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata). Esta concentração de casca de batata 35,35% superior no reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata) possibilitou uma maior disponibilização de carboidratos no meio líquido após a hidrólise (0,65 g.L⁻¹ de carboidratos) comparado ao reator 7 (0,26 g.L⁻¹ de carboidratos) (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata). Apesar de distintas concentrações de casca de batata (38,79 a 81,21 g.L⁻¹) e diferentes proporções de hidrolisantes (1,59 a 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%) utilizadas na hidrólise química a concentração inicial de carboidrato não variou muito ($0,50 \pm 0,30$ g.L⁻¹). De forma semelhante, Cui et al., (2009) observaram concentrações similares de carboidratos disponibilizados no meio líquido dos reatores após a hidrólise ácida da borra de cerveja com distintas proporções de HCl. Os autores variaram as proporções de HCl entre 0,50 e 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% e notaram que as concentrações de carboidratos no meio permaneceram entre 0,38 e 0,44 g.L⁻¹. Nas hidrólises da borra de cerveja com 0,50 e 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foram observados 0,38 e 0,44 g.L⁻¹, respectivamente, de carboidratos liberados.

Tabela 12 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com HCl 30% em diferentes proporções

Reator	pH Inicial	pH Final	C inicial (g.L⁻¹)	C final (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (%)
1	7,06	4,81	0,50	0,19	0,31	62,00
2	7,02	4,76	0,36	0,15	0,20	58,33
3	7,02	4,87	0,47	0,18	0,29	60,75
4	7,07	4,84	0,32	0,20	0,12	37,70
5	7,06	4,69	0,48	0,17	0,31	64,58
6	7,04	4,80	0,54	0,28	0,28	47,92
7	7,04	4,76	0,26	0,22	0,04	15,45
8	7,02	4,84	0,38	0,25	0,13	35,33
Central	7,03	4,66	0,65	0,30	0,35	53,73

Legenda: C inicial: concentração inicial de carboidrato; C final: concentração final de carboidrato. **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator ponto central** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

As concentrações de carboidratos no final da fermentação variaram entre 0,15 e 0,30 g.L⁻¹, observadas nos reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%), respectivamente. A conversão de 0,31 g.L⁻¹ de carboidratos foi observada nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca pré-tratada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca pré-tratada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). No entanto, no reator com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30% (reator 7) houve uma conversão de 0,04 g.L⁻¹ de carboidratos. As conversões nos reatores e 5 (0,31 g.L⁻¹) foi 87,09% superior ao do reator 7 (0,04 g.L⁻¹). Isto pode ser explicado, pois, nas concentrações de casca de batata dos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹) e 5 (81,21 g.L⁻¹) foram liberados 0,50 e 0,48 g.L⁻¹ de carboidratos, respectivamente, após a hidrólise e no reator 7

(38,79 g.L⁻¹) foram liberados 0,26 g.L⁻¹ de carboidratos, ligeiramente inferior ao observado nos reatores 1 e 5. A maior concentração de carboidratos disponíveis acarretou as maiores conversões de carboidratos nos reatores 1 (62,00%) e 5 (64,58%).

Adeogun et al. (2018) investigaram o potencial cinético de produção de glicose após a hidrólise da casca de mandioca com HCl. Os autores analisaram os efeitos das concentrações de casca de mandioca (10,00; 20,00; 50,00; 100,00; 200,00 g.L⁻¹) e de HCl (0,10; 0,30 e 0,50 mol. (dm³)⁻¹) a partir de planejamento experimental. As produções de glicose observadas nas concentrações de casca de mandioca 10,00 g.L⁻¹ (18,12 g.L⁻¹); 20,00 g.L⁻¹ (27,70 g.L⁻¹); 50,00 g.L⁻¹ (51,61 g.L⁻¹); 100,00 g.L⁻¹ (77,55 g.L⁻¹); 200,00 g.L⁻¹ (97,46 g.L⁻¹) indicaram que o aumento da concentração de casca de mandioca elevou a liberação de glicose na fermentação. Estes resultados se assemelham ao que foi observado na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%, neste estudo. O aumento de cascas de batatas de 45,00 (reator 4) para 75,00 g.L⁻¹ (reator 1) hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% elevou a liberação de carboidratos de 0,32 a 0,50 g.L⁻¹. Adeogun et al. (2018) observaram comparando as produções de glicose nas concentrações de HCl que mais glicose foi disponibilizada no meio líquido na concentração de 0,50 mol. (dm³)⁻¹ (225,38 g.L⁻¹) 38,33% e 6,70% superior a observadas nas concentrações 0,10 (138,98 g.L⁻¹) e 0,30 mol. (dm³)⁻¹ (210,27 g.L⁻¹). Diferente do observado neste trabalho em que não foi possível observar uma tendência na influência das proporções de HCl 30% sobre a disponibilização de carboidratos. Entre os reatores 1 (4% v.v⁻¹) e 2 (2,00% v.v⁻¹) com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata foi verificado um aumento de 28,00% na liberação de carboidratos após a hidrólise na maior proporção de hidrolisante (4,00% v.v⁻¹). Nos reatores 3 (2,00% v.v⁻¹) e 4 (4,00% v.v⁻¹) com 45,00 g.L⁻¹ foi observado a redução de 31,91% na liberação de carboidratos após a hidrólise com a maior proporção de HCl 30% (4% v.v⁻¹).

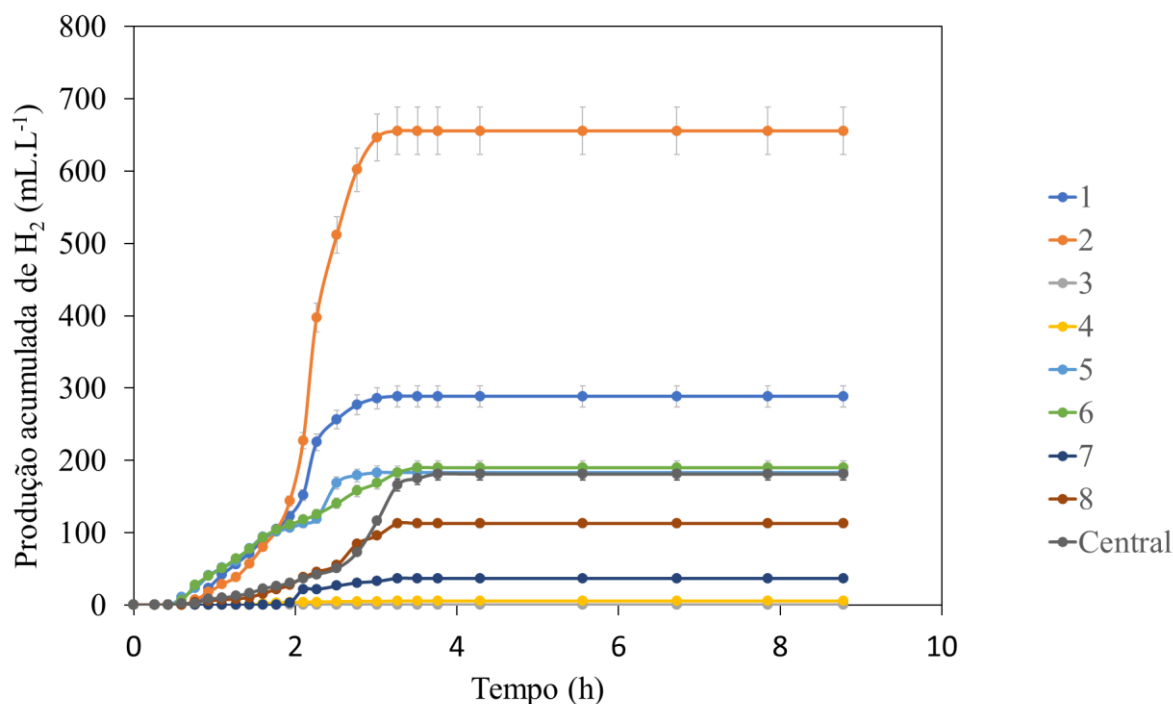
A conversão de carboidrato máximo observado nos reatores em que foi realizada hidrólise ácida de casca de batata com HCl 30% foi de 0,31 g.L⁻¹, no reator 5, com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada por 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30% a 55 °C durante 1 hora. Este valor foi 89,52% inferior ao valor da concentração de carboidrato convertida observado por Chang et al. (2011) (2,96 g.L⁻¹). Os autores hidrolisaram 20,00 g.L⁻¹ palha de arroz com 0,90% p.p⁻¹ de HCl a 150 °C por 1 hora. A concentração inicial de carboidratos no reator de foi de 3,00 g.L⁻¹. No reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada por 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) a concentração inicial de carboidratos foi de 0,48 g.L⁻¹. Isto demonstra que a menor proporção de HCl (0,90% p.p⁻¹) utilizada por Chang et al. (2011) liberou uma maior concentração de carboidratos no meio líquido (3,00 g.L⁻¹) possibilitando uma conversão de 98,87% de carboidratos. No entanto, no presente trabalho, com a proporção de 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%

(70% superior à observada no trabalho de Chang et al. (2011)) foram liberados no meio líquido uma concentração de carboidratos de $0,48 \text{ g.L}^{-1}$, 84,00% inferior ao observado no trabalho de Chang et al. (2011) ($3,00 \text{ g.L}^{-1}$), e com uma conversão de carboidratos 34,68% inferior (64,58%). Estes valores demonstram que a palha de arroz disponibilizou 84,00% a mais de carboidratos que a casca de batata, no meio líquido da fermentação, indicando que devido às diferentes composições dos dois resíduos a da palha de arroz foi mais eficiente para a conversão de carboidratos em H_2 .

Os desempenhos de produção de H_2 , nos reatores da fermentação da casca de batata pré-tratada com HCl 30% foram apresentadas na Figura 12. A duração da fase lag foi de 14 horas para os reatores 6 ($60,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata/ $4,41\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30%) e central ($60,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30%). Contudo, para o reator 7 ($38,79 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30%) a fase lag durou 46 horas. A diferença entre os reatores que tiveram maior (46 horas) e menor fase lag (14 horas) foi de 32 horas. Proporções distintas de HCl 30% utilizadas nos reatores 6 ($4,41\% \text{ v.v}^{-1}$) e central ($3,00\% \text{ v.v}^{-1}$) não influenciaram na duração da fase lag que permaneceu 14 horas. Isto demonstra que apesar das diferentes condições de proporções de HCl 30% os microrganismos foram capazes de se adaptar e realizar a conversão de carboidratos em H_2 . Estes resultados diferem dos resultados da fermentação da casca hidrolisada com H_2SO_4 . No ensaio com H_2SO_4 como hidrolisante foi observado o efeito negativo do aumento da proporção de H_2SO_4 sobre a adaptação dos microrganismos as condições do meio líquido (a fase lag do reator 6 com $7,83\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 durou 75 horas e no reator 8 com $2,17\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 durou 18 horas).

Os volumes máximos acumulados de H_2 nos reatores variaram entre $1,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$ e $655,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$. No reator 3 a partir de $45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $2,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30% foi produzido $1,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$. No reator 2, utilizando $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $2,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30% foram produzidos $655,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$. O valor de produção de H_2 do reator 2 ($655,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$) foi 99,80 % superior ao do reator 3 ($1,40 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$). Isto pode ser explicado devido à concentração de casca de batata no meio líquido do reator 2 ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata) ser $20,00 \text{ g.L}^{-1}$ superior ao valor da concentração de casca de batata no reator 3 ($45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata). Portanto a concentração da casca de batata influenciou positivamente a produção fermentativa de H_2 .

Figura 12 - Produção volumétrica acumulada de H₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante HCl 30% em diferentes proporções



Legenda: 1- reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 2- reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 3- reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 4- reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 5- reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 6- reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%); 7- reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 8- reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%); **central** – reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

Zhang et al. (2007) realizaram a hidrólise ácida do resíduo de milho com 0,20% v.v⁻¹ de HCl e observaram uma produção de 592,80 mL H₂.L⁻¹. Os autores utilizaram 15,00 g.L⁻¹ o resíduo do milho hidrolisado e com cultura mista do composto do estrume de vaca na fermentação. As condições de operação da fermentação foram de 36 °C, pH 7,00 e agitação de 90 rpm. Também utilizando o HCl como hidrolisante, Cui et al. (2009) realizaram o pré-tratamento da borra de cerveja com uma proporção de 2,00% v.v⁻¹ de HCl, valor 10 vezes superior ao observado no trabalho de Zhang et al. (2007) (0,20% v.v⁻¹ de HCl). A produção máxima acumulada H₂ foi de 799,50 mL H₂.L⁻¹ na fermentação em batelada, utilizando cultura mista sob a temperatura de 35 °C, pH de 7,00. Apesar da proporção de HCl para hidrolisar a borra de cerveja (2,00% v.v⁻¹ de HCl) ser 10 vezes superior à proporção utilizada para hidrolisar o resíduo de milho (0,20% v.v⁻¹ de HCl) o valor de produção de H₂ não possui grande diferença

(74,14 % de similaridade). Isto sugere que a variável proporção de HCl 30% não altera a produção de H₂ de forma significativa.

Han et al. (2012) observaram a produção máxima acumulada de H₂ de 752,50 mL H₂.L⁻¹. Os autores hidrolisaram 50,00 g.L⁻¹ palha de soja com 4,00% v.v⁻¹ de HCl, em fermentação utilizando cultura mista sob a temperatura de 35 °C e pH 7,00. Han et al. (2012) observaram que a hidrólise ácida com HCl elevou a produção de H₂ em onze vezes em relação a fermentação da palha sem pré-tratamento. Isto demonstra a necessidade do pré-tratamento do resíduo lignocelulósico para a produção de H₂. Os autores utilizaram 4,00% v.v⁻¹ de HCl, valor semelhante ao utilizado no reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) do presente trabalho. Porém, a produção acumulada de H₂ obtida pelos autores foi 138 vezes maior ao valor produzido pelo reator 4 (5,44 mL H₂.L⁻¹). A conversão de 98,87% de carboidrato no trabalho de Han et al. (2012), utilizando 4,00% v.v⁻¹ de HCl foi 61,90% superior ao observado no reator 4 (37,79%). A elevada porcentagem de conversão de carboidrato da palha de milho (98,87%) acarretou a maior produção de H₂ (752,50 mL H₂.L⁻¹) obtida por Han et al. (2012). Isto sugere que a conversão de carboidratos em H₂ foi mais eficiente na fermentação da palha de soja que na casca de batata. Isto demonstra que as composições dos dois resíduos são distintas e que, assim como a palha de arroz no trabalho de Chang et al. (2011), a composição da palha de soja foi mais eficiente para a conversão de carboidratos em H₂ na fermentação.

Na Tabela 13 são apresentados os percentuais e volumes máximos acumulados de H₂, os rendimentos de H₂ por casca de batata adicionado e por carboidrato consumido na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. O percentual de H₂ na fermentação de casca de batata hidrolisada com HCl 30% variou entre 1,33 e 46,13%. No reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% o percentual observado de H₂ foi de 1,33%. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% o percentual de H₂ foi de 46,13%.

O melhor rendimento de H₂ na fermentação utilizando HCl 30% como composto hidrolisante da casca de batata ocorreu no reator 2. Neste reator foram fermentados 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, produzindo 8,74 mL de H₂ por grama de casca adicionada. A composição de H₂ no reator 2 foi de 46,13%. Contudo, no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foi produzido somente 0,03 mL de H₂ por grama de casca adicionada. A composição de H₂ de 1,33% foi observada no reator 3. As concentrações de cascas de batatas hidrolisadas foram as únicas variáveis distintas entre os reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de

casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). A maior concentração de casca no reator 2 (75,0 g.L⁻¹) possibilitou uma composição de H₂ 97,11% mais elevada que o do reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata). Isto sugere que apenas a influência da concentração de substrato afeta a formação de H₂ na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. Este resultado pode ser explicado pelo aumento da quantidade de carboidrato disponibilizado no meio à medida que se aumenta a concentração de casca de batata, ocorrendo conseqüentemente maiores concentrações de celulose e hemicelulose no meio que podem ser convertidos em H₂ (KUMAR; SINGH; SINGH et al., 2008).

Tabela 13 - Composição e produção volumétrica de H₂ no ensaio utilizando HCl 30% em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata.

Reator	% de H₂	Volume acumulado de H₂ (mL.L⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de casca adicionada (mL.g⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de carboidrato consumido (mL.g⁻¹)
1	39,63	288,63	3,85	931,06
2	46,13	655,40	8,74	3120,95
3	1,33	1,40	0,03	4,90
4	14,71	5,44	0,12	44,83
5	42,95	183,10	2,25	590,65
6	42,02	190,00	3,17	728,01
7	18,16	37,06	0,96	933,87
8	30,17	112,87	1,88	833,67
Central	39,38	259,41	4,32	741,17

Legenda: **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%); **reator ponto central** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

O reator com maior rendimento de H₂ por carboidrato consumido pelos microrganismos foi o reator 2. Neste reator foi fermentados 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com

2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, produzindo 3120,95 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido. No entanto, o reator 3 produziu 4,90 mL.g⁻¹ de carboidrato consumido. No reator 3, 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata foram hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% para a fermentação. Isto reforça o efeito positivo da concentração de casca de batata sobre os rendimentos de H₂. Os valores obtidos no rendimento de H₂ de casca de batata adicionada nos reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata) de 8,74 e 0,03 mL H₂.g⁻¹ de casca de batata adicionada, respectivamente comprovam esta observação.

No ensaio que utilizou o HCl 30% para hidrolisar a casca de batata foi observado, entre os reatores, que em concentração de casca de batata mais elevada (75,00 g.L⁻¹) a produção e rendimentos de H₂ também são elevados (655,40 mL H₂.L⁻¹; 8,74 mL H₂.g⁻¹ de casca de batata adicionada; 3120,95 mL H₂.g⁻¹ de carboidrato consumido), como no reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). Entretanto, não foi possível observar uma tendência nos efeitos do aumento das proporções de HCl 30%. A comparação entre reatores com a mesma concentração de casca de batata e distintas proporções de HCl 30% mostram efeitos contrários do hidrolisante sobre a produção.

Nos reatores 3 e 4 com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batata hidrolisadas com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, respectivamente, foi observado o efeito positivo do hidrolisante sobre a produção de H₂. A produção no reator 3, com menor proporção de hidrolisante (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) foi de 1,40 mL H₂.L⁻¹, 74,26% inferior à observada no reator 4 (5,44 mL H₂.L⁻¹) com a maior proporção de HCl 30% (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). Entretanto, entre os reatores 1 e 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batata hidrolisadas com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, respectivamente, foi observado o efeito negativo do hidrolisante sobre a produção de H₂. A produção no reator 2, com menor proporção de hidrolisante (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) foi de 655,40 mL H₂.L⁻¹, 55,96% superior à observada no reator 1 (288,63 mL H₂.L⁻¹) com a maior proporção de hidrolisante (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). De forma, semelhante, Han et al. (2012) observaram que a partir da palha de soja hidrolisada com HCl entre as proporções de 0,50 a 4,00% v.v⁻¹ de HCl a produção de H₂ cresceu à medida que a proporção de HCl aumentava na hidrólise (0,50% v.v⁻¹ de HCl (17,26 mL H₂.g⁻¹ de substrato); 1,00% v.v⁻¹ de HCl (25,01 mL H₂.g⁻¹ de substrato); 2,00% v.v⁻¹ de HCl (33,77 mL H₂.g⁻¹ de substrato) e 4,00% v.v⁻¹ de HCl (47,65 mL H₂.g⁻¹ de substrato)). Na proporção de 8,00% v.v⁻¹ de HCl a produção de H₂ começou a reduzir (40,77 mL H₂.g⁻¹ de substrato).

5.1.3 Fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M

O ensaio com a casca de batata hidrolisada com NaOH 6M durou 8 dias (192 horas). São mostrados na Tabela 14 os valores de pH da fermentação do início e do final do processo, as concentrações iniciais e finais de carboidratos totais, assim como o seu percentual consumido. O valor do pH inicial 7,0 foi utilizado para todos os reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M. Este valor inicial foi reduzido para o valor de $4,5 \pm 0,3$ em todos os reatores. Assim, como nos dois ensaios anteriores (H_2SO_4 e HCl 30%) esta redução pode ser explicada devido à conversão de carboidratos no meio líquido em produtos da fermentativos, como os metabólitos solúveis, CO_2 e H_2 .

As concentrações de carboidrato após a hidrólise da casca de batata pré-tratada com NaOH 6M em distintas proporções variaram entre 0,66 e 1,87 $g.L^{-1}$ nos reatores 7 (38,79 $g.L^{-1}$ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de hidrolisante) e 1 (75,00 $g.L^{-1}$ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de hidrolisante), respectivamente. A concentração de carboidrato inicial no reator 1 (75,00 $g.L^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) foi de 1,87 $g.L^{-1}$. No reator 2 (75,00 $g.L^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) a concentração de carboidrato inicial foi de 0,78 $g.L^{-1}$. Nos reatores 1 e 2 foram adicionados a mesma concentração de casca de batata (75,00 $g.L^{-1}$). Contudo, com a maior proporção de NaOH 6M no reator 1 (4,00% v.v⁻¹) foi liberado no meio líquido, após a hidrólise, 58,30% a mais de carboidratos do que no reator 2 (2,00% v.v⁻¹). Isto demonstra que a disponibilização de carboidrato na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M é influenciada pela quantidade de hidrolisante. Esta mesma performance pode ser observada entre os reatores 3 (45,00 $g.L^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 4 (45,00 $g.L^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). A maior quantidade de NaOH 6M no reator 4 (4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) liberou maior concentração de carboidrato (1,55 $g.L^{-1}$) do que o reator 3 (0,73 $g.L^{-1}$) (2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

Han et al., (2012) investigaram a hidrólise química de 50,00 $g.L^{-1}$ palha de soja utilizando NaOH em distintas proporções (0,50; 1,00; 2,00; 4,00; 8,00% v.v⁻¹). Os autores observaram que as concentrações de açúcares fermentáveis da palha de soja hidrolisada variam de acordo com o aumento da proporção de NaOH 6M utilizado na hidrólise. Com base na fermentação da palha de soja sem pré-tratamento, foi observado que na proporção de 8,00% v.v⁻¹ foi disponibilizado aproximadamente 85,45% a mais de açúcares fermentáveis. As proporções de 2,00 e 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M possibilitaram em concentrações de açúcares fermentáveis disponíveis no meio líquido após a hidrólise da palha de soja 73,33 e 80,00%

superiores a observada na fermentação da palha de seja sem pré-tratamento. Estes resultados corroboram com o que ocorreu no presente estudo em que as hidrólises com proporções de NaOH 6M mais elevadas aumentaram a disponibilização de carboidratos nos reatores.

Tabela 14 - Valores de pH e carboidratos iniciais e finais do ensaio em batelada com a casca da batata pré-tratada com NaOH 6M em diferentes proporções

Reator	pH Inicial	pH Final	C inicial (g.L⁻¹)	C final (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (g.L⁻¹)	Conversão de carboidratos (%)
1	7,05	4,52	1,87	0,30	1,57	83,96
2	7,05	4,72	0,78	0,51	0,27	34,62
3	7,06	4,62	0,73	0,16	0,57	78,08
4	7,06	4,54	1,55	0,28	1,27	81,94
5	7,02	4,42	1,46	0,35	1,12	76,03
6	7,03	4,49	1,18	0,31	1,56	73,73
7	7,02	4,66	0,66	0,26	0,40	60,61
8	7,07	4,69	0,74	0,35	0,39	52,70
Central	7,04	4,46	1,06	0,36	0,70	66,04

Legenda: C inicial: concentração inicial de carboidrato; C final: concentração final de carboidrato. **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator ponto central** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

Malakar, Das e Mohanty (2020) analisaram a liberação de glicose no pré-tratamento da casca de batata hidrolisada o composto hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂). Os autores avaliaram o efeito da hidrólise de 1,00% v.v⁻¹ de Ca(OH)₂ sobre a disponibilização de glicose no meio líquido e os efeitos das combinações desta hidrólise com o método físico explosão a vapor (121 °C. Malakar, Das e Mohanty (2020) observaram que o pré-tratamento da casca de batata hidrolisada com 1,00% v.v⁻¹ de Ca(OH)₂ e submetida a explosão a vapor disponibilizou 1,47 g.L⁻¹ de glicose. Já no pré-tratamento somente com a hidrólise da casca de batata com de 1,00%

v.v⁻¹ de Ca(OH)₂ a concentração liberada de glicose foi de 0,71 g.L⁻¹. O resultado do pré-tratamento da casca de batata com apenas 1,00% v.v⁻¹ de Ca(OH)₂ foi similar ao observado no presente trabalho. No reator 8, deste estudo, a casca de batata foi hidrolisada com 1,59% v.v⁻¹ de NaOH 6M a 55 °C, durante 1 hora, e disponibilizou ao meio líquido 0,74 g.L⁻¹ de carboidrato. A concentração de carboidratos liberada no presente trabalho (0,74 g.L⁻¹) foi ligeiramente superior (4,05%) ao observado na hidrólise da casca de batata com 1,00% v.v⁻¹ de Ca(OH)₂, no trabalho de Malakar, Das e Mohanty (2020). Isto indica que a maior proporção de NaOH 6M (1,59% v.v⁻¹) e a combinação com método físico (55 °C) no pré-tratamento pode ter favorecido a maior liberação de carboidratos da casca de batata, no presente trabalho. A maior disponibilização de glicose (1,47 g.L⁻¹) observada no pré-tratamento com hidrólise química (1,00% v.v⁻¹ de Ca(OH)₂) seguida de explosão a vapor (121 °C) no trabalho de Malakar, Das e Mohanty (2020) reforçam a hipótese de que combinação de métodos físicos e químicos auxiliam na melhor liberação de carboidratos para a fermentação.

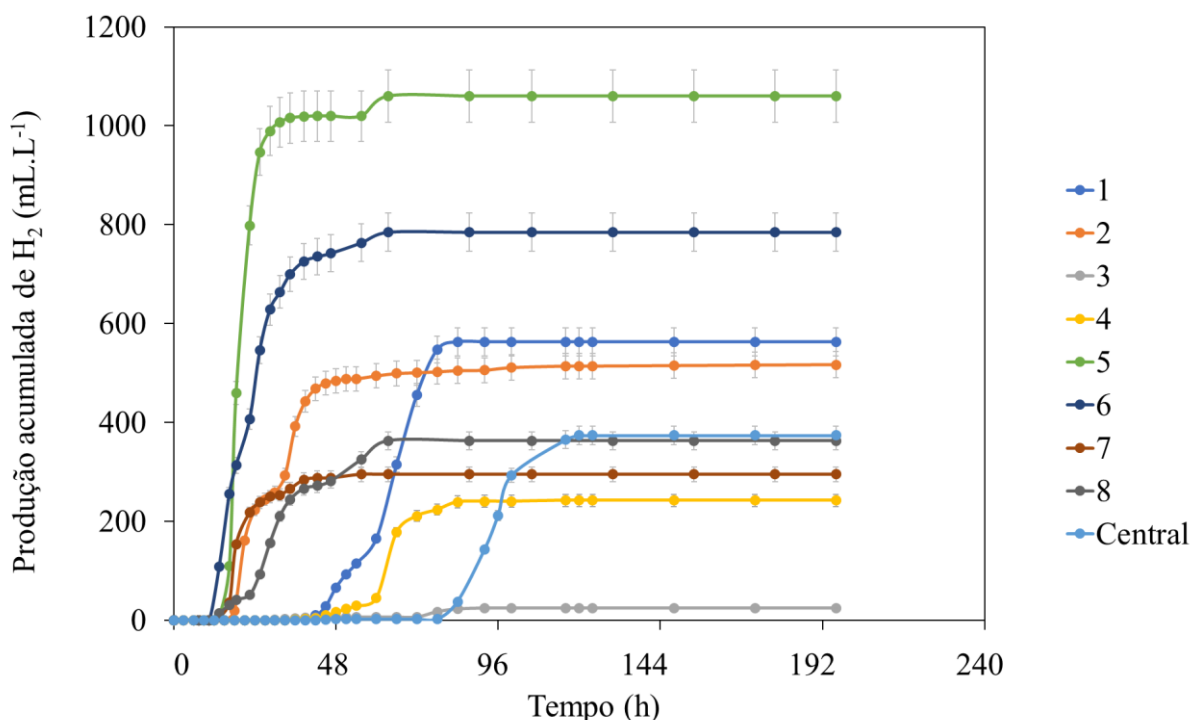
As concentrações de carboidratos no final da fermentação variaram entre 0,16 e 0,51 g.L⁻¹, nos reatores 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH) e 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), respectivamente. Analisando as conversões de carboidratos neste ensaio (NaOH 6M), observa-se que no reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata pré-tratada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) ocorreu a conversão mais elevada de carboidratos (1,57 g.L⁻¹). Por outro lado, no reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH), ocorreu a menor conversão de carboidratos de 0,27 g.L⁻¹. A conversão do reator 1 (75,0 g.L⁻¹ de casca pré-tratada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) foi 82,80% superior ao do reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). A diferença de proporção de NaOH 6M nos reatores 1 (4,00% v.v⁻¹) e 2 (2,00% v.v⁻¹) influenciou para a maior conversão no reator 1 (64,58%). O efeito positivo do aumento da proporção de NaOH 6M sobre a conversão de carboidrato no meio líquido pode ser observada também entre os reatores 3 (2,00% v.v⁻¹) e 4 (4,00% v.v⁻¹) que possuem a mesma concentração inicial de casca de batata hidrolisada (45,00 g.L⁻¹). No reator 4 (4,00% v.v⁻¹) a conversão de carboidrato foi de 81,94% e no reator 3 (2,00% v.v⁻¹) a conversão de carboidrato foi de 78,08%.

Semelhante as porcentagens máximas de conversão de carboidrato (81,84% e 83,86%), na fermentação da casca hidrolisada com NaOH 6M do presente estudo, Fangkum e Reungsang (2011) notaram uma conversão de carboidrato de 84,80%. Os autores obtiveram essa conversão na fermentação de 10,00 g.L⁻¹ de bagaço de cana hidrolisada com 0,25% v.v⁻¹ de NaOH. No presente trabalho a conversão de 83,86% de carboidratos ocorreu no reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de

casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e a conversão de 81,84% no reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). Isto demonstra que a hidrólise alcalina sobre a biomassa lignocelulósica pré-tratada com NaOH 6M em distintas proporções de hidrolisante favorece a liberação de açúcares solúveis no meio líquido e a conversão de carboidratos. Os valores de conversão de carboidratos (entre 52,70 e 83,96% de carboidratos consumidos) apresentados para o ensaio com NaOH 6M reforçam esta observação. A menor conversão de carboidrato foi de 52,70%, observada no reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de NaOH 6M). Diferente do que foi observado na hidrólise da casca de batata com HCl 30%. A porcentagem de conversão de carboidratos no reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%) foi de apenas 35,33% para a mesma concentração de casca de batata (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata) e mesma proporção de hidrolisante (1,59 % v.v⁻¹). A conversão de carboidratos na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foi de 15,42% no reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

As produções de H₂ nos reatores da fermentação da casca de batata pré-tratada com NaOH 6M foram distintas, como apresentadas na Figura 13. As fases lag dependeram das condições de cada reator e variaram entre 13 horas e 36 horas. A fase lag foi de 13 horas para os reatores 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). A fase lag de 36 horas foi observada no reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). A diferença entre os reatores com durações mais longas (36 h) e mais curtas (13 h) da fase lag foi de 23 horas. As distintas proporções de hidrolisante e concentrações de substrato nos reatores 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) não permitem identificar os efeitos destas variáveis sobre a duração da fase lag. Estes resultados demonstram também que os microrganismos se adaptaram as distintas condições de concentração de casca de batata e proporção de NaOH 6M no meio líquido, realizando a hidrólise bacteriana e fermentação da casca de batata pré-tratada.

Figura 13 - Produção volumétrica acumulada de H₂ da fermentação da casca de batata pré-tratada com o hidrolisante NaOH 6M em diferentes proporções



Legenda: **1-** reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **2-** reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **3-** reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **4-** reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **5-** reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **6-** reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **7-** reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **8-** reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de hidrolisante); **central** – reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

Ruggeri e Tommasi (2012) obtiveram um tempo de duração de fase lag de 8 ± 3 horas, utilizando NaOH a um pH de 12,5 (sem quantificar proporção) para hidrolisar 410,00 g.L⁻¹ de resíduo orgânico de mercado (restos de vegetais e frutos). Os autores utilizaram um consórcio microbiano na fermentação do resíduo orgânico de mercado (restos de vegetais e frutos), sob agitação de 200 rpm, temperatura de 30 °C e pH ajustado para os valores entre 7,0 e 7,5. O tempo de 11 horas obtido na fase lag do trabalho de Ruggeri e Tommasi (2012) foi 84,61% similar ao observado na fermentação da casca de batata hidrolisada NaOH 6M nos reatores 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) do presente estudo (de 13 horas). Apesar das concentrações de casca de batata (38,79; 60,00 e 81,21 g.L⁻¹) utilizadas nas fermentações serem inferiores a observada no trabalho de Ruggeri e Tommasi (2012) (410,00 g.L⁻¹) a duração da fase lag variou apenas 15,80% entre os valores de

11 e 13 horas. Isto reforça a hipótese que as concentrações de substratos não influenciaram as durações da fase lag.

Os volumes máximos acumulados de H_2 variaram entre 24,50 mL $H_2.L^{-1}$ e 1060,10 mL $H_2.L^{-1}$ nos reatores 3 e 5, respectivamente. No reator 3 foram hidrolisados 45,00 g. L^{-1} de casca de batata com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. No reator 5 foram utilizados 81,21 g. L^{-1} de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. A diferença entre os volumes produzidos de H_2 nos dois reatores foi de 97,70%. Lo et al. (2011) obtiveram uma geração de 256 mL $H_2.L^{-1}$ de volume máximo acumulado. Os autores hidrolisaram 10,00 g. L^{-1} de bagaço da cana com a combinação da hidrólise química e biológica. Na hidrólise química Lo et al. (2011) utilizaram 1,5% v.v⁻¹ de NaOH e 2 g. L^{-1} de H_2O_2 . Na etapa seguinte hidrolizaram biologicamente a polpa do bagaço da cana com cultura de *Cellulomonas uda*. A fermentação do bagaço de cana hidrolisado ocorreu sob a temperatura de 37 °C e pH de 7,5. Apesar da combinação de dois métodos de pré-tratamento no trabalho de Lo et al. (2011), o volume máximo acumulado de H_2 (256 mL $H_2.L^{-1}$) obtido da fermentação do bagaço de cana foi 75,85% inferior ao volume produzido no reator 5 (1060,1 mL $H_2.L^{-1}$) com 81,21 g. L^{-1} de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Estes valores de produção podem ser explicados pelas concentrações iniciais utilizadas nas fermentações da casca de batata (81,21 g. L^{-1}) e do bagaço de cana (10,00 g. L^{-1}). A concentração inicial de substrato utilizada no reator 5 (81,21 g. L^{-1}) da fermentação da casca da batata foi 87,68% superior à concentração inicial de bagaço de cana (10,00 g. L^{-1}) observada no trabalho de Lo et al. (2011). Isto reforça a hipótese que a concentração inicial de casca de batata influenciou positivamente a produção de H_2 .

Han et al. (2012) analisaram a produção de H_2 a partir da hidrólise alcalina da palha de soja utilizando NaOH. Os autores avaliaram distintas proporções do hidrolisante (0,50; 1,00; 2,00; 4,00; 8,00% v.v⁻¹ de NaOH) com intuito de observar o efeito desta variável (proporção de NaOH) sobre a produção acumulada de H_2 . A fermentação de 50,00 g. L^{-1} de palha de soja hidrolisada ocorreu sob a temperatura de 35 °C e pH 7,00. Han et al. (2012) verificaram que o aumento da proporção de NaOH na hidrólise química da palha de soja reduziu a produção acumulada de H_2 na fermentação. Na proporção de 8,00% v.v⁻¹ de NaOH foi observado que a produção acumulada de H_2 (39,25 mL $H_2.L^{-1}$) foi 42,50% inferior a produção observada na fermentação da palha de soja sem pré-tratamento (68,25 mL $H_2.L^{-1}$). A maior produção acumulada de H_2 (137,5 mL $H_2.L^{-1}$) foi observada na proporção de 0,50% v.v⁻¹ de NaOH. Os autores verificaram que apesar da proporção mais elevada (8,00% v.v⁻¹ de NaOH) disponibilizar mais carboidratos no meio líquido a conversão destes açúcares fermentáveis em H_2 diminuiu 90,87% a observada na fermentação da palha de soja hidrolisada com 0,50% v.v⁻¹ de NaOH.

Isto sugere a inibição do composto químico alcalino (NaOH) na hidrólise da palha de soja. Nestes resultados a influência do aumento da proporção de NaOH sobre a produção de H₂ foi negativa, diferente do observado no presente estudo. Neste trabalho, entre os reatores com mesma concentração de casca de batata e diferentes proporções de NaOH 6M como os reatores 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) a produção de H₂ foi 90,00% superior sob a proporção mais elevada (4,00% v.v⁻¹) de NaOH 6M (246,60 mL H₂.L⁻¹).

Ruggeri e Tommasi (2012) hidrolisaram 410,00 g.L⁻¹ de resíduos orgânico de mercado (restos de vegetais e frutos) pré-tratados com NaOH sem quantificar a proporção, mas determinando o valor de pH no meio reacional para 12,50. Os autores obtiveram um volume máximo de H₂ de 590,00 mL H₂.L⁻¹. Ruggeri e Tommasi (2012) observaram a fermentação destes resíduos orgânicos em cultura mista, sob agitação de 200 rpm, temperatura de 30 °C e pH ajustado para os valores entre 7,00 e 7,50. O volume máximo acumulado de H₂ produzido no trabalho de Ruggeri e Tommasi (2012) foi inferior ao obtido com a fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M no reator 5 (1060,10 mL H₂.L⁻¹). Neste reator 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata foram hidrolisadas com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M em pH entre 12,50 e 13,00. Na fermentação (37 °C, rotação de 150 rpm) o pH foi ajustado para 7,00. Na Tabela 14 são apresentados os percentuais máximos de H₂ e os volumes acumulados deste biogás; os rendimentos de H₂ por casca de batata adicionado e por carboidrato consumido na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M. O percentual máximo de H₂ obtido no reator 5 (52,58%), deste trabalho, foi superior ao obtidos por Ruggeri e Tommasi (2012) (23,60% de H₂). Os autores explicam que o resíduo de mercado (restos de vegetais e frutos) por possuir substratos mais complexos em sua composição, dificultam a adaptação dos microrganismos ao substrato, ocasionando rendimentos de H₂ mais baixos. No entanto, de acordo Zhou, Elbeshbishy e Nakhla (2013) a casca da batata possui uma ótima composição com cerca de 80% de água e rica em nutrientes e carboidratos, se tornando um excelente substrato para produção fermentativa de H₂.

Os valores da composição e produção volumétrica de H₂ na fermentação da casca hidrolisada com NaOH 6M em diferentes proporções são apresentados na Tabela 15. A variação do percentual de H₂ nos reatores deste ensaio foi entre 27,84% (reator 2: 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 53,47 % (reator 8: 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de hidrolisante). A maior produção de H₂ fermentando a casca de batata hidrolisada com NaOH 6M ocorreu no reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M). Neste reator foram produzidos 13,05 mL de H₂ por cada grama substrato

adicionado. Entretanto, o reator que gerou menos H₂ neste ensaio (NaOH 6M) foi o reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), produzindo apenas 0,54 mL de H₂ por grama de casca adicionada.

Tabela 15 - Composição e produção volumétrica de H₂ no ensaio utilizando NaOH 6M em diferentes proporções como hidrolisante da casca de batata

Reator	% de H₂	Volume acumulado de H₂ (mL.L⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de casca adicionada (mL.g⁻¹)	mL de H₂ produzido por g de carboidrato consumido (mL.g⁻¹)
1	45,06	563,20	7,51	358,72
2	27,84	517,10	6,85	1904,00
3	35,60	24,50	0,54	42,93
4	37,67	242,60	5,39	190,98
5	52,58	1060,10	13,05	955,05
6	52,59	784,90	13,55	934,49
7	50,55	295,90	10,44	1012,80
8	53,47	363,30	4,34	667,21
Central	42,47	373,80	6,23	534,04

Legenda: **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de NaOH 6M); **reator ponto central** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

No reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) do ensaio que utilizou NaOH 6M como hidrolisante da casca de batata foi observado o maior rendimento por carboidrato consumido com valor de 1904,00 mL por grama de carboidrato consumido. No entanto, a produção no reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) foi de somente 42,93 mL H₂. g de carboidrato consumido. Ruggeri e Tommasi (2012), obtiveram um rendimento de 21,22 mL H₂. g de carboidrato consumido. O rendimento obtido por Ruggeri e Tommasi (2012) é 98,90% inferior ao do reator 2 (reator com

melhor performance de produção de H_2 por grama de carboidrato consumido, na fermentação de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M). Estes valores reforçam a hipótese que na composição da casca da batata os carboidratos disponíveis são mais facilmente hidrolisados e fermentados pelos microrganismos que na composição dos resíduos de mercado (restos de vegetais e frutos). A estrutura mais complexa de uma variedade maior de resíduo na biomassa utilizada por Ruggeri e Tommasi (2012) dificulta a conversão dos carboidratos em H_2 .

No ensaio que utilizou a casca de batata pré-tratada com NaOH 6M foi observado, entre os reatores, que na concentração de $81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata a produção de H_2 também foi a mais elevada ($1061,10 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$), como no reator 5 ($81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M). Isto indica que maiores concentrações de casca de batata acarretam maiores volumes acumulados de H_2 . Da mesma forma, observando os valores de produção de H_2 em concentrações de casca de batata semelhantes como nos reatores 6,8 e central ($60,00 \text{ g.L}^{-1}$) e proporções de NaOH 6M distintas ($4,41, 1,59$ e $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M, respectivamente) as produções de H_2 foram de $784,90; 363,30$ e $373,80 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$, respectivamente. Na proporção de $1,59\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M (reator 8) a produção de H_2 foi de $363,30 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$, ligeiramente inferior ($2,80\%$) à observada na proporção $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M de $373,80 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$. Na proporção de $4,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M (reator 6) a produção de H_2 foi $784,90 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$ foi $53,37\%$ superior à obtida na proporção de $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M ($373,80 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$) e $53,71\%$ superior a observada na proporção de $1,59\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M ($363,30 \text{ mL H}_2\text{.L}^{-1}$). Estes resultados sugerem que o aumento da proporção de NaOH 6M na hidrólise teve efeito positivo na produção de H_2 .

5.1.4 Produtos metabólicos solúveis nos ensaios

A produção de metabólitos solúveis (álcoois e ácidos orgânicos) nos reatores ocasiona a diminuição da capacidade de tamponamento do meio e conseqüentemente mudanças no valor do pH inicial que diminui devido ao aumento da concentração de ácidos (Khanal, 2004), como ocorreu em todos os reatores nos três ensaios (NaOH 6M, HCl 30% e H_2SO_4). O pH inicial $7,0$ diminuiu para valores entre $5,00$ e $6,50$ na fermentação da casca batata hidrolisada com H_2SO_4 ; para $4,7 \pm 0,1$ no ensaio com HCl 30% como hidrolisante da casca de batata e $4,50 \pm 0,30$ na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M. Da mesma forma, Marone et al. (2014) observaram a diminuição do pH da fermentação em batelada da casca de batata sob a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ para a produção de H_2 . Os autores afirmam que a falta de um sistema de tamponamento e as produções de álcoois e ácidos orgânicos resultou na redução do pH inicial

7,00 a valores de pH entre 5,00 e 4,50. Ibrahim et al. (2015) também verificaram mediante a produção de H₂ e butanol a partir de cachos de frutos do dendezeiro pré-tratados com H₂SO₄ a diminuição do pH. Esta diminuição ocorreu à medida que as produções de álcoois e ácidos orgânicos aumentavam.

A conversão da casca de batata em H₂ na fermentação, nos reatores dos três ensaios realizados, foi acompanhada pela formação de álcoois (metanol, etanol, butanol) e ácidos orgânicos voláteis (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e caproico). Na Figura 14 são apresentadas as produções de álcoois e ácidos orgânicos nas fermentações das cascas hidrolisadas com NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄. No ensaio com hidrolisante NaOH 6M foi observado uma produção de metabólitos solúveis (álcoois e ácidos orgânico) com concentrações que variam entre 1,43 e 2,72 g.L⁻¹. No reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) foi observada uma concentração de álcoois e ácidos orgânicos de 1,43 g.L⁻¹. No reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) foi observada uma concentração de álcoois e ácidos orgânicos de até 2,72 g.L⁻¹. Os reatores do ensaio com HCl 30% foi observada que a produção de álcoois e ácidos orgânicos variou entre 0,73 e 2,70 g.L⁻¹. No reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%) foram produzidos 0,73 g.L⁻¹ de álcoois e ácidos orgânicos. No 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%) foram produzidos 2,70 g.L⁻¹ de álcoois e ácidos orgânicos. No ensaio com H₂SO₄ utilizado como hidrolisante da casca de batata as concentrações destes metabólitos solúveis (álcoois e ácidos orgânicos) variaram entre 0,75 e 4,39 g.L⁻¹. No reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) foram produzidos 0,75 g.L⁻¹ de álcoois e ácidos orgânicos. No reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄), foram produzidos 4,39 g.L⁻¹ de álcoois e ácidos orgânicos. As produções de ácidos acéticos e butíricos se destacaram nos três ensaios realizados (NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄). A produção de propiônico foi favorecida na fermentação da casca de batata com HCl 30%. Já a produção de ácido caproico, isovalérico e isobutírico foram observadas na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄.

De forma semelhante Parawira et al. (2004) identificaram as produções dos mesmos ácidos orgânicos observados neste estudo na fermentação do resíduo de batata. Os autores avaliaram a produção de ácidos orgânicos voláteis (AGVs) na fermentação de duas concentrações distintas de resíduo da batata (250,00 e 500,00 g.L⁻¹) a 37 °C. Parawira et al. (2004) verificaram que a fermentação favoreceu as produções principalmente de ácido acético (420,00 mg.g⁻¹ de AGVs totais), ácido butírico (310,00 mg.g⁻¹ de AGVs totais) e ácido propiônico (190,00 mg.g⁻¹ de AGVs totais). Os autores identificaram também as produções em

baixas concentrações de ácidos capróicos ($90,00 \text{ mg.g}^{-1}$ de AGVs totais), e concentrações insignificantes de isobutíricos e isovaléricos. Os resultados do estudo de Parawira et al. (2004) corroboram com os resultados do presente estudo que indicam que as fermentações de resíduo da batata favorecem as produções de ácidos acéticos e butíricos, majoritariamente, e as produções de ácidos propiônicos, isovaléricos e isobutíricos a partir de culturas mistas tratadas termicamente. De forma semelhante Marone et al. (2014) observaram a produção de metabólitos solúveis na fermentação de casca de batata sem pré-tratamento a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH inicial 7,00. Os autores observaram que os principais metabólitos solúveis produzidos foram o álcool etanol e os ácidos acéticos, butírico, propiônico e láctico. Li et al. (2019) também investigaram a fermentação acidogênicas do resíduo da batata sob condições mesofílicas ($35 \text{ }^\circ\text{C}$) e pH 8,00. Os autores observaram a predominância de 86,40% da soma das frações de ácidos acéticos e butíricos na fermentação e a produção de ácido propiônico em menor proporção.

Parawira et al. (2004) verificaram que diferentes concentrações de resíduo da batata influenciam de formas distintas a produções de cada ácido orgânico na fermentação sob a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$. As diferentes concentrações de substrato e os distintos compostos hidrolisantes utilizados no pré-tratamento em diferentes proporções contribuem para as diferentes composições de álcoois e ácidos orgânicos (REN et al., 2008), como pode ser observado nos reatores. No ensaio com NaOH 6M, nota-se que as condições do meio, nos reatores, foram favoráveis para a produção dos ácidos acético e butírico. A porcentagem de ácido acético variou entre 44,94% no reator 1 com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M e 63,93% no reator 7 com $38,79 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Nos reatores 1 e 4 com, respectivamente, $75,00$ e $45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH, foi observado que na concentração de $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata (reator 1) a produção de ácido acético ($1,22 \text{ g.L}^{-1}$) foi 5,42% inferior a observada na concentração de $45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata ($1,29 \text{ g.L}^{-1}$) (reator 4). Isto demonstra que em concentrações mais elevadas de casca de batata a produção de ácido acético diminui.

Os rendimentos de metabólitos solúveis em função da DQO adicionada na fermentação são apresentados na Tabela 16. Nos reatores 2 e 3 com, respectivamente $75,00$ e $45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foi observado que no reator 3 o rendimento de ácido acético por DQO adicionada ($262,40 \text{ mg.g}^{-1}\text{DQO}$ adicionada) concentração de ácido acético foi 18,17% superior ao observado no reator 2 ($214,70 \text{ mg.g}^{-1}\text{DQO}$ adicionada), comprovando a influência negativa da concentração de casca de batata na

produção de ácido acético nesta fermentação (casca de batata hidrolisada com NaOH 6M). Marone et al. (2012) avaliaram três distintas concentrações de substrato (1,00, 5,00 e 10,00 g.L⁻¹) na fermentação da casca de batata a 37 °C e pH inicial 7,00. Os autores de forma semelhante ao presente estudo, verificaram que as concentrações de ácido acético diminuía à medida que a concentração de casca de batata aumentava de 1,00 a 10,00 g.L⁻¹.

Tabela 16 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M em diferentes proporções

Reatores	EtOH mg. g ⁻¹ DQO adicionada	BuOH mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HAc mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HPr mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HBu mg. g ⁻¹ DQO adicionada
1	14,60	4,70	227,30	22,80	236,20
2	9,80	5,30	214,70	28,20	132,40
3	4,80	5,00	262,40	59,50	136,00
4	8,00	6,40	280,60	59,30	198,90
5	1,40	5,60	192,30	25,90	115,40
6	12,00	2,40	238,60	0,00	206,80
7	20,60	7,70	513,70	0,00	261,20
8	11,80	6,10	382,40	0,00	232,40
Central	15,90	7,20	146,30	13,00	129,30

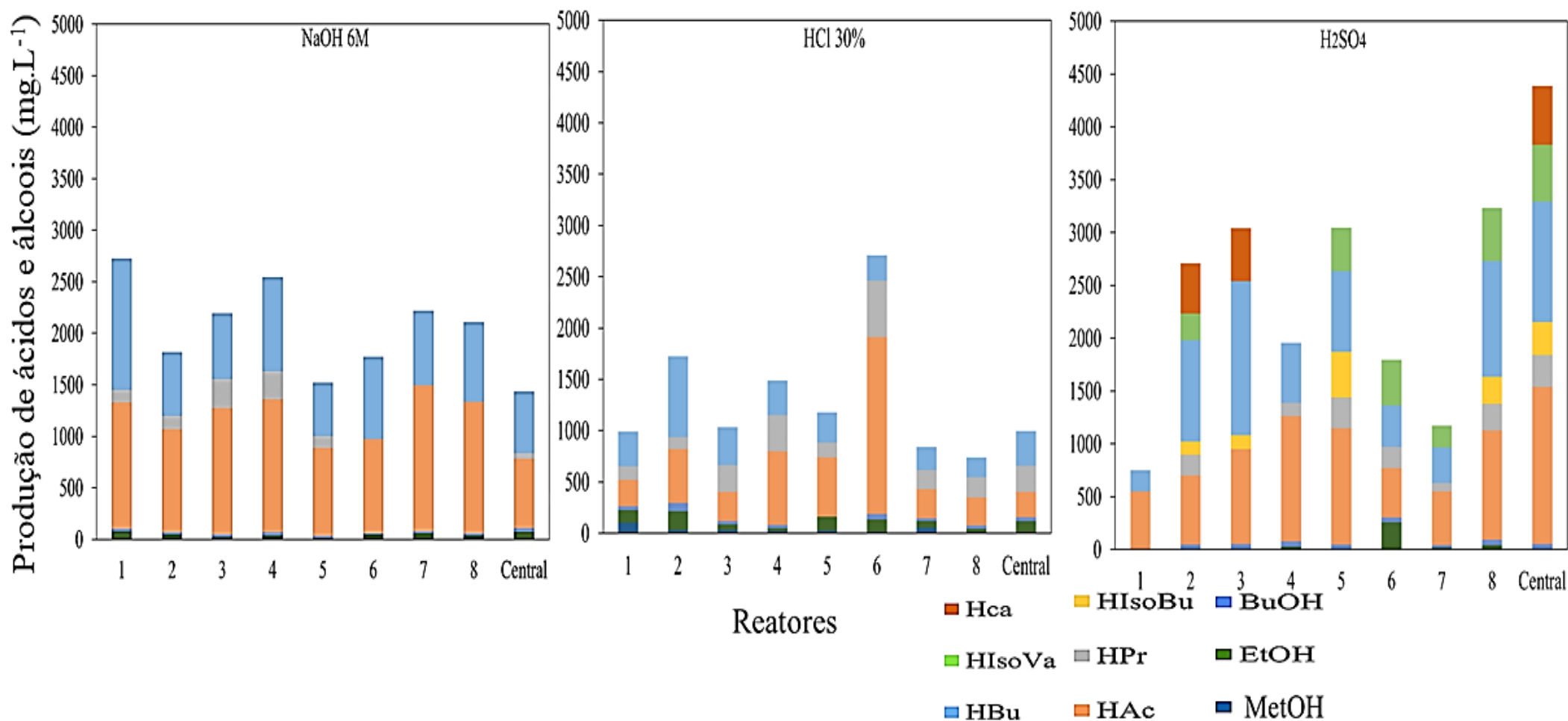
Legenda: EtOH – etanol; BuOH – butanol; HAc – ácido acético; HPr- ácido propiônico; HBu – ácido butírico; **1-** reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **2-** reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **3-** reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **4-** reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **5-** reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **6-** reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **7-** reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **8-** reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de NaOH 6M); **Central** -reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

Da forma semelhante, a produção de ácido propiônico foi influenciada negativamente pela concentração de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M. Nos reatores 2 e 3 com, respectivamente, 75,00 e 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observadas as concentrações de 0,13 e 0,27 g.L⁻¹ de ácido propiônico. No reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas foi verificado o rendimento de ácido propiônico por DQO adicionada (59,50 mg.g⁻¹DQO adicionada) 52,60% superior ao observado no reator 2 (28,20 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas. De forma distinta a produção de etanol foi influenciada positivamente pela concentração de casca de batata. Foram observadas nos reatores 1 e 4 com, respectivamente, 75,00 e 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M que concentrações de etanol foram de 0,78 e 0,36 g.L⁻¹, respectivamente. No reator 1 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas o rendimento de etanol

por DQO adicionada (14,60 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 45,20% superior ao observado no reator 4 (8,00 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas.

A influência da casca de batata sobre a produção de butanol e ácido butírico não foi determinada, pois, em certas situações o efeito do aumento de casca de batata foi positivo e em outros casos negativo. Nos reatores 2 e 3 com, respectivamente, 75,00 e 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observadas as concentrações de 0,24 e 0,23 g.L⁻¹ de butanol. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas o rendimento de butanol (5,30 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi ligeiramente maior (5,66% superior) que no reator 3 (5,00 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas. No entanto entre os reatores 1 e 4 com, respectivamente, 75,00 e 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observadas as concentrações de 0,25 e 0,29 g.L⁻¹ de butanol, respectivamente. No reator 4 com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas o rendimento de butanol por DQO adicionada (6,40 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 26,56% superior a observada no reator 1 (4,70 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas. Para a produção de ácido butírico influências positivas e negativas da concentração de casca também foi observada.

A variação da proporção de NaOH 6M nos reatores também influenciou a produção de álcoois e ácidos orgânicos na fermentação da casca da batata hidrolisada. Nos reatores 1 e 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas, respectivamente com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M produziram, respectivamente, 1,22 e 0,99 g.L⁻¹ de ácido acético. O rendimento de ácido acético por DQO adicionada no reator 1 (227,30 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 5,54% superior ao observado no reator 2 (214,70 mg.g⁻¹DQO adicionada). Já entre os reatores 3 e 4 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisadas, respectivamente com 2,00 e 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M produziram, respectivamente, 1,23 e 1,29 g.L⁻¹ de ácido acético. No reator 4 com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M o rendimento de ácido acético por DQO adicionada (280,60 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 6,48% superior ao observado no reator 3 (262,40 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Estes resultados sugerem que em proporções mais elevadas de NaOH 6M (4,00% v.v⁻¹) o rendimento de ácido acético em função da DQO adicionada na fermentação aumentou.

Figura 14 - Produção de ácidos orgânicos e álcoois nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄

Legenda: Metabólitos produzidos: HAc: ácido acético; Hca: ácido caproico; HBu: ácido butírico; HPr: ácido propiônico; HISOVa: ácido isovalérico; HISOBu: ácido isobutírico; BuOH: butanol; MetOH: metanol; EtOH: etanol. **Reator 1** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00%*/7,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 2** (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00%*/3,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 3** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00%*/3,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 4** (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00%*/7,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 5** (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%*/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 6** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41%*/7,83%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 7** (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%*/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Reator 8** (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 %*/2,17%** v.v⁻¹ de hidrolisante); **Central** – reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%*/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante). * **Proporções de NaOH 6M ou HCl 30%**; ** **proporções de H₂SO**

De forma semelhante, o efeito da proporção de NaOH 6M foi positivo para a produção de ácido butírico e etanol. Foram observados nos reatores 4 e 3 com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M os rendimentos de 198,90 e 136,00 mg de ácido butírico por grama de DQO adicionada, respectivamente. No reator 4 com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M o rendimento foi 31,62% a mais que o observado no reator 3 com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Nos reatores 1 e 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observados os rendimentos de etanol por DQO adicionada de 14,60 e 9,80 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. No reator 1 com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M o rendimento foi 32,87% superior ao verificado no reator 2 com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M.

Diferentemente, para a produção de ácido propiônico na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M, maiores proporções de NaOH 6M (a partir de 4,00% v.v⁻¹) influenciou negativamente. Nos reatores 6 e central com 60,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,41 e 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observados rendimentos de ácido propiônico por DQO adicionada, respectivamente de 0,00 e 13,00 mg.g⁻¹DQO adicionada. Isto indica que o aumento da proporção de NaOH 6M na hidrólise química de casca de batata é negativo para a produção de ácido propiônico.

A produção de butanol nos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M variaram entre 0,09 e 0,33 g.L⁻¹. A influência do aumento da proporção de NaOH 6M sobre os rendimentos de butanol por DQO adicionada em algumas situações foi positiva e em outras negativas. Nos reatores 3 (2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 4 (4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas foram observados rendimentos de 5,00 e 6,40 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. No reator 4 com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M a produção de butanol (6,40 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 21,87% superior ao observado no reator 3 (5,00 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. No entanto entre os reatores 6 e central com 60,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,41 e 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram observados os rendimentos de butanol por DQO adicionada de 2,40 e 7,20 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. No reator central com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M o rendimento de butanol (7,20 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 66,66% superior ao observado no reator 6 (2,40 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M.

A maior produção de H₂ na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M foi de 1060,10 mL H₂.L⁻¹, observada no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Neste reator (5) a produção de ácido acético foi a mais elevada entre os outros metabólitos solúveis (álcoois e ácidos orgânicos). A produção de ácido acético

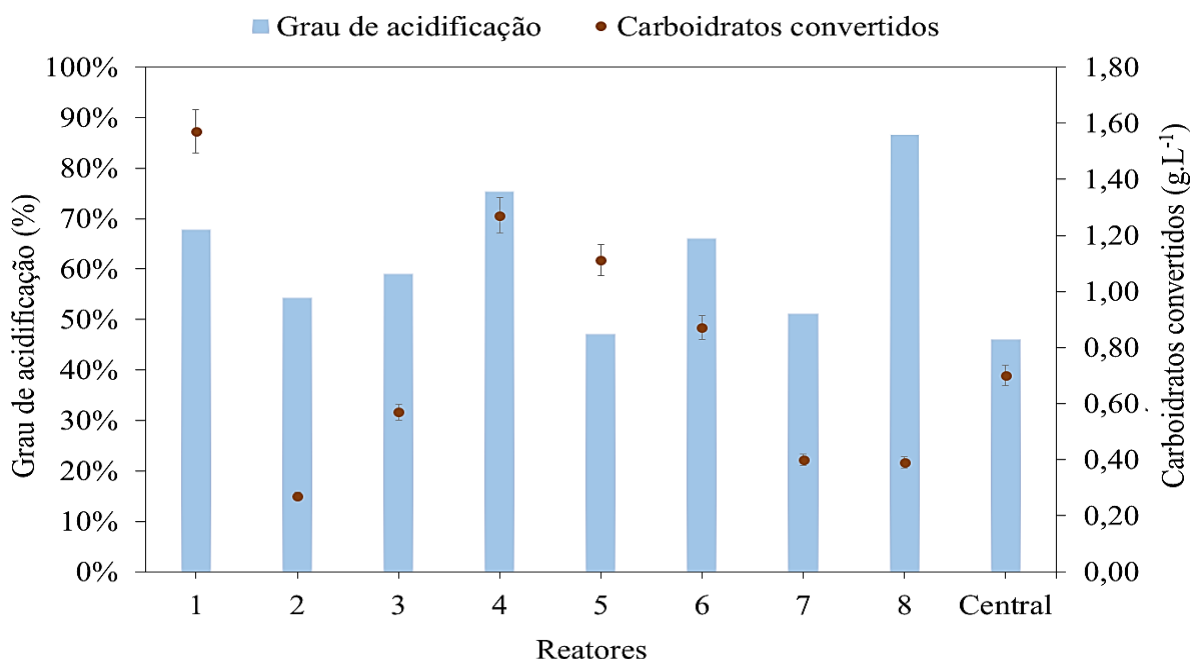
neste reator foi de 0,85 g.L⁻¹, correspondendo a 56,46% da composição de álcoois e ácidos orgânicos produzidos no reator. Este resultado indica que a produção de ácido acético favoreceu a produção de H₂ na fermentação da casca da batata hidrolisada com NaOH 6M. De acordo com Bundhoo e Mohee (2016) quando a produção de ácido acético é favorecida na fermentação, um máximo de 4 mols de H₂ podem ser produzidos a cada mol de glicose consumida como substrato. Foi observado que a produção de H₂ nas condições de 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M ocorreu de acordo com a Equação (5) apresentada.



Contudo, a menor produção de H₂ na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M foi de 24,50 mL H₂.L⁻¹, observada no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Neste reator (3) foi observada a menor concentração de carboidratos (0,73 g.L⁻¹) liberada pela hidrólise com NaOH 6M para a fermentação da casca de batata. Este resultado demonstra que maiores concentrações iniciais de casca de batata influenciaram de forma positiva a maior quantidade de carboidratos solúveis no meio líquido e, conseqüentemente, maiores consumos destes açúcares pelas bactérias fermentativas produtoras de H₂.

Li et al. (2019) verificaram a fermentação do resíduo da batata 35 °C e pH 8,00 sobre a produção de ácidos orgânicos e o processo de acidificação dos experimentos. Os autores observaram que na acidificação da fermentação ocorreu a formação principalmente de ácido acético com concentração de 10,47 g.L⁻¹ (52,60% da fração de metabólitos solúveis), seguido da produção de 6,75 g.L⁻¹ de ácido butírico (33,71% da fração de metabólitos solúveis), 1,75 g.L⁻¹ de ácido propiônico (8,74% da fração de metabólitos solúveis), e baixas concentrações de ácidos isovalérico (0,44 g.L⁻¹), isobutírico (0,32 g.L⁻¹) e valérico (0,18 g.L⁻¹). Li et al. (2019) avaliaram a conversão de substrato nestes ácidos orgânicos e verificaram o grau de acidificação da fermentação de 95,80%, demonstrando que a maior parte do substrato consumido foi convertido em ácidos orgânicos voláteis. Este resultado corrobora com o observado no presente estudo, que em baixas concentrações substratos iniciais ocorreram a diminuição da produção H₂, sendo os carboidratos fermentáveis majoritariamente convertidos em álcoois e ácidos orgânicos voláteis. Na Figura 15 são apresentados os graus de acidificação e conversões de carboidratos no ensaio com NaOH 6M como composto hidrolisante da casca da batata.

Figura 15 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M em diferentes proporções



Legenda: **1-** reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **2-** reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **3-**reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **4-** reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **5-**reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **6-**reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **7-**reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **8-**reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de NaOH 6M); **Central** -reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

O reator com menor grau de acidificação (46,00%) na fermentação da casca de batata com hidrolisada com NaOH 6M foi o central com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Neste reator a produção de ácido acético com uma fração de 46,94% foi de 0,67 g.L⁻¹ de ácido acético. A concentração de carboidratos convertidos verificada no reator central foi de 0,70 g.L⁻¹. No reator 8 foi observado o grau de acidificação de 87,00% na fermentação da de 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 1,59% v.v⁻¹ de NaOH 6M. A produção de ácido acético se destacou com uma concentração de 1,27 g.L⁻¹ de ácido acético, representando uma fração de fração de 60,43% da composição de álcoois e ácidos orgânicos. A conversão de carboidratos no reator 8 foi de 0,39 g.L⁻¹. Estes resultados indicam que no reator 8 (1,59% v.v⁻¹ de NaOH 6M) com uma menor proporção de NaOH 6M que observado no reator central (3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) favoreceu as produções de álcoois e ácidos orgânicos e diminuiu a conversão de carboidratos. A alta concentração de ácido acético no reator 8 (1,27 g.L⁻¹) pode ter inibido a conversão de carboidratos neste reator. No entanto, não foi possível determinar se a influência do aumento da concentração de casca de batata e

proporção de NaOH 6M foram positivas ou negativas, pois não indicaram uma tendência entre as mudanças de condições de cada reator.

Na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foram verificadas as influências das proporções de HCl 30% utilizadas nas hidrolises das cascas de batatas e as concentrações inicial de casca nos rendimentos de álcoois e ácidos orgânicos por DQO adicionada. Na Tabela 17 são apresentados os rendimentos destes metabólitos solúveis em função das DQO adicionadas nas fermentações da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. Nos reatores 2 e 3 com, respectivamente, 75,00 e 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foram observadas as concentrações de 0,37 e 0,78 g.L⁻¹ de ácido butírico. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas o rendimento de ácido butírico por DQO adicionada (169,90 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 53,44% superior ao observado no reator 3 (79,10 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas. Isto sugere que o efeito positivo da casca de batata observado para a produção de ácido butírico na fermentação de casca de batata hidrolisada com HCl 30%. Porém, entre os reatores 7 e central com, respectivamente, 38,79 e 60,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foi observado que no reator central (60,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas) o rendimento de ácido butírico por DQO adicionada (73,00 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 9,20% inferior ao observado no reator 7 (80,40 mg.g⁻¹DQO adicionada), demonstrando que não há uma tendência no efeito da concentração de casca de batata sobre o rendimento de ácido butírico na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%.

De forma semelhante, o efeito do aumento da concentração de casca de batata para o rendimento de ácido acético por DQO adicionada não foi determinado, pois, em algumas situações este rendimento aumentou e outras diminuiu com o aumento da concentração de casca de batata. Nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 4 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) o rendimento de ácido acético (156,50 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 59,58% maior na concentração de 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 4) que na concentração de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata (47,60 mg.g⁻¹DQO adicionada) (reator 1). Entre os reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) o rendimento de ácido acético por DQO adicionada (112,80 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 45,65% maior na concentração de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 2) que na concentração de 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 3) (61,30 mg.g⁻¹DQO adicionada). Para os rendimentos de metanol e butanol não foram possíveis observar uma tendência nos efeitos do aumento da concentração de casca de batata na fermentação.

Tabela 17 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com HCl 30% em diferentes proporções

Reatores	MetOH mg. g ⁻¹ DQO adicionada	EtOH mg. g ⁻¹ DQO adicionada	BuOH mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HAc mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HPr mg. g ⁻¹ DQO adicionada	HBu mg. g ⁻¹ DQO adicionada
1	19,30	22,80	6,20	47,60	24,80	62,80
2	0,00	39,60	17,60	112,80	24,70	169,90
3	0,00	12,00	6,30	61,30	55,50	79,10
4	0,00	5,90	6,80	156,50	76,50	73,10
5	0,00	29,70	0,00	129,10	33,10	65,80
6	0,00	30,60	14,30	447,10	144,10	62,70
7	0,00	23,50	9,90	103,70	67,30	80,40
8	0,00	11,90	8,30	82,20	60,60	56,40
Central	0,00	23,20	7,20	54,30	55,30	73,00

Legenda: MetOH – metanol; EtOH – etanol; BuOH – butanol; HAc – ácido acético; HPr- ácido propiônico; HBu – ácido butírico; **1**- reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **2**- reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **3**-reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **4**-reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **5**-reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **6**-reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%); **7**-reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); **8**-reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59% v.v⁻¹ de HCl 30%); **Central** -reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

Já a influência positiva do aumento de concentração de casca de batata pode ser observada para os rendimentos de etanol. Nos reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas) com mesma proporção de HCl 30% (2,00% v.v⁻¹) foram observadas concentrações de 0,18 e 0,05 g.L⁻¹ de etanol, respectivamente. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas o rendimento de etanol por DQO adicionada (39,60 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 69,69% superior ao observado no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas (12,00 mg.g⁻¹DQO adicionada).

Diferentemente, para o rendimento de ácido propiônico por DQO adicionada foi observado o efeito negativo do aumento de concentrações de cascas de batatas. Nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 4 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) foram identificados os rendimentos de ácido propiônico por DQO adicionada de 24,80 e 76,50 mg.g⁻¹DQO adicionada. O rendimento de 24,80 mg.g⁻¹DQO adicionada na concentração de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 1) foi 67,58% inferior ao observado na concentração de 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 4) de 76,50 mg.g⁻¹DQO adicionada.

A proporção de HCl 30% nos reatores influenciou os rendimentos de alguns álcoois e ácidos orgânicos em função da DQO adicionada na fermentação da casca da batata hidrolisada

com HCl 30%. O efeito positivo do aumento da proporção de HCl 30% foi observado rendimento de ácido propiônico. Nos reatores 4 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) os rendimentos de ácido propiônico por DQO adicionada observados foram de 76,50 e 55,50 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. No reator 4 com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% a produção de ácido propiônico (76,50 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 27,45% superior ao observado no reator 3 (55,50 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. No entanto para os rendimentos de etanol e de ácido butírico foram observados que em proporções mais elevadas de HCl 30% o efeito foi negativo. Nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 2 (75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) os rendimentos de etanol observados foram de 22,80 e 39,60 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. No reator 2 com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% o rendimento de etanol (39,60 mg.g⁻¹DQO adicionada) foi 42,42% superior ao observado no reator 1 (22,80 mg.g⁻¹DQO adicionada) com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. Já para o rendimento de ácido butírico por DQO adicionada foram observados os valores de 62,80 e 169,90 mg.g⁻¹DQO adicionada, nos reatores 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 2 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%), respectivamente. No reator 2 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) o rendimento de ácido butírico de 169,90 mg.g⁻¹DQO adicionada foi 63,03% superior a observada no reator 1 de 62,80 mg.g⁻¹DQO adicionada (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). Nas produções de ácido acético e metanol não foi possível determinar o efeito das proporções de HCl 30%.

Na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% a maior produção de H₂ observada foi de 655,40 mL H₂.L⁻¹, no reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. No reator 2 foi verificada a fração de 45,75% de ácido butírico que correspondem a uma concentração de 0,78 g.L⁻¹ de ácido butírico. Entre as concentrações de álcoois e ácidos orgânicos a concentração de ácido butírico foi a mais elevada no reator 2. Este resultado indica que a produção de ácido butírica foi favorecida pelas condições do meio (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%; 37 °C, pH 7,00; agitação de 150 rpm). Quando a produção de ácido butírico é favorecida na fermentação, 2 mols de H₂ são gerados a cada mol de glicose convertida em ácido butírico (BUNDHOO; MOHEE, 2016), como a Equação (6) apresentada.

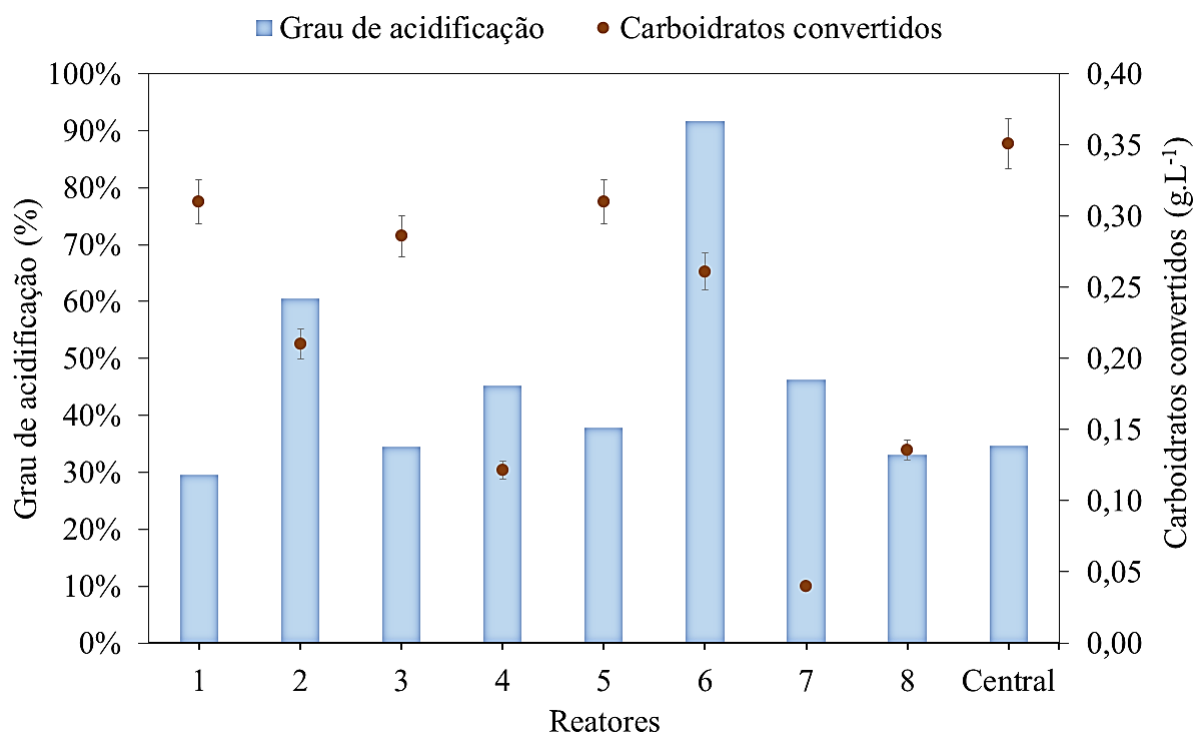


A menor produção de H₂ no ensaio com HCl 30% como hidrolisante de casca de batata foi de 1,40 mL H₂.L⁻¹, observada no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. No reator 3 a produção de ácido propiônico se destaca (0,26 g.L⁻¹) e sua fração correspondeu a 25,14% dos metabólitos solúveis (álcoois e ácidos orgânicos) formados. A cada mol de glicose utilizada para a geração de ácido propiônico, são consumidos 2 mols de H₂ (SAADY, 2013), como apresentada na Equação (7). A produção de ácido propiônico também pode diminuir o rendimento de H₂ por meio do seu efeito inibidor para a produção de H₂ (BUNDHOO; MOHEE, 2016). Isto sugere que as condições do meio no reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) favoreceu a conversão de carboidratos em ácido propiônico e, conseqüentemente, desfavoreceu a produção de H₂.



Na Figura 16 são apresentados os graus de acidificação e as concentrações de carboidratos convertidas nas fermentações da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. O reator com menor grau de acidificação (30,00%) na fermentação da casca de batata com hidrolisada com HCl 30% foi o 1 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. Neste reator a produção de ácido butírico com uma fração de 34,20% da composição de álcoois e ácidos orgânicos foi de 0,33 g.L⁻¹ de ácido butírico. A conversão de carboidratos no reator 1 foi de 0,31 g.L⁻¹. No reator 6 foi observado o grau de acidificação de 92,00% na fermentação da de 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%. A produção de ácido acético foi favorecida. A fração de ácido acético no reator 6 foi de 63,59% (1,72 g.L⁻¹ de ácido acético) da composição de álcoois e ácidos orgânicos. A conversão de carboidratos no reator 6 foi de 0,26 g.L⁻¹. Isto indica que a maior proporção de HCl 30% (4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%) utilizada no reator 6 quando comparada a proporção utilizada no reator 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) influenciou no aumento da produção de álcoois e ácidos. No entanto, os efeitos do aumento da concentração de casca de batata e proporção de HCl 30% sobre os graus de acidificação não foram mostraram uma tendência, não sendo possível determinar o aumento destas variáveis foram positivos ou negativos. No reator 6 (4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%) foi consumido 0,26 g.L⁻¹ dos carboidratos e no reator 1 foram consumidos 0,31 g.L⁻¹ dos carboidratos, indicando que a proporção mais elevada (4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%) não teve efeitos relevantes sobre a conversão dos carboidratos.

Figura 16 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% em diferentes proporções



Legenda: 1-reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 2-reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%);3- reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 4-reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 5-reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%); 6-reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30%); 7-reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%);8- reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 % v.v⁻¹ de HCl 30%);**Central**- reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%).

De forma semelhante, Kumar e Mohan (2018) avaliaram as produções fermentativas de H₂ e ácidos orgânicos voláteis a partir dos resíduos vegetais hidrolisados (batata, tomate, repolho, cenoura, berinjela, coco, quiabo e beterraba) pré-tratados por trituração e hidrolisados com de HCl. O pré-tratamento do resíduo vegetal ocorreu durante 15 minutos a 121 °C em autoclave e agitação de 120 rpm. Os autores verificaram os graus de acidificações nas fermentações em quatro distintos pHs (4,00; 6,00; 7,00; e 10,00). Os graus de acidificações foram de 54,10; 43,50; 30,20 e 26,00% observados nas fermentações dos resíduos vegetais hidrolisados sob os pHs 6,00; 10,00; 7,00 e 4,00, respectivamente. A produção de ácido acético se destacou em pH 6,00 (23,20%); 10,00 (21,00%) e 7,00 (9,70%). Na fermentação com pH 4,00 a produção de ácido butírico foi favorecida (13,80%) quando comparada a produção de acético (4,50%). Kumar e Mohan (2018) observaram que a maior produção de H₂ ocorreu na fermentação com pH 6,00 que possui o grau de acidificação mais elevado (54,10%) com a

produção de ácido acético favorecida (23,20%). No entanto, na fermentação com pH 4,00, em que o grau de acidificação foi o menor (26,00%) e a produção de ácido butírico foi favorecida, a produção de H₂ foi a menor observada. Estes corroboram com os observados neste estudo, indicando que as fermentações em que as produções de ácidos acéticos foram favorecidas os graus de acidificações foram superiores aos observados nas fermentações em que as produções de ácidos butíricos se destacaram.

No ensaio com H₂SO₄ utilizado como hidrolisante da casca de batata foram observadas as produções de outros ácidos orgânicos voláteis (Hca; HIsVa; HIsBu) que não foram produzidos nas fermentações da casca de batata com NaOH 6M e HCl 30%. Em alguns reatores do ensaio com H₂SO₄ foram produzidos ácidos de cadeia mais longa, como o ácido caproico, ácido de cadeia média, que pode ter ocorrido a partir das reações entre os ácidos primários como o acético e um doador de elétron como etanol (GROOTSCHOLTEN et al. 2013), lactato (KUCEK; NGUYEN; ANGENENT, 2016) ou metanol (CHEN et al. 2016) via processo denominado de β-oxidação reversa.

O uso da cultura mista permite o aumento na produção de metabólitos, a alta diversidade de microrganismos e as interações sintróficas entre eles, auxiliando a produção desses ácidos de cadeia mais longa. Por fim, a inibição da atividade metanogênica por tratamento específico do inóculo e o pH do meio em torno de 7,00 (GROOTSCHOLTEN et al. 2013) permitem as condições necessárias para a produção destes ácidos, como o caproico. Pode-se inferir que as condições do meio dos reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄), reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) que produziram ácido caproico, possuíam as condições anteriormente mencionadas favoráveis e necessárias para a sua produção.

Os efeitos das variações de concentrações de cascas de batatas no rendimento de ácido caproico foi observado com base nos valores de rendimento de metabólitos solúveis em função de DQO adicionada produzidos na fermentação de casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ apresentados na Tabela 18. Nos reatores 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) foram observadas as produções de 0,47 e 0,50 g.L⁻¹ de ácido caproico, respectivamente. Na concentração de 75,00 g.L⁻¹ (reator 2) o rendimento de ácido caproico por DQO adicionada foi de 114,90 mg.g⁻¹DQO adicionada valor 32,45% inferior ao observado na concentração de 45,00 g.L⁻¹ (reator 3) de 170,10 mg.g⁻¹DQO adicionada. Isto indica que o aumento da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ na fermentação diminuiu a produção de ácido caproico.

Semelhantemente, nos rendimentos de ácido butírico e butanol em função da DQO adicionada foram observados os efeitos negativos do aumento da concentração de casca de batata. Nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) foram observados os rendimentos de ácido butírico de 41,39 e 183,89 mg.g⁻¹DQO adicionada, respectivamente. Na concentração de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 1) o rendimento de ácido butírico foi 77,49% inferior ao observado na concentração de 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata (reator 4). Nestes mesmos reatores (1 e 4) não foi observada a produção de butanol no reator 1 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. No reator 4 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foi observado o rendimento de butanol de 14,70 mg.g⁻¹DQO adicionada.

De forma diferente, foi observada a influência positiva do aumento da concentração de casca de batata no rendimento de ácido isovalérico em função de DQO adicionada. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foram observados os rendimentos de ácido isovalérico de 60,20 mg.g⁻¹DQO adicionada. Contudo, no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ não foi produzido ácido isovalérico. Nas produções dos outros metabólitos solúveis formados (etanol, metanol e ácidos acético, propiônico e isobutírico) não foi possível determinar o efeito da variação da concentração de casca de batata no início da fermentação.

A proporção de H₂SO₄ nos reatores influenciou os rendimentos de alguns álcoois e ácidos orgânicos em função da DQO adicionada na fermentação da casca da batata hidrolisada com H₂SO₄. O efeito positivo do aumento da proporção de H₂SO₄ foi observado somente para o rendimento de etanol. Na concentração de casca de batata de 60,00 g.L⁻¹ hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator central) não foi produzido etanol. No entanto, foi observado o rendimento de etanol de 66,40 mg.g⁻¹DQO adicionada na concentração de casca de batata de 60,00 g.L⁻¹ hidrolisada com 7,728% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reatores 6). Diferentemente, a influência do aumento da proporção de H₂SO₄ na fermentação da casca da batata foi negativa para os rendimentos de butanol, ácidos butírico, isobutírico, isovalérico e caproico. Já para as produções de metanol e ácidos acético e propiônicos não foi possível observar uma tendência do efeito da proporção de H₂SO₄.

Tabela 18 - Rendimento de metabólitos solúveis por DQO adicionada nas fermentações de cascas de batatas hidrolisadas com H₂SO₄ em diferentes proporções

Reatores	EtOH mg.g ⁻¹ DQO adicionada	BuOH mg.g ⁻¹ DQO adicionada	HAc mg.g ⁻¹ DQO adicionada	HPr mg.g ⁻¹ DQO adicionada	HIsoBu mg.g ⁻¹ DQO adicionada	HBu mg.g ⁻¹ DQO adicionada	HIsoVa mg.g ⁻¹ DQO adicionada	Hca mg.g ⁻¹ DQO adicionada
1	0,00	0,00	113,10	0,00	0,00	41,39	0,00	0,00
2	0,00	11,60	157,80	47,30	29,80	232,86	60,20	114,90
3	0,00	16,90	305,70	0,00	44,30	491,89	0,00	170,10
4	9,30	14,70	382,00	40,20	0,00	183,89	0,00	0,00
5	0,00	9,00	206,30	54,60	81,40	143,79	76,70	0,00
6	66,40	11,40	121,10	51,30	0,00	100,91	110,90	0,00
7	8,50	11,50	244,60	38,20	0,00	162,41	98,80	0,00
8	13,80	18,20	360,30	88,00	89,20	382,25	175,10	0,00
Central	0,00	16,10	479,60	97,00	100,60	367,05	172,20	180,10

Legenda: MetOH – metanol; EtOH – etanol; BuOH – butanol; HAc – ácido acético; HPr- ácido propiônico; HBu – ácido butírico; Hca – ácido caproico; HIsoBu – ácido isobutírico; HIsoVa – ácido isovalérico; **1**-reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **2**-reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **3**-reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **4**-reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **5**- reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **6**-reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **7**- reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **8**-reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **Central**-reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄).

Na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ a maior produção de H₂ foi de 268,49 mL H₂.L⁻¹, observada no reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. No reator 2 foram produzidos uma variedade de metabólitos solúveis (butanol, e ácidos acético, propiônico, butírico, isobutírico, isovalérico e caproico). Entre os metabólitos produzidos as produções que mais se destacaram foram as dos ácido butírico (0,96 g.L⁻¹) e acético (0,65 g.L⁻¹), representado 59,68% da fração de metabólitos solúveis. Este resultado indica que a fermentação da matéria orgânica foi mista via rota do ácido acético-butírico.

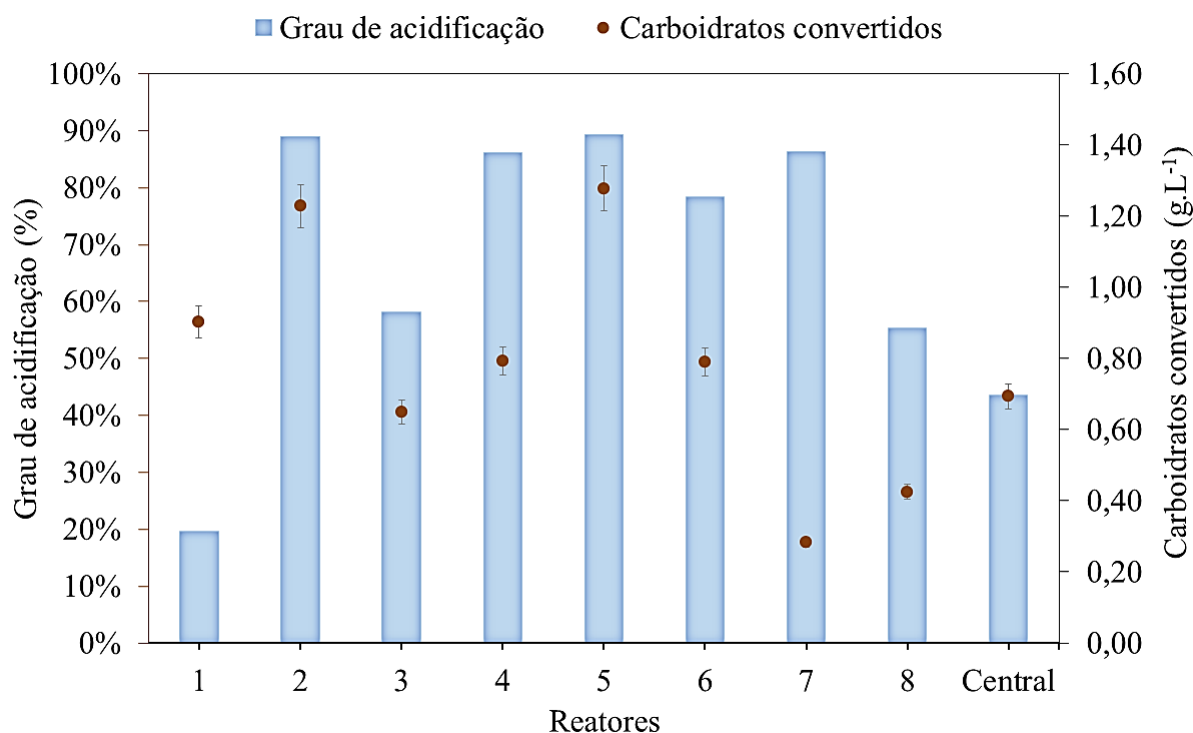
Contudo, a menor produção de H₂ na fermentação de casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ foi de 2,44 mL H₂.L⁻¹, observada no reator 7 com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. No reator 7 as produções de ácido acético e ácido butírico foram de 0,50 e 0,33 g.L⁻¹, respectivamente. Estes resultados demonstram que ocorreu a diminuição da produção destes ácidos quando comparada as produções no reator 2 (ácido butírico: 0,96 g.L⁻¹ e acético: 0,65 g.L⁻¹). Neste reator ocorreu também a diminuição das concentrações dos outros metabólitos solúveis formados, reforçando a hipótese que proporções mais elevadas de H₂SO₄ utilizadas para hidrolisar a casca de batata desfavorecem a hidrólise

bacteriana e o processo de conversão dos açúcares fermentáveis disponibilizados no meio em produtos da fermentação como os álcoois, ácidos e H_2 .

Domański et al. (2020) verificaram a fermentação de $14,28 \text{ g.L}^{-1}$ de palha de centeio hidrolisada com H_2SO_4 em diferentes proporções de H_2SO_4 (0,00; 1,00; 2,00; 5,00; 10,00 % v.v⁻¹) sobre as produções de H_2 e de álcoois e ácidos orgânicos voláteis. Os autores observaram que o aumento da proporção de hidrolisante reduziu em até 62,00% a produção de H_2 . No entanto, as produções de ácidos acéticos e furfural cresceram em até 91,00 ($2,50 \text{ g.L}^{-1}$ de ácido acético) e 99,10% ($1,65 \text{ g.L}^{-1}$ de furfural), respectivamente, na proporção de 10,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4 comparadas as concentrações observadas nas fermentações sem hidrólise. Estes resultados corroboram com a hipótese de que no presente estudo elevadas proporções de H_2SO_4 (acima de 4,00% v.v⁻¹) diminuem a conversão de carboidratos em H_2 e metabólitos solúveis, pois, desfavorecem a ação hidrolítica e fermentativa das bactérias do inóculo misto utilizado.

Na Figura 17 são expostos os graus de acidificação e a conversão de carboidratos nas fermentações do ensaio com H_2SO_4 como hidrolisante da casca de batata. O reator com menor grau de acidificação (20,00%) na fermentação da casca de batata com hidrolisada com H_2SO_4 foi o 1 com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4 . Neste reator a produção de ácido acético foi de $0,54 \text{ g.L}^{-1}$. A conversão de carboidratos no reator 1 foi de $0,90 \text{ g.L}^{-1}$. Nos reatores 2 ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) e 5 ($81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹) foram observados os graus de acidificação de 89,00% na fermentação. A produção de ácido acético foi favorecida nos reatores 2 ($0,62 \text{ g.L}^{-1}$ de ácido acético) e 5 ($1,09 \text{ g.L}^{-1}$ de ácido acético). A conversão de carboidratos nos reatores foi de $1,23 \text{ g.L}^{-1}$ no reator 2 ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) e $1,28 \text{ g.L}^{-1}$ no reator 5 ($81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹). Estes resultados sugerem a menor proporção de H_2SO_4 utilizada nos reatores 2 (3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) e 5 (5,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) comparada ao reator 1 (7,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) favoreceu a produção de ácidos e a conversão de carboidratos, indicando que em elevadas proporções de H_2SO_4 a fermentação e conversão do substrato em metabólitos solúveis foram desfavorecidas. No reator 1 ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) foi observada uma menor variabilidade de metabólitos solúveis produzidos como o metanol e ácidos acético e butírico. Já no reator 2 ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) ocorreu a produção de butanol, acético, butírico, propiônico, isobutírico, isovalérico e caproico.

Figura 17 - Grau de acidificação e conversão de carboidratos dos reatores da fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 em diferentes proporções



Legenda: **1**-reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **2**-reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **3**-reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **4**-reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,00 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **5**- reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **6**-reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄); **7**- reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **8**-reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄); **Central**-reator ponto central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄).

Greses et al. (2020) avaliaram a produção de ácidos orgânicos voláteis na fermentação de resíduos agroindustriais (30,70 g.L⁻¹ de pepino, 45,00 g.L⁻¹ de tomate e 35,70 g.L⁻¹ de alface) a 25 °C e pH 7,00. Os autores observaram que as conversões destes resíduos em ácidos orgânicos voláteis foram de 58,00; 49,50 e 55,20% para o pepino, tomate e alface, respectivamente. As produções de ácidos butíricos (fração de 43,50%) e acéticos (fração de 32,20%) foram as mais abundantes independente do resíduo fermentado. A produção de ácido caproico (fração de 24,80%) também se destacou em pH 6,00 da fermentação. Greses et al. (2020) identificaram também as produções de ácidos isobutírico (16,60%) e isovalérico (9,30%). Estes resultados corroboram com o que foi observado no presente estudo sobre as produções de uma variedade de ácidos orgânicos (ácidos acético, butírico, propiônico, isovalérico, isobutírico e caproico) na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄.

No presente trabalho com a casca da batata inglesa hidrolisada (temperatura de 37 °C e pH de 7,00) foram observadas que as produções de ácido acético se destacou nos reatores das fermentações dos três ensaios (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). Chu et al. (2012) avaliando a produção de H₂ e etanol a partir do resíduo da batata doce, em cultura mista do esterco da vaca, em ensaio em batelada, sob a temperatura de 35 °C e pH de 7,5, determinaram que os principais produtos metabólicos solúveis do processo de fermentação foram o etanol, o acetato e butirato, e pequenas concentrações de propionato. As proporções observadas no trabalho de Chu et al. (2012) foram de 51% de ácido butírico; 24,00% de etanol; 23,00% de acético e 2,00% de propiônico. Para Lay et al. (2012), também avaliando a produção de H₂ e etanol a partir da batata doce, a composição foi de 53% de ácido acético; 17,50% de ácido propiônico e 28,63% de ácido butírico, em fermentação realizada em reatores em batelada a 37 °C e pH de 6,70, utilizando cultura mista de esterco de vaca.

5.2 PARÂMETROS CINÉTICOS

Os efeitos das proporções de hidrolisantes (H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M) sobre a produção de H₂ podem ser observados entre reatores com as mesmas condições operacionais (temperatura, pH, agitação e concentração de substrato). Nesta seção são apresentadas as determinações dos parâmetros cinéticos dos reatores 1 e 2 dos três ensaios realizados (H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M) com a concentração inicial de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata. Foram analisados: o potencial de produção acumulada de H₂, a duração da fase lag e a taxa máxima de produção de H₂ para distintas proporções de hidrolisantes. (3,00 e 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄; 2 e 4,00% v.v⁻¹ HCl 30% e 2,00 e 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M).

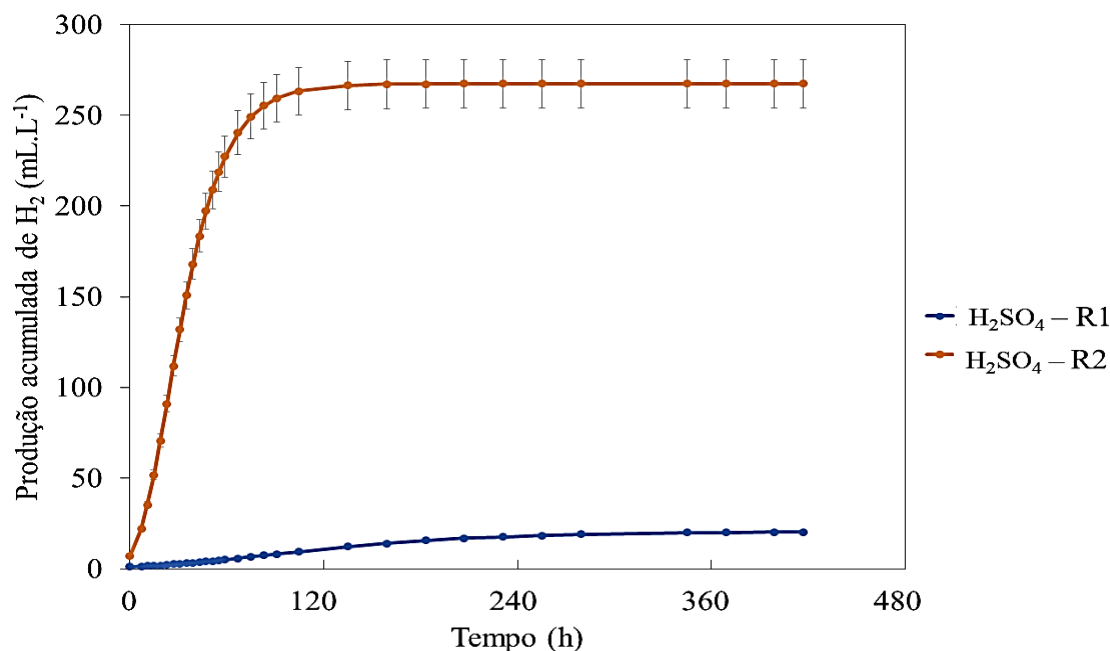
Na Figura 18 são exibidos os desempenhos cinéticos dos reatores 1 (7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e 2 (3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) da fermentação da casca da batata hidrolisada com H₂SO₄. No ensaio que utilizou H₂SO₄ como hidrolisante de casca de batata o potencial máximo de H₂ no reator 1 (7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) foi de 20,59 mL H₂.L⁻¹, com uma taxa máxima de produção de apenas 0,09 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹. A fase lag foi encerrada após 8,01 horas. O coeficiente de correlação entre os valores do modelo de produção de H₂ no reator 1 e os valores dos volumes de H₂ produzidos no experimento, no mesmo reator, foi de 94,99 %. No reator 2 (3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) da fermentação da casca hidrolisada com H₂SO₄ os resultados foram distintos. O potencial máximo de produção no reator 2 foi de 267,28 mL H₂.L⁻¹ com uma taxa máxima de produção foi de 5,17 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹. A fase lag acabou no reator 2 após 5,41 horas. O coeficiente

de correlação entre os resultados de produção de H_2 do modelo e do experimento, no reator 2 foi de 95,66 %.

As proporções de H_2SO_4 utilizadas para hidrolisar a casca de batata nos reatores 1 (7,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) e 2 (3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) possibilitaram efeitos distintos sobre os parâmetros cinéticos analisados. No reator 1 a fase lag (8,01 horas) foi ligeiramente mais longa (2,60 horas mais longa) a observada no reator 2 (fase lag: 5,41 h), porém, o potencial máximo de produção de H_2 no reator 1 foi (20,59 mL $H_2.L^{-1}$) foi 92,29% inferior ao verificado no reator 2 (267,28 mL $H_2.L^{-1}$). A taxa máxima de produção do reator 1 (0,09 mL $H_2.L^{-1}.h^{-1}$) foi 98,25% menor que a taxa obtida no reator 2 (5,17 mL $H_2.L^{-1}.h^{-1}$), e a interrupção da produção ocorreu 67,80% mais rápida no reator 1 (45 horas) que no reator 2 (140 horas). Estes resultados indicam que a proporção de H_2SO_4 utilizada para hidrolisar a casca de batata na etapa de pré-tratamento possui efeitos sobre a produção de H_2 . Os efeitos observados sugerem que à medida que a proporção de H_2SO_4 foi maior na hidrólise da casca de batata, mais tempo os microrganismos levaram para se adaptarem as condições do reator, e menos H_2 foi produzido a uma taxa mais lenta.

A maior variação e concentrações ácidos orgânicos produzidos na fermentação da casca de batata podem ser observados com a utilização do hidrolisante H_2SO_4 . Produções de ácidos acético, butírico, propiônico, isobutírico, isovalérico, valérico e caproico foram favorecidas neste ensaio fermentativo da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 . De acordo com os resultados de rendimento de metabólitos por DQO adicionada apresentados neste trabalho, observou-se que os maiores dos ácidos butírico (491,90 mg.g⁻¹DQO), isovalérico (175,10 mg.g⁻¹DQO), isobutírico (100,60 mg.g⁻¹DQO) e caproico (180,10 mg.g⁻¹DQO) ocorrerem na fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 sob proporções de 2,17 a 5,00% v.v⁻¹. Isto sugere que em proporções até 5,00% as condições do meio favoreceram a hidrólise bacteriana e a posterior fermentação e conversão dos carboidratos em produtos metabólicos. No entanto, em proporções acima de 5,00% as produções de H_2 e ácidos orgânicos observadas foram minimizadas, sugerindo baixa adaptação microbiana em elevadas proporções de ácido hidrolisante.

Figura 18 - Efeito da proporção de H_2SO_4 sobre as cinéticas das fermentações com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata entre os reatores 1 ($7,00\% \text{ v.v}^{-1}$) e 2 ($3,00\% \text{ v.v}^{-1}$)



Legenda: **R1:** Reator 1 com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $7,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 ; **R2:** Reator 2 com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4

Fangkum e Reungsang (2011), observaram que durante a hidrólise ácida ($1,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 a $121 \text{ }^\circ\text{C}$) do bagaço de cana, uma pequena parte da lignina é degradada, produzindo distintos compostos aromáticos. Entre estes compostos aromáticos como o furfural e o hidroximetilfurfural (HMF), se destacaram como os mais inibidores. Ko et al. (2015), afirmam que estes compostos podem afetar a atividade enzimática dos microrganismos na fermentação, diminuindo seu desempenho de conversão de carboidratos. De acordo com Pattra et al. (2008) a produção de furfural na fermentação de resíduo lignocelulósico pode contribuir para reduzir a produção de H_2 utilizando o hidrolisante H_2SO_4 . Os autores observaram que pré-tratando o bagaço de cana com H_2SO_4 a proporção de $7,00\% \text{ v.v}^{-1}$, semelhante aos reatores 1 e 4 deste estudo, ocorreu o aumento de $90,70\%$ de furfural na fermentação do bagaço de cana. A produção de furfural na proporção de $0,25\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 foi de apenas $0,12 \text{ g.L}^{-1}$ e na proporção de $7,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 foi registrado a maior concentração de furfural ($1,30 \text{ g.L}^{-1}$). As fermentações ocorreram a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, agitação de 150 rpm e pH de $5,50$. O pH registrado no final da fermentação do reator 1 foi de $5,12$, valor próximo ao observado na fermentação realizada por Pattra et al. (2008).

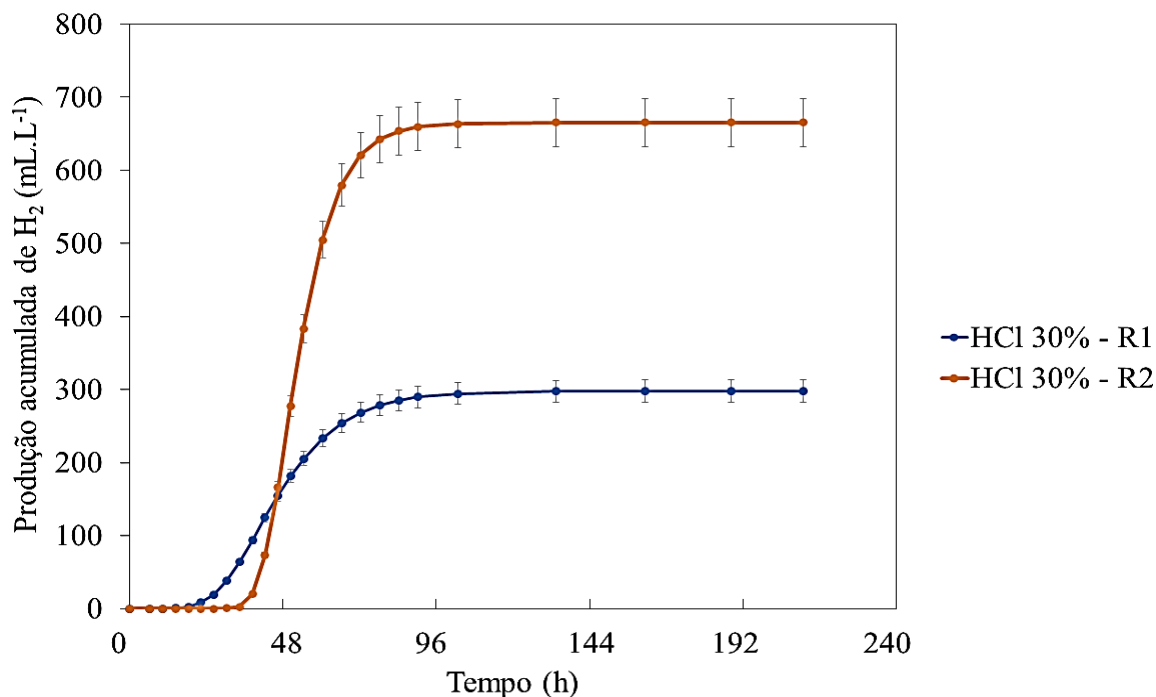
Cao et al. (2010) observaram a diminuição da produção de H_2 devido a produção de compostos como o furfural e hidroximetilfurfural na hidrólise química da palha de milho por

H₂SO₄. As produções de H₂ foram reduzidas em até 54,10% em concentrações de furfural e hidroximetilfurfural de 1,10 e 0,42 g.L⁻¹, respectivamente. De forma semelhante, Siqueira e Reginatto (2015) avaliaram a redução na produção de H₂ em distintas concentrações de furfural (0,25 a 2,00 g.L⁻¹). Os autores utilizam 40,00 g.L⁻¹ de glicose como substrato e cultura mista como inóculo na fermentação sob a temperatura de 37 °C e 80 rpm. Os rendimentos de H₂ decresceram à medida que as concentrações do composto inibidor cresceram. Sem o composto o volume máximo acumulado de H₂ produzido foi de 154,30 mL. Na concentração de 2,00 g.L⁻¹ de furfural não houve produção de H₂ (SIQUEIRA; REGINATTO, 2015). Estes resultados reforçam que elevadas proporções de H₂SO₄ a hidrólise bacteriana e a conversão dos carboidratos em H₂ e metabolitos solúveis são desfavorecidas, como observadas no presente estudo.

Na Figura 19 são expostos os desempenhos cinéticos dos reatores 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 2 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) da fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. Na fermentação do reator 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) o potencial máximo de H₂ de acordo com o modelo foi de 297,69 mL H₂.L⁻¹, com uma taxa máxima de produção de 7,80 mL.L⁻¹.h⁻¹. A fase lag no reator 1 durou 26,07 horas. O valor do potencial máximo de produção de H₂ apresentado para o reator 1 pode ser explicado em até 98,45% da variação da resposta de produção acumulada de H₂. No reator 2 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%), o potencial máximo de produção de H₂ foi de 665,09 mL H₂.L⁻¹, 55,24% superior ao valor obtido no reator 1. A taxa máxima de produção para o reator 2 foi de 28,25 mL.L⁻¹.h⁻¹ e a fase lag acabou após 40,18 horas. O potencial máximo de produção de H₂ para o reator 2 pode ser explicado em até 99,27 % com o coeficiente de correlação deste modelo.

As distintas proporções de HCl 30% utilizadas para hidrolisar a casca de batata nos reatores 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e 2 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) ocasionaram diferentes resultados cinéticos para os dois reatores. No reator 1 o potencial máximo de H₂ (297,69 mL H₂.L⁻¹) foi inferior ao obtido no reator 2 (665,09 mL H₂.L⁻¹). Comparando apenas os potenciais máximos de produção destes dois reatores, observa-se que o aumento da proporção do HCl 30% reduziu o volume máximo acumulado de H₂. Porém, analisando o efeito deste composto hidrolisante sobre a geração de H₂ nos demais reatores deste ensaio, não se pode afirmar que a proporção de HCl 30% tem efeito positivo ou negativo. Em outras situações, da fermentação de casca de batata hidrolisada com HCl 30%, o aumento da proporção de hidrolisante elevou a formação de H₂. Isto pode ser comprovado com a análise da produção de H₂ nos reatores 3 e 4, que utilizaram 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata na fermentação. O reator 3 (2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) produziu 1,40 mL H₂.L⁻¹ e o reator 4 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) gerou 5,44 mL H₂.L⁻¹.

Figura 19 - Efeito da proporção de HCl 30% sobre as cinéticas das fermentações com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata entre os reatores 1 (4,00% v.v⁻¹) e 2 (2,00% v.v⁻¹)



Legenda: **R1:** Reator 1 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%; **R2:** Reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%

Apesar dos valores do modelo indicarem diferenças na fase lag do reator 1 (26,07 h) e 2 (40,18 h). A interrupção da produção de H₂ foi de aproximadamente 80 horas, para os dois reatores. Estes resultados indicam que apesar das distintas proporções de HCl 30% utilizadas nas fermentações os microrganismos conseguiram se adaptar e converter os carboidratos em H₂ e metabólitos solúveis. Zhang et al. (2007) utilizando 15,00 g.L⁻¹ de resíduo de milho pré-tratado com HCl a uma proporção de 0,20% v.v⁻¹ observaram uma fase lag de 20 horas (fermentação a 36 °C e agitação de 90 rpm). A duração da fase lag observada por Zhang et al. (2007) foi obtida duração aproximada a observada na fermentação do reator 1 (26,07 h) do presente estudo. Os valores de hidrolisantes utilizados nos reatores 1 (4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) é superior ao valor utilizado por Zhang et al. (2007) (0,20% v.v⁻¹ de HCl), porém, as diferentes proporções não mostraram grandes influências sobre a duração da fase lag, reforçando que o HCl 30% não tem efeito inibidor sobre as atividades dos microrganismos.

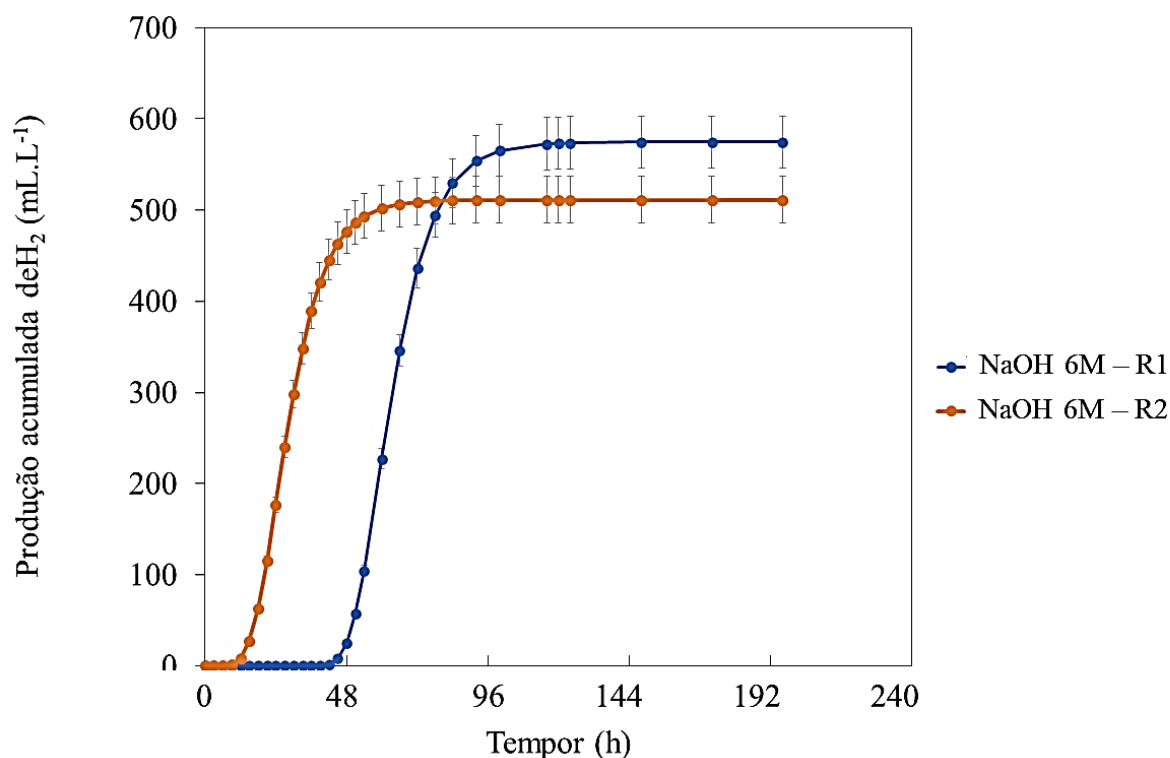
Na Figura 20 são apresentados os desempenhos cinéticos das fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M. O potencial máximo de produção de H₂, no reator 1 (4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) de acordo com o modelo foi de 574,38 mL H₂.L⁻¹, com uma taxa

máxima de produção de 21,38 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹. A fase lag do reator 1 durou 49,38 horas. O valor do potencial máximo de produção de H₂ pode ser explicado em até 99,34% da variação da resposta de produção acumulada de H₂, a partir do coeficiente de correlação deste modelo. No reator 2 (2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) o potencial máximo de produção foi de 511,18 mL H₂.L⁻¹. A taxa máxima de produção de H₂ neste reator foi de 21,31 mL H₂.L⁻¹.h⁻¹ e a fase lag foi encerrada após 15,71 horas. O potencial máximo de produção de H₂ indicada pelo modelo pode ser explicado em até 99,00% para o reator 2.

O potencial máximo de produção de H₂ para os reatores 1 (584,38 mL H₂.L⁻¹) e 2 (511,18 mL H₂.L⁻¹) da fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M foi semelhante (87,47% de similaridade) apesar das distintas proporções de hidrolisantes. Porém, analisando o efeito deste composto hidrolisante sobre a geração de H₂ nos reatores 3 e 4 da fermentação com 45,00 g.L⁻¹ de substrato, observa-se que ocorreram mudanças mais elevadas de produção de H₂. O reator 3 (2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) produziu 24,50 mL H₂.L⁻¹ e o reator 4 (4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) gerou 242,60 mL H₂.L⁻¹. Estes valores sugerem que as proporções de NaOH 6M não alteram de forma linear a produção de H₂ na fermentação de casca de batata.

A duração da fase lag no reator 1 (49,38 h) foi 33,67 horas mais longa que a fase lag no reator 2 (15,71 h). Estas 33,67 horas a mais de duração de fase lag no reator 1 indica que os microrganismos se adaptaram mais rápido ao substrato hidrolisado no reator 2 (15,74 h). Isto pode ser explicado pela quantidade de hidrolisante no meio líquido do reator 1 (4,00% v.v⁻¹) ser mais elevada que no reator 2 (2,00% v.v⁻¹), afetando a conversão de carboidrato para a geração de H₂. A quantidade de H₂ produzido por carboidrato consumido no reator 1 (358,72 mL H₂.g⁻¹ de carboidrato consumido) foi inferior ao obtido no reator 2 (1904,00 mL H₂.g⁻¹ de carboidrato consumido), indicando que os microrganismos converteram mais carboidrato disponibilizados no meio líquido em H₂ no reator 2. A fase lag no trabalho de Ruggeri e Tommasi (2012) durou apenas 8 horas. Os autores hidrolisaram o resíduo orgânico de mercado (restos de vegetais e frutos) com NaOH (sem proporção definida) a pH de 12,50. O valor de 8 horas de duração da fase lag obtida no trabalho de Ruggeri e Tommasi (2012) é inferior aos observados nos reatores 1 (40,46 h) e 2 (15,74 h) da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M do presente estudo.

Figura 20 – Efeito da proporção de NaOH 6M sobre as cinéticas das fermentações com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata entre os reatores 1 (4,00% v.v⁻¹) e 2 (2,00% v.v⁻¹).



Legenda: R1: Reator 1 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M; **R2:** Reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M

5.3 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DO DELINEAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL

A influência da concentração de casca de batata e proporção de hidrolisante possibilitaram explicar em diferentes porcentagens a variação dos valores de produção fermentativa de H₂, em um intervalo de confiança de 90%. Com base nos diagramas de Pareto pode-se observar os efeitos individuais linear e quadrático e efeito interativo das variáveis para cada um dos três ensaios (casca fermentada com H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M). Os valores absolutos destes efeitos são fornecidos nos diagramas de forma decrescentes.

5.3.1 Produção de H₂ da fermentação de casca de batata pré-tratada com H₂SO₄

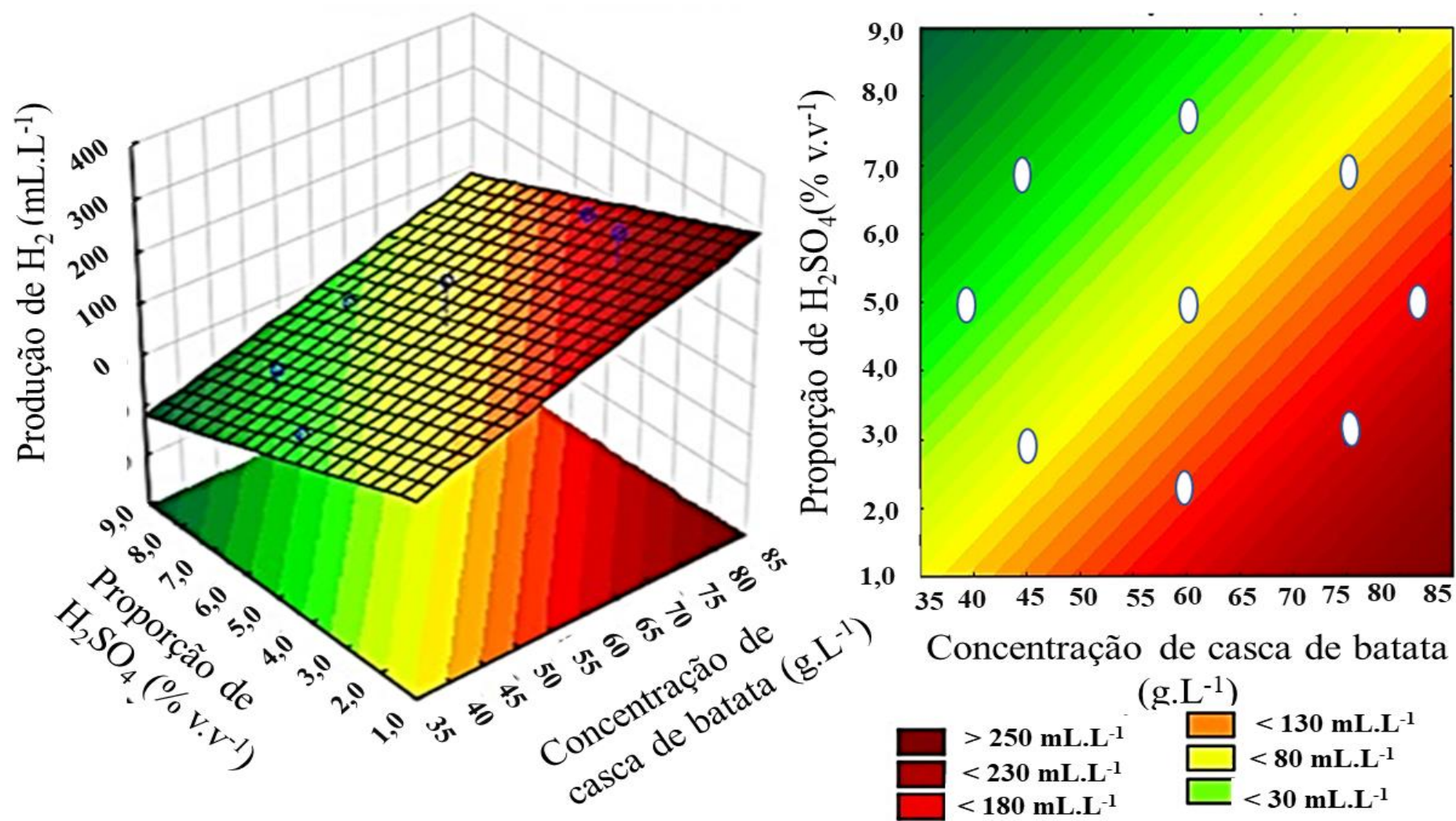
Os efeitos das variáveis analisadas (concentração de casca de batata e proporção de H₂SO₄) sobre a produção de H₂, para o ensaio de fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ foram identificados por meio da RSM. Os valores analisados para cada variável

foram separados em 5 níveis (-1,414; -1;0; +1; +1,414) definidos pelo DCCR. As concentrações de casca de batata variaram entre 38,79 e 81,21 g.L⁻¹ e as proporções de H₂SO₄ variaram entre 2,17 e 7,82% v.v⁻¹. Na Equação (8) é mostrado matematicamente como as variáveis concentração de casca de batata e proporção de H₂SO₄ influenciaram a produção de fermentativa de H₂. Na Equação (8): Y representa o valor previsto da produção de H₂ (mL.L⁻¹), x₁ o valor codificado de concentração de casca de batata e x₂ o valor codificado de proporção de H₂SO₄. Esta equação está em função somente dos efeitos significativos na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄. Os efeitos da concentração de casca de batata e da proporção de H₂SO₄ podem ser observados na equação.

$$Y = 37,05 + 4,13 x_1 - 25,30 x_2 \quad (8)$$

A influência das duas variáveis independentes sobre a produção acumulada de H₂ (Y) podem ser notadas na equação, porém, os efeitos das duas variáveis são distintos. A variável concentração de casca de batata influencia positivamente a produção fermentativa de H₂. Contudo, a variável proporção de H₂SO₄ influenciou negativamente a produção de H₂. Estes resultados representam que em concentrações de casca de batata hidrolisada mais elevadas a produção de H₂ aumentou. No entanto, à medida que se utilizou maiores proporções de H₂SO₄ a produção de H₂ foi reduzida, como mostrado no gráfico de superfície de resposta e na sua curva de contorno, apresentados na Figura 21. Os resultados obtidos a partir desta equação apresentam um intervalo de confiança de 90,00%, com um coeficiente de determinação (R²) de 0,6554. O coeficiente de correlação determinado para este modelo indica que a produção de H₂ pode ser explicada em até 65,54%, a um intervalo de confiança de 90,00%.

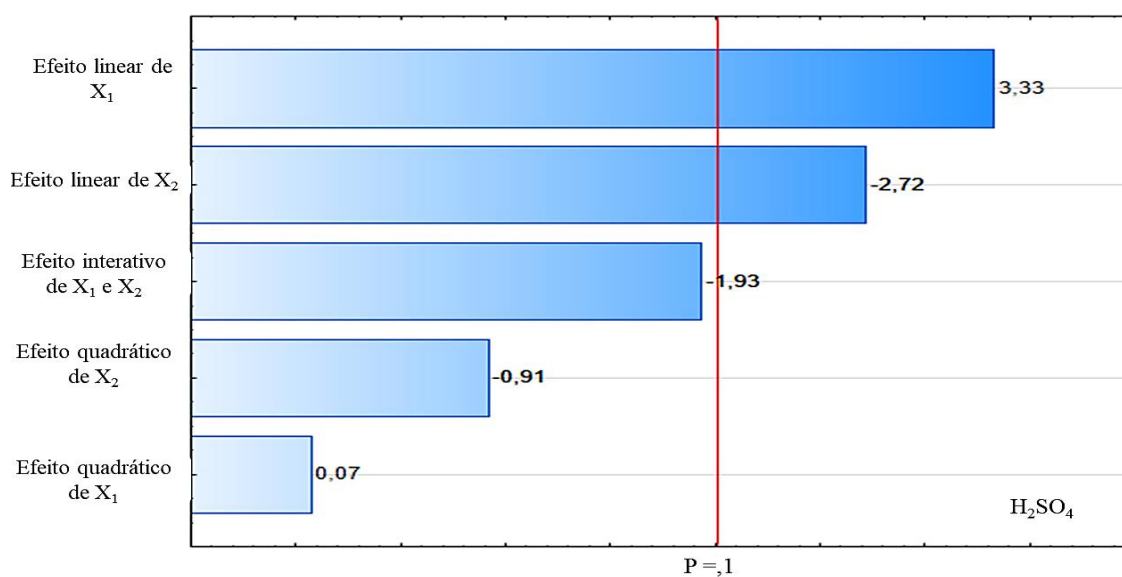
Figura 21 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de H_2SO_4 na produção de H_2 (mL.L^{-1})



Na superfície de resposta do conjunto de dados da fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 as alterações das proporções do hidrolisante (2,17 e 7,82% v.v⁻¹) influenciam de forma linear negativa a produção acumulada de H_2 (mL.L⁻¹). Esta produção também varia a partir das alterações de concentração de casca de batata (38,79 e 81,21 g.L⁻¹), porém de forma linear positiva. A partir da curva de contorno, foi apresentada a região ótima de produção de H_2 , onde situa-se o a máxima produção acumulada de H_2 obtida a partir da fermentação da casca hidrolisada com H_2SO_4 . Os maiores volumes acumulados de H_2 ocorreram em proporções de H_2SO_4 igual ou menor que 4,00% e concentrações de casca de batata igual ou superior a 75,00 g.L⁻¹. O reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4 está presente na região ótima. A produção máxima de H_2 observada com a casca de batata pré-tratada com H_2SO_4 foi de 268,49 mL H_2 .L⁻¹ no reator 2.

A partir do diagrama de Pareto analisado foi verificado sob o intervalo de confiança de 90% ($p < 0,10$) que os efeitos lineares da concentração de casca de batata e proporção de H_2SO_4 foram significativos para a produção de H_2 . A concentração de casca de batata e a proporção de influenciou de forma positiva e a proporção de H_2SO_4 influenciou de maneira negativa a produção. Os outros efeitos individuais e interativos das duas variáveis não influenciaram significativamente a produção, como apresentado na Figura 22. O diagrama reforça os resultados observados na análise da superfície de resposta.

Figura 22 - Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de H_2SO_4 sobre a produção de H_2 .



Legenda: X_1 : Concentração de casca de batata; X_2 : proporção de H_2SO_4

5.3.1.1 ANOVA da fermentação da casca de batata hidrolisada com H_2SO_4

A adequação deste modelo de produção de H_2 , verificada por análise de variância (ANOVA) foi realizada para confirmar se o modelo obtido com os dados do planejamento experimental do ensaio com H_2SO_4 representa significativamente os resultados apresentados na superfície de resposta (Tabela 19).

Tabela 19 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante H_2SO_4 na otimização da produção acumulada de H_2 .

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{Calc}	F_{Tab}
Regressão	51175,10	2	25587,60	7,60	3,11
Resíduos	26901,50	8	3362,70		
Falta de Ajuste	17695,10	6	2949,20	0,60	3,46
Erro Puro	9206,50	2	4603,20		
Total	78076,60	10			

Na Tabela 19 do teste ANOVA realizado com o conjunto de dados da fermentação de casca de batata hidrolisada com H_2SO_4 estão apresentados os valores de $F_{calculado}$ e $F_{tabelado}$. O valor de $F_{calculado}$ (7,60) apresentado na tabela foi superior em ao valor de $F_{tabelado}$ (3,11). Este resultado comprova a validade do modelo para a produção de H_2 . O valor de $F_{tabelado}$ da falta de ajuste de 3,46 foi superior ao $F_{calculado}$ de 0,60, indicando que não houve significância na falta de ajuste, ou seja, o erro não foi significativo para o modelo estatístico apresentado ($p < 0,10$).

5.3.2 Produção de H_2 da fermentação de casca de batata pré-tratada com HCl 30%

Os efeitos significativos sobre a produção fermentativa de H_2 a partir da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foram analisados por RSM. As concentrações de casca de batata variaram entre 38,79 e 81,21 g.L⁻¹ e as proporções de HCl 30% entre 1,59 e 4,41% v.v⁻¹. Na Equação (9) é apresentado como as variáveis concentração de casca de

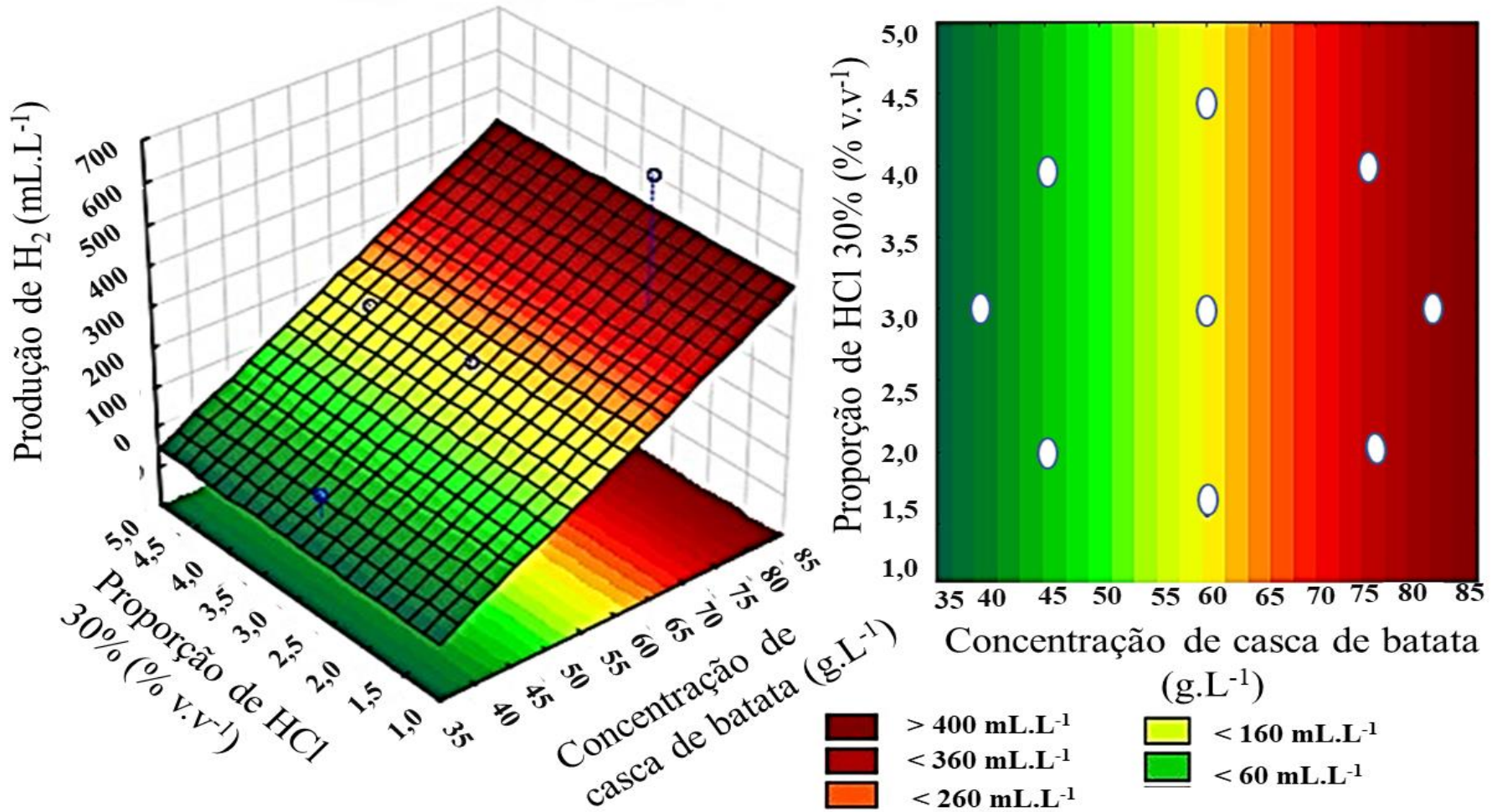
batata e proporção de HCl 30% influenciaram a produção de H₂, matematicamente. Na Equação (9) o valor previsto de produção de H₂ (mL.L⁻¹) é representado por Y e o valor codificado da concentração de casca de batata por x₁. Esta equação está em função somente dos efeitos significativos na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. Somente o efeito linear da concentração de casca de batata pode ser observado na Equação (9).

$$Y = 388,15 + 9,53 x_1 \quad (9)$$

A influência da variável independente x₁ (concentração de casca de batata) pode ser observada sobre a produção acumulada de H₂ (Y) na equação. O coeficiente de determinação da Equação (9) foi de 0,5009 obtido a um intervalo de confiança de 90%. A variável concentração de casca de batata influenciou positivamente a produção fermentativa de H₂, indicando que em concentrações de casca de batata mais elevadas a produção de H₂ foi maior. Contudo a variável independente x₂ (proporção de HCl 30%) não influenciou a produção de H₂ de forma significativa, como na superfície de resposta e na sua curva de contorno, apresentadas na Figura 23.

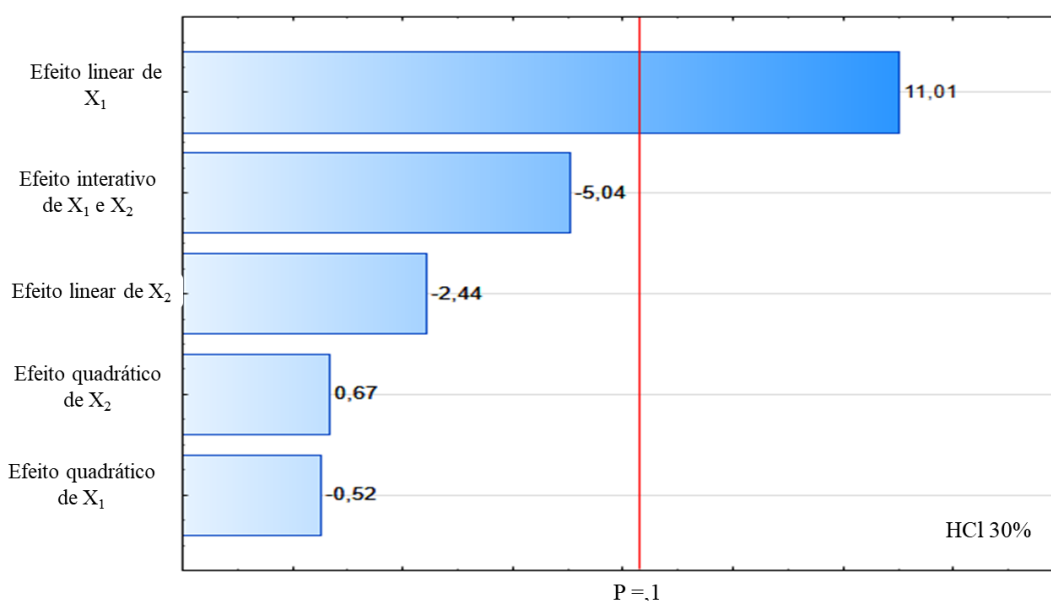
A superfície de resposta foi apresentada com base no conjunto de dados da fermentação de casca de batata hidrolisada com HCl 30%. A única influência observada sobre a produção de H₂ neste ensaio foi o efeito linear positivo da concentração de casca de batata (38,79 e 81,21 g.L⁻¹). A partir da curva de contorno foram exibidas as melhores concentrações de casca de batata pré-tratado com HCl 30% para a produção de H₂. As produções mais elevadas de H₂ ocorreram em concentrações de casca de batata hidrolisada igual ou superior a 75,00 g.L⁻¹. Os reatores 1 e 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00 e 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% estão presentes na região ótima de produção de H₂. A produção máxima de H₂ na fermentação de casca de batata hidrolisada com HCl 30% neste estudo foi de 655,40 mL H₂.L⁻¹ observada no reator 2.

Figura 23 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de HCl 30% na produção de H_2 ($mL.L^{-1}$).



Na Figura 24 o diagrama de Pareto reforça as influências apresentadas na superfície de resposta e curva de contorna das fermentações da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. As influências foram analisadas sob o intervalo de significância de 90% ($p < 0,10$). Somente a influência linear positiva da variável concentração de casca de batata foi significativa para a produção de H_2 , no ensaio utilizando HCl 30% como hidrolisante da casca de batata, ou seja, à medida que se elevou os valores desta variável independente (X_1), os volumes máximos de H_2 também aumentaram linearmente.

Figura 24: Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de HCl 30% sobre a produção de H_2 .



Legenda: X_1 : Concentração de casca de batata; X_2 : Proporção de HCl 30%

5.3.2.1 ANOVA da fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%

A adequação do modelo de produção de H_2 a partir da fermentação da casca pré-tratado com HCl 30% foi verificada como apresentada na Tabela 20. Este teste foi realizado para confirmar a significância do efeito da variação da concentração de casca de batata sobre os resultados de produção de H_2 apresentados na superfície de resposta.

O coeficiente de correlação determinado para o modelo de produção de H_2 a partir da casca de batata hidrolisada com HCl 30% em distintas proporções pode ser explicada em até 50,09%. O intervalo de confiança utilizado foi de 90,00%. A partir da ANOVA foi observado que o valor de $F_{calculado}$ (8,00) foi maior que o valor de $F_{tabelado}$ (3,46), comprovando a validade do modelo para a produção acumulada de H_2 . No entanto, no

teste F realizado para a falta de ajuste e erro puro o valor-p foi superior (0,18) ao nível de significância ($p < 0,10$), não sendo estatisticamente significativo.

Tabela 20 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante HCl 30% na otimização da produção acumulada de H₂.

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{Calc}	F_{Tab}
Regressão	163512,40	1	163512,40	8,00	3,46
Resíduos	162926,10	8	20365,80		
Falta de Ajuste	161577,80	7	23082,50	17,10	3,58
Erro Puro	1348,40	1	1348,40		
Total	326438,60	9			

5.3.3 Produção de H₂ da fermentação de casca de batata pré-tratada com NaOH 6M

As mudanças nos valores da produção fermentativa de H₂ a partir da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M foram avaliadas para os efeitos das variáveis independentes concentração de casca de batata (38,79 e 81,21 g.L⁻¹) e proporção de NaOH 6M (1,59 e 4,41% v.v⁻¹). Na Equação (10) pode ser observada que a produção de H₂ (mL.L⁻¹), representada por Y, está em função somente do efeito linear do valor codificado da concentração de casca de batata, representado por x₁.

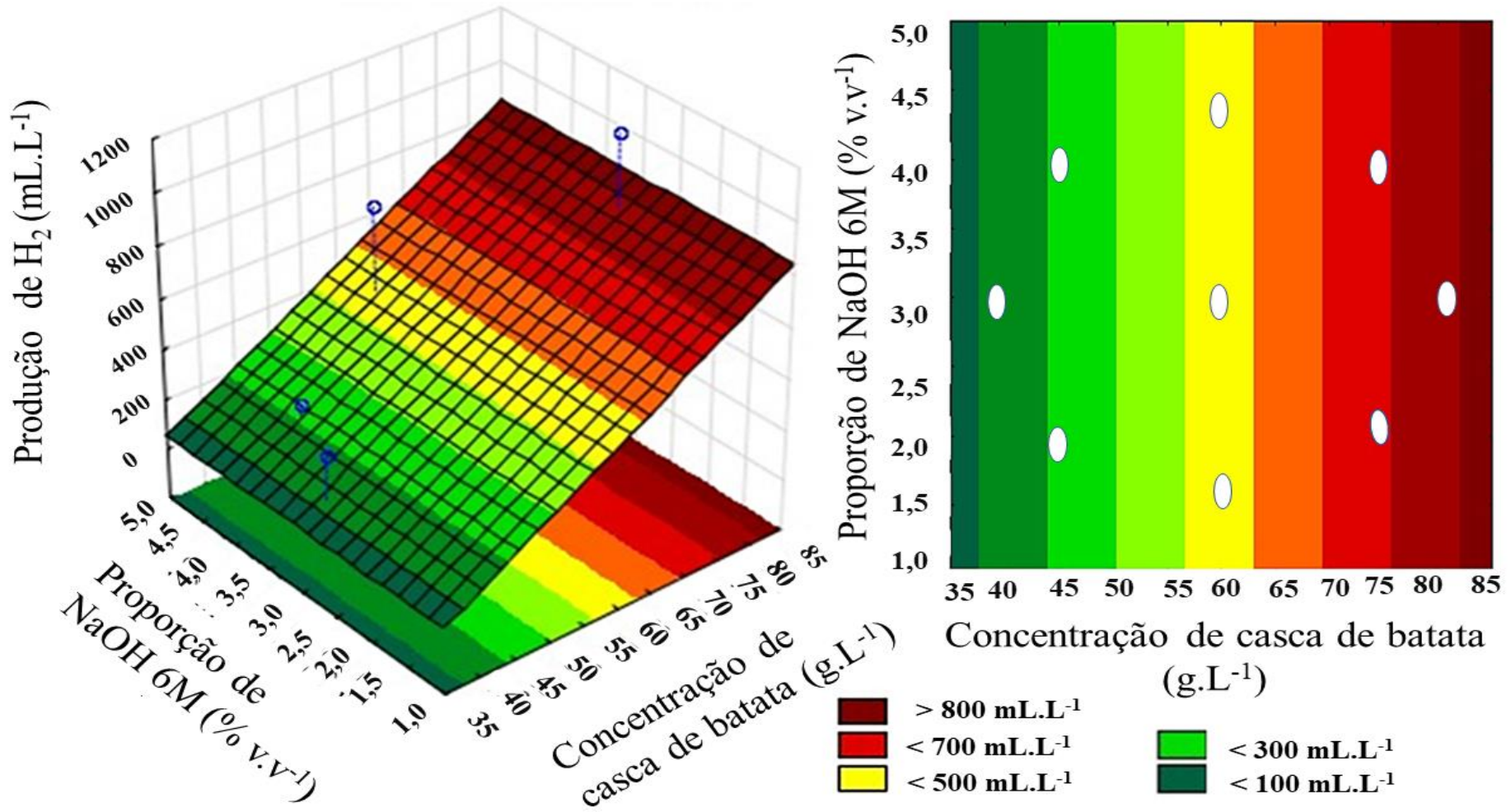
$$Y = 494,87 + 15,78 x_1 \quad (10)$$

O coeficiente de determinação da Equação (10) foi de 0,5784 obtido a um intervalo de confiança de 90,00%. A variável concentração de casca de batata influenciou de forma linear positiva a produção de H₂ na fermentação. Isto indica que em concentrações de casca de batata mais elevadas a produção de H₂ aumentou. Entretanto, a variável independente x₂ (proporção de NaOH 6M) não aparece na equação, indicando que a produção de H₂ não foi influenciada significativamente pelos efeitos das mudanças

de proporções de NaOH 6M na hidrólise, como pode ser visto na superfície de resposta e na sua curva de contorno, apresentadas na Figura 25.

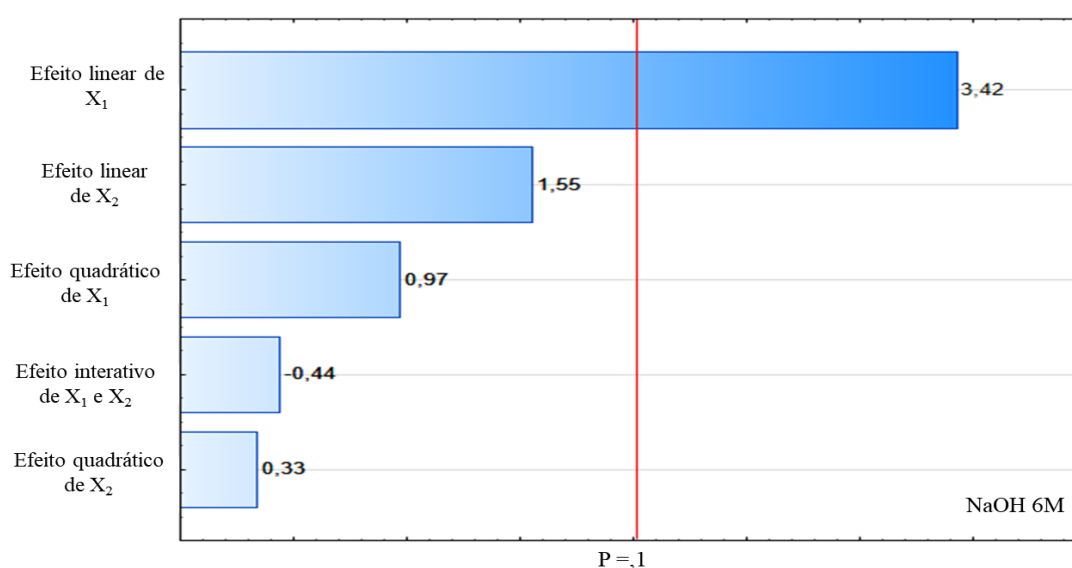
A superfície de resposta foi analisada a partir das variações de concentração de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M e das mudanças de proporções de NaOH 6M no pré-tratamento. Entre as duas variáveis independentes a única influência observada sobre a produção de H₂ foi o efeito linear positivo da concentração de casca de batata (38,79 e 81,21 g.L⁻¹). A partir da curva de contorno foi apresentada as faixas ótimas de valores de concentração de casca de batata pré-tratada com NaOH 6M para a produção de H₂. As produções mais elevadas de H₂ ocorreram em concentrações de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M igual ou superior a 75,00 g.L⁻¹. Os reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) estão presentes na região ótima de produção de H₂. A produção máxima de H₂ na fermentação de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M, neste estudo, foi de 1060,10 mL H₂.L⁻¹ obtido no reator 5. Estes resultados indicam que se pode obter produções de H₂ mais elevadas em proporções mais baixas de NaOH 6M e concentrações maiores de casca de batata.

Figura 25 - Efeito da variação da concentração de casca de batata e proporção de NaOH 6M na produção acumulada de H₂ (mL.L⁻¹)



De acordo com o diagrama de Pareto, representado na Figura 26, somente a influência linear positiva da concentração de casca de batata foi verificada sobre a produção de H_2 . Isto reforça os resultados observados na superfície de resposta e na curva de contorno. Na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M a proporção do hidrolisante não influenciou de forma significativa a produção de H_2 . As influencias foram analisadas sob o intervalo de significância de 90% ($p < 0,10$).

Figura 26 - Diagrama de Pareto dos efeitos das concentrações de cascas de batatas e proporções de NaOH 6M sobre a produção de H_2 .



Legenda: X_1 :Concentração de casca de batata; X_2 :Proporção de NaOH 6M.

5.3.3.1 ANOVA da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M

Na Tabela 21 é apresentado por meio da ANOVA se o conjunto de dados da fermentação de casca de batata hidrolisada com NaOH 6M foram significativos para as mudanças de H_2 . A análise do teste permite analisar quantos por cento a concentração da casca de batata influenciou os volumes acumulados de H_2 , em um intervalo de confiança de 90,00%.

Tabela 21 - ANOVA do ensaio utilizando o hidrolisante NaOH 6M na otimização da produção acumulada de H₂

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{Calc}	F_{Tab}
Regressão	448377,00	1	448377,00	12,30	3,36
Resíduos	326826,70	9	36314,10		
Falta de Ajuste	326008,60	7	46572,70	113,90	4,90
Erro Puro	818,10	2	409,10		
Total	775203,80	10			

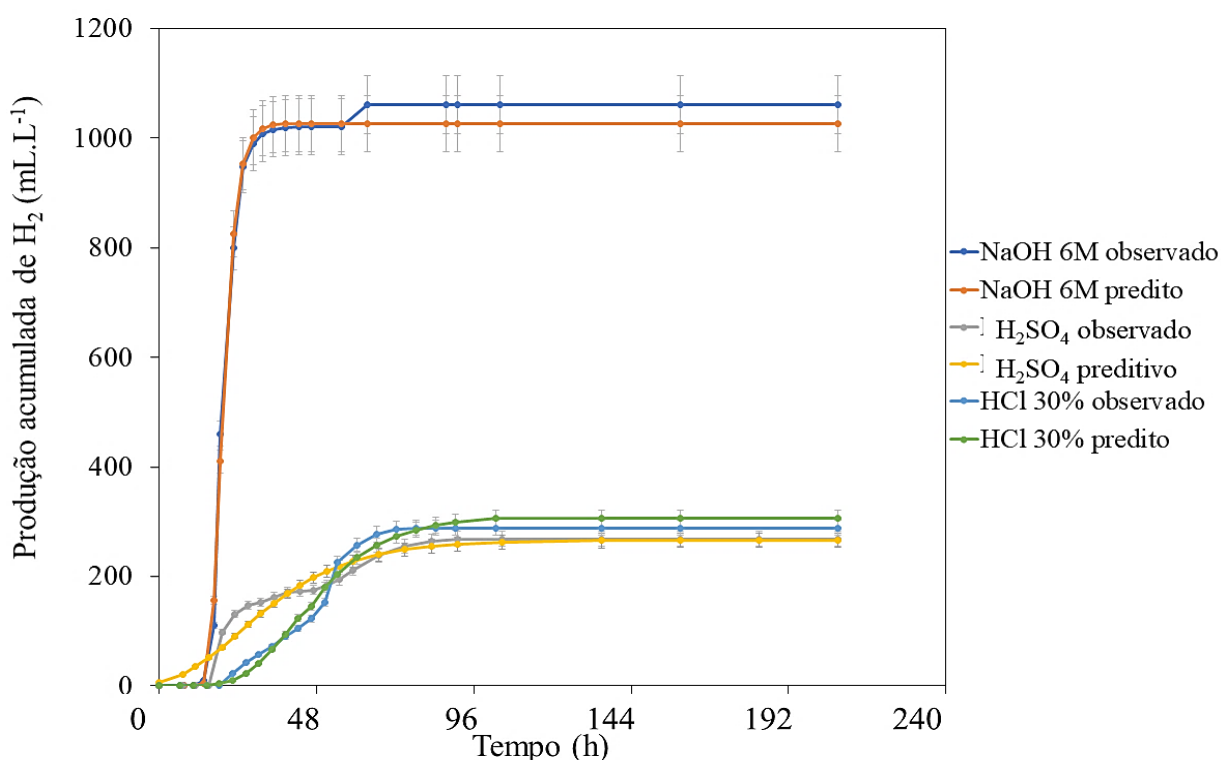
O coeficiente de correlação determinado para este modelo indica que a produção de H₂ pode ser explicada em até 57,84%, a um intervalo de confiança de 90,00% neste ensaio. O valor de Fcalculado (12,30) observado na tabela foi maior que o valor de Ftabelado (3,36), comprovando que o modelo analisado é válido para a produção de H₂. O valor-p ($p > 0,10$) para a falta de ajuste e erro puro não foi estatisticamente significativo para este modelo, indicando que os erros não foram significantes para o ensaio de fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M.

5.4 VALIDAÇÃO DAS PRODUÇÕES DE H₂ NAS FERMENTAÇÕES DA CASCA DE BATATA COM AS MELHORES CONDIÇÕES DE CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO E PROPORÇÃO DE HIDROLISANTE E ENSAIO DE OTIMIZAÇÃO

As condições ótimas de concentrações de cascas de batatas e proporções de hidrolisantes de cada ensaio (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄) determinadas por RSM foram 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M (reator 5), 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% (reator 1), 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (Reator 2). A partir das condições ótimas destes reatores foi realizada a validação do modelo como apresentado na Figura 27. No ensaio com NaOH 6M como hidrolisante da casca de batata com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M a produção observada foi de 1060,10 mL H₂.L⁻¹, indicando boa correlação com o valor predito (1026,28 mL H₂.L⁻¹). Desta forma, foi observado um grau de precisão de 96,80% do modelo para a produção de H₂, neste ensaio. Já no ensaio com HCl 30% (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) o grau de precisão entre o valor

observado ($288,63 \text{ mL H}_2\cdot\text{L}^{-1}$) experimentalmente e o predito pelo modelo ($305,48 \text{ mL H}_2\cdot\text{L}^{-1}$) foi de 94,48%, validando o modelo. No ensaio com H_2SO_4 ($75,00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4) a produção acumulada de H_2 predita pelo modelo nas condições otimizadas foi de $265,73 \text{ mL H}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e observada experimentalmente foi de $269,00 \text{ mL H}_2\cdot\text{L}^{-1}$ com grau de precisão de 98,97% em relação ao modelo, indicando também uma boa correlação.

Figura 27 - Validação do modelo de produção de H_2 nas fermentações da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M; HCl 30% e H_2SO_4 .



Legenda: **NaOH 6M observado:** fermentação do reator 5 ($81,21 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de substrato hidrolisado com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **NaOH 6M predito:** validação do reator 5; **HCl 30% observado:** fermentação do reator 1 ($75,00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de substrato hidrolisado com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **HCl 30% predito:** validação do reator 1; **H_2SO_4 observado:** fermentação do reator 2 ($75,00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de substrato hidrolisado com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **H_2SO_4 predito:** Validação do reator 2.

Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) após otimização das variáveis independentes: concentração de resíduo da batata (10 a $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), pH inicial (3 a 8), temperatura da reação (32 a $38 \text{ }^\circ\text{C}$) e tempo de fermentação (5 a 120 h), avaliaram as validações dos resultados. Os valores otimizados para a produção de H_2 registrados por Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) foi de $39,56 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentração de resíduo de batata, pH de 7,86; temperatura de $37,87 \text{ }^\circ\text{C}$ e tempo de fermentação de 82,56 horas. A partir destas condições o rendimento observado pelos autores

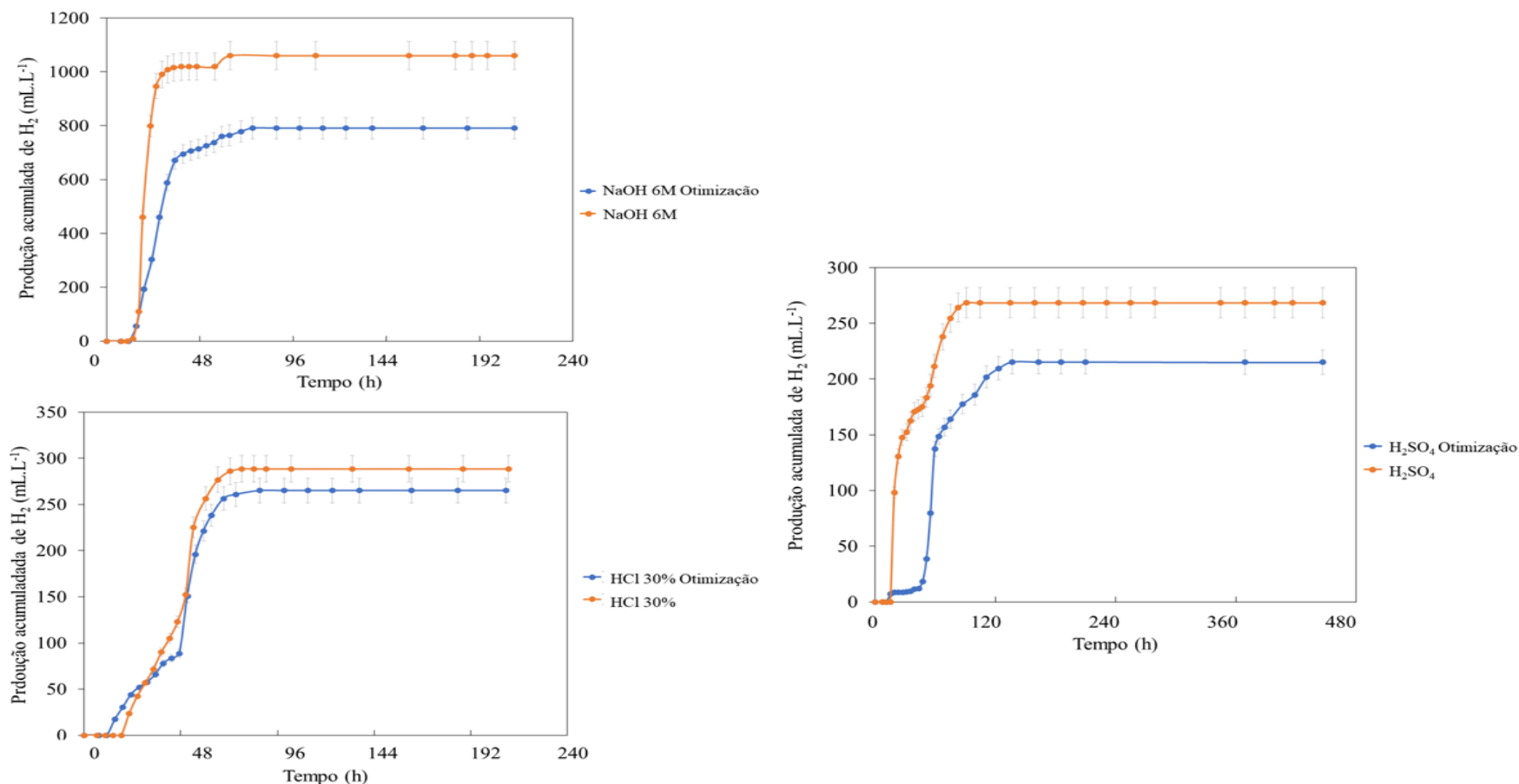
na fermentação do resíduo da batata foi de 68,54 mL de H₂ por grama de sólidos voláteis totais. O rendimento predito do modelo foi de 79,43 mL de H₂ por grama de sólidos voláteis totais. Os autores obtiveram um grau de precisão do modelo de 86,20% entre os rendimentos de H₂ observados experimentalmente e os preditos pelo modelo.

O grau de precisão observado por Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) foi similar ao obtido por Rabelo et al. (2018). Na validação do modelo realizada por Rabelo et al. (2018) a precisão foi de 85,90% para produção de H₂ a partir de 7,00 g.L⁻¹ de bagaço da cana e pH inicial de 7,20. Os autores analisaram a influência da concentração do bagaço de cana hidrolisado (0,80 a 9,20 g.L⁻¹) e do pH inicial (4,60 a 7,40) na produção fermentativa de H₂. Rabelo et al. (2018) observaram uma produção de 23,10 mmol H₂.L⁻¹ na fermentação do bagaço de cana e no valor predito do modelo observaram uma produção de 19,84 mmol H₂.L⁻¹ (85,90% de precisão). As precisões obtidas de 86,20 e 85,90% para os trabalhos de Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) e Rabelo et al. (2018), respectivamente, foram próximas as obtidas nas validações dos resultados de produção de H₂ do presente trabalho (NaOH 6M:74,50%; HCl 30%: 92,00%; H₂SO₄: 79,90%.

Um ensaio de otimização foi realizado a partir dos resultados obtidos com as melhores condições de concentrações de substrato hidrolisado e proporções de hidrolisantes (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). As condições ótimas observadas nas fermentações foram realizadas no reator 5 da fermentação com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M, no reator 1 da fermentação com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, e no reator 2 da fermentação com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. A duração deste ensaio de otimização foi de aproximadamente 209 horas.

Na Figura 28 são apresentadas as produções de H₂ produzidos nos ensaios com os três hidrolisantes químicos e os valores obtidos no ensaio de otimização. Nas condições de 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH a produção de H₂ foi de 790,00 mL H₂.L⁻¹. No ensaio fermentativo utilizando o HCl 30% para hidrolisar a casca de batata o volume máximo de H₂ foi de 265,00 mL H₂.L⁻¹ com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). A produção de H₂ na fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foi de 215,00 mL H₂.L⁻¹ (Estes valores de produção são similares aos volumes máximos de H₂ produzidos anteriormente nas fermentações de cada ensaio (NaOH 6M: 1601,10 mL H₂.L⁻¹; HCl 30%: 288,00 mL H₂.L⁻¹; H₂SO₄: 269,00 mL H₂.L⁻¹).

Figura 28 - Ensaio de otimização da produção de H_2 na fermentação de casca de batata hidrolisada com três compostos químicos distintos (NaOH 6M; HCl 30% e H_2SO_4)



Legenda: **NaOH 6M:** fermentação do reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de substrato hidrolisado com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **NaOH 6M otimização.:** ensaio de otimização com as condições do reator 5; **HCl 30%:** fermentação do reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de substrato hidrolisado com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **HCl 30% otimização.:** ensaio de otimização com as condições do reator 1; **H₂SO₄:** fermentação do reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de substrato hidrolisado com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M); **H₂SO₄ otimização.:** ensaio de otimização com as condições do reator 2.

As similaridades entre os resultados de produção de H_2 das fermentações da casca de batata pré-tratada com NaOH 6M, HCl 30% e H_2SO_4 e seus ensaios de otimização foram de 74,50%; 92,00%, 79,90%, respectivamente. Entre as três fermentações, a produção observada no reator 5 do ensaio com o hidrolisante NaOH 6M ($790 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) foi 66,40% superior a observada no reator 1 da fermentação com HCl 30% ($265,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$), e 72,80% maior que ao obtido no reator 2 da fermentação com H_2SO_4 ($215,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$), comprovando a melhor eficiência de produção de H_2 na fermentação da casca hidrolisada com NaOH 6M. A similaridade entre os volumes de H_2 acumulado na fermentação da casca de batata com HCl 30% ($265,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) e na fermentação da casca de batata com H_2SO_4 ($215,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) foi de 93,40%.

5.4.1 Cinética das fermentações otimizadas da casca de batata hidrolisadas com os três compostos hidrolisantes e da fermentação sem hidrólise química

Os parâmetros cinéticos (potencial máximo de produção de H_2 , duração da fase lag e taxa máxima de produção de H_2) podem ser observados para a otimização da fermentação de $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4 na Figura 29. O potencial máximo de produção H_2 foi de $205,41 \text{ mL } H_2.L^{-1}$, nesta fermentação. A taxa máxima de produção de H_2 foi de $7,52 \text{ mL } H_2.L^{-1}.h^{-1}$. A fase lag desta fermentação durou 44,02 horas. O modelo utilizado para analisar a produção de H_2 a partir das condições de concentração de substrato e proporção de hidrolisante mencionadas explicam em até 98,48% da produção acumulada de H_2 .

O potencial máximo de produção de H_2 do ensaio com H_2SO_4 como hidrolisante resultante da equação de Gompertz modificada ($205,41 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) quando comparado ao valor da produção de H_2 obtido pelo experimento de otimização ($215,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) tem 95,53% de similaridade. A produção de H_2 de $180,48 \text{ mL } H_2.L^{-1}.d^{-1}$ obtida nesta fermentação foi 39,30% superior a produção de H_2 observada por Fangkum e Reungsang (2011) ($109,55 \text{ mL } H_2.L^{-1}.d^{-1}$). Fangkum e Reungsang (2011) hidrolisaram com H_2SO_4 a 1,00 % v.v⁻¹ o bagaço da cana. A fermentação realizada pelos autores ocorreu em pH inicial de 6,50, agitação de 150 rpm e temperatura de 37 °C. A concentração inicial de carboidrato utilizada por Fangkum e Reungsang (2011) foi de $1,49 \text{ g.L}^{-1}$. Condições fermentativas similares ao do presente estudo que utilizou $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H_2SO_4 , fermentada também a 37 °C e agitação de 150 rpm, com concentração inicial de carboidrato de $1,79 \text{ g.L}^{-1}$.

Os parâmetros cinéticos para a fermentação otimizada com $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $4,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30% são apresentados na Figura 29. O potencial máximo de produção de H_2 e a taxa máxima de produção de H_2 foram de $290,00 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$ e $5,97 \text{ mL H}_2. \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente. A duração da fase lag para esta fermentação foi de 23,90 horas. O potencial de produção de H_2 para as condições mencionadas ($75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $4,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30%) pode ser explicado em até 96,15% da variação da resposta de produção.

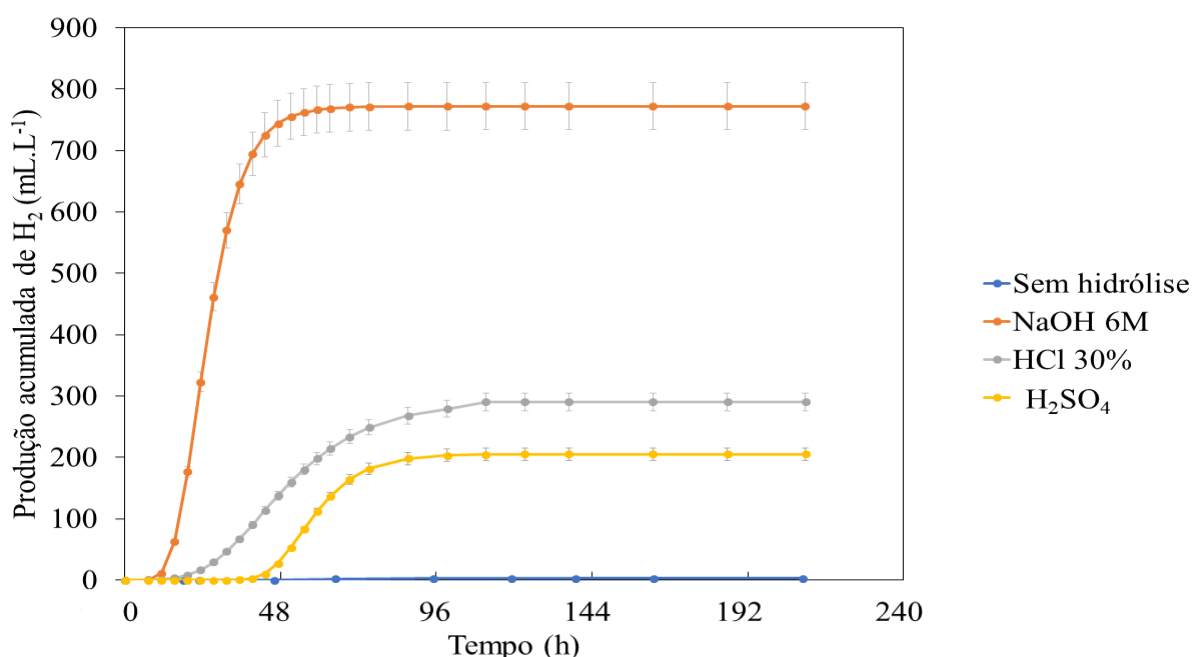
O potencial máximo de produção de H_2 resultante da equação de Gompertz modificada ($290,00 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$) foi 91,37% similar ao valor da produção de H_2 obtida experimentalmente ($265,00 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$) no ensaio de otimização para a análise do composto HCl 30%. A produção de H_2 de $152,08 \text{ mL H}_2. \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ observada no ensaio de otimização da fermentação utilizando HCl 30% foi 68,71% inferior à observada na hidrólise da palha de arroz realizada por Chang et al. (2011) ($44,83 \text{ mL H}_2. \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Os autores utilizaram uma proporção de 0,90 % p.p⁻¹ de HCl para hidrolisar a palha de arroz. Chang et al. (2011) realizaram o experimento em batelada com uma concentração inicial de carboidrato de $0,33 \text{ g.L}^{-1}$ e temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, pH inicial de 6,50 e agitação de 150 rpm. Contudo, no presente estudo foi observado uma concentração 34,00% superior de carboidrato disponibilizado após a hidrólise da casca de batata ($0,50 \text{ g.L}^{-1}$) realizada com $4,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30% (proporção 77,50% superior à utilizada por Chang et al. (2011)). A fermentação da casca de batata ocorreu a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$, pH inicial 7,00 e agitação de 150 rpm.

Na Figura 29 também é apresentado o desempenho cinético da fermentação de otimização com $81,21 \text{ g.L}^{-1}$ da casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M. Os valores de potencial máximo de produção de H_2 e da taxa máxima de produção foram de $771,92 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$ e $37,44 \text{ mL H}_2. \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente. A fase lag desta fermentação foi encerrada após 14,37 horas de duração. O potencial de produção de H_2 para $81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M pode ser explicado em até 99,67% da variação da resposta de produção

O potencial máximo de produção de H_2 resultante da equação de Gompertz modificada ($771,92 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$) foi 97,71% similar a produção obtida experimentalmente no ensaio de otimização da fermentação que utilizou NaOH 6M como hidrolisante ($790,00 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$). A produção de H_2 de $771,92 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$ foi 74,09% superior ao observado por Fangkum e Reungsang (2011) a partir da hidrólise do bagaço de cana, realizada com NaOH a uma proporção de $0,25\% \text{ v.v}^{-1}$. Os autores observaram uma produção de $200,00 \text{ mL H}_2.\text{L}^{-1}$ a partir da concentração de $0,71 \text{ g.L}^{-1}$ de carboidratos iniciais sob a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$, agitação de

150 rpm e pH de 6,50. No entanto, no presente estudo, foi disponibilizada a partir da hidrólise da casca de batata pré-tratada a 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M uma concentração de carboidrato de 1,40 g.L⁻¹ (valor 2 vezes superior ao utilizado por Fangkum e Reungsang (2011)). A fermentação da casca de batata ocorreu com temperatura (37 °C) e agitação (150 rpm) semelhante ao observado no trabalho de Fangkum e Reungsang (2011) e um pH inicial 7,00.

Figura 29 – Cinéticas das fermentações da casca de batata hidrolisadas nas condições otimizadas e da fermentação da casca sem hidrólise química.



Legenda: **Sem hidrólise:** fermentação de 83,40 g.L⁻¹ de casca de batata sem hidrólise química; **NaOH 6M:** fermentação de 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M; **HCl 30%:** fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%; **H₂SO₄:** fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄.

A fase lag mais curta entre as fermentações da casca de batata realizadas no ensaio de otimização foi no reator 5 (14,37 h) com o composto NaOH 6M, seguido do ensaio com HCl 30% (23,90 h) e do H₂SO₄ (44,02 h). Isto comprova que os microrganismos tiveram mais afinidade com o meio líquido composto por 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Os microrganismos se adaptaram mais rapidamente as condições do reator 5 e iniciaram o processo fermentativo em um intervalo de tempo mais curto. A melhor afinidade dos microrganismos com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata e 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M possibilitaram uma taxa máxima de produção (R_m) maior para esta fermentação comparada as taxas máximas de produção nos outros dois ensaios (HCl 30% e H₂SO₄). A taxa máxima de produção de H₂ para as fermentações da casca de batata

hidrolisada com NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄ foram de 37,44; 5,97 e 7,52 mL.L⁻¹.h⁻¹, respectivamente. Estes resultados sugerem que os microrganismos levaram mais tempo nos ensaios que utilizaram HCl 30% e H₂SO₄ para converter os carboidratos disponíveis no meio em H₂.

O desempenho cinético da fermentação de 83,40 g.L⁻¹ de casca de batata realizada apenas com a trituração do substrato, sem hidrólise química, pode ser observado na Figura 29. O potencial máximo de H₂ obtido a partir desta fermentação foi de 2,87 mL H₂.L⁻¹, com uma taxa máxima de produção de 0,16 mL.L⁻¹.h⁻¹. A fase lag ocorreu durante 53,17 horas. Estes resultados reforçam o aumento da produção de H₂ a partir da hidrólise da casca de batata com os compostos químicos (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). A produção de H₂ a partir da fermentação da casca de batata sem composto hidrolisante (2,87 mL H₂.L⁻¹) foi inferior à das fermentações com os compostos (NaOH 6M: 771,92 mL H₂.L⁻¹, HCl 30%: 290,00 mL H₂.L⁻¹, H₂SO₄: 205,41 mL H₂.L⁻¹). O aumento da produção de H₂ na fermentação das cascas de batatas hidrolisadas comprovam a melhor eficiência do processo à medida em que ocorre no pré-tratamento a deslignificação do material lignocelulósico. O pré-tratamento modifica a estrutura e a composição química do resíduo lignocelulósico facilitando a conversão dos carboidratos em H₂ (ARRIAGA et al. 2011; OZKAN; ERGUDER; DEMIRER, 2011; NISSILÄ et al., 2012; PHUKOETPHIM et al., 2017; LOPES et al., 2020).

Pan et al. (2010) realizaram as fermentações de espigas de milho com e sem pré-tratamento químico, para a produção de H₂. Os autores observaram uma maior produção de H₂ na fermentação da espiga de milho hidrolisada com HCl. Os autores hidrolisaram a espiga de milho com 1,00% p.p⁻¹ de HCl sob a temperatura de 100 °C durante 30 minutos. O rendimento de H₂ com a hidrólise ácida (107,90 mL.g⁻¹ de sólidos voláteis totais) foi 87,80% superior ao rendimento obtido do reator com espiga de milho sem pré-tratamento (13,10 mL.g⁻¹ de sólidos voláteis totais). Os autores afirmaram que a hidrólise ácida foi fundamental na produtividade de H₂ a partir da espiga do milho.

Da mesma maneira, Ozkan; Erguder; Demirer, (2011) obtiveram respostas semelhantes, avaliando a produção de H₂ a partir da polpa da beterraba sem e com pré-tratamento químico. A hidrólise da polpa de beterraba foi realizada em pH 12,00, como a adição por 30 minutos de NaOH 2M sob agitação. A fermentação ocorreu sob temperatura de 35 °C, agitação de 175 rpm, com pH inicial 6,00. A produção de H₂ observada na fermentação da polpa da beterraba com hidrólise alcalina foi de 744,40 mL H₂.L⁻¹, 28,60% superior a fermentação da polpa da beterraba sem pré-tratamento (531,60 mL H₂.L⁻¹).

Os valores de potencial máximo de produção de H₂ (P); taxa máxima de produção de H₂ (R_m); tempo de início da fermentação (fase lag) (λ) estão expostos na Tabela 22 para as diferentes condições de cascas de batatas (sem hidrólise química ou hidrolisada com NaOH 6M, HCl 30% ou H₂SO₄) utilizadas nas fermentações deste estudo. Os valores obtidos a partir das hidrólises dos substratos apresentados na tabela são oriundos dos resultados do ensaio de otimização com as condições otimizadas de concentração de casca de batata e proporções de hidrolisantes para a produção de H₂. A menor taxa de produção de H₂ e a maior fase lag justificam a maior dificuldade que os microrganismos possuem para hidrolisar o substrato (PHUKOETPHIM et al., 2017). Isto ocorreu no reator onde a casca de batata não foi hidrolisada, reforçando a necessidade da etapa de hidrólise química do substrato.

Tabela 22 - Parâmetros cinéticos na fermentação da casca de batata sem hidrólise química e hidrolisada com NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄ em condições otimizadas

Parâmetros cinéticos	Sem hidrólise química	NaOH 6M	HCl 30%	H ₂ SO ₄
P (mL.L ⁻¹)	2,86	771,92	290,00	205,41
R _m (mL.L ⁻¹ .h ⁻¹)	0,16	37,44	5,97	7,52
λ (h)	53,17	14,37	23,90	44,02

Legenda: Sem hidrólise: fermentação de 83,40 g.L⁻¹ de casca de batata sem hidrólise química; **NaOH 6M:** fermentação de 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M; **HCl 30%:** fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30%; **H₂SO₄:** fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄.

5.5 COMPOSIÇÃO DE CASCA DA BATATA *IN NATURA* E HIDROLISADA

Os resultados das composições das cascas de batata *in natura* e hidrolisadas com H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M estão apresentados na Tabela 23. Teores de lignina, celulose (glicose), hemicelulose (xilose e arabinose), cinzas e umidade são expostos, assim como, a porcentagem de sólidos voláteis.

A composição da casca da batata *in natura* observada no presente trabalho é formada por 93,25% de sólidos voláteis e 92,87% de umidade. Estes valores são similares aos observados por Zhou; Elbeshbishy e Nakhla (2013) de 80,00 a 95,00% de sólidos voláteis totais e 75,00 a 85,00% de umidade na composição do resíduo *in natura*. Os autores afirmaram que esta composição do resíduo da batata é rica e se configura ideal para a produção de H₂. A

porcentagem de sólidos voláteis totais e umidade na casca de batata hidrolisada também se assemelham aos observados por Zhou; Elbeshbishy e Nakhla (2013). Os teores de sólidos voláteis para as cascas de batatas pré-tratadas com H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M são respectivamente 93,87; 95,30 e 81,21%. Estes valores permaneceram dentro da faixa (80,00 a 85,00%) observados por Zhou; Elbeshbishy e Nakhla (2013). Os teores de umidades das cascas de batata hidrolisadas com H₂SO₄, HCl 30% e NaOH 6M são de 93,61; 95,02 e 91,04%, respectivamente. Estas porcentagens foram ligeiramente superiores aos valores (75,00 a 87,00%) observados por Zhou; Elbeshbishy e Nakhla (2013). Isto demonstra que as reações de hidrólise aumentaram o teor de umidade da casca de batata.

Tabela 23 - Porcentagem de cinzas; lignina; celulose e hemicelulose na casca de batata *in natura* e após hidrólise química

Ensaio	Teor de Cinzas (%)	Sólidos voláteis totais (%)	Umidade (%)	Lignina (%)	Celulose (%)	Hemicelulose (%)
<i>In natura</i>	5,23	93,25	92,87	3,30 ± 0,60	79,50 ± 0,70	10,10 ± 1,10
H ₂ SO ₄	3,93	93,87	93,61	34,40 ± 1,60	17,00 ± 0,90	0,80 ± 0,50
HCl 30%	5,65	95,30	95,02	1,10 ± 0,30	54,80 ± 3,00	6,20 ± 2,50
NaOH 6M	2,67	91,28	91,04	0,90	40,40 ± 0,40	8,90 ± 1,30

As porcentagens de lignina na casca da batata após as hidrólises realizadas com NaOH 6M (0,90%) e HCl 30% (1,10± 0,30%) são 72,70%, e 66,70%, respectivamente. Estes valores são inferiores ao teor de lignina na casca de batata *in natura* (3,30%). Isto demonstra que as hidrólises permitiram a ruptura da estrutura rígida formada por lignina, modificando a composição química da casca da batata, possibilitando a maior disponibilização de celulose e de hemicelulose para as bactérias celulolíticas (PHUKOETPHIM et al., 2017). Na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄, a o teor de lignina quantificado (34,40 ± 1,60) é 90,40% superior à porcentagem observada na casca de batata *in natura* (3,30%). Isto pode ter ocorrido devido às mudanças da estrutura da lignina resultante do tratamento com H₂SO₄. Li, Henriksson e Gellerstedt (2007) observaram algumas mudanças que podem ocorrer com a lignina após o pré-tratamento. Os autores observaram aumento no conteúdo das estruturas condensadas do resíduo e uma perda de reatividade e da solubilidade da lignina após condições

adversas do tratamento. Li, Henriksson e Gellerstedt (2007) afirmam que ocorrem o processo de aderência e formação de esferas de alta densidade, resultando no aumento do peso molecular da lignina na fração sólida. O aumento do teor de lignina na composição da casca pré-tratada com H_2SO_4 ocorre, pois, a determinação da lignina é medida por gravimetria. Quando há o aumento do peso molecular da lignina na fração sólida após a hidrólise ácida com H_2SO_4 a determinação de lignina quantifica esse aumento. Estes resultados demonstram que quanto menor o teor de lignina mais H_2 foi produzido como observado entre os volumes máximos acumulados no ensaio com os hidrolisantes NaOH 6M ($1060,10 \text{ mL } H_2.L^{-1}$), HCl 30% ($655,40 \text{ mL } H_2.L^{-1}$) e H_2SO_4 ($268,49 \text{ mL } H_2.L^{-1}$). Isto reforça que a hidrólise alcalina com NaOH 6M favoreceu os processos fermentativos subsequentes como a hidrólise bacteriana e a fermentação. De forma semelhante, Ruggeri e Tommasi (2012) compararam a severidade do composto ácido (HCl) e alcalino (NaOH) na hidrólise do resíduo orgânico de mercado (restos de vegetais e frutos) para a produção fermentativa de H_2 . Os autores observaram que a hidrólise alcalina (NaOH) foi mais eficiente que a ácida (HCl) na produção de H_2 . Os ensaios em bateladas produziram $304,00$ e $590,00 \text{ mL } H_2.L^{-1}$ a partir da hidrólise dos compostos HCl e NaOH, respectivamente.

As porcentagens de celulose e hemicelulose observadas nas composições das cascas de batata após a hidrólise com H_2SO_4 ($17,00 \pm 0,90\%$ de celulose e $0,80 \pm 0,50\%$ de hemicelulose), HCl 30% ($54,80 \pm 3,00\%$ de celulose e $6,20 \pm 2,50\%$ de hemicelulose) e NaOH 6M ($40,40 \pm 0,40\%$ de celulose e $8,90 \pm 1,30\%$ de hemicelulose) foram inferiores ao teor determinado na casca de batata *in natura* ($79,50 \pm 0,70\%$ de celulose e $10,10 \pm 1,10\%$ de hemicelulose). Isto demonstra que houve uma maior disponibilização de carboidratos no meio líquido, ocasionando uma redução nas porcentagens destes açúcares fermentáveis na casca de batata após a hidrólise química. A partir do efeito das hidrólises, sob os teores de celulose e hemicelulose na casca de batata, infere-se que sem a hidrólise menos carboidratos foram disponibilizadas no meio, ficando retidos na casca.

Liang, McDonald e Coats (2014) determinaram uma proporção de 20,00% de celulose e hemicelulose no resíduo da casca da batata e 30,00% de lignina na caracterização do resíduo. Jacob e Banerjee (2016) também caracterizaram o resíduo da batata e determinaram que havia 13,40% de celulose; 9,50% de hemicelulose e 8,00% de lignina, sendo o restante constituído de amido, proteína, carbono, nitrogênio, fósforo e potássio. No presente estudo, observando a composição somente da casca de batata hidrolisada percebe-se teores de carboidratos e lignina diferentes aos obtidos por Liang, McDonald e Coats (2014) e Jacob e Banerjee (2016). Os teores de lignina da casca de batata hidrolisadas com NaOH 6M (0,90%), HCl 30% (1,10%) são

inferiores aos observados por Liang, Mcdonald e Coats (2014) e Jacob e Banerjee (2016) no resíduo *in natura*. Estes resultados indicam a eficiência da quebra do polímero de lignina na hidrólise química com NaOH 6M e HCl 30%.

Hendriks e Zeeman (2009) afirmam que a celulose é composta por milhares de moléculas de glicose conectadas por glicosídicos. Estas moléculas de polissacarídeos são fortemente envoltas as ligações de H₂. Já a hemicelulose liga as moléculas de celulose e são constituídas basicamente de pentoses (xilose e arabinose) e hexose (glicose). Desta forma, a hidrólise química da biomassa lignocelulósica facilita a disponibilização dos açúcares fermentáveis no meio líquido e a atividades de conversão destes açúcares pelos microrganismos em H₂. Uma comparação entre as proporções de glicose, xilose e arabinose de outros resíduos lignocelulósicos hidrolisados com as cascas de batata hidrolisadas neste estudo são visualizados na Tabela 24.

Arriaga et al. (2011) observaram o pré-tratamento da palha do milho com 2,00% v.v⁻¹ de HCl a 90 °C durante 2 horas para a produção fermentativa de H₂. A composição da palha de milho hidrolisada observada foi de 5,60% de glicose; 7,50% de xilose e 5,00% de arabinose, diferentemente da composição da casca de batata hidrolisado com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30% a 55 °C, durante 1 hora (54,80% de glicose; 2,50% de xilose e 9,80% de arabinose). Os teores de glicose e arabinose das cascas de batata hidrolisadas foram 89,80% e 48,90%, respectivamente, superiores aos teores da espiga de milho hidrolisada. Diferentemente, Lo et al. (2011) utilizando o bagaço da cana pré-tratado com NaOH a 1,50% v.v⁻¹ e 2,00 g.L⁻¹ de H₂O₂ e enzimaticamente com *Cellulomonas uda*, registraram uma composição de 15,00% de glicose; 5,00% de xilose; 4,00% de arabinose e 42,00% de celobiose. Os valores observados na composição do bagaço de cana hidrolisado foram distintos dos valores registrados na batata hidrolisada com NaOH 6M a 3,00% v.v⁻¹ a 55 °C, durante 1 hora, no presente estudo. Os teores de glicose (40,40%) e arabinose (7,85%) para a casca de batata pré-tratada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foram 62,80 e 48,90% superiores aos valores observados no trabalho de Lo et al. (2011). No entanto, o teor de xilose (1,00%) da casca e batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M foi 80% inferior ao determinado para o bagaço da cana hidrolisada com 1,50% v.v⁻¹ de NaOH.

A produção simultânea de H₂ e etanol sob a temperatura de 55 °C foi avaliada por Lopes et al. (2020) hidrolisando um substrato sintético celulósico com H₂SO₄ a 15,00% v.v⁻¹ em autoclave a 121 °C durante 30 minutos. Os autores alimentaram com concentração fixa de carboidratos mantida a 2,00 g.L⁻¹ a fermentação e observaram uma conversão de 96,70 ± 1,20% de carboidratos. A porcentagem de conversão obtida por Lopes et al. (2020) foi 56% superior ao obtido no reator 1 (42,50%) com concentração inicial de 2,12 g.L⁻¹ de carboidrato da casca

hidrolisada com 7,00 v.v⁻¹ de H₂SO₄. A conversão de carboidratos obtido no trabalho de Lopes et al (2020) também foi 10,30% superior ao obtido na hidrólise da casca de batata com 3,00 v.v⁻¹ de H₂SO₄ no reator 2 (86,90%), com concentração inicial de 1,41 g.L⁻¹ de carboidrato. Isto pode ser explicado, pois, Lopes et al. (2020) realizaram seu experimento em reatores contínuos de leito fluidizado. A constante alimentação de 2,00 g.L⁻¹ de carboidratos no reator e saída do líquido reacional, pode ter minimizado as concentrações de inibidores (furfural e hidroximetilfurfural) na fermentação do substrato sintético celulósico hidrolisado com H₂SO₄. No entanto, no presente trabalho, as fermentações da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ ocorreram em reatores em bateladas. Nestas configurações de reatores os compostos inibitórios formados permanecem no meio líquido, ocorrendo o acúmulo destes compostos e, conseqüentemente, a inibição das atividades microbianas de conversão de carboidratos em H₂.

Tabela 24 - Proporção de glicose, xilose e arabinose em resíduos lignocelulósico comparando com as cascas de batatas hidrolisadas neste estudo.

Substrato	Hidrólise	Glicose (%)	Xilose (%)	Arabinose (%)	Referência
Bagaço da cana	H ₂ SO ₄	16,50	80,50	6,40	Fangkum e Reungsang (2011)
Palha de aveia	HCl	5,60	7,50	5,00	Arriaga et al. (2011)
Bagaço de cana	NaOH	42,40	7,50	50,50	Fangkum e Reungsang (2011)
Palha de arroz	HNO ₃	3,30	50,60	10,10	Chang et al. (2011)
Bagaço da cana	NaOH + <i>Cellulomonas uda</i>	15,00	5,00	4,00	Lo et al. (2011)
Celulose microcristalina	H ₂ SO ₄	50,00	50,00	-	Lopes et al. (2020)
Casca de batata	NaOH 6M	40,40	1,00	7,85	Este estudo
Casca de batata	HCl 30%	54,80	2,50	9,80	Este estudo
Casca de batata	H ₂ SO ₄	17,00	1,80	0,80	Este estudo

5.6 MATÉRIA ORGÂNICA E SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS

As concentrações iniciais de matérias orgânicas nos reatores do ensaio com NaOH 6M utilizado como hidrolisante química da casca de batata variaram entre 2,76 e 5,39 g O₂.L⁻¹. Foi observado nos reatores 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) a maior (5,39 g O₂.L⁻¹) e a menor (2,76 g O₂.L⁻¹) concentração inicial de matéria orgânica da fermentação da casca de batata com NaOH 6M. No ensaio com HCl 30% os valores de matéria orgânica no início das fermentações variaram entre 2,37 e 3,06 g O₂.L⁻¹. A concentração inicial de matéria orgânica de 2,37 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%) e a concentração inicial de matéria orgânica de 3,06 g O₂.L⁻¹ no reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). Já nas fermentações da casca de batata hidrolisadas com H₂SO₄ os valores iniciais de matéria orgânica variaram entre 2,08 e 5,32 g O₂.L⁻¹. Estes valores foram observados nos reatores 7 (2,08 g O₂.L⁻¹) com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄, e 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (5,32 g O₂.L⁻¹). Foi observado que as menores concentrações iniciais de matérias orgânicas ocorreram nos reatores 7 dos três ensaios (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). Isto pode ser explicado, pois, as concentrações de casca de batata nestes reatores foram de 38,79 g.L⁻¹, que corresponde a menor concentração de casca de batata adicionada nas fermentações.

Os valores de matérias orgânicas verificadas no final da fermentação do ensaio com NaOH 6M como hidrolisante da casca de batata variaram entre 5,85 e 9,37 g O₂.L⁻¹. A concentração final de matéria orgânica de 5,85 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator 7 com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M, e a concentração final de matéria orgânica de 9,37 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% as concentrações finais de matérias orgânicas variaram entre 6,52 a 8,99 g O₂.L⁻¹. A concentração final de matéria orgânica de 6,53 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, e a concentração final de matéria orgânica de 8,99 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator central com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%.

No ensaio com H₂SO₄ como hidrolisante da casca de batata as concentrações finais de matéria orgânica variaram entre 3,23 e 6,44 g O₂.L⁻¹. A concentração final de matéria orgânica de 3,23 g O₂.L⁻¹ foi observada no reator 7 com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄, e a concentração final de matéria orgânica de 6,44 g O₂.L⁻¹ foi observada

no reator 1 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. O aumento das concentrações de matérias orgânicas foi observado em todos os reatores dos três ensaios realizados (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). Isto pode ser explicado, pois, nos inícios das fermentações a maior parte da casca de batata é formada por matéria carbonácea não solúvel e, portanto, não foi contabilizada pela análise de DQO solúvel realizada. No entanto, durante as fermentações a geração e acúmulo de álcoois e ácidos orgânicos (metabólitos solúveis) contribuíram para o aumento das concentrações finais de matérias orgânicas. O acúmulo destes ácidos ocorre devido a interrupção do processo na fase acidogênica (AQUINO et al., 2006).

As concentrações de microrganismos, nos reatores, foram determinadas por SSV. No ensaio com NaOH 6M, os valores de SSV iniciais variaram entre 6,52 e 13,95 g SSV.L⁻¹. A concentração inicial de SSV de 6,52 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. A concentração inicial de SSV de 13,95 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. No ensaio com HCl 30% os valores de SSV iniciais variaram entre 3,54 e 8,55 g SSV.L⁻¹. No reator 4 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foi observada a concentração inicial de SSV de 3,54 g SSV.L⁻¹. No reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foi observada a concentração inicial de SSV de 8,55 g SSV.L⁻¹.

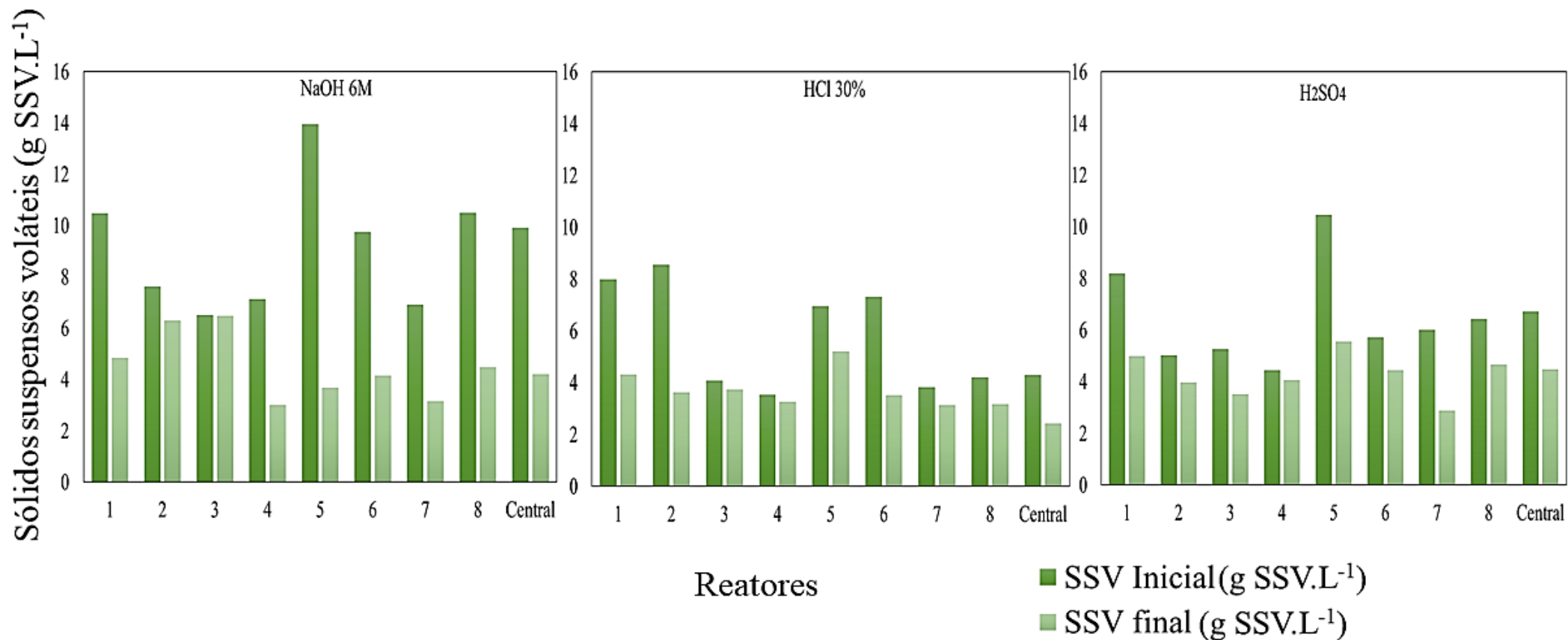
Na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ foram observadas que as concentrações de SSV inicial variaram entre 4,45 e 10,45 g SSV.L⁻¹. No reator 4 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00 % v.v⁻¹ de H₂SO₄ foi observada a concentração de 4,45 g SSV.L⁻¹ (SSV inicial). No reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foi observada a concentração de 10,45 g SSV.L⁻¹ (SSV inicial). Os valores de SSV das amostras iniciais dos reatores foram dependentes da concentração inicial de casca de batata. As maiores concentrações iniciais de casca de batata possibilitaram maiores valores de SSVs iniciais. Isto pode ser explicado pela presença dos sólidos na biomassa lignocelulósica que são contabilizadas (RUGGERI; TOMMASI; SANFILIPPO, 2015). Desta forma, quanto maior a quantidade de casca de batata, maior os sólidos contabilizados.

No final da fermentação do ensaio com NaOH 6M utilizado como hidrolisante da casca de batata as concentrações de SSV variaram entre 3,00 e 6,48 g SSV.L⁻¹. A concentração de SSV final de 3,00 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 4 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. A concentração de SSV final de 6,48 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M. Foi notado um decaimento dos sólidos voláteis em todos os reatores deste ensaio, com uma

diminuição de até 73,69 % no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00 % v.v⁻¹ de NaOH 6M) (SSV inicial: 13,96 g SSV.L⁻¹; SSV final: 3,67 g SSV.L⁻¹). Na fermentação da casca da batata hidrolisada com HCl 30%, as concentrações de SSV final variaram entre 2,42 e 5,21 g SSV.L⁻¹. A concentração de SSV final de 2,42 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator central com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. A concentração de SSV final de 5,21 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. O decaimento de SSV notado neste ensaio foi de até 57,73% no reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%.

As concentrações finais de SSV no ensaio com H₂SO₄ como hidrolisante da casca da batata variaram entre 2,88 e 5,56 g SSV.L⁻¹. A concentração de SSV final de 2,88 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 7 com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. A concentração de SSV final de 5,56 g SSV.L⁻¹ foi observada no reator 5 com 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄. O decaimento de SSV neste ensaio foi de até 52,15% no reator 7 com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄.

Os decaimentos observados nas fermentações da casca de batata indicam a fase de declínio do crescimento microbiano, provavelmente, devido as condições de operação do sistema em batelada e ao padrão de crescimento das populações das bactérias fermentativas (ZWIETERING et al., 1990). Não foi possível observar os efeitos das variáveis independentes (concentração de casca de batata e proporção de hidrolisante) e uma tendência no decaimento de SSV nas fermentações realizadas no presente estudo (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). Como pode ser observado na Figura 30, as concentrações iniciais e finais de SSV nos reatores das fermentações da casca de batata hidrolisadas com NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄.

Figura 30 - Concentrações de SSV iniciais e finais nos reatores, em cada ensaio (NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄)

Legenda: Reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/4,00%/7,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00%/3,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 3 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 2,00%/3,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 4 (45,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,00%/7,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 6 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 4,41%/7,83%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Reator 8 (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 1,59 %/2,17%** v.v⁻¹ de hidrolisante); Central – reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata/ 3,00%/5,00%** v.v⁻¹ de hidrolisante). * Proporções de NaOH 6M ou HCl 30%; ** proporções de H₂SO₄.

A relação alimento /microrganismos foi medida por concentração de DQO inicial dividida por concentração de SSV inicial. Na Tabela 25 são expostas as A/M dos reatores nas fermentações da casca de batatas hidrolisadas com NaOH 6M, HCl 30% ou H₂SO₄ em distintas proporções. No ensaio com NaOH 6M como hidrolisante as relações A/M variaram entre 0,91 e 1,78 nos reatores 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00 % v.v⁻¹ de NaOH 6M) e 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), respectivamente. Já nas fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com HCl 30% as relações A/M variaram entre 0,78 e 1,01 nos reatores 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00 % v.v⁻¹ de HCl 30%) e reator central (60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de HCl 30%), respectivamente. As relações A/M na fermentação da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ variaram entre 0,69 e 1,59 nos reatores 7 (38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄) e reator 1 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄). Estes resultados demonstram que no reator 7 com menor concentração adicionada de casca de batata (38,79 g.L⁻¹) e, conseqüentemente, menor DQO inicial ocorreu a menor relação A/M nos três ensaios realizados (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄).

O rendimento de H₂ por grama de STV adicionado foram determinados com base nos valores de STV realizadas com os reatores os rendimentos de H₂ foram os maiores para a fermentação da casca da batata com cada hidrolisante (NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). No ensaio com composto NaOH 6M foi observado o rendimento de 209,81 mL H₂.g⁻¹STV no reator 6 com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M. No ensaio com o hidrolisante HCl 30% foi observado o rendimento de 140,15 mL H₂.g⁻¹STV no reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2% v.v⁻¹ de HCl 30%. Já com o composto H₂SO₄ foi observado o rendimento de 57,41 mL H₂.g⁻¹STV no reator 2 com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄.

Zhang et al. (2007) observaram um rendimento máximo de H₂ de 56,70 mL H₂.g⁻¹ STV na fermentação a 36 °C de 15,00 g.L⁻¹ de resíduo do milho hidrolisado. Este resíduo foi pré-tratado com NaOH a uma proporção de 0,50% v.v⁻¹. Neste mesmo estudo, os autores hidrolisaram o resíduo do milho com HCl a uma proporção de 0,2% v.v⁻¹ e observaram um rendimento de 149,69 mL de H₂.g⁻¹ STV. O rendimento de H₂ por grama de STV obtido na fermentação da 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,41% v.v⁻¹ de NaOH 6M foi 72,87% superior (209,81 mL H₂.g⁻¹STV) ao observado no trabalho de Zhang et al. (2007) (56,70 mL H₂.g⁻¹ STV). O rendimento de H₂ por grama de STV obtido na fermentação da 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% foi 6,81% inferior (140,14 mL

$\text{H}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{STV}$) ao observado no trabalho de Zhang et al. (2007) ($149,69 \text{ mL H}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{STV}$). Estes resultados sugerem que na hidrólise dos substratos com NaOH 6M a maior concentração de substrato ($60,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata) e maior proporção de NaOH ($4,41\% \text{ v} \cdot \text{v}^{-1}$) no presente estudo, comparado ao estudo de apesar de Zhang et al. (2007) ($15,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de resíduo do milho hidrolisada com $0,50\% \text{ v} \cdot \text{v}^{-1}$ de NaOH) tiveram efeito positivos sobre o rendimento de H_2 . Nas fermentações de substratos com HCl, apesar da maior concentração de substrato no presente estudo ($75,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata), comparado ao estudo de apesar de Zhang et al. (2007) ($15,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de resíduo do milho) a proporção de HCl utilizada na hidrólise da casca de batata ($2,00\% \text{ v} \cdot \text{v}^{-1}$ de HCl 30%) foi 10 vezes superior à observada na hidrólise do resíduo do milho ($0,20\% \text{ v} \cdot \text{v}^{-1}$ de HCl) e influenciou negativamente o rendimento de H_2 .

Tabela 25 – Relações alimentos/microrganismos dos reatores nas fermentações com distintas concentrações de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M, HCl 30% e H_2SO_4 em diferentes proporções

Reator	NaOH 6M (A/M)	HCl 30% (A/M)	H_2SO_4 (A/M)
1	1,78	0,98	1,59
2	1,53	0,83	1,37
3	1,55	0,87	0,97
4	1,52	0,85	1,02
5	1,47	0,86	1,76
6	1,27	0,99	1,28
7	0,91	0,78	0,69
8	1,10	0,90	0,95
Central	1,52	1,01	1,03

Legenda: **NaOH 6M (A/M):** relação alimento microrganismos no ensaio com NaOH 6M como hidrolisante; **HCl 30% (A/M):** relação alimento microrganismos no ensaio com HCl 30% como hidrolisante; **H_2SO_4 (A/M):** relação alimento microrganismos no ensaio com H_2SO_4 como hidrolisante. **Reator 1** ($75,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $4,00\% \cdot 7,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 2** ($75,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $2,00\% \cdot 3,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 3** ($45,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $2,00\% \cdot 3,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 4** ($45,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $4,00\% \cdot 7,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 5** ($81,21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \cdot 5,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 6** ($60,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $4,41\% \cdot 7,83\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 7** ($38,79 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \cdot 5,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Reator 8** ($60,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $1,59\% \cdot 2,17\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante); **Central** – reator central ($60,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de casca de batata/ $3,00\% \cdot 5,00\% \cdot \text{v} \cdot \text{v}^{-1}$ de hidrolisante). * **Proporções de NaOH 6M ou HCl 30%;** ** **proporções de H_2SO_4**

Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) encontraram um rendimento máximo de 68,54 mL de H₂ por grama de STV na fermentação do resíduo da batata, sob as condições ótimas obtidas (39,56 g.L⁻¹ de concentração de resíduo de batata, pH de 7,86; temperatura de 37,87 °C e tempo de fermentação de 82,56 horas), por meio de planejamento experimental usando DCCR e RSM. Na validação dos resultados observados por Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) o rendimento de H₂ predito pelo modelo foi de 79,43 mL de H₂ por grama de STV. Estes resultados demonstram que os rendimentos de H₂ por grama de STV das fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M (209,81 mL H₂.g⁻¹STV), HCl 30% (140,15 mL H₂.g⁻¹STV), foram superiores aos rendimentos observados no estudo de Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) (68,54 mL de H₂ por grama de STV e 79,43 mL de H₂ por grama de STV) que utilizaram o resíduo da batata sem pré-tratamento. Isto indica que a hidrólise com NaOH 6M e HCl 30% em concentrações mais elevadas de substrato nas fermentações da casca de batata (60,00 g.L⁻¹ e 75,00 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M e HCl, respectivamente) comparada a concentração de substrato sem hidrólise, no trabalho de Sekoai, Ayeni e Daramola (2017) (39,56 g.L⁻¹ do resíduo da batata), contribuíram para os maiores rendimentos de H₂ (NaOH 6M: 209,81 mL H₂.g⁻¹STV; HCl 30%: 140,15 mL H₂.g⁻¹STV), no presente estudo.

5.7 MICROSCOPIA DA CASCA DA BATATA

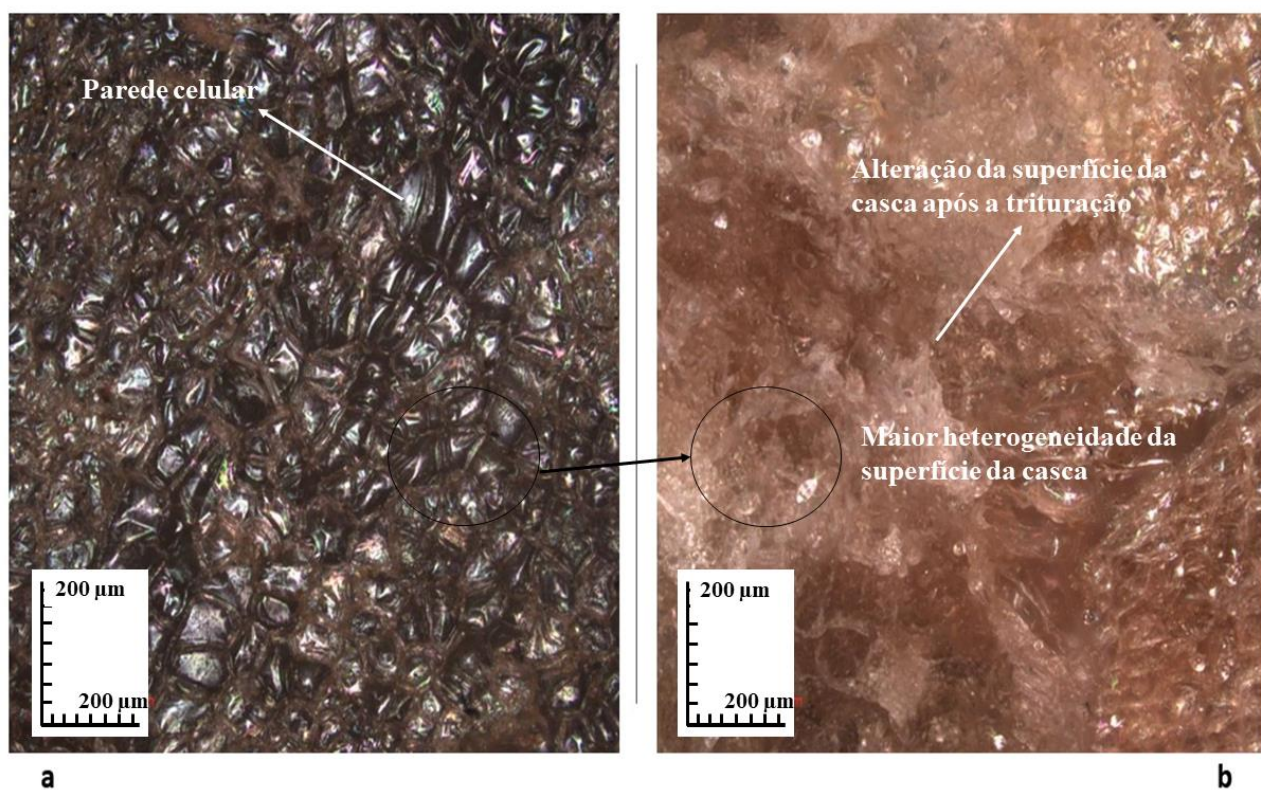
A microscopia eletrônica a laser, projetada para a geração de imagens em nível micrométrico, possibilitou observar melhor a estrutura física (rugosidade) da parede celular da casca da batata. As mudanças na superfície da casca de batata após a trituração realizada no pré-tratamento podem ser observadas na Figura 31.

As imagens foram capturadas com área de 200 µm² e exibem a casca da batata inglesa cortada sem (a) e com trituração (b). A trituração realizada na casca possibilitou alteração na rugosidade da superfície da casca, oferecendo maior heterogeneidade, como observada na imagem (b). De acordo com Canilha et al. (2012), a lignina (macromolécula aromática complexa) recobre os polímeros de celulose e hemicelulose formando a microfibrila celulósica. Esta complexa estrutura da lignina e sua insolubilidade dificultam a biodegradação da celulose e hemicelulose. De acordo com Paudel et al. (2017) e Lopes et al. (2020) a lignina é considerada o principal composto recalcitrante na quebra da estrutura física deste tipo de biomassa. Monlau et al. (2013) afirmam que o principal propósito da lignina é proporcionar rigidez na estrutura do resíduo e torná-lo mais resistente à ataques das bactérias celulolíticas e stress oxidativos. Estas afirmações, bem como as observações microscópicas, indicam que a trituração realizada

na biomassa favoreceu o aumento da superfície de contato do substrato para o contato do consórcio microbiano à celulose e hemicelulose.

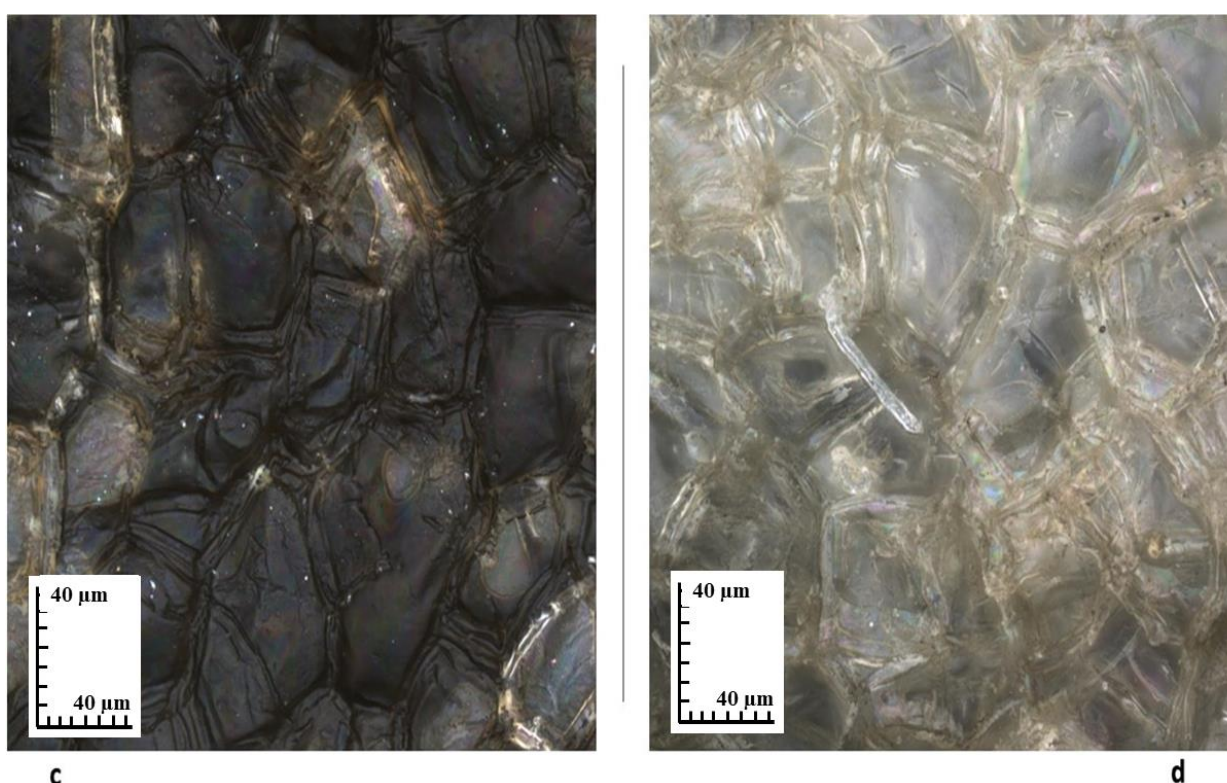
Segundo Percival Zhang, Himmel e Mielenz (2006), a hidrólise química pela qual a biomassa lignocelulósica passa após a trituração contribui para a liberação dos carboidratos em duas frações. A fração sólida é formada pela celulose e a fração líquida corresponde a hemicelulose, denominada de hidrolisado hemicelulósico. Na etapa de hidrólise química, os compostos hidrolisantes auxiliam na deslignificação da biomassa e facilitam o a conversão do polímero hemicelulósico em pentoses (xilose e arabinose) e hexose (glicose) e a conversão do celulósico em celobiose, realizadas pelos microrganismos, que posteriormente será convertida em glicose por β -glucosidases. Zhang et al. (2007) perceberam o aumento dos diâmetros dos poros do resíduo do milho hidrolisado com HCl em uma proporção de 0,20% v.v⁻¹, para a produção de H₂. Este aumento dos poros pode auxiliar na liberação dos carboidratos e melhorar o contato dos microrganismos aos açúcares fermentáveis (pentoses e xiloses) disponíveis na hemicelulose.

Figura 31 - Estrutura da casca de batata inglesa cortada com (a) e sem (b) trituração (escala: 200 μ m x 200 μ m)



Na Figura 32 são apresentadas as imagens (c) e a (d) que são respectivamente, as cascas hidrolisadas com 3,00% de NaOH 6M e 5,00% de H₂SO₄ (proporções correspondentes aos pontos centrais dos planejamentos experimentais, do melhor e pior hidrolisante para a produção de H₂). As imagens foram capturadas em uma área de 40 μm² da superfície da casca de batata. As diferentes reações dos compostos hidrolisantes na estrutura da casca da batata inglesa são visíveis pela coloração que cada composto gerou na casca de batata.

Figura 32 - Estrutura da casca de batata inglesa cortada com trituração seguida de hidrólise química com (c) NaOH 6M e H₂SO₄ (d) (escala: 40 μm x 40 μm)



Os dois hidrolisantes apresentaram efeitos distintos sobre a casca (Figura 32). Enquanto o composto NaOH 6M (c) tornou a casca mais escurecida, o H₂SO₄ (d) clareou a casca. Os efeitos visualmente distintos notados podem ter ocorrido devido aos compostos serem uma base e um ácido forte que liberam, respectivamente íons (OH⁻) elevando o pH do meio com a casca hidrolisada, e íons (H⁺), diminuindo o pH. As colorações de ambas cascas de batatas (hidrolisadas com NaOH 6M e H₂SO₄) foram se assemelhando para uma coloração amarronzada à medida que o pH foi ajustado para 7,00, antes de inoculação nos reatores. Isto reforça a hipótese que as mudanças na coloração ocorrem devido a interação dos íons liberados pelos compostos hidrolisantes e a composição da casca de batata.

As hidrólises com NaOH 6M possibilitaram maiores conversões de carboidratos em H₂ nas fermentações. Apesar do hidrolisante NaOH 6M ter favorecido mais que o H₂SO₄ a produção de H₂, a disponibilização de carboidratos no meio líquido ocasionado pela hidrólise alcalina (NaOH 6M) foi semelhante a liberação de carboidratos pela hidrólise ácida (H₂SO₄). A média dos valores de carboidratos liberados no meio líquido por NaOH 6M foi de 1,11 g.L⁻¹. O valor médio das concentrações de carboidratos disponibilizados na hidrólise com H₂SO₄ foi de 1,14 g.L⁻¹. A similaridade entre as médias das concentrações de carboidratos liberados no meio líquido após as hidrólises com NaOH 6M e H₂SO₄ foi de 97,40%. Isto demonstra que o efeito dos dois hidrolisantes sobre a disponibilização de carboidratos da casca de batata no meio líquido foi semelhante.

As médias das porcentagens da conversão de carboidratos nas fermentações das cascas de batatas hidrolisadas com NaOH 6M e H₂SO₄ foram de 67,50% e 72,10%, respectivamente. A porcentagem média de conversão de carboidratos nos reatores com H₂SO₄ foi ligeiramente superior à porcentagem média dos reatores com NaOH 6M. Foram observados como melhores produções de H₂ os valores de 1060,10 e 218,78 mL H₂.L⁻¹ nos ensaios com NaOH 6M e H₂SO₄, respectivamente. No ensaio com H₂SO₄ apesar da produção de H₂ ser 79,36% inferior a observada na fermentação da casca de batata com NaOH 6M, ocorreu a produção de ácidos, como o caprótico (0,47 g.L⁻¹), isovalérico (0,24 g.L⁻¹) e isobutírico (0,12 g.L⁻¹), ácidos não produzidos no ensaio com NaOH 6M. A maior variedade de ácidos orgânicos produzidos no ensaio com H₂SO₄ sugere que as condições do meio líquido favoreceram a conversão dos carboidratos das fermentações da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ em ácidos orgânicos.

Neste estudo, os valores máximos de produção de H₂ na fermentação das cascas de batatas sem hidrólise química e hidrolisadas com HCl 30% e NaOH 6M foram de 2,87; 655,40 e 1060,10 mL H₂.L⁻¹, respectivamente. A produção de H₂ (2,87 mL H₂.L⁻¹) na fermentação sem a hidrólise química de casca de batata foi 99,50 e 99,70% inferior as observadas nas fermentações da casca de batata hidrolisada com HCl 30% e NaOH 6M, respectivamente. A maior produção entre as três fermentações (cascas de batatas: sem hidrólise química, hidrolisada com HCl 30% e hidrolisada com NaOH 6M) foi observada no ensaio com a hidrólise alcalina da casca de batata (1060,10 mL H₂.L⁻¹). Estes resultados demonstram a melhor eficiência da hidrólise alcalina com NaOH 6M na produção fermentativa de H₂.

5.8 COMPILAÇÃO DOS MELHORES RENDIMENTOS DE H₂ E METABÓLITOS SOLÚVEIS

As concentrações de casca de batata influenciaram de forma linear e positiva a produção de H₂, como analisado nas superfícies de respostas geradas para os três ensaios (fermentações com hidrolisantes: NaOH 6M, HCl 30% e H₂SO₄). As matérias orgânicas adicionadas nos reatores foram quantificadas, gerando valores de DQO distintos para cada fermentação. Estes valores dependeram diretamente das concentrações de cascas de batata adicionadas no início das fermentações. A produção dos metabólitos pode ser quantificada em função dos valores adicionados de matéria orgânica (DQO adicionada) nos reatores. Na Tabela 26 é apresentada uma compilação das fermentações da casca de batata com os melhores rendimentos dos metabólitos produzidos nos experimentos (H₂, HAc, HBu, HPr, HisoVa, HisoBu, Hca, BuOH, EtOH, e MetOH), em função da DQO adicionada aos reatores.

O maior rendimento de ácido acético observado foi de 513,70 mg.g⁻¹ DQO adicionada e ocorreu na fermentação com 38,79 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M (reator 7). A fração de ácido acético no reator 7 foi de 63,95%. O rendimento de ácido acético por DQO adicionada no ensaio com NaOH 6M como hidrolisante da casca de batata foi desfavorecido em concentrações elevadas de casca de batata (75,00 e 81,21 g.L⁻¹). Porém em proporções de NaOH 6M entre 3,00 e 4,41% v.v⁻¹ o rendimento por DQO adicionada de ácido acético foi influenciado positivamente.

O rendimento de ácido butírico que mais se destacou foi de 491,90 mg.g⁻¹ DQO adicionada e ocorreu na fermentação com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator 3). No reator 3 foi verificada uma fração de 47,80% de ácido butírico. Nas fermentações da casca de batata hidrolisadas com H₂SO₄ foi observado que o rendimento de ácido butírico por DQO adicionada foi desfavorecido em concentrações elevadas de casca de batata (75,00 e 81,21 g.L⁻¹) e elevadas proporção de H₂SO₄ (5,00 a 7,83%). Isto pode explicar a maior produção de ácido butírico no reator 3 com 45,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄.

Na fermentação com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30% (reator 6) foi observado o maior rendimento de ácido propiônico de 144,10 mg.g⁻¹ DQO adicionada. A fração observada de ácido propiônico no reator 6 foi de 20,50%. O rendimento de ácido propiônico por DQO adicionada na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foi favorecida em proporções mais elevadas de HCl 30% (4,00 e 4,41 v.v⁻¹). Contudo

foi verificado que em concentrações mais elevadas de cascas de batata (75,00 e 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata) o rendimento de ácido propiônico foram reduzidos.

O maior rendimento de ácido isovalérico observado foi de 175,10 mg.g⁻¹ DQO adicionada e ocorreu na fermentação com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,17% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator 8). No reator 8 foi observada uma fração de isovalérico de 15,53%. O rendimento por DQO adicionada de ácido isovalérico em fermentações da casca de batata hidrolisada com H₂SO₄ como hidrolisante da casca de batata foi influenciada positivamente em concentrações de casca de batata entre 60,00 e 81,21 g.L⁻¹. Porém em proporções elevadas de H₂SO₄ o rendimento por DQO adicionada de ácido isovalérico foi reduzido.

Os ácidos isobutíricos e caproicos se destacaram na fermentação de 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 5,00% v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator central). A fração de ácido isobutírico no reator central foi de apenas 7,11%. Já para o ácido caproico a fração observada foi de 12,75%. No reator central foram verificados os rendimentos de ácido isobutírico e caproico de 100,60 e 180,10 mg.g⁻¹ DQO. As proporções de casca entre 7,00 e 7,83% v.v⁻¹ de H₂SO₄ foram desfavoráveis para os rendimentos de ácido isobutírico e caproico na fermentação de casca de batata hidrolisada com H₂SO₄. Porém, não foi possível determinar o efeito da concentração de casca de batata nos rendimentos destes ácidos.

Na fermentação com 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30% (reator 2) foi observado o maior rendimento de butanol com valor de apenas 17,60 mg.g⁻¹ DQO adicionada. No reator 2 a fração de butanol verificada foi de somente 4,74%. O rendimento de butanol por DQO adicionada na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foi desfavorecido em proporções de HCl 30% entre 4,00 e 4,41 v.v⁻¹ e concentrações de cascas de batata entre 75,00 e 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata.

O rendimento de etanol que mais se destacou foi de apenas 66,40 mg.g⁻¹ DQO adicionada e ocorreu na fermentação com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄ (reator 6). A fração de etanol no reator 6 foi de até 14,36%. O rendimento por DQO adicionada de etanol foi favorecido em elevadas proporção de H₂SO₄ (7,00 e 7,83%). Isto pode explicar a maior produção de etanol no reator 6 com 7,83 % v.v⁻¹ de H₂SO₄. No entanto, não foi possível determinar a influência da concentração de casca de batata para este álcool.

Tabela 26 - Compilação das fermentações da casca de batata com os melhores rendimentos dos metabólitos produzidos

Metabólito	Concentração de casca de batata (g.L⁻¹)	Hidrolisante	Proporção de hidrolisante (% v.v⁻¹)	Rendimento por mg. g⁻¹DQO adicionada
HAc	38,79	NaOH 6M	3,00	513,70
HBu	45,00	H ₂ SO ₄	3,00	491,90
HPr	60,00	HCl 30%	4,41	144,10
HIsoVa	60,00	H ₂ SO ₄	2,17	175,10
HIsoBu	60,00	H ₂ SO ₄	5,00	100,60
HCa	60,00	H ₂ SO ₄	5,00	180,10
BuOH	75,00	HCl 30%	2,00	17,60
EtOH	60,00	H ₂ SO ₄	7,82	66,40
MetOH	75,00	HCl 30%	4,00	19,30
H ₂	75,00	HCl 30%	2,00	262,20 *

Na fermentação com 60,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 4,41% v.v⁻¹ de HCl 30% (reator 6) foi observado o maior rendimento de metanol de somente 19,30 mg.g⁻¹ DQO adicionada. O rendimento por DQO adicionada de metanol na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30% foi favorecida em concentrações de cascas de batata entre 60,00 e 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata. Entretanto, não foi possível determinar a influência da proporção de HCl 30% sobre o rendimento de metanol.

Apesar da maior produtividade de H₂ (1060,10 mL H₂.L⁻¹) ter ocorrido no reator 5 da fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M), o melhor rendimento de H₂ por DQO adicionada ocorreu em uma fermentação diferente. O maior rendimento de H₂ por DQO adicionada foi de 262,00 mL H₂.g⁻¹DQO adicionada e ocorreu na fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%. Contudo no reator 5 (81,21 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com 3,00% v.v⁻¹ de NaOH 6M) o rendimento de H₂ foi de 237,60 mL H₂.g⁻¹DQO adicionada, 9,30% inferior ao rendimento de H₂ obtido no reator com HCl 30% (262,00 mL H₂.g⁻¹DQO adicionada). A condição de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada por 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%, de acordo com a superfície de resposta, se encontra na faixa ótima de valores para a produção de H₂. A melhor produtividade de H₂ de (655,40 mL H₂.L⁻¹) nas fermentações com HCl 30%, ocorreu na condição mencionada, no reator 2 (75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada por 2,00% v.v⁻¹ de HCl 30%). A composição de biogás deste reator foi formada por 46,10% de H₂. Na fermentação com HCl 30% foi observado que a produção de H₂ foi influenciada positivamente em concentrações entre 75,00 e 81,21 g.L⁻¹ de casca de batata. No entanto o efeito da proporção de HCl 30% não foi significativo para a produção de H₂. O grau de acidificação neste reator foi de 60,00%. A produção de ácido butírico foi favorecida (fração de 45,75% de ácido burírico). Isto indica que a cada mol de glicose convertida em ácido butírico foram gerados 2 mols de H₂.

No trabalho de Zhu et al. (2008) foi analisado a produção de H₂ a partir do resíduo da batata pré-tratadas. Os autores realizaram a trituração da batata em água e, posteriormente, submeteram a temperatura de 70 °C por alguns minutos. A fermentação ocorreu com 12,60 g.L⁻¹ do resíduo da batata, cultura mista sem pré-tratamento e sob a temperatura de 35 °C, pH 5,50 e agitação de 200 rpm. Zhu et al. (2008) observaram que a maior parte do substrato adicionado foi convertido em ácidos orgânicos voláteis que compuseram a maioria dos produtos solúveis na fermentação. As produções de ácidos acéticos e butíricos. Semelhante ao observado nas fermentações das cascas de batatas hidrolisadas, independente do hidrolisante (NaOH 6M; HCl 30% e H₂SO₄) do presente trabalho. Além disso, os autores identificaram que a via metabólica

de produção de H_2 na fermentação do resíduo da batata foi a butírica de forma semelhante a verificado na fermentação da casca de batata hidrolisada com HCl 30%. No entanto, Zhu et al. (2008) observaram que apenas 10,00% da DQO adicionada foi convertida em H_2 . Os autores afirmam que o consumo de H_2 para a produção de ácidos orgânicos e a produção de metano afetou o acúmulo máximo de H_2 . Semelhantemente, Xie et al. (2008) observaram a via metabólica butírica para a produção de H_2 na fermentação da batata sem e com pré-tratamento com enzimas α -amilase e glucoamilase. Os autores utilizaram cultura mista pré-tratadas termicamente e realizaram a fermentação da batata sob a temperatura de 35 °C. Xie et al. (2008) observaram que o pré-tratamento da batata elevou a produção de H_2 em 19,81% e acelerou o processo fermentativo. Estes resultados demonstram a importância do pré-tratamento do resíduo na fermentação visando a produção de H_2 , reforçando os resultados do presente estudo em que o pré-tratamento físico-químico da casca da batata elevou a produção de H_2 .

Chu et al. (2012) avaliaram a produção de H_2 a partir da fermentação de 150,00 g.L⁻¹ de batata doce sob 35 °C e pH 7,50. Os autores também observaram que as produções de ácido butírico se destacou, seguido das produções de etanol e ácido acético na fermentação. A composição de ácido butírico e acético foram de 51,00 e 23,00% respectivamente. O rendimento de H_2 em função da DQO adicionada foi de 42,30 mL H_2 .g⁻¹DQO adicionada. No reator 2 da fermentação de 75,00 g.L⁻¹ de casca de batata hidrolisada com HCl 30% as produções dos ácidos butíricos (45,75%) e acéticos (30,37%) também se destacaram., sendo que a produção de H_2 ocorreu via metabólica butírica. No entanto, observa-se que o rendimento no reator 2 (262,00 mL H_2 .g⁻¹DQO adicionada) do presente estudo foi 83,85% superior ao observado no trabalho de Chu et al. (2012). Isto reforça que a hidrólise ácida realizada com HCl 30% na casca de batata favoreceu a produção de H_2 na fermentação. Han et al. (2012) também utilizando a hidrólise com HCl pré-trataram a palha de soja com 4,00% v.v⁻¹ de HCl. Os autores verificaram o efeito do pré-tratamento na produção de H_2 . Han et al. (2012) observaram que a produção de 752,50 mL H_2 .L⁻¹ foi 90,91% superior à observada na fermentação da palha de soja sem pré-tratamento. Estes resultados corroboram com os resultados observados neste estudo em que a produção de H_2 no reator 2 com 75 g.L⁻¹ de cascas de batatas hidrolisadas com 2% v.v⁻¹ de HCl 30% (655,40 mL H_2 .L⁻¹) foi 98,87% superior à observada na fermentação de 83,40 g.L⁻¹ de casca sem hidrólise (2,87 mL H_2 .L⁻¹).

A casca de batata foi pré-tratada físico-quimicamente para a produção fermentativa de H_2 por Sinha e Pandey (2014). Os autores realizaram a hidrólise do substrato com solução de 0,50% v.v⁻¹ de H_2SO_4 em autoclave a 121 °C por 15 minutos e a fermentação da casca de batata hidrolisada sob a temperatura de 38 °C e pH 6,00. Sinha e Pandey (2014) observaram que casca

de batata pré-tratada possui alto potencial de produção de H_2 ($90,00 \text{ mL.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) e formações de ácidos acético ($5,32 \text{ g.L}^{-1}$) e butírico ($1,61 \text{ g.L}^{-1}$) que se destacaram na fermentação. Vi, Salakkam e Reungsang (2017) também identificaram o bom potencial da fermentação do resíduo da batata para a produção de H_2 . No entanto, os autores reforçam a importância da otimização das condições que podem afetar a produção de H_2 na fermentação. Vi, Salakkam e Reungsang (2017) observaram a produção máxima acumulada de $3501,00 \text{ mL H}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ a partir das condições otimizadas de concentração de amido da batata ($27,63 \text{ g.L}^{-1}$), o pH inicial (6,05) e a concentração de FeSO_4 ($63,17 \text{ mg. L}^{-1}$). Estes resultados demonstram que a otimização da fermentação do resíduo da batata tem alto potencial de produção de H_2 , como observados no presente estudo em que foi verificado uma máxima produção de H_2 ($1060,10 \text{ mL.L}^{-1}$) a partir de $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de $\text{NaOH } 6\text{M}$. Além disso, os resultados observados no trabalho de Sinha e Pandey (2014) corroboram com os observados neste presente estudo em que as produções de ácidos acéticos e butíricos se destacam como metabólitos solúveis na fermentação da casca de batata. As produções máximas destes ácidos foram de $1,27 \text{ g.L}^{-1}$ e $1,45 \text{ g.L}^{-1}$ para ácidos acético e butírico, respectivamente. A máxima produção de ácido acético ocorreu na fermentação de $38,79 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de $\text{NaOH } 6\text{M}$ (reator 7) e a máxima produção de ácido butírico ocorreu na fermentação de $45,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de H_2SO_4 (reator 2).

6 CONCLUSÕES

- A fermentação onde foi verificada a maior produtividade de H_2 de $1060,10 \text{ mL } H_2.L^{-1}$ ocorreu com $81,21 \text{ g.L}^{-1}$ de casca pré-tratada com $3,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de NaOH 6M. Apesar deste resultado, os melhores rendimentos de H_2 por DQO adicionada e por carboidratos consumidos foram observados na fermentação de $75,00 \text{ g.L}^{-1}$ de casca de batata hidrolisada com $2,00\% \text{ v.v}^{-1}$ de HCl 30%. Os melhores rendimentos foram de $262,00 \text{ mL } H_2.g^{-1}DQO$ adicionada e $3120,95 \text{ mL } H_2.g^{-1}$ de carboidrato consumido.

-O maior potencial de produção de H_2 ($771,92 \text{ mL.L}^{-1}$), menor tempo para o início da fermentação (14,37 h) e maior taxa máxima de produção de H_2 ($38,39 \text{ mL.L}^{-1}.h^{-1}$) foram verificadas no ensaio com NaOH 6M. O aumento da proporção de H_2SO_4 influenciou negativamente as variáveis cinéticas (P, λ e R_m). O pior desempenho cinético foi verificado na fermentação da casca sem hidrólise química (P: $2,86 \text{ mL.L}^{-1}$; R_m : $0,16 \text{ mL.L}^{-1}.h^{-1}$; λ : 53,17 h).

- As produções dos ácidos acético e butírico foram favorecidas nas fermentações com os três hidrolisantes químicos. A influência da casca de batata e proporções de hidrolisantes sobre as produções de álcoois e ácidos variaram de acordo com o hidrolisante utilizado.

- Estatisticamente, avaliando o Planejamento Experimental a partir do DCCR e a otimização por meio da RSM, somente a influência da concentração de casca foi significativamente positiva para o aumento da produção de H_2 nos três ensaios. A proporção de H_2SO_4 influenciou negativamente para a produção de H_2 . A validação e o ensaio de otimização permitiram confirmar a melhor eficiência na fermentação da casca de batata hidrolisada com NaOH 6M sobre os demais hidrolisantes (HCl 30% e H_2SO_4).

- A diminuição das concentrações de celulose e hemicelulose da casca de batata após a hidrólise química indicaram a liberação de carboidratos no meio líquido. Diferentemente dos ensaios com NaOH 6M e HCl 30%, a porcentagem de lignina aumentou após a hidrólise com H_2SO_4 ocorrido devido ao aumento da densidade da casca hidrolisada por causa da formação de estruturas condensadas de alta densidade. A deslignificação e mudanças na estrutura rígida da superfície da casca de batata, facilitou a disponibilização dos açúcares fermentáveis na etapa de fermentação e, conseqüentemente, conversão em de carboidratos em álcoois, ácidos orgânicos voláteis e H_2 .

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Utilizar concentrações de casca de batata em um novo planejamento experimental utilizando delineamento do composto central rotacional (DCCR), acima de 81,21 g/L, com o propósito de se determinar a concentração ótima de casca para cada hidrólise química realizada nesta pesquisa e maximizar a produção acumulada de H₂.
- Realizar análise de viabilidade econômica entre os três compostos hidrolisantes utilizados, com o objetivo de levar em consideração o uso destas técnicas em maiores escalas.
- Analisar outros compostos químicos hidrolisantes realizando um novo planejamento experimental, levando-se em consideração a viabilidade econômica.
- Avaliar os compostos inibitórios dos reatores dos três ensaios e realizar análises microbiológica para entender melhor a diminuição da produção acumulada de H₂.

REFERÊNCIAS

- ACAR, C.; DINCER, I. Comparative assessment of hydrogen production methods from renewable and non-renewable sources. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n.1, p.1-12. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.10.060>
- ADEOGUN, ABIDEEN I.; IDOWU, MOPELOLA A.; OLADEJI, OLUWAGBENGA B.; OFUDJE, EDWIN A.; AKINLOYE, ADEBOYE O. Kinetic, Thermodynamic and Optimization Studies of Dilute Acid Hydrolysis of Manihot esculenta Peels for Glucose Production. **Waste And Biomass Valorization**, v. 11, n. 3, p. 817-826, 11 set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-018-0449-9>.
- ADMINISTRAÇÃO NACIONAL OCEÂNICA E ATMOSFÉRICA. **Tendências do dióxido de carbono atmosférico**. NOAA 2020. Disponível em: <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/monthly.html>. Acesso em: 18 maio 2020.
- AFIFI, M.M. Enhancement of Lactic Acid Production by Utilizing Liquid Potato Wastes. **International Journal Of Biological Chemistry**, v. 5, n. 2, p.91-102. 2011. <http://dx.doi.org/10.3923/ijbc.2011.91.102>
- AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY - IEA). **Matriz Energética e Elétrica**. Empresa de Pesquisa Energética 2018. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica>. Acesso em: 18 maio 2020.
- AHMAD, FIAZ; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; ADORNO, MARIA ANGELA TALLARICO; MOTTERAN, FABRICIO; SILVA, EDSON LUIZ; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO. Methane Production from Hydrogen Peroxide Assisted Hydrothermal Pretreatment of Solid Fraction Sugarcane Bagasse. **Waste And Biomass Valorization**, v. 11, n. 1, p. 31-50, 17 set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-018-0452-1>.
- AL-ZAREER, MAAN; DINCER, IBRAHIM; ROSEN, MARC A. Production of hydrogen-rich syngas from novel processes for gasification of petroleum cokes and coals. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 20, p. 11577-11592. abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.10.108>.
- APHA – American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 22 ed., Washington DC, USA, 2012.

- AQUINO, S.F., SILVA, S.Q., CHERNICHARO, C.A. Practical aspects of the chemical oxygen demand (COD) test applied to the analysis of anaerobic effluents. **Eng. Sanitária e Ambiental II**, v. 11, n. 4, p.295–304. 2006. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522006000400001>.
- ARAPOGLOU, D.; VARZAKAS, TH.; VLYSSIDES, A.; ISRAILIDES, C. Ethanol production from potato peel waste (PPW). **Waste Management**, v. 30, n. 10, p.1898-1902.2010. out. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2010.04.017>.
- ARRIAGA, SONIA; ROSAS, IZCOATL; ALATRISTE-MONDRAGÓN, FELIPE; RAZO-FLORES, ELÍAS. Continuous production of hydrogen from oat straw hydrolysate in a biotrickling filter. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 5, p.3442-3449. mar. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.12.019>.
- ASHTON, GLENN. **South African Waste Management in Crisis**. 2008. Disponível em: <http://sacsis.org.za/site/article/104.1>. Acesso em: 26 maio 2020.
- ATLAS GLOBAL DE CARBONO. **Emissões de CO₂**. 2018. Disponível em: <http://globalcarbonatlas.org/en/content/welcome-carbon-atlas>. Acesso em: 18 maio 2020.
- BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL. **Matriz Energética Nacional 2018**. Empresa de Pesquisa Energética 2018. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2018>. Acesso em: 18 maio 2020.
- BEZERRA, MARCOS ALMEIDA; SANTELLI, RICARDO ERTHAL; OLIVEIRA, ELIANE PADUA; VILLAR, LEONARDO SILVEIRA; ESCALEIRA, LUCIANE AMÉLIA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v.76, n. 5, p.965–977. 15 set. 2008. <http://dx.doi:10.1016/j.talanta.2008.05.019>.
- BOBOESCU, I.Z., ILIE, M., GHERMAN, V.D., MIREL, I., PAP, B., NEGREA, A., KONDOROSI, É., BÍRÓ, T., MARÓTI, G. Revealing the factors influencing a fermentative biohydrogen production process using industrial wastewater as fermentation substrate. **Biotechnol. Biofuels**, v.7, p.1–15. <http://dx.doi.org/10.1186/s13068-014-0139-1>
- BROOMFIELD, M., DAVIES, J., HARRISON, R. & BELLAMY, N. **Review of**

Environmental and Health Effects of Management of Municipal Solid Waste. Birmingham. Department for Environment, Food and Rural Affairs. 18 p. 2006.

BUNDHOO, M.A.Z., MOHEE, R. Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. **Int. J. Hydrogen Energy**, v.41, n.16, p.6713–6733. maio 2016. [http://dx.doi:10.1016/j.ijhydene.2016.03.057](http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.03.057).

CABROL, LEA; MARONE, ANTONELLA; TAPIA-VENEGAS, ESTELA; STEYER, JEAN-PHILIPPE; RUIZ-FILIPPI, GONZALO; TRABLY, ERIC. Microbial ecology of fermentative hydrogen producing bioprocesses: useful insights for driving the ecosystem function: useful insights for driving the ecosystem function. **Fems Microbiology Reviews**, v. 41, n. 2, p. 158-181. 9 fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.1093/femsre/fuw043>.

CANILHA, LARISSA; CHANDEL, ANUJ KUMAR; MILESSI, THAIS SUZANE DOS SANTOS; ANTUNES, FELIPE ANTÔNIO FERNANDES; FREITAS, WAGNER LUIZ DA COSTA; FELIPE, MARIA DAS GRAÇAS ALMEIDA; SILVA, SILVIO SILVÉRIO DA. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **J. Biomed. Biotechnol.** v.2012, p. 1-15, 2012. [http://dx.doi:10.1155/2012/989572](http://dx.doi.org/10.1155/2012/989572).

CAO, GUANGLI; REN, NANQI; WANG, AIJIE; LEE, DUU-JONG; GUO, WANQIAN; LIU, BINGFENG; FENG, YUJIE; ZHAO, QINGLIANG. Acid hydrolysis of corn stover for biohydrogen production using *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p.7182-7188. set. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.07.009>.

CÁRDENAS, E.L.M., ZAPATA-ZAPATA, A.D., KIM, D. Hydrogen production from coffee mucilage in dark fermentation with organic wastes. **Energies**, v.12, n.1, p.1–12. 2019. <https://doi.org/10.3390/en12010071>.

CAVALCANTE, WILLAME DE ARAÚJO; LEITÃO, RENATO CARRHÁ; GEHRING, TITO A.; ANGENENT, LARGUS T.; SANTAELLA, SANDRA TÉDDE. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: a review: A review. **Process Biochemistry**, v. 54, p. 106-119, mar. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.12.024>.

- CHANG, ALEX C.C.; TU, YING-HSUAN; HUANG, MING-HSIANG; LAY, CHYI-HOW; LIN, CHIU-YUE. Hydrogen production by the anaerobic fermentation from acid hydrolyzed rice straw hydrolysate. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 21, p.14280-14288. out. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.04.142>.
- CHANG, MENGLEI; LI, DENIAN; WANG, WEN; CHEN, DONGCHU; ZHANG, YUYUAN; HU, HUAWEN; YE, XIUFANG. Comparison of sodium hydroxide and calcium hydroxide pretreatments on the enzymatic hydrolysis and lignin recovery of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1055-1058. nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.101>.
- CHEN, W.S.; YE, Y.; STEINBUSCH, K.J.J.; STRIK, D.P.B.T.B.; BUISMAN, C.J.N. Methanol as an alternative electron donor in chain elongation for butyrate and caproate formation. **Biomass And Bioenergy**, v. 93, p. 201-208, out. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.07.008>.
- CHEONG, D. Y.; HANSEN, C. L. Bacterial stress enrichment enhances anaerobic hydrogen production in cattle manure sludge. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 72, n.4, p. 635-643. 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0313-x>.
- CHOHAN, NASEEHA A.; ARUWAJOYE, G.S.; SEWSYNKER-SUKAI, Y.; KANA, E.B. Valorisation of potato peel wastes for bioethanol production using simultaneous saccharification and fermentation: Process optimization and kinetic assessment. **Renewable Energy**, v. 146, p.1031-1040. fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.042>.
- CHONG, POH SHE; JAHIM, JAMALIAH MD.; HARUN, SHUHaida; LIM, SWEE SU; MUTALIB, SAHILAH ABD.; HASSAN, OSMAN; NOR, MOHD TUSIRIN MOHD. Enhancement of batch biohydrogen production from prehydrolysate of acid treated oil palm empty fruit bunch. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 22, p.9592-9599. jul. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.01.154>.
- CHU, CHEN-YEON; SEN, BISWARUP; LAY, CHYI-HOW; LIN, YI-CHUN; LIN, CHIU-YUE. Direct fermentation of sweet potato to produce maximal hydrogen and ethanol. **Applied Energy**, v. 100, p.10-18. dez. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.06.023>.

- CUI M, YUAN Z, ZHI X, SHEN J. Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria. **Int J Hydrogen Energy**. v. 34, n.19, p. 7971 e 7978. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.08.022>.
- CUI, MAOJIN; SHEN, JIANQUAN. Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 1, p.1120-1124. jan. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.078>.
- DATAR, R; HUANG, J; MANESS, P; A MOHAGHEGHI,; CZERNIK, S; CHORNET, E. Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 8, p.932-939. jun. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.09.027>.
- DEPARTMENT OF ENERGY OFFICE OF BIOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL RESEARCH. **Estrutura da biomassa lignocelulósica**. 2005. Disponível em: <https://public.ornl.gov/site/gallery>. Acesso em: 07 jul. 2020.
- DOMAŃSKI, JAROSŁAW; MARCHUT-MIKOŁAJCZYK, OLGA; CIECIURA-WŁOCH, WERONIKA; PATELSKI, PIOTR; DZIEKOŃSKA-KUBCZAK, URSZULA; JANUSZEWICZ, BARTŁOMIEJ; ZHANG, BOLIN; DZIUGAN, PIOTR. Production of Methane, Hydrogen and Ethanol from *Secale cereale* L. Straw Pretreated with Sulfuric Acid. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 1013, 24 fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25041013>.
- DUBOIS, MICHEL.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, FRED. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, mar. 1956. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- DURRUTY, IGNACIO; ZARITZKY, NOEMÍ E.; GONZÁLEZ, JORGE FROILÁN. Organic fractions influence on biogas generation from potato residues. Kinetic model generalization. **Biomass And Bioenergy**, v. 59, p.458-467. dez. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.09.013>.
- DURRUTY, IGNACIO; ZARITZKY, NOEMÍ E.; GONZÁLEZ, JORGE FROILÁN. Organic fractions influence on biogas generation from potato residues. Kinetic model generalization. **Biomass And Bioenergy**, v. 59, p. 458-467, dez. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.09.013>.

- DUTTA, S. A review on production, storage of hydrogen and its utilization as an energy resource. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1148–1156. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.07.037>.
- EKER, SERKAN; ERKUL, BURCU. Biohydrogen production by extracted fermentation from sugar beet. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 23, p.10645-10654. jun. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.01.032>.
- ELBESHBISHY, ELSAYED; DHAR, BIPRO RANJAN; NAKHLA, GEORGE; LEE, HYUNG-SOOL. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p.656-668. nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.075>.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema de Produção da Batata: Introdução e importância econômica**. EMBRAPA 2015. Disponível em: <www.spo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 26 maio. 2020.
- FANG, HERBERT H.P.; LIU, HONG. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 1, p.87-93. mar. 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/s0960-8524\(01\)00110-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00110-9).
- FANGKUM, ARUNSRI; REUNGSANG, ALISSARA. Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 14, p.8687-8696. jul. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.05.119>.
- FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P. **Nutrição mineral, calagem e adubação da batateira**. Botucatu: FEPAF; Itapetininga: ABBA. 121 p. 2012.
- FERREIRA, TIAGO BORGES; REGO, GABRIEL CATUCCI; RAMOS, LUCAS RODRIGUES; SOARES, LAÍS AMÉRICO; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; OLIVEIRA, LORENA LIMA DE; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO; SILVA, EDSON LUIZ. Selection of metabolic pathways for continuous hydrogen production under thermophilic and mesophilic temperature conditions in anaerobic fluidized bed reactors. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 41, p.18908-18917. out. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.08.177>.
- FREITAS, ISABELE BAIMA FERREIRA; MENEZES, CAMILA APARECIDA DE; SILVA, EDSON LUIZ. An alternative for value aggregation to the sugarcane chain:

- Biohydrogen and volatile fatty acids production from sugarcane molasses in mesophilic expanded granular sludge bed reactors. **Fuel**, v. 260, p.116419-116429. jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116419>.
- FRIEDMAN, Mendel. Potato Glycoalkaloids and Metabolites: roles in the plant and in the diet.: Roles in the Plant and in the Diet. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8655-8681. nov. 2006. <http://dx.doi.org/10.1021/jf061471t>.
- FRIEDMAN, MENDEL; KOZUKUE, NOBUYUKI; KIM, HYUN-JEONG; CHOI, SUK-HYUN; MIZUNO, MASASHI. Glycoalkaloid, phenolic, and flavonoid content and antioxidative activities of conventional nonorganic and organic potato peel powders from commercial gold, red, and Russet potatoes. **Journal Of Food Composition And Analysis**, v. 62, p. 69-75. set. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.019>.
- GADOW, SAMIR I.; JIANG, HONGYU; HOJO, TOSHIMASA; LI, YU-YOU. Cellulosic hydrogen production and microbial community characterization in hyper-thermophilic continuous bioreactor. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 18, p.7259-7267. jun. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.04.041>.
- GALBE, M., ZACCHI, G. Pretreatment: The key to efficient utilization of lignocellulosic materials. **Biomass and Bioenergy**. v 46, 70–78. nov. 2012. <http://dx.doi:10.1016/j.biombioe.2012.03.026>.
- GARCÍA-SÁNCHEZ, RODOLFO; RAMOS-IBARRA, ROBERTO; GUATEMALA-MORALES, GUADALUPE; ARRIOLA-GUEVARA, ENRIQUE; TORIZ-GONZÁLEZ, GUILLERMO; CORONA-GONZÁLEZ, ROSA ISELA. Photofermentation of tequila vinasses by *Rhodospseudomonas pseudopalustris* to produce hydrogen. **International Journal Of Hydrogen Energy**. v. 43, n. 33, p. 15857-15869. ago. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.07.015>.
- GÓMEZ-HEINCKE, DIANA; MARTÍNEZ, INMACULADA; STADING, MATS; GALLEGOS, CRÍSPULO; PARTAL, PEDRO. Improvement of mechanical and water absorption properties of plant protein based bioplastics. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 21-29. dez. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.022>.
- GRAÇA, JOSÉ; PEREIRA, HELENA. Suberin Structure in Potato Periderm: glycerol, long-chain monomers, and glyceryl and feruloyl dimers: Glycerol, Long-Chain Monomers, and Glyceryl and Feruloyl Dimers. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5476-5483. nov. 2000. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0006123>.

- GRESES, SILVIA; TOMÁS-PEJÓ, ELIA; GÓNZALEZ-FERNÁNDEZ, CRISTINA. Agroindustrial waste as a resource for volatile fatty acids production via anaerobic fermentation. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122486, fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122486>.
- GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; STEINBUSCH, K.J.J.; HAMELERS, H.V.M.; BUISMAN, C.J.N. Improving medium chain fatty acid productivity using chain elongation by reducing the hydraulic retention time in an upflow anaerobic filter. **Bioresource Technology**, v. 136, p.735-738. maio 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.114>.
- GUO, XIN MEI; TRABLY, ERIC; LATRILLE, ERIC; CARRÈRE, HÉLÈNE; STEYER, JEAN-PHILIPPE. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p.10660-10673. out. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.03.008>.
- HALLENBECK, P.C. Fermentative hydrogen production: Principles, progress, and prognosis. **Int. J. Hydrogen Energy**. v 34, 7379–7389. set. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.12.080>.
- HALLENBECK, P.C., BENEMANN, J.R. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. **Int. J. Hydrogen Energy**. v 27, 1185–1193. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00131-3](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00131-3).
- HALLENBECK, P.C., GHOSH, D. Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward. **Trends Biotechnol.** v.27, n. 5 p.287–297. maio 2009. <http://dx.doi:10.1016/j.tibtech.2009.02.004>
- HAN, HONGLIANG; WEI, LILING; LIU, BIQIAN; YANG, HAIJUN; SHEN, JIANQUAN. Optimization of biohydrogen production from soybean straw using anaerobic mixed bacteria. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 17, p.13200-13208. set. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.03.073>.
- HARPER, STEPHEN R.; POHLAND, FREDERICK G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology And Bioengineering**, v. 28, n. 4, p.585-602. abr. 1986. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.260280416>

- HAWKES, F; HUSSY, I; KYAZZE, G; DINSDALE, R; HAWKES, D. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress. : Principles and progress. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 2, p. 172-184, fev. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.08.014>.
- HEIJNE, ANNEMIEK TER; GEPPERT, FLORIAN; SLEUTELS, TOM H. J. A.; BATLLE-VILANOVA, PAU; LIU, DANDAN; PUIG, SEBASTIÀ. Mixed Culture Biocathodes for Production of Hydrogen, Methane, and Carboxylates. **Bioelectrosynthesis**, p.203-229. 2017. http://dx.doi.org/10.1007/10_2017_15.
- HENDRIKS, A.T.W.M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p.10-18. jan. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>.
- HIJOSA-VALSERO, MARÍA; PANIAGUA-GARCÍA, ANA I.; DÍEZ-ANTOLÍNEZ, REBECA. Industrial potato peel as a feedstock for biobutanol production. **New Biotechnology**, v. 46, p.54-60. nov. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2018.07.002>.
- HOSSAIN, TAHMINA; MIAH, ABDUL BATHEN; MAHMUD, SIRAJE ARIF; MAHIN, ABDULLAH-AL. Enhanced Bioethanol Production from Potato Peel Waste Via Consolidated Bioprocessing with Statistically Optimized Medium. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, v. 186, n. 2, p.425-442. 12 abr. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-018-2747-x>.
- HUANG, YU; WEI, XIAOYANG; ZHOU, SHIGUANG; LIU, MINGYONG; TU, YUANYUAN; LI, AO; CHEN, PENG; WANG, YANTING; ZHANG, XUEWEN; TAI, HONGZHONG. Steam explosion distinctively enhances biomass enzymatic saccharification of cotton stalks by largely reducing cellulose polymerization degree in *G. barbadense* and *G. hirsutum*. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 224-230. abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.020>.
- HWANG, JAE-HOON; CHOI, JEONG-A.; OH, YOU-KWAN; ABOU-SHANAB, REDA A.I.; SONG, HOCHEOL; MIN, BOOKI; CHO, YUNCHUL; NA, JEONG-GEOL; KOO, JAKON; JEON, BYONG-HUN. Hydrogen production from sulfate- and ferrous-enriched wastewater. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 21, p.13984-13990. out. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.03.156>.
- IBRAHIM, MOHAMAD FAIZAL; ABD-AZIZ, SURAINI; YUSOFF, MOHD. EZREEZA MOHAMED; PHANG, LAI YEE; HASSAN, MOHD ALI. Simultaneous enzymatic

saccharification and ABE fermentation using pretreated oil palm empty fruit bunch as substrate to produce butanol and hydrogen as biofuel. **Renewable Energy**, v. 77, p.447-455. maio 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.12.047>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Local Panorama Pesquisas Produção Agrícola - Lavoura Temporária**. Rio de Janeiro: IBGE 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10193>. Acesso em: 21 abr. 2020.

IZMIRLIOGLU, GULTEN; DEMIRCI, ALI. Enhanced Bio-Ethanol Production from Industrial Potato Waste by Statistical Medium Optimization. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 10, p.24490-24505. 15 out. 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms161024490>.

JACOB, SAMUEL; BANERJEE, RINTU. Modeling and optimization of anaerobic codigestion of potato waste and aquatic weed by response surface methodology and artificial neural network coupled genetic algorithm. **Bioresource Technology**. v. 214, p.386-395. ago. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.068>.

JO, JI HYE; LEE, DAE SUNG; PARK, DONGHEE; CHOE, WOO-SEOK; PARK, JONG MOON. Optimization of key process variables for enhanced hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* using statistical methods. **Bioresour. Technol.** 99, 2061–2066. abr. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.027>

JUNG, KYUNG-WON; KIM, DONG-HOON; SHIN, HANG-SIK. Fermentative hydrogen production from *Laminaria japonica* and optimization of thermal pretreatment conditions. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p.2745-2750. fev. 2011.. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.042>.

KAPDAN, L. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 569-582. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.09.015>.

KARAPINAR, ILGI; YILDIZ, PELIN GOKFILIZ; PAMUK, RECEP TUGCAN; GORGEC, FIRUZE KARAOSSANOGLU. The effect of hydraulic retention time on thermophilic dark fermentative biohydrogen production in the continuously operated packed bed bioreactor. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 5, p. 3524-3531, jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.12.195>.

- KHANAL, S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. **Int. J. Hydrog. Energy**, v.29, n.29, p.1123–1131. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2003.11.002>
- KHAWLA, BEN JEDDOU; SAMEH, MAKTOUF; IMEN, GHAZALA; DONYES, FRIKHA; DHOUBA, GHRIBI; RAOUDHA, ELLOUZ GHORBEL; OUMÈMA, NOURI-ELLOUZ. Potato peel as feedstock for bioethanol production: a comparison of acidic and enzymatic hydrolysis: A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops And Products**, v. 52, p. 144-149, jan. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.025>.
- KIM, D.H.; KIM, M.S. Hydrogenases for biological hydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8423-8431. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.113>
- KIM, SANG-HYOUN; HAN, SUN-KEE; SHIN, HANG-SIK. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 199-207, jan. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.013>.
- KIRTAY, ELIF. Recent advances in production of hydrogen from biomass. **Energy Conversion And Management**, v. 52, n. 4, p.1778-1789. abr. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2010.11.010>.
- KO, JA KYONG; UM, YOUNGSOON; PARK, YONG-CHEOL; SEO, JIN-HO; KIM, KYOUNG HEON. Compounds inhibiting the bioconversion of hydrothermally pretreated lignocellulose. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v.99, n.10, p.4201–4212. 24 abr. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6595-0>.
- KOSSE, PASCAL; LÜBKEN, MANFRED; WICHERN, MARC. Selective inhibition of methanogenic archaea in leach bed systems by sodium 2-bromoethanesulfonate. **Environmental Technology & Innovation**, v. 5, p. 199-207. abr. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2016.03.003>.
- KUCEK LA, NGUYEN M, ANGENENT LT. Conversion of L-lactate into *n*-caproate by a continuously fed reactor microbiome. **Water Res**, v.93, p.163–171. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.018>
- KUMAR, A.NARESH; MOHAN, S.VENKATA. Acidogenic valorization of vegetable waste

- for short chain carboxylic acids and biohydrogen production: influence of pretreatment and pH. : Influence of pretreatment and pH. **Journal Of Cleaner Production**, v. 203, p. 1055-1066, dez. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.08.198>.
- KUMAR, G.; BAKONYI, P.; PERIYASAMY, S.; KIM, S.H.; NEMESTÓTHY, N.; BÉLAFI-BAKÓ, K. Lignocellulose biohydrogen: practical challenges and recent progress: Practical challenges and recent progress. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 728-737, abr. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.042>.
- KUMAR, R., SINGH, S., SINGH, O. V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** v.35, n.5, p.377–391. 13 mar. 2008. <http://dx.doi.org/10.1007/s10295-008-0327-8>.
- LAI, ZHICHENG; ZHU, MUZI; YANG, XIAOFENG; WANG, JUFANG; LI, SHUANG. Optimization of key factors affecting hydrogen production from sugarcane bagasse by a thermophilic anaerobic pure culture. **Biotechnol. Biofuels**, v.7, n.1, p.1–11. 20 ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1186/s13068-014-0119-5>.
- LAY, CHYI-HOW; LIN, HAO-CHI; SEN, BISWARUP; CHU, CHEN-YEON; LIN, CHIU-YUE. Simultaneous hydrogen and ethanol production from sweet potato via dark fermentation. **Journal Of Cleaner Production**, v. 27, p.155-164. maio 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2011.12.027>.
- LEE, DONG-YEOL; EBIE, YOSHITAKA; XU, KAI-QIN; LI, YU-YOU; INAMORI, YUHEI. Continuous H₂ and CH₄ production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p.42-47. jan. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.037>.
- LEE, K. S.; LIN P. J.; CHANG, J. S. Temperature effects on biohydrogen production in a granular sludge bed induced by activated carbon carriers. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 465-472, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2005.04.024>.
- LEE, K; HSU, y; LO, y; LIN, P; LIN, C; CHANG, J. Exploring optimal environmental factors for fermentative hydrogen production from starch using mixed anaerobic microflora. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 5, p.1565-1572. mar. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.10.019>.

- LÉON, A. Hydrogen technology: mobile and portable applications: **Springer Science & Business**, 704 p. 2008.
- LETTINGA, GATZE; REBAC, SALIH; PARSHINA, SOFIA; NOZHEVNIKOVA, ALLA; VAN LIER, JULES B.; STAMS, ALFONS J. M. High-Rate Anaerobic Treatment of Wastewater at Low Temperatures. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 1696-1702, 1 abr. 1999. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.65.4.1696-1702.1999>.
- LEVIN, D. B.; PITT, L.; LOVE, M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, p. 173–189, 2004. [http://dx.doi.org/10.1016/S0360-3199\(03\)00094-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0360-3199(03)00094-6).
- LI, J., HENRIKSSON, G., GELLERSTEDT, G. Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion. **Bioresour. Technol.** 98, 3061–3068. nov. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.018>
- LI, YAN; ZHANG, XIAODONG; XU, HAIPENG; MU, HUI; HUA, DONGLIANG; JIN, FUQIANG; MENG, GUANGFAN. Acidogenic properties of carbohydrate-rich wasted potato and microbial community analysis: effect of ph. : Effect of pH. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, v. 128, n. 1, p. 50-55, jul. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.12.009>.
- LIANG, SHAOBO; MCDONALD, ARMANDO G. Chemical and Thermal Characterization of Potato Peel Waste and Its Fermentation Residue as Potential Resources for Biofuel and Bioproducts Production. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 62, n. 33, p.8421-8429. 11 ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1021/jf5019406>.
- LIANG, SHAOBO; MCDONALD, ARMANDO G.; COATS, ERIK R. Lactic acid production with undefined mixed culture fermentation of potato peel waste. **Waste Management**, v. 34, n. 11, p.2022-2027. nov. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.07.009>.
- LIN, C. N.; WU, S. Y.; CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicone-gel-immobilized anaerobic sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 2200-2210. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.05.012>
- LIU, XIAOYING; ZICARI, STEVEN M.; LIU, GUANGQING; LI, YEQING; ZHANG, RUIHONG. Pretreatment of wheat straw with potassium hydroxide for increasing

- enzymatic and microbial degradability. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 150-157, jun. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.047>.
- LIU, Y., WANG, Y. Directional enhancement of fermentative coproduction of hydrogen and acetic acid from glucose via control of headspace pressure. **Int. J. Hydrogen Energy**, v 42, 4095–4101. fev. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.09.083>.
- LIU, Y.; WEN, Z.; LIAO, W.; LIU, C.; CHEN, S. Optimization of the Process for the Production of L (+) - Lactic Acid from Cull Potato by *Rhizopus oryzae*. **Engineering In Life Sciences**, v. 5, n. 4, p.343-349. ago. 2005. <http://dx.doi.org/10.1002/elsc.200520079>.
- LO, YUNG CHUNG; HUANG, CHI-YU; FU, TZU-NING; CHEN, CHUN-YEN; CHANG, JO-SHU. Fermentative hydrogen production from hydrolyzed cellulosic feedstock prepared with a thermophilic anaerobic bacterial isolate. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 15, p.6189-6200. ago. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.05.104>.
- LO, YUNG-CHUNG; SU, YI-CHEN; CHENG, CHIEH-LUN; CHANG, JO-SHU. Biohydrogen production from pure and natural lignocellulosic feedstock with chemical pretreatment and bacterial hydrolysis. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 21, p.13955-13963. out. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.03.100>.
- LOPES, HELBERTH JÚNNIOR SANTOS; RAMOS, LUCAS RODRIGUES; MENEZES, CAMILA APARECIDA DE; SILVA, EDSON LUIZ. Simultaneous hydrogen and ethanol production in a thermophilic AFBR: a comparative approach between cellulosic hydrolysate single fermentation and the fermentation of glucose and xylose as co-substrates. **Cellulose**, v. 27, n. 5, p. 2599-261217. jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-020-03000-4>.
- MA, X.j.; CAO, S.l.; LIN, L.; LUO, X.l.; HU, H.c.; CHEN, L.h.; HUANG, L.l. Hydrothermal pretreatment of bamboo and cellulose degradation. **Bioresour. Technol.** v.148, p.408–413. nov. 2013. <https://doi:10.1016/j.biortech.2013.09.021>.
- MAINTINGUER, S; FERNANDES, B; DUARTE, I; SAAVEDRA, N; ADORNO, M; VARESCHE, M. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 16, p. 4309-4317, ago. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.053>.

- MALAKAR, BARASA; DAS, DEBASISH; MOHANTY, KAUSTUBHA. Optimization of glucose yield from potato and sweet lime peel waste through different pre-treatment techniques along with enzyme assisted hydrolysis towards liquid biofuel. **Renewable Energy**, v. 145, p. 2723-2732, jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2019.08.037>.
- MALDONADO, ALMA FERNANDA SÁNCHEZ; MUDGE, ELIZABETH; GÄNZLE, MICHAEL G.; SCHIEBER, ANDREAS. Extraction and fractionation of phenolic acids and glycoalkaloids from potato peels using acidified water/ethanol-based solvents. **Food Research International**, v. 65, p. 27-34. Nov. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.018>.
- MARONE, ANTONELLA; IZZO, GIULIO; MENTUCCIA, LUCIANO; MASSINI, GIULIA; PAGANIN, PATRIZIA; ROSA, SILVIA; VARRONE, CRISTIANO; SIGNORINI, ANTONELLA. Vegetable waste as substrate and source of suitable microflora for biohydrogen production. **Renewable Energy**, v. 68, p. 6-13, ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.01.013>.
- MARS, ASTRID E.; VEUSKENS, TEUN; BUDDE, MIRIAM A.W.; VAN DOEVEREN, PATRICK F.N.M.; LIPS, STEEF J.; BAKKER, ROBERT R.; VRIJE, TRUUS DE; CLAASSEN, PIETERNEL A.M. Biohydrogen production from untreated and hydrolyzed potato steam peels by the extreme thermophiles *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga neapolitana*. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 15, p.7730-7737. ago. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.05.063>.
- MATHEWS, J.; WANG, G. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 7404-7416. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.05.078>
- MENEZES, CAMILA APARECIDA DE; SILVA, EDSON LUIZ. Hydrogen production from sugarcane juice in expanded granular sludge bed reactors under mesophilic conditions: the role of homoacetogenesis and lactic acid production: The role of homoacetogenesis and lactic acid production. **Industrial Crops And Products**, v. 138, p. 111586-11592. out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111586>.
- MENEZES, E.G.T., DO CARMO, J.R., ALVES, J.G.L.F., MENEZES, A.G.T., GUIMARÃES, I.C., QUEIROZ, F., PIMENTA, C.J. Optimization of alkaline pretreatment of coffee

- pulp for production of bioethanol. *Biotechnol. Prog.* v.30, p.451–462. 2014. <https://doi.org/10.1002/btpr.1856>.
- MOHAN, S. VENKATA; PANDEY, ASHOK. Biohydrogen Production. **Biohydrogen**, p.1-24, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-59555-3.00001-5>.
- MONLAU, FLORIAN; BARAKAT, ABDELLATIF; TRABLY, ERIC; DUMAS, CLAIRE; STEYER, JEAN-PHILIPPE; CARRÈRE, HÉLÈNE. Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. **Environmental Science and Technology**, v. 43, p. 260–322, jan. 2013. <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2011.604258>.
- MONTGOMERY, D.C. Design and Analysis of Experiments. **Technometrics**, v. 48, n. 1, p. 158-158, fev. 2006. <http://dx.doi.org/10.1198/tech.2006.s372>.
- MOSEY, F. E. Mathematical Modelling of the anaerobic digesiton process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science & Technology**, v. 15, p. 209–232. 1983. <http://dx.doi:10.1007/s11157-005-7191-z>
- MOTA, V.T.; FERRAZ JÚNIOR, A.D.N.; TRABLY, E.; ZAIAT, M. Biohydrogen production at pH below 3.0: Is it possible? **Water Research**, v. 128, p. 350-361. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.060>.
- MUÑOZ-PÁEZ, K.M.; RUIZ-ORDÁZ, N.; GARCÍA-MENA, J.; PONCE-NOYOLA, M.T.; RAMOS-VALDIVIA, A.C.; ROBLES-GONZÁLEZ, I.V.; VILLA-TANACA, L.; BARRERA-CORTÉS, J.; RINDERKNECHT-SEIJAS, N.; POGGI-VARALDO, H.M. Comparison of biohydrogen production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35 °C. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 28, p.12570-12579. set. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.09.172>.
- NEGRI, MARCO; BACENETTI, JACOPO; MANFREDINI, ANDREA; LOVARELLI, DANIELA; FIALA, MARCO; MAGGIORE, TOMMASO MARIA; BOCCHI, STEFANO. Evaluation of methane production from maize silage by harvest of different plant portions. **Biomass And Bioenergy**, v. 67, p.339-346. ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.05.016>.
- NERY, VALÉRIA DEL; ALVES, INAÊ; DAMIANOVIC, MÁRCIA HELENA RISSATO ZAMARIOLLI; PIRES, EDUARDO CLETO. Hydraulic and organic rates applied to

- pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, n.9, p. 411–417, dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.10.002>.
- NI, M; LEUNG, M; SUMATHY, K; LEUNG, D. Potential of renewable hydrogen production for energy supply in Hong Kong. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 10, p. 1401–1412. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2005.11.005>.
- NISSILÄ, MARIKA E.; LAY, CHYI-HOW; PUHAKKA, JAAKKO A. Dark fermentative hydrogen production from lignocellulosic hydrolyzates – A review. **Biomass And Bioenergy**, v. 67, p.145-159. ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.04.035>.
- NISSILÄ, MARIKA E.; LI, YA-CHIEH; WU, SHU-YII; LIN, CHIU-YUE; PUHAKKA, JAAKKO A. Hydrogenic and methanogenic fermentation of birch and conifer pulps. **Applied Energy**, v. 100, p.58-65. dez. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.06.015>.
- OLYMPUS, **3D Measuring Laser Microscope LEXT OLS4000**. Disponível em: <www.olympus-ims.com/pt/metrology/ols4000>. Acesso em: 09 jan. 2020.
- OZKAN, LEYLA; ERGUDER, TUBA H.; DEMIRER, GOKSEL N. Effects of pretreatment methods on solubilization of beet-pulp and bio-hydrogen production yield. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 1, p.382-389. jan. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.10.006>.
- PAN, CHUNMEI; ZHANG, SHUFANG; FAN, YAOTING; HOU, HONGWEI. Bioconversion of corncob to hydrogen using anaerobic mixed microflora. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 7, p.2663-2669. abr. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.04.023>.
- PANAGIOTOPOULOS, IOANNIS A.; KARAOGLANOGLU, LAZAROS S.; KOULLAS, DIMITRIOS P.; BAKKER, ROB R.; CLAASSEN, PIETERNEL A.M.; KOUKIOS, EMMANUEL G. Technical suitability mapping of feedstocks for biological hydrogen production. **Journal Of Cleaner Production**, v. 102, p.521-528. set. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.055>.
- PARANHOS, A. G. DE O.; SILVA, E. L. Optimized 1,3-propanediol production from crude glycerol using mixed cultures in batch and continuous reactors. **Bioprocess and**

- Biosystems Engineering**, v. 41, n. 12, p. 1807–1816. 30 ago. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-018-2003-3>.
- PARAWIRA, WILSON; MURTO, MARIKA; READ, JOHN S; MATTIASSON, BO. Volatile fatty acid production during anaerobic mesophilic digestion of solid potato waste. **Journal Of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 79, n. 7, p. 673-677, 8 jun. 2004. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1012>.
- PARK, JEONG-HOON; CHEON, HYO-CHANG; YOON, JEONG-JUN; PARK, HEE-DEUNG; KIM, SANG-HYOUN. Optimization of batch dilute-acid hydrolysis for biohydrogen production from red algal biomass. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p.6130-6136. maio 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.01.050>.
- PARK, JEONG-HOON; KIM, DO-HYUNG; KIM, SANG-HYOUN; YOON, JEONG-JUN; PARK, HEE-DEUNG. Effect of substrate concentration on the competition between Clostridium and Lactobacillus during biohydrogen production. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 25, p. 11460-11469. jun. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.08.150>.
- PATTRA, SAKCHAI; SANGYOKA, SUKSAMAN; BOONMEE, MALLIKA; REUNGSANG, ALISSARA. Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by Clostridium butyricum. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p.5256-5265. out. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.05.008>.
- PAUDEL, SHUKRA RAJ; BANJARA, SUSHANT PRASAD; CHOI, OH KYUNG; PARK, KI YOUNG; KIM, YOUNG MO; LEE, JAE WOO. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1194–1205, dez. 2017. doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182.
- PERCIVAL ZHANG, Y.H., HIMMEL, M.E., MIELENZ, J.R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. **Biotechnol. Adv.** v. 24, n. 5, p. 452-481. set. 2006. [doi:10.1016/j.biotechadv.2006.03.003](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.003)
- PETROSYAN, HRIPSIME; VANYAN, LIANA; TRCHOUNIAN, ARMEN; TRCHOUNIAN, KAREN. Defining the roles of the hydrogenase 3 and 4 subunits in hydrogen production during glucose fermentation: A new model of a H₂-producing hydrogenase

- complex. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 8, p. 5192-5201. fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.09.204>.
- PHOWAN, P.; REUNGSANG, A.; DANVIRUTAI, P. Bio-hydrogen Production from Cassava Pulp Hydrolysate using Co-culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*. **Biotechnology(faisalabad)**, v. 9, n. 3, p.348-354. 1 mar. 2010. <http://dx.doi.org/10.3923/biotech.2010.348.354>.
- PHOWAN, PANTIPA; DANVIRUTAI, PAIBOON. Hydrogen production from cassava pulp hydrolysate by mixed seed cultures: Effects of initial pH, substrate and biomass concentrations. **Biomass And Bioenergy**, v. 64, p.1-10. maio 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.03.057>.
- PHUKOETPHIM, NIPHAPHAT; SALAKKAM, APILAK; LAOPAIBOON, PATTANA; LAOPAIBOON, LAKKANA. Kinetic models for batch ethanol production from sweet sorghum juice under normal and high gravity fermentations: Logistic and modified Gompertz models. **Journal Of Biotechnology**, v. 243, p.69-75. fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.12.012>.
- PINHO, CAROLINA LILIBETH CARVALHO DE; OLIVEIRA, CAROLINE ELIZA SGARBOSA DE; COIMBRA, JAMILLE COELHO; COTRIM, WESKLEY DA SILVA. Produção de ácido láctico em meio à base de efluentes da indústria de alimentos por cultura láctea mista imobilizada. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 22, p.1-10.2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.10018>.
- POIRIER, SIMON; STEYER, JEAN-PHILIPPE; BERNET, NICOLAS; TRABLY, ERIC. Mitigating the variability of hydrogen production in mixed culture through bioaugmentation with exogenous pure strains. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 4, p. 2617-2626. jan. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.11.116>.
- PRIEDNIECE, VIVITA; SPALVINS, KRISS; IVANOV, KASPARS; PUBULE, JELENA; BLUMBERGA, DAGNIJA. Bioproducts from Potatoes. A Review. **Environmental And Climate Technologies**, v. 21, n. 1, p.18-27. 1 dez. 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/rtuect-2017-0013>.
- QUÉMÉNEUR, MARIANNE; HAMELIN, JÉRÔME; BARAKAT, ABDELLATIF; STEYER, JEAN-PHILIPPE; CARRÈRE, HÉLÈNE; TRABLY, ERIC. Inhibition of fermentative hydrogen production by lignocellulose-derived compounds in mixed

- cultures. *Int. J. Hydrogen Energy*, v. 37, n. 4, p. 3150-3159. fev. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.11.033>.
- RABELO, CAMILA ABREU B. SILVA; SOARES, LAÍS AMÉRICO; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; SILVA, EDSON LUIZ; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO. Optimization of hydrogen and organic acids productions with autochthonous and allochthonous bacteria from sugarcane bagasse in batch reactors. **J. Environ. Manage.** v.223, p.952–963. out. 2018. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.015>.
- RAMOS, LUCAS RODRIGUES; SILVA, EDSON LUIZ. Thermophilic hydrogen and methane production from sugarcane stillage in two-stage anaerobic fluidized bed reactors. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 8, p. 5239-5251. fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.025>.
- RASMUSSEN, H., SØRENSEN, H.R., MEYER, A.S. Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: Sugar reaction mechanisms. **Carbohydr. Res.** v.385, p.45–57. fev. 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.carres.2013.08.029>.
- REN, N; LI, J; LI, B; WANG, Y; LIU, S. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 15, p.2147-2157. dez. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.02.011>.
- REN, NAN-QI; CAO, GUANG-LI; GUO, WAN-QIAN; WANG, AI-JIE; ZHU, YU-HONG; LIU, BING-FENG; XU, JI-FEI. Biological hydrogen production from corn stover by moderately thermophile *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 7, p. 2708-2712. abr. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.04.044>.
- REN, NANQI; WANG, AIJIE; GAO, LINGFANG; XIN, LIANG; LEE, DUU-JONG; SU, AY. Bioaugmented hydrogen production from carboxymethyl cellulose and partially delignified corn stalks using isolated cultures. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p. 5250-5255, out. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.05.020>.
- REN, NAN-QI; ZHAO, LEI; CHEN, CHUAN; GUO, WAN-QIAN; CAO, GUANG-LI. A review on bioconversion of lignocellulosic biomass to H₂: Key challenges and new

insights. **Bioresour. Technol.** v.215, p.92–99. set. 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.124>.

RODRIGUES, CARLA INÊS SOARES; JACKSON, JOSHUA J.; MONTROSS, MICHAEL D. A molar basis comparison of calcium hydroxide, sodium hydroxide, and potassium hydroxide on the pretreatment of switchgrass and miscanthus under high solids conditions. **Industrial Crops And Products**, v. 92, p. 165-173. dez. 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.010>.

RUGGERI, BERNARDO; TOMMASI, TONIA. Efficiency and efficacy of pre-treatment and bioreaction for bio-H₂ energy production from organic waste. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 8, p.6491-6502. abr. 2012.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.01.049>.

RUGGERI, BERNARDO; TOMMASI, TONIA; SANFILIPPO, SARA. BioH₂ & BioCH₄ Through Anaerobic Digestion. **Green Energy And Technology**, v. 1, p. 1-218, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4471-6431-9>.

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. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.07.122>.

SAGNELLI, DOMENICO; HEBELSTRUP, KIM H.; LEROY, ERIC; ROLLAND-SABATÉ, AGNÈS; GUILOIS, SOPHIE; KIRKENSGAARD, JACOB J.K.; MORTENSEN, KELL; LOURDIN, DENIS; BLENNOW, ANDREAS. Plant-crafted starches for bioplastics production. **Carbohydrate Polymers**. v. 152, p. 398-408. nov. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.039>.

SAMSON, S.K., MANIKKANDAN, T.R. Optimization of microbial hydrogen production using statistical experimental design from maize stalk by isolated strain. **Iran. J. Chem. Chem. Eng.** 36, 173–181. 2017.

SANTOS, SAMANTHA CHRISTINE; ROSA, PAULA RÚBIA FERREIRA; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO; SILVA, EDSON LUIZ. Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9599–9610, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.04.104>

SARATALE, G. D., CHEN, S. D., LO, Y. C., SARATALE, R. G., & CHANG, J. S. Outlook

- of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation - A review. **J. Sci. Ind. Res.** v.67, p.962–979. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2004.10.007>.
- SARIPAN AF, REUNGSANG A. Simultaneous saccharification and fermentation of cellulose for bio-hydrogen production by anaerobic mixed cultures in elephant dung. **Int J Hydrog Energy**, v.39, p.9028–9035 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.04.066>
- SARMA, SAURABH JYOTI; PACHAPUR, VINAYAK; BRAR, SATINDER KAUR; BIHAN, YANN LE; BUELNA, GERARDO. Hydrogen biorefinery: potential utilization of the liquid waste from fermentative hydrogen production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 942-951. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.191>.
- SATAR, IBDAL; DAUD, WAN RAMLI WAN; KIM, BYUNG HONG; SOMALU, MAHENDRA RAO; GHASEMI, MOSTAFA. Immobilized mixed-culture reactor (IMcR) for hydrogen and methane production from glucose. **Energy**, v. 139, p.1188-1196. nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2017.08.071>
- SEKOAI, PATRICK T.; AYENI, AUGUSTINE O.; DARAMOLA, MICHAEL O. Parametric Optimization of Biohydrogen Production from Potato Waste and Scale-Up Study Using Immobilized Anaerobic Mixed Sludge. **Waste And Biomass Valorization**, p.1-13, 16 nov 2017. <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-017-0136-2>.
- SEKOAI, PATRICK T.; YORO, KELVIN O.; DARAMOLA, MICHAEL O. Effect of nitrogen gas sparging on dark fermentative biohydrogen production using suspended and immobilized cells of anaerobic mixed bacteria from potato waste. **Biofuels**. v. 9, n. 5, p. 595-604.fev. 2018. <http://dx.doi.org/10.1080/17597269.2018.1432275>.
- SENGMEE, DENNAPA; CHEIRSILP, BENJAMAS; SUKSAROGE, THANWADEE TACHAPATTAWEAWRAKUL; PRASERTSAN, POONSUK. Biophotolysis-based hydrogen and lipid production by oleaginous microalgae using crude glycerol as exogenous carbon source. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 4, p. 1970-1976. jan. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.10.089>.
- SHANMUGAM, SARAVANAN R.; CHAGANTI, SUBBA RAO; LALMAN, JERALD A.; HEATH, DANIEL D. Statistical optimization of conditions for minimum H₂ consumption in mixed anaerobic cultures: Effect on homoacetogenesis and

methanogenesis. **Int. J. Hydrogen Energy**, v. 39, n. 28, p. 15433-15445. set. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.07.143>.

SILVA, FABRÍCIA MARIA SANTANA; OLIVEIRA, LUCIANO BASTO; MAHLER, CLAUDIO FERNANDO; BASSIN, JOÃO PAULO. Avaliação da produção de hidrogênio a partir da codigestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e glicerol residual da produção de biodiesel. **Química Nova**, p.523-527, 5 abr. 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170041>.

SINHA, PALLAVI; PANDEY, ANJANA. Biohydrogen production from various feedstocks by *Bacillus firmus* NMBL-03. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 14, p. 7518-7525, maio 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.08.134>.

SIQUEIRA, MARCOS RECHI; REGINATTO, VALERIA. Inhibition of fermentative H₂ production by hydrolysis byproducts of lignocellulosic substrates. **Renewable Energy**, v. 80, p. 109-116, ago. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2015.01.070>.

SLUITER, B. HAMES, R. RUIZ, C. SCARLATA, J. SLUITER, AND D. TEMPLETON. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples laboratory analytical procedure. Colorado. **Lab. Anal. Proced**, 14 p. 2006. Disponível em: <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42623.pdf>. Acesso em: 26 maio 2020.

SOARES, LAIS AMÉRICO; BRAGA, JULIANA KAWANISHI; MOTTERAN, FABRÍCIO; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; SILVA, EDSON LUIZ; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO. Design and optimization of hydrogen production from hydrothermally pretreated sugarcane bagasse using response surface methodology. **Water Sci. Technol.** v. 76, n. 1, p. 95-105. mar. 2017. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.183>.

TAHERDANAK, MOHSEN; ZILOUEI, HAMID; KARIMI, KEIKHOSRO. The influence of dilute sulfuric acid pretreatment on biogas production from wheat plant. **International Journal Of Green Energy**, v. 13, n. 11, p. 1129-1134, 21 abr. 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/15435075.2016.1175356>.

VAN GINKEL, STEVEN; SUNG. Shihwu. Biohydrogen Production as a Function of pH and Substrate Concentration. **Environ. Sci. Technol**, v. 35, p.4726-4730. 2001. <http://dx.doi.org/10.1021/es001979r>

- VI, LU VU THAO; SALAKKAM, APILAK; REUNGSANG, ALISSARA. Optimization of key factors affecting bio-hydrogen production from sweet potato starch. **Energy Procedia**, v. 138, p.973-978. out. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.092>.
- WALKER, MARK; ZHANG, YUE; HEAVEN, SONIA; BANKS, CHARLES. Potential errors in the quantitative evaluation of biogas production in anaerobic digestion processes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6339-6346, dez. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.018>.
- WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 799–811. jan. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.11.015>.
- WANG, WEN; XIE, LI; LUO, GANG; ZHOU, QI. Enhanced fermentative hydrogen production from cassava stillage by co-digestion: The effects of different co-substrates. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 6980-6988. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.04.004>
- WONG; Y. M.; WU, T. Y.; JUAN, J. C. A review of sustainable hydrogen production using seed sludge via dark fermentation. **Renewable and Sustainable Reviews**, v. 34, p. 471-482. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.008>
- XIE, BINFEI; CHENG, JUN; ZHOU, JUNHU; SONG, WENLU; LIU, JIANZHONG; CEN, KEFA. Production of hydrogen and methane from potatoes by two-phase anaerobic fermentation. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5942-5946, set. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.048>.
- XIE, XUEJIN; FENG, XIAOYAN; CHI, SHANSHAN; ZHANG, YUEDONG; YU, GUANG; LIU, CHAO; LI, ZHENQIU; LI, BIN; PENG, HUI. A sustainable and effective potassium hydroxide pretreatment of wheat straw for the production of fermentable sugars. **Bioresource Technology Reports**, v. 3, p. 169-176. set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biteb.2018.07.014>.
- YADAV, MANISH K.; MANOLI, NANDINI M.; VIMALRAJ, SELVARAJ; MADHUNAPANTULA, SUBBARAO V. Unmethylated promoter DNA correlates with p53 expression and apoptotic levels only in Vitamin B9 and B12 deficient megaloblastic anemia but not in non-megaloblastic anemia controls. **International**

- Journal Of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 76-84. abr. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.070>.
- YADAV, MONIKA; PARITOSH, KUNWAR; VIVEKANAND, VIVEKANAND. Lignocellulose to bio-hydrogen: an overview on recent developments.: An overview on recent developments. **International Journal Of Hydrogen Energy**, p. 523-345. out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.10.027>.
- YING, ZHI; WANG, YABIN; ZHENG, XIAOYUAN; GENG, ZHEN; DOU, BINLIN; CUI, GUOMIN. Experimental study and development of an improved sulfur-iodine cycle integrated with HI electrolysis for hydrogen production. **International Journal Of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 24, p. 13176-13188. maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.03.037>.
- ZHANG, K., REN, N.Q., WANG, A.J. Fermentative hydrogen production from corn stover hydrolyzate by two typical seed sludges: Effect of temperature. **Int. J. Hydrogen Energy** v. 40, n. 10, p. 3838-3848. mar. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.01.120>.
- ZHANG, MAO-LIN; FAN, YAO-TING; XING, YAN; PAN, CHUN-MEI; ZHANG, GAO-SHENG; LAY, JIUNN-JYI. Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures. **Biomass And Bioenergy**. v. 31, n. 4, p.250-254. abr. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.08.004>.
- ZHAO, HAIBO; KWAK, JA HUN; WANG, YONG; FRANZ, JAMES A.; WHITE, JOHN M.; HOLLADAY, JOHNATHAN E. Effects of Crystallinity on Dilute Acid Hydrolysis of Cellulose by Cellulose Ball-Milling Study. **Energy & Fuels**, v. 20, n. 2, p. 807-811. mar. 2006. <http://dx.doi.org/10.1021/ef050319a>.
- ZHOU, P., ELBESHISHY, E., NAKHLA, G. Optimization of biological hydrogen production for anaerobic co-digestion of food waste and wastewater biosolids. **Bioresour Technol.** v.130, p.710–718. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.069>.
- ZHU, HEGUANG; STADNYK, AARON; BÉLAND, MICHEL; SETO, PETER. Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 5078-5084, jul. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.083>.
- ZWIETERING, I. JONGENBURGER, F. M. ROMBOUTS, AND K. VAN 'T RIET.

Modeling of the bacterial growth curve. **Applied Environ. Microbiol.** v.56, p.1875–1881. 1990. <https://doi.org/10.1128/AEM.56.6.1875-1881>.