



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**  
**(SANEAMENTO AMBIENTAL)**

**ULISSES VITÓRIO DIAS**

**SUBSTITUIÇÃO GRADATIVA DE SACAROSE PELA FRAÇÃO LÍQUIDA  
DE RESÍDUOS DE FRUTAS E VERDURAS EM REATOR ANAERÓBIO DE  
LEITO FLUIDIFICADO**

**FORTALEZA**

**2025**

ULISSES VITÓRIO DIAS

SUBSTITUIÇÃO GRADATIVA DE SACAROSE PELA FRAÇÃO LÍQUIDA DE  
RESÍDUOS DE FRUTAS E VERDURAS EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO  
FLUIDIFICADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Civil. Área de Concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.

Co-Orientador: Dr. Renato Carrhá Leitão.

FORTALEZA

2025

ULISSES VITÓRIO DIAS

**SUBSTITUIÇÃO GRADATIVA DE SACAROSE PELA FRAÇÃO LÍQUIDA  
DE RESÍDUOS DE FRUTAS E VERDURAS EM REATOR ANAERÓBIO DE  
LEITO FLUIDIFICADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Civil. Área de Concentração: Saneamento Ambiental.

Aprovada em: 27/11/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Renato Carrhá Leitão

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Dra. Camila Aparecida de Menezes

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Dra. Amanda de Sousa e Silva

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A minha família e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Domingos e Clizalda, por todo amor e apoio incondicionais que me deram desde meu primeiro suspiro.

Ao meu irmão, Giordano, pela cumplicidade que só um irmão poderia fornecer.

À minha namorada, Nágila, por todo apoio, amor, compreensão e atenção ímpares durante meu processo de escrita.

À minha amiga e companheira de apartamento Carol, por dividir o mesmo neurônio e por me suportar por meses a fio.

Aos meus queridos companheiros de jornada em Fortaleza: Marcos, Sabrina, Guilherme, Mariana, Aloísio e Ricardo, por todos os momentos mágicos e inesquecíveis.

Ao meu orientador, André Bezerra, por todo suporte, ensinamentos e paciência.

Ao meu co-orientador, Renato Leitão, por abrir as portas da Embrapa para desenvolvimento da minha pesquisa.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Recursos Hídricos, Saneamento Ambiental e Geotecnia (Posdeha) pela estrutura e conhecimentos ofertados.

À toda equipe da Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB), com destaque: Thobias, Camila, Priscilla, Carmélia, Maíra, Chagas e Daniel, pela parceria, pelos momentos de descontração, por colocarem a mão na massa junto comigo e por me ajudarem a desenvolver minha pesquisa. Assim como ao Men de Sá, ao Alex e ao Adriano pelos conselhos e apoio.

À dona Socorro pelo café de toda tarde na Embrapa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro e à Rede Verdes da Funcap.

## RESUMO

A gestão adequada de resíduos de frutas e verduras (RFV) gerados em Centrais de Abastecimento de Alimentos (Ceasa) é um desafio ambiental e econômico. A fermentação escura (FE) surge como uma alternativa promissora para a valorização desses resíduos, convertendo-os em bio-hidrogênio e em ácidos orgânicos (AGVs). Entre os reatores utilizados, o reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) se destaca pela alta taxa de retenção de biomassa e capacidade de suportar elevadas cargas orgânicas. No entanto, a literatura carece de estudos sistemáticos sobre a adaptação e estabilidade de RALFs operando com substratos complexos como a fração líquida de resíduos de frutas e verduras (FLRFV). Diante disso, esta dissertação avaliou o desempenho de um RALF na produção de hidrogênio, submetido ao aumento progressivo da concentração de FLRFV (0 a 100%) no substrato, em substituição à sacarose, em condições mesofílicas (30 °C), com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 2 h, e carga orgânica volumétrica (COV) constante de  $60 \text{ kg DQO m}^{-3}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$ , sem controle de pH. Na condição de 100% de sacarose, a produção volumétrica de hidrogênio (PVH) e o rendimento (HY) foram de  $4361 \text{ mL H}_2 \text{ L}^{-1}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$  e  $2,6 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{aplicada}}$ , respectivamente. Com a substituição completa por FLRFV (100%), observou-se um declínio acentuado com a PVH e o HY atingindo apenas  $261 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$  e  $0,2 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{aplicada}}$ . Esta queda foi associada a uma mudança no perfil metabólico da comunidade microbiana, com acúmulo de ácido propiônico (APr) aliado a um pH consistentemente ácido (faixa de 4,0 e 4,3), que suprimiu as bactérias produtoras de  $\text{H}_2$  e desviou o fluxo de carbono para vias acidogênicas consumidoras de  $\text{H}_2$  como a propionogênese e homoacetogênese. Contudo, a análise integrada com dados de literatura demonstrou que a natureza complexa da FLRFV não é um fator limitante absoluto. A operação do RALF com TDHs mais curtos (1 h) e COVs mais elevadas ( $240 \text{ kg DQO m}^{-3}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$ ) mostrou-se uma estratégia eficaz para reverter esse cenário, estabelecendo uma rota metabólica butírica e elevando a PVH em até 35 vezes. Portanto, a viabilidade da FLRFV para produção de bio-hidrogênio está intrinsecamente ligada a uma janela operacional ótima de TDH/COV, a qual exerce pressão seletiva favorável às bactérias hidrogenogênicas, superando a complexidade inicial do resíduo.

**Palavras-chave:** Bio-Hidrogênio; Fermentação Escura; Reator De Leito Fluidificado; Resíduo De Frutas E Verduras.

## ABSTRACT

Proper management of fruit and vegetable waste (FVW) generated in Food Supply Centers (Ceasa) is an environmental and economic challenge. Dark fermentation (DF) emerges as a promising alternative for the valorization of these wastes, converting them into bio-hydrogen and organic acids (FAs). Among the reactors used, the anaerobic fluidized bed reactor (AFBR) stands out for its high biomass retention rate and capacity to support high organic loads. However, the literature lacks systematic studies on the adaptation and stability of AFBRs operating with complex substrates such as the liquid fraction of fruit and vegetable waste (LFVW). Given this, this dissertation evaluated the performance of a hydrocarbon-based reactor (RALF) in hydrogen production, subjected to a progressive increase in the concentration of volatile fatty acids (VFA) (0 to 100%) in the substrate, replacing sucrose, under mesophilic conditions (30 °C), with a hydraulic retention time (HRT) of 2 h, and a constant volumetric organic loading rate (LOR) of 60 kg COD m<sub>reactor</sub><sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, without pH control. Under the 100% sucrose condition, the volumetric hydrogen production (HVP) and yield (YH) were 4361 mL H<sub>2</sub> L<sub>reactor</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> and 2.6 mmol H<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> COD<sub>applied</sub>, respectively. With complete replacement by VFA (100%), a sharp decline was observed, with HVP and YH reaching only 261 mL H<sub>2</sub> L<sub>reactor</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> and 0.2 mmol H<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> COD<sub>applied</sub>. This decrease was associated with a change in the metabolic profile of the microbial community, with an accumulation of propionic acid (APr) coupled with a consistently acidic pH (range of 4.0 and 4.3), which suppressed H<sub>2</sub> producing bacteria and diverted carbon flow to acidogenic H<sub>2</sub>-consuming pathways such as propionogenesis and homoacetogenesis. However, integrated analysis with literature data demonstrated that the complex nature of FLRFV is not an absolute limiting factor. Operating the RALF with shorter HRTs (1 h) and higher VOCs (240 kg COD m<sub>reactor</sub><sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>) proved to be an effective strategy to reverse this scenario, establishing a butyric metabolic pathway and increasing PVH by up to 35 times. Therefore, the viability of FLRFV for bio-hydrogen production is intrinsically linked to an optimal operating window of HRT/VOC, which exerts selective pressure favorable to hydrogenogenic bacteria, overcoming the initial complexity of the residue.

**Keywords:** Biohydrogen; Dark Fermentation; Fluidized Bed Reactor; Fruit and Vegetable Waste.

## LISTA DE ABREVIATURAS E DE SIGLAS

AAc	Ácido Acético
ABu	Ácido Butírico
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AGVt	Ácidos Graxos Voláteis totais
AIsoBu	Ácido Isobutírico
AIsVa	Ácido Isovalérico
ALa	Ácido Lático
AnSTBR	<i>Anaerobic Structured Bed Reactor</i> (Reator Anaeróbio de Leito Estruturado)
AOCC	Ácidos Orgânicos de Cadeia Curta
AOV	Ácidos Orgânicos Voláteis
APr	Ácido Propiônico
AVa	Ácido Valérico
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de cálcio
CEASA	Central de Abastecimento S/A
CH <sub>4</sub>	Gás Metano
CHCl <sub>3</sub>	Clorofórmio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
COV	Carga Orgânica Volumétrica
CSTR	<i>Continuous Stirred Tank Reactor</i> (Reator de Tanque com Agitação Contínua)
DA	Digestão Anaeróbia
DQO	Demanda Química de Oxigênio
FE	Fermentação Escura
FLRFV	Fração Líquida de Frutas e Verduras
GC	Cromatografia Gasosa
H <sub>2</sub>	Gás Hidrogênio
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Performance)
HY	<i>Hydrogen Yield</i> (Rendimento de Hidrogênio)
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de sódio
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	Nitrogênio Amoniacal
NKT	Nitrogênio Kjeldahl Total
pH	Potencial Hidrogeniônico
PT	Fósforo Total
PVH	Produção Volumétrica de Hidrogênio
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado
RALE	Reator Anaeróbio de Leito Estruturado
RATAC	Reator Anaeróbio de Tanque Agitado Continuamente
RFV	Resíduo de Frutas e Verduras
SF	Sólidos Fixos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SST	Sólidos Suspensos Totais
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Meio nutricional utilizado na alimentação do RALF.....	37
Tabela 2 – Caracterização do RFV da Ceasa Maracanaú. ....	37
Tabela 3 – Etapas de adaptação do RALF à FLRFV. ....	38
Tabela 4 – Condições de operação do RALF.....	38
Tabela 5 – Frequência e Metodologias das Análises .....	40
Tabela 6 – Características do substrato e resultados de produção de biogás.....	52
Tabela 7 – Comparação do desempenho do RALF operando com FLRFV 100% sob diferentes condições de TDH e COV.....	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sistema proposto de beneficiamento de resíduos orgânicos da CEASA. ....	14
Figura 2 – Resíduos de Frutas e verduras.....	19
Figura 3 – Pré-tratamento térmico moderado.....	26
Figura 4 – Pré-tratamento por choque térmico.....	27
Figura 5 – Esquema ilustrativo de um reator anaeróbio de leito fluidificado. ....	29
Figura 6 – Configuração experimental do RALF utilizada. ....	36
Figura 7 – DQO e remoção de DQO durante a adaptação do RALF. ....	43
Figura 8 – Concentração de carboidratos afluente e efluente durante a adaptação ao substrato.....	44
Figura 9 – pH do RALF durante a adaptação ao substrato.....	45
Figura 10 – Produção Volumétrica de Hidrogênio do RALF durante adaptação ao substrato.....	47
Figura 11 - Rendimento de Hidrogênio durante adaptação ao substrato.....	47
Figura 12 – Ácidos Voláteis Totais afluente e efluente durante adaptação ao substrato.	50
Figura 13 – Concentração Ácidos Orgânicos Voláteis efluente durante adaptação ao substrato.....	51

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 .....	40
Equação 2 .....	41
Equação 3 .....	41
Equação 4 .....	41
Equação 5 .....	42
Equação 6 .....	48
Equação 7 .....	49
Equação 8 .....	55

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>PERGUNTAS DA PESQUISA E HIPÓTESE</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>Pergunta de pesquisa</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>Hipótese</b> .....	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>FERMENTAÇÃO ESCURA DE RESÍDUOS DE FRUTAS E VERDURAS UTILIZANDO REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIFICADO: UMA REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1</b>	<b>Resíduos de Frutas e Verduras (RFV)</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2</b>	<b>Digestão anaeróbia</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2.1</b>	<b>Hidrólise</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Acidogênese</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Acetogênese</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Metanogênese</b> .....	<b>21</b>
<b>4.3</b>	<b>Produção de Hidrogênio na Fermentação Escura</b> .....	<b>22</b>
<b>4.4</b>	<b>Co-fermentação de resíduos agroindustriais</b> .....	<b>24</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Aumento da eficiência do processo e produção de biogás</b> .....	<b>25</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Produção de AGVs e outros biocompostos</b> .....	<b>25</b>
<b>4.5</b>	<b>Pré-tratamento de lodo para eliminação arqueias metanogênicas</b> ...	<b>25</b>
<b>4.5.1</b>	<b>Pré-tratamento térmico</b> .....	<b>25</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Pré-tratamento com clorofórmio</b> .....	<b>28</b>
<b>4.6</b>	<b>Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF)</b> .....	<b>28</b>
<b>4.6.1</b>	<b>Funcionamento do RALF</b> .....	<b>29</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Condições operacionais</b> .....	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>ADAPTAÇÃO DO REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE RESÍDUO DE FRUTAS E VEGETAIS</b> .....	<b>34</b>
<b>5.1</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>34</b>

<b>5.2</b>	<b>Metodologia .....</b>	<b>36</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Configuração experimental.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Meio suporte e inóculo.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Alimentação e substrato .....</b>	<b>37</b>
<b>5.3</b>	<b>Programa experimental.....</b>	<b>38</b>
<b>5.4</b>	<b>Métodos analíticos.....</b>	<b>39</b>
<b>5.5</b>	<b>Indicadores de Desempenho.....</b>	<b>40</b>
<b>5.6</b>	<b>Resultados e discussões.....</b>	<b>42</b>
<b>5.6.1</b>	<b>Operação do Reator:.....</b>	<b>42</b>
<b>5.6.2</b>	<b>Conversão e consumo de substrato .....</b>	<b>43</b>
<b>5.6.3</b>	<b>pH .....</b>	<b>44</b>
<b>5.6.4</b>	<b>Produção de hidrogênio.....</b>	<b>46</b>
<b>5.6.5</b>	<b>Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs).....</b>	<b>49</b>
<b>5.6.6</b>	<b>Perspectivas a partir da variação do TDH .....</b>	<b>53</b>
<b>5.7</b>	<b>Conclusão.....</b>	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As Centrais de Abastecimentos de Alimentos (CEASAs) configuram-se como infraestruturas críticas no sistema de distribuição de produtos hortifrutigranjeiros no Brasil. Conforme a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a rede conta com 62 unidades estrategicamente posicionadas em centros urbanos ao redor do país, representando um eixo fundamental para a segurança alimentar (Da Silva Júnior, 2025). O destino majoritário dos resíduos sólidos da CEASA Maracanaú é o Aterro Sanitário da Região Metropolitana de Fortaleza – cerca de 25 toneladas por dia, sendo que aproximadamente 17 toneladas por dia são de resíduos de frutas e verduras (RFV) (Da Silva Júnior, 2025). Essa solução resulta em um triplo problema: gera custos operacionais com o transporte e descarte, desperdiça um potencial econômico e causa um impacto ambiental relacionado com emissão de gases de efeito estufa. Como forma de mitigar esse cenário, convertendo um passivo em uma fonte de receita e sustentabilidade, a digestão anaeróbia (DA) desponta como uma alternativa economicamente viável e ecologicamente sustentável, permitindo a recuperação energética, a produção de biofertilizantes e o reuso da água do efluente tratado (Menezes et al., 2024b). A Figura 1 apresenta um sistema proposto de beneficiamento de resíduos orgânicos da CEASA.

Figura 1 – Sistema proposto de beneficiamento de resíduos orgânicos da CEASA.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

A DA, portanto, abre um leque de possibilidades para o tratamento do RFV. Uma dessas vias específicas inclui a fermentação escura (FE) como parte de um processo de aproveitamento energético. A FE é um processo anaeróbio em que microrganismos convertem matéria orgânica em ácidos orgânicos, podendo ter como subproduto o gás hidrogênio (Dahiya et al., 2021; Łukajtis et al., 2018; Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025; Sabah; Ilyes; Abdallah, 2021; Sarangi; Nanda, 2020), sem a presença de luz, isto é, não necessitando de fonte de luz externa, sendo uma vantagem em relação a outros processos biológicos de produção de H<sub>2</sub>, como a fotofermentação e a fotobiólise direta e indireta (Arun et al., 2022; Bhurat et al., 2021; Kulkarni et al., 2023).

Dessa forma, a co-fermentação – fermentação de mais de um tipo de substrato – surge como uma alternativa para a valorização de resíduos, sendo capaz de processar mais de uma fonte de resíduos, como alimentares e de lodos ativados, lignocelulósicos, e agroindustriais cítricas (Cheng et al., 2016; Esteban-Gutiérrez et al., 2018; Leitão; Moni; Maria, 2022; Perez-Esteban et al., 2024; Rocha; Sakamoto; Varesche, 2024; Vidal-Antich et al., 2021; Wang et al., 2021; Zeng et al., 2024)

Além do hidrogênio, a FE também é um processo efetivo para a produção de uma gama de ácidos orgânicos de cadeia curta (AOCCs), intermediários essenciais no processo anaeróbio e que possuem elevado valor como precursores na indústria química, alimentícia e farmacêutica, como ácido acético (AAc), butírico (ABu), láctico (ALa) e propiônico (APr) (Leroy-Freitas et al., 2024; Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025). O ABu, por exemplo, é um aditivo alimentar e químico industrial amplamente utilizado (Garduno; Baranova; Kinsley, 2023).

Esse processo anaeróbio é realizado principalmente por bactérias e tem a vantagem de utilizar substratos de baixo valor agregado, como resíduos orgânicos ricos em carboidratos (Vendruscolo, 2015). A seleção do tipo de reator é decisiva para eficiência do processo, uma vez que influencia em parâmetros como a retenção da biomassa, a transferência de massa e de calor, e a capacidade de suportar as cargas orgânicas desejadas (Barca et al., 2015; Show; Zhang; Lee, 2008). Dentre os principais reatores utilizados para a FE de resíduos alimentares, incluem-se o reator anaeróbio de tanque agitado continuamente – *continuous stirred tank reactor* (CSTR), os reatores anaeróbios de leito estruturado – *anaerobic structured bed reactor* (AnSTBR) e os reatores anaeróbio de leito fluidificado (RALF) – *anaerobic fluidized bed reactor* (AFBR).

Os CSTR mantêm um volume constante no reator, com entrada de substrato e saída de efluente contínuas e agitação constante do seu conteúdo. Apesar de oferecer uma certa estabilidade operacional, comparado com reatores em batelada, apresentam uma grande demanda de energia, pela presença do misturador, e há uma dificuldade considerável em se reter a biomassa, principalmente em altas taxas de diluição (Ellacuriaga; Gil; Gómez, 2023; Kastner; Somitsch; Schnitzhofer, 2012; Show; Zhang; Lee, 2008).

O AnSTBR apresentou resultados satisfatórios de produção de hidrogênio com resíduos de frutas e verduras (RFV) no estudo de Menezes et al., (2024a). Nessa pesquisa, foram investigados os comportamentos do AnSTBR para os tempos de detenção hidráulica (TDH) de 12, 6 e 3 h, onde a condição operacional com TDH de 6 h proporcionou maior taxa de produção de H<sub>2</sub> (TPH), com valores de 2100 mL H<sub>2</sub> L<sub>reator</sub> d<sup>-1</sup>.

O RALF, utiliza partículas de suporte para imobilização da biomassa, que é mantida em estado fluidificado por um fluxo ascendente de afluente ou de recirculação (Barca et al., 2015; Cavalcante de Amorim et al., 2009; Haroun; Idris, 2009; Jafari et al., 2013; Menezes et al., 2019). Os RALFs são conhecidos pela elevada capacidade de suportar cargas orgânicas elevadas, pela excelente transferência de massa gás-líquido e de calor e pela alta concentração de microrganismos dentro do reator (Almeida et al., 2025; Barca et al., 2015; Show; Zhang; Lee, 2008).

Portanto, este reator representa uma alternativa eficaz para a produção de bio-hidrogênio, sendo a otimização das condições operacionais, a seleção apropriada do meio suporte e o controle do sistema de fluidização fundamentais para o sucesso e a escalabilidade do processo (Almeida et al., 2025; Ferreira et al., 2020; Menezes et al., 2019; Tapia-Venegas et al., 2015).

O desempenho do RALF depende de parâmetros operacionais como temperatura, pH, carga orgânica volumétrica (COV) e TDH (Barca et al., 2015; Rawoof et al., 2021). Dados da literatura apontam um pH ótimo para produção de H<sub>2</sub> via fermentação escura geralmente em uma faixa de 5,5 e 6,0 (De Amorim; Sader; Silva, 2012; Rawoof et al., 2021; Shida et al., 2009). Não obstante, outros autores relatam o comportamento do reator em faixas mais ácidas, com pH abaixo de 4,5, (Barros; Silva, 2012; Carosia et al., 2017; Cavalcante de Amorim et al., 2009; Ferreira et al., 2018; Menezes; Silva, 2019; Santos et al., 2014a, 2014b, 2014c; Shida et al., 2009, 2012).

A variabilidade dos parâmetros operacionais, como o pH, torna-se mais crítica e de difícil previsão quando se considera a natureza intrinsecamente complexa e variável do

substrato, uma realidade do resíduo de frutas e verduras (Da Silva Júnior et al., 2022, 2025; Menezes et al., 2024a, 2024b).

A literatura é robusta quanto à produção de hidrogênio em RALFs com substratos modelo e de fácil degradação, como glicose e sacarose. No entanto, carece de estudo sistemático sobre o desempenho e estabilidade operacional do reator frente à substituição progressiva por substratos complexos, como a FLRFV. Esta lacuna compreende especialmente a falta de compreensão sobre os limites operacionais e as mudanças metabólicas que ocorrem durante o aumento da concentração de FLRFV.

## **2 PERGUNTAS DA PESQUISA E HIPÓTESE**

### **2.1 Pergunta de pesquisa**

Como um RALF hidrogenogênico mesofílico se comportará durante a transição de substrato de sacarose para alimentação com a fração líquida de resíduos de frutas e verduras gerados na Ceasa Maracanaú?

### **2.2 Hipótese**

O RALF será capaz de suportar elevadas cargas orgânicas volumétricas (COV) provenientes dos RFV da Ceasa Maracanaú.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o desempenho de um RALF para produção de bio-hidrogênio utilizando como substrato a fração líquida do resíduo de frutas e verduras (FLRFV).

### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a substituição gradativa da sacarose pela FLRFV, a co-fermentação dos dois substratos, e seu impacto em um reator hidrogenogênico.
- Avaliar o efeito do TDH na produção fermentativa de hidrogênio.

## 4 FERMENTAÇÃO ESCURA DE RESÍDUOS DE FRUTAS E VERDURAS UTILIZANDO REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIFICADO: UMA REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Resíduos de Frutas e Verduras (RFV)

Os resíduos de frutas e verduras (RFV), Figura 2, representam um desafio significativo na gestão de resíduos sólidos devido a sua alta perecibilidade e ao grande volume gerado globalmente (Asquer; Pistis; Scano, 2013; Ji et al., 2017; Magama; Chiyanzu; Mulopo, 2022). A produção agrícola intensiva e o crescimento populacional resultaram em um considerável aumento da geração de resíduos, com perdas de alimentos que atingem cerca de um terço da produção total, correspondendo a aproximadamente 1 bilhão de dólares anuais (Sarangi et al., 2023).

Figura 2 – Resíduos de Frutas e verduras.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

A otimização da gestão de resíduos sólidos nas CEASAs, com ênfase nos RFVs, através da valorização via digestão anaeróbia, permite a conversão de passivos ambientais em produtos de elevado valor agregado como biogás e biofertilizantes (Areeshi, 2022; Da Silva Júnior, 2025). Em comparação com outros resíduos de origem vegetal, como os lignocelulósicos (palhas, bagaço de cana, serragem, entre outros), os RFV se diferenciam por seu alto teor de umidade e de carboidratos solúveis, o que os torna altamente

biodegradáveis (Asquer; Pistis; Scano, 2013; Da Silva Júnior et al., 2022; Ji et al., 2017; Menezes et al., 2024a). A co-digestão anaeróbia de RFV, juntamente com lodos de esgoto municipal, revelou ser uma alternativa eficaz para o manejo de resíduos sólidos urbanos (Anhuradha; Arrivukkarasan, 2020; Rizk et al., 2007).

Os RFVs são compostos por diversos açúcares, amidos e outros compostos orgânicos facilmente biodegradáveis, resultando em elevados rendimentos de hidrogênio (Menezes et al., 2024a; Vendruscolo, 2015). Cieciora-Włoch, Borowski e Otlewska (2020) reportaram um HY de 52 mL/gSV de RFV tratados, com uma COV de 17 gSV m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>. Porém, a caracterização dos RFVs pode variar significativamente, dependendo da fonte e da estação, o que afeta a eficiência da produção de bio-H<sub>2</sub> (Martínez-Mendoza et al., 2022).

A sacarose, um dissacarídeo simples composto por frutose e glicose, é um substrato de referência para estudos de produção de bio-hidrogênio devido à sua alta biodegradabilidade e facilidade de conversão (Tunçay et al., 2017). Estudos demonstram que a sacarose pode gerar altos rendimentos de hidrogênio em uma ampla faixa de pH (4,0 a 9,0) (Choi; Ahn, 2015; Ferreira et al., 2018; Muñoz-Páez et al., 2013; Wang; Lin; Chang, 2006). A otimização de parâmetros como pH inicial, a concentração de substrato e a concentração da biomassa são cruciais para maximizar a produção de hidrogênio a partir da sacarose (Tunçay et al., 2017). Por esse motivo é frequentemente utilizada em estudos como comparativo de eficiência de conversão com outros substratos complexos como os RFVs (Wang et al., 2022; Zhao et al., 2008).

## **4.2 Digestão anaeróbia**

A digestão anaeróbia (DA) é um processo bioquímico complexo que ocorre na ausência de oxigênio, no qual microrganismos decompõem a matéria orgânica em subprodutos como biogás (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S e H<sub>2</sub>) e digestato (Adekunle; Okolie, 2015; Dessie et al., 2023; Nkuna et al., 2024; Rongwong et al., 2018; Wang; Tester, 2023). Este processo é amplamente reconhecido pela sua capacidade de converter resíduos em recursos energéticos renováveis e é uma tecnologia consolidada para o tratamento de águas residuárias (Rongwong et al., 2018). A DA é composta por quatro etapas bioquímicas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Shahzad et al., 2024; Wang; Tester, 2023; Zheng; Li, 2024).

### 4.2.1 Hidrólise

A etapa inicial e frequentemente limitante nos processos de DA de substratos complexos. Durante esta fase, polímeros orgânicos mais complexos e insolúveis (Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Wang; Tester, 2023) – como carboidratos, lipídios e proteínas – são quebrados em partículas mais simples e solúveis – açúcares, ácidos graxos de cadeia longa e glicerol, e aminoácidos, respectivamente – por enzimas extracelulares secretadas por bactérias com capacidade hidrolítica (Jiang; Zhang; Li, 2023; Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Shahzad et al., 2024; Wang; Tester, 2023). Esta etapa é essencial porque torna as moléculas grandes e insolúveis acessíveis para o processamento microbiano nas fases seguintes (Prasanna Kumar et al., 2024).

### 4.2.2 Acidogênese

Os monômeros produzidos na hidrólise são fermentados por bactérias acidogênicas, convertendo-os em ácidos orgânicos de cadeia curta (AOCCs), ou Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs) – como ácido propiônico (APr), butírico (ABu) e láctico (ALa) –, além da produção de hidrogênio ( $H_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (Jiang; Zhang; Li, 2023; Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Shahzad et al., 2024; Wang; Tester, 2023). Esta etapa também é conhecida como fermentação (Dessie et al., 2023; Wang; Tester, 2023). A acidogênese é essencial, pois os AOVs são intermediários importantes para a produção subsequente de metano (Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024).

### 4.2.3 Acetogênese

Na acetogênese, os AOVs intermediários da acidogênese – como APr e ABu – são ainda mais metabolizados por bactérias acetogênicas. O principal produto da acetogênese é o ácido acético (AAc), além de  $H_2$  e de  $CO_2$ . Os AOVs de cadeia longa resultantes da hidrólise dos lipídios podem sofrer oxidação anaeróbia, gerando hidrogênio que pode ser utilizado na metanogênese hidrogenotrófica (Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Shahzad et al., 2024; Wang; Tester, 2023).

### 4.2.4 Metanogênese

A etapa final da DA, em que as arqueias metanogênicas convertem o AAc,  $H_2$  e  $CO_2$  em  $CH_4$  e  $CO_2$ , existem duas vias principais: metanogênese acetotrófica, onde o acetato é diretamente transformado em  $CH_4$  e  $CO_2$ ; e a metanogênese hidrogenotrófica, que utiliza  $H_2$  como fonte de energia e  $CO_2$  como fonte de carbono para produzir  $CH_4$ . O metano é o principal componente do biogás e serve como fonte de energia renovável (Da Silva Júnior, 2025; Nkuna et al., 2024; Prasanna Kumar et al., 2024; Rongwong et al., 2018; Shahzad et al., 2024; Wang; Tester, 2023; Zheng; Li, 2024).

### 4.3 Produção de Hidrogênio na Fermentação Escura

A fermentação escura (FE) é uma variação da DA que se concentra na produção de ácidos orgânicos. Este processo utiliza microrganismos fermentativos para degradar a matéria orgânica em condições anaeróbias, na ausência de luz, resultando na produção de  $H_2$  e de outros subprodutos, como AOVs (Bhurat et al., 2021; Bundhoo, 2017; Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025; Nguyen et al., 2020). A FE é considerada uma ótima alternativa para a produção de hidrogênio limpo, devido às suas características não poluentes e ao uso de resíduos orgânicos (Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025; Nemitallah et al., 2024; Sekoai; Chunilall; Ezeokoli, 2023).

A FE compartilha as primeiras etapas da DA, especificamente a hidrólise e a acidogênese (Bundhoo, 2017; Zheng; Li, 2024). Durante a acidogênese, ao invés de prosseguir para a metanogênese, a rota metabólica é desviada para otimizar a produção de hidrogênio (Sołowski; Ziminski; Cenian, 2021). Para evitar a rota metanogênica no reator, é preciso interferir, seja na biota do lodo – via pré-tratamento térmico, químico ou biológico (Kan, 2013) –, seja nas condições operacionais do reator (controle de pH, redução de TDH ou regulação de COV) (Lee et al., 2014; Liu et al., 2011).

As bactérias envolvidas na FE são tipicamente anaeróbias e podem transformar substratos orgânicos complexos em compostos mais simples, liberando  $H_2$  (Bhurat et al., 2021; Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025). Contudo, a produção de  $H_2$  na FE é frequentemente acompanhada pela formação de AOVs, que podem atuar como inibidores metabólicos e reduzir o rendimento de  $H_2$ , se acumulados (Sekoai; Chunilall; Ezeokoli, 2023).

A produção de  $H_2$  via FE de RFV representa uma excelente alternativa para a gestão de resíduos e a geração de energia renovável (Abubackar et al., 2019; Magama; Chiyanzu; Mulopo, 2021; Mohanakrishna et al., 2023). Esta tecnologia oferece uma alternativa mais

limpa em relação aos combustíveis fósseis, com o hidrogênio possuindo alto poder energético (142 MJ/kg), liberando somente vapor de água como produto de sua combustão (Jain et al., 2024; Singh Yadav; Vinoth; Yadav, 2018).

Todavia, não é interessante pensar em um reator hidrogenogênico isolado, uma vez que o processo gera, além de H<sub>2</sub>, um efluente rico em AOVs e outros subprodutos. Para que essa tecnologia seja economicamente viável e ambientalmente sustentável, esse reator deve ser integrado em um sistema de biorrefinaria, em que seu efluente (resultante da FE) pode ser direcionado para um segundo estágio, como um reator metanogênico (via DA), otimizando os resultados de produção de CH<sub>4</sub>, de remoção de matéria orgânica e de estabilidade (Da Silva Júnior et al., 2025; Devens et al., 2025b; Mazzanti et al., 2025b; Ramos; Silva, 2020; Ribeiro et al., 2024a; Zheng; Li, 2024).

A seleção e o pré-tratamento apropriados do inóculo são etapas cruciais para a eficácia dos processos fermentativos na produção de bio-hidrogênio (Mokhtarani; Zanganeh; Moghtaderi, 2025; Sahil et al., 2024; Wang; Yin, 2019). Bactérias formadoras de esporos, principalmente do gênero *Clostridium*, são amplamente utilizadas por sua habilidade comprovada de produzir hidrogênio em ambientes anaeróbios (Correa-Villa; Moreno-Cárdenas; De Bruijn, 2024; Kang et al., 2024). A presença de bactérias lácticas pode influenciar a produção de hidrogênio de forma competitiva, dependendo das condições operacionais e das propriedades do substrato (Correa-Villa; Moreno-Cárdenas; De Bruijn, 2024).

A eficácia da produção de hidrogênio por fermentação escura está fortemente ligada à variedade e ao metabolismo dos microrganismos envolvidos, que funcionam como catalisadores biológicos na transformação de compostos orgânicos em bio-hidrogênio (Dzulkarnain et al., 2022; Wang; Yin, 2019). *Clostridium* é um dos gêneros bacterianos mais estudados, notável por sua alta capacidade fermentativa e resistência a condições desfavoráveis (Sachdeva Taggar et al., 2024; Sarangi; Nanda, 2020).

Bactérias do gênero *Clostridium*, por serem anaeróbias estritas e esporuladas, são resistentes e têm facilidade de permanência em reatores de fermentação (Sarangi; Nanda, 2020). Espécies como *Clostridium butyricum* demonstram alta eficiência na produção de hidrogênio e são frequentemente empregadas em pesquisas experimentais (Kang et al., 2024).

Embora as culturas puras sejam eficazes, consórcios originados de lodos anaeróbios, de esgotos ou de compostos de solo (sedimentos de manguezais e cobertura de solos agrícolas) são frequentemente utilizados em sistemas de fermentação escura. Essas

comunidades exibem maior robustez, versatilidade metabólica e capacidade sinérgica para elevar a produção de hidrogênio (Cabrol et al., 2017; Dzulkarnain et al., 2022). Porém, para otimizar os processos, é necessário entender detalhadamente as interações microbianas (Dzulkarnain et al., 2022). O uso de consórcios microbianos em vez de culturas puras tem se revelado uma abordagem promissora para melhorar a conversão de co-substratos em bio-hidrogênio (Mumtha; Mahalingam, 2024).

A engenharia metabólica e genética tem se estabelecido como uma estratégia contemporânea para melhorar a produção biológica de hidrogênio. Ao alterar as vias bioquímicas, pode-se direcionar o fluxo de elétrons para a produção de hidrogênio, diminuindo a formação de subprodutos indesejáveis e melhorando a eficiência global do processo (Kothari et al., 2017; Sivaramakrishnan et al., 2021).

Uma prática comum para promover o aumento de populações produtoras de hidrogênio, especialmente as que formam esporos, e inibir microrganismos metanogênicos é o pré-tratamento do inóculo através de choques térmicos ou de adição de ácidos (Sachdeva Taggar et al., 2024; Sahil et al., 2024).

#### **4.4 Co-fermentação de resíduos agroindustriais**

A co-fermentação é um processo biotecnológico que envolve a fermentação conjunta de dois ou mais tipos de substratos com o intuito de gerar produtos de elevado valor agregado, como biometano, bio-hidrogênio, AGVs e biopolímeros, superando as limitações de sistemas de um único substrato (Ali; Mansor; Alam, 2018; Faria; Carvalho; Conte-Junior, 2023; Zeng et al., 2024).

Almeida et al., (2023) avaliou o efeito da temperatura e da COV na metanogênese, utilizando RALFs mesofílicos e termofílicos, para a co-digestão do soro de leite e de glicerol em reatores de um e dois estágios. Os autores relataram que o RALF mesofílico foi mais tolerante a maiores COVs, com melhores resultados com uma COV de 20 kgDQO m<sup>-3</sup> reator d<sup>-1</sup>, com produção volumétrica de CH<sub>4</sub> 5800 mL CH<sub>4</sub> L<sub>reator</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Por sua vez, PVH do RALF acidogênico termofílico para a mesma COV foi de 2500 mL H<sub>2</sub> L<sub>reator</sub> d<sup>-1</sup>. Os pesquisadores concluíram que um sistema em dois estágios com um RALF acidogênico termofílico seguido de RALF metanogênico mesofílico obteve maior produção energética que um RALF termofílico em único estágio.

A co-fermentação de resíduos oferece uma série de vantagens ambientais e econômicas, tais como:

#### **4.4.1 Aumento da eficiência do processo e produção de biogás**

A combinação de resíduos pode otimizar a relação carbono/nitrogênio (C/N), equilibrar micronutrientes, diluir inibidores e melhorar a capacidade de tamponamento da alimentação dos reatores, resultando em uma maior estabilidade do processo e em um aumento de produção de biogás (Ofosu; Aklaku, 2010; Shrestha et al., 2023). A co-digestão de efluentes municipais e de resíduos alimentares pode otimizar a produção de biogás (Ounsaneha et al., 2021).

#### **4.4.2 Produção de AGVs e outros biocompostos**

A co-fermentação de lodos ativados e de resíduos alimentares se mostrou eficaz para produção de AGVs, onde a composição dos alimentares influenciam diretamente no rendimento e no perfil de fermentação (Esteban-Gutiérrez et al., 2018; Perez-Esteban et al., 2024; Vidal-Antich et al., 2021, 2022). Nesses casos, os estudos apontaram pH e temperatura como fatores críticos para otimização da produção de ácidos orgânicos (Esteban-Gutiérrez et al., 2018; Perez-Esteban et al., 2024).

#### **4.5 Pré-tratamento de lodo para eliminação arqueias metanogênicas**

Um problema chave para otimizar a produção de bio-hidrogênio é a supressão ou eliminação de arqueias metanogênicas, que competem pelos substratos dos microrganismos produtores de H<sub>2</sub>, reduzindo a eficiência do processo (Alibardi et al., 2012; Zhu et al., 2011). A inibição de arqueias por pré-tratamento térmico é uma estratégia bem estabelecida (Argun; Kargi, 2009).

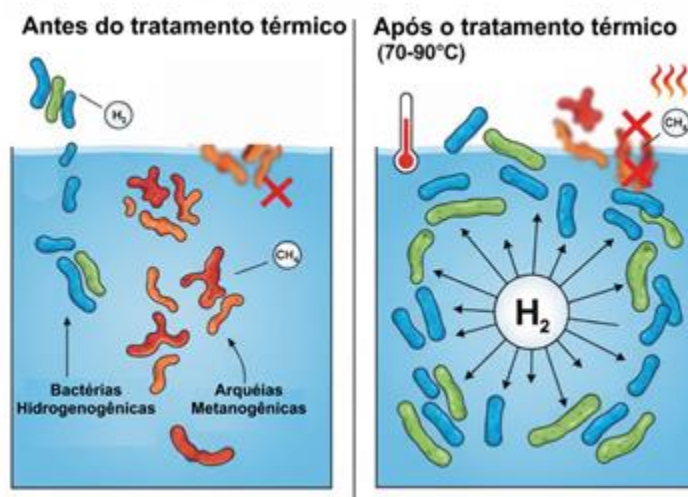
##### **4.5.1 Pré-tratamento térmico**

Existem diversas metodologias de pré-tratamento térmico aplicadas ao lodo anaeróbio para aprimoramento da produção de H<sub>2</sub>, via inibição da atividade metanogênica e melhoria da hidrólise da matéria orgânica (Alibardi et al., 2012; Kan, 2013). Dentre

aquelas, destacam-se: o tratamento térmico a temperaturas moderadas e via choque térmico:

- Temperaturas moderadas (70 – 90°C por curtos períodos): este método objetiva inativar de forma seletiva as arqueias metanogênicas, mais sensíveis ao calor que as bactérias produtoras de H<sub>2</sub>, conforme ilustrado na Figura 3 (Alibardi et al., 2012; Kim; Han; Shin, 2006). Estudos revelaram que o pré-tratamento do lodo anaeróbio a 70 °C por 30 minutos pode inibir efetivamente a metanogênese e selecionar as bactérias hidrogenogênicas (Hasyim et al., 2011), enquanto outros demonstram que o tratamento a 90 °C pode ser eficaz na inibição dos microrganismos metanogênicos, embora não selecione somente bactérias hidrogenogênicas (Alibardi et al., 2012; Kim; Han; Shin, 2006).

Figura 3 – Pré-tratamento térmico moderado.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

- Choque térmico: envolve a aplicação de bruscas variações de temperatura, o que pode favorecer bactérias hidrogenogênicas em relação às arqueias metanogênicas. Este método é eficaz na inativação de esporos de arqueias metanogênicas, permitindo a seleção de bactérias hidrogenogênicas. O pré-tratamento térmico repetido em duas vezes, por 5 horas cada, foi considerado mais eficaz na seleção de bactérias produtoras de H<sub>2</sub> em diferentes fontes de lodos anaeróbios, a partir da fermentação de trigo moído, conforme ilustrado na Figura 4 (Argun; Kargi, 2009). No entanto, García e Cammarota (2019) revelam que o pré-tratamento térmico com

períodos breves de aquecimento moderado, seguido de repouso de 6 horas (choque térmico) foi eficiente em eliminar competidores do hidrogênio e potencializar a atividade das bactérias produtoras, tornando o processo de fermentação escura mais eficiente para geração de bio-hidrogênio.

Figura 4 – Pré-tratamento por choque térmico.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

A escolha da melhor alternativa para supressão de arqueias metanogênicas depende de diversos fatores, incluindo a eficiência energética, o custo e o impacto na comunidade bacteriana desejada (Argun; Kargi, 2009; Kan, 2013). Através da literatura analisada, a melhor solução para eliminação das arqueias em prol das bactérias hidrogenogênicas é o pré-tratamento térmico à temperatura moderada, de 90 °C, por períodos controlados (10 – 30 minutos) (Alibardi et al., 2012; Kim; Han; Shin, 2006; Magdalena; González-Fernández, 2020), seguido de choque térmico, com resfriamento por 6 horas até a temperatura ambiente (García; Cammarota, 2019).

O pré-tratamento a temperaturas moderadas oferece um equilíbrio entre a inativação eficaz das arqueias sensíveis ao calor e a preservação da viabilidade das bactérias hidrogenogênicas (Alibardi et al., 2012; Kim; Han; Shin, 2006; Lay et al., 2011). Temperaturas muito elevadas podem ser muito agressivas, resultando na destruição de algumas bactérias produtoras de H<sub>2</sub> e na formação de compostos que inibem a fermentação (Kan, 2013). É importante ressaltar que a temperatura ideal para o pré-

tratamento térmico pode variar dependendo do tipo de lodo utilizado e da composição da comunidade microbiana (Ennouri et al., 2016; Vítěz et al., 2020).

Além do pré-tratamento térmico, outros métodos como a utilização de clorofórmio e o pré-tratamento ácido, também foram investigados para inativação de microrganismos metanogênicos (Argun; Kargi, 2009; Hu; Chen, 2007). Porém, o pré-tratamento térmico é amplamente preferido em relação a esses últimos métodos devido à sua simplicidade, eficácia e custo-benefício em muitas aplicações (Argun; Kargi, 2009).

#### **4.5.2 Pré-tratamento com clorofórmio**

O pré-tratamento de lodos anaeróbios por meio de agentes químicos como o clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) representa uma estratégia eficaz para inativar microrganismos metanogênicos e, portanto, otimizar a produção de  $\text{H}_2$  (Hu et al., 2009; Hu; Chen, 2007). O clorofórmio tem sido relatado como um potente agente químico inibidor da atividade metanogênica em sistemas de DA.

Hu et al., (2009) mostraram que o tratamento do lodo granular anaeróbio com este agente é capaz de transformar um sistema produtor de biometano em um sistema produtor de bio-hidrogênio. Os pesquisadores atribuem a inibição à toxicidade direta do  $\text{CHCl}_3$  para as arqueias metanogênicas – mais sensíveis a este componente que as bactérias hidrogenogênicas – perturbando suas membranas celulares e inativando enzimas essenciais para seu metabolismo.

Ning et al., (2012), ao analisar a estabilidade da produção de  $\text{H}_2$  e a diversidade microbiológica em lodos anaeróbios pré-tratados com  $\text{CHCl}_3$  com diferentes concentrações deste agente, concluíram que a concentração de 0,050% de clorofórmio era a mais adequada, considerando a produção cumulativa, máxima taxa de produção e rendimento de hidrogênio, bem como a eficiência de utilização do substrato.

#### **4.6 Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF)**

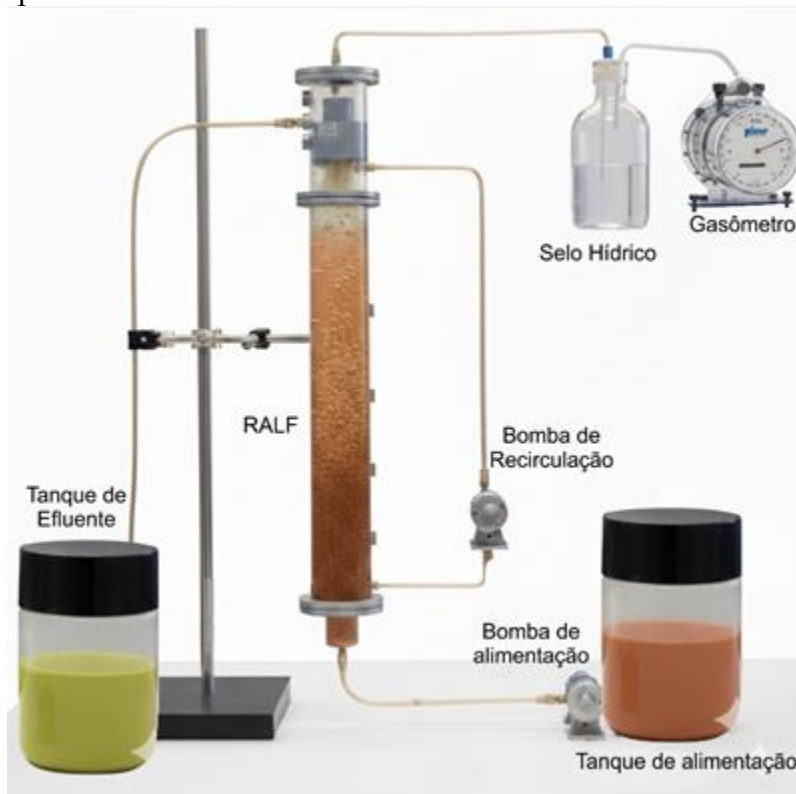
O RALF constitui uma tecnologia avançada para o tratamento de águas residuárias, caracterizada pela elevada taxa de transferência de massa gás-líquido e pela eficiente imobilização da biomassa. Essa configuração favorece processos como a fermentação escura, permitindo maior estabilidade operacional, biomassa com elevada produção de

substâncias poliméricas extracelular (EPS, em inglês) e melhor desempenho na conversão de matéria orgânica (Barca et al., 2015; Chen et al., 2024; Kumar et al., 2018). Este método é relevante dada a crescente necessidade de fontes de energias sustentáveis e métodos eficazes de gestão de resíduos (Dhanya et al., 2020; Preethi et al., 2019; Rawoof et al., 2021; Sivanesan et al., 2024).

#### 4.6.1 Funcionamento do RALF

O RALF é caracterizado por um leito de partículas que são fluidizadas por um fluxo ascendente de gás ou líquido, conforme ilustrado na Figura 5 (Gao et al., 2022). Esta fluidização confere ao sistema excelentes características de interface gás-sólido e de gás-líquido, o que é decisivo para a eficiência de processos biológicos (Liu et al., 2024; Yang; Wang; He, 2022). No cenário da produção de bio-hidrogênio, essas partículas servem como meio suporte para adesão de microrganismos anaeróbios, formando um biofilme (Barca et al., 2015).

Figura 5 – Esquema ilustrativo de um reator anaeróbio de leito fluidificado.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Dentre os fatores que interferem no funcionamento de um RALF incluem:

- **Meio suporte:** partículas como argila expandida (Dos Reis; Silva, 2011; Menezes et al., 2019; Shida et al., 2009, 2012; Silva et al., 2019) ou carvão ativado granular (Zhang et al., 2007) são bastante utilizadas para imobilizar a biomassa microbiana. Além dessas, ainda são opções a resina de poliéster e perlita vitrificada (Saucedo-Terán et al., 2004), poliestireno (Siqueira; Damiano; Silva, 2013), sepiolita e perlita comercial (Arnaiz; Gutierrez; Lebrato, 2006). A definição do material suporte é essencial, pois afeta a formação do biofilme, logo, a eficiência do reator (Barca et al., 2015; Shida et al., 2009). Porosidade, densidade e superfície específica dos materiais de suporte influenciam a adesão dos microrganismos e o desempenho do reator (Arnaiz; Gutierrez; Lebrato, 2006; Barca et al., 2015; Saucedo-Terán et al., 2004). Materiais de baixa densidade oferecem vantagens operacionais como menores requisitos de energia e um equilíbrio adequado para o crescimento do biofilme (Saucedo-Terán et al., 2004).
- **Sistema de fluidificação:** uma bomba impulsiona o fluxo ascendente de água residual do leito de partículas, mantendo-as em um estado fluidificado (Gao et al., 2022). A velocidade ascensional do fluido é um parâmetro crítico que determina o regime de fluidização e o desempenho do reator (Chen et al., 2024; Dos Reis; Silva, 2011). Uma velocidade apropriada é necessária para garantir a fluidificação homogênea do leito, evitando colmatações e minimizando perdas de biomassa (Estrada-Arriaga et al., 2012; Sarrouh; Converti; Da Silva, 2008). Além disso, esse sistema impõe um esforço de cisalhamento contínuo das partículas do meio suporte do RALF, promovendo uma renovação constante das células microbianas e, por conta deste estresse, estimulam a produção de EPS, ajudando a formar uma camada de proteção que ajuda a adesão dos microrganismos à biomúdia (Koerich; Rosa, 2021; Melo et al., 2022; Menniti et al., 2009). As EPS são matrizes complexas, formadas por polissacarídeos, proteínas, lipídios e DNA, que compõe a (Babiak; Krzemińska, 2021; Melo et al., 2022; Pereira et al., 2019).

No estudo de Dos Reis e Silva (2011), foram utilizados dois RALFs, construídos em acrílico, com diâmetro interno de 5,3 cm e altura de 190 cm, resultando em um volume de 4192 cm<sup>3</sup>, utilizando lodo de tratamento de águas residuárias suínas como inóculo para ambos os reatores, adotando velocidades ascensionais de 1,24 cm/s e de 1,88 cm/s, onde a menor velocidade gerou uma maior produção volumétrica de H<sub>2</sub>.

#### 4.6.2 Condições operacionais

A eficiência, estabilidade e viabilidade de vários processos biológicos e químicos são fortemente influenciadas pelas condições operacionais, particularmente em sistemas como reatores de digestão anaeróbia e tratamento de águas residuárias (Amin et al., 2021; Arslan et al., 2016; Naderi et al., 2023).

As condições operacionais em um RALF para FE são críticas para otimização da produção de bio-hidrogênio. Dentre elas encontram-se:

- **Temperatura:** Um dos fatores ambientais mais importantes é a temperatura, que afeta de forma direta as taxas de reação biológica e a atividade enzimática (Deng et al., 2023; Shaukat et al., 2023; Tian et al., 2024). A temperatura é um fator chave, com processos ocorrendo em faixas tanto mesofílicas (30 – 40 °C) quanto termofílicas (50 – 60 °C) (Ferreira et al., 2020, 2018; Muñoz-Páez et al., 2013). Estudos mostram que a temperatura mesofílica de 30 °C foi eficaz em vários experimentos, como na produção de H<sub>2</sub> a partir do melado de cana-de-açúcar (Ferreira et al., 2020) e águas residuárias de refrigerantes (Menezes et al., 2019).
- **pH:** regula a ação de microrganismos e enzimas, a solubilidade de nutrientes e a formação de produtos em diversos sistemas biológicos e químicos (Bermúdez-Penabad; Kennes; Veiga, 2017; Peng; RuiYang; ChunHao, 2022; Shaukat et al., 2023). Alterações no pH podem resultar na inibição da atividade microbiana ou na mudança da rota metabólica, gerando subprodutos indesejados (Arslan et al., 2016; Silva-Illanes et al., 2017; Zagrodnik; Duber; Seifert, 2022). Este é um dos parâmetros mais importantes a ser controlado durante a FE para a produção de H<sub>2</sub>,

usualmente mantido em uma faixa ácida entre 5.0 e 6.5 (Barca et al., 2015; De Amorim; Sader; Silva, 2012; Hussien et al., 2024). Contudo, um pH de cerca de 3,5 no efluente foi observado em um estudo com glicose como substrato (De Amorim; Sader; Silva, 2012). Quanto à adição de tamponante, (Shida et al., 2012) mostram que a adição de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) impactou em um menor HY, de 2,45 para 1,90 mol  $\text{H}_2$  mol<sup>-1</sup> glicose. Por outro lado, foi notado aumento de 30% e de 176%, respectivamente, com a utilização de  $\text{NaHCO}_3$  e de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) para co-fermentação de resíduo agroindustrial cítrica (Rocha; Sakamoto; Varesche, 2024).

- **Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) e Carga Orgânica Volumétrica (COV):** constituem fatores interligados que definem a permanência do substrato e dos microrganismos no reator, influenciando diretamente na eficiência do processo bioquímico (De Vela, 2021; Liu et al., 2018; Pechaud et al., 2022). Um TDH mais longo possibilita um maior tempo de contato entre os microrganismos e o substrato, mas pode diminuir a eficiência do reator (Fan et al., 2023; Muda et al., 2011). Por outro lado, a redução do TDH e o aumento da COV podem melhorar a produtividade, mas também podem resultar na lavagem de microrganismos e na instabilidade do processo (Leite et al., 2023; Shang et al., 2025). O TDH é essencial para o desempenho do reator. TDHs curtos (1 – 8 horas) são frequentemente usados em RALFs (De Amorim; Sader; Silva, 2012; Shida et al., 2009). Em um estudo, o TDH variou de 8 a 0,5 h, com a COV variando 7,92 a 137,09 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, mostrando que a COV tem um impacto significativo na produção de  $\text{H}_2$  (Menezes et al., 2019), enquanto Almeida et al., (2025) alterou as condições de COV de 20 a 240 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, obtendo maiores HY em menores TDH (3 e 1 h). A produção de hidrogênio geralmente aumenta com a diminuição do TDH até um ponto ideal (Ferreira et al., 2018; Shida et al., 2009).
- **Concentração do substrato:** afeta a velocidade da reação, o crescimento microbiano e a obtenção de produtos (Arslan et al., 2016; Nwokolo et al., 2020). Uma concentração inadequada pode restringir a produção, ao passo

que uma concentração excessiva pode resultar na inibição do processo ou no acúmulo de subprodutos indesejados (Bühlmann et al., 2021; Deng et al., 2023). A concentração inicial do substrato afeta diretamente o rendimento de hidrogênio. (De Amorim; Sader; Silva, 2012) avaliam o efeito de diferentes concentrações de glicose (de 2 a 25 g L<sup>-1</sup>), com TDH variando de 8 a 1 h, em RALFs, atingindo maior HY (2,49 mol H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup><sub>glicose</sub>) com TDH de 2h e concentração de 2 g L<sup>-1</sup>, enquanto a maior PVH (1,46 L h<sup>-1</sup> L<sup>-1</sup>) foi obtida na condição operacional com concentração de 10 g L<sup>-1</sup> e TDH de 1h. Por sua vez, diferentes substratos foram utilizados diluídos em seus respectivos tratamentos, como melaço de cana-de-açúcar, resíduos de refrigerantes ou águas residuárias vinícolas, para produção de H<sub>2</sub> (Ferreira et al., 2020; Menezes et al., 2019; Policastro et al., 2022).

## 5 ADAPTAÇÃO DO REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIFICADO AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE RESÍDUO DE FRUTAS E VEGETAIS

### 5.1 Introdução

Estima-se que foram desperdiçados, no Brasil, entre 23 e 82 milhões de toneladas de alimentos em 2024 (UNEP, 2024). No nordeste brasileiro, esta realidade não é diferente: estudos apontam perdas na ordem de 9,5 toneladas/semana de frutas e verduras no Centro de Abastecimento de Alimentos (Ceasa) de Salvador, Bahia (Santos et al., 2020); na Ceasa de Maracanaú, Ceará, a produção de resíduo de frutas e verduras chega à ordem de 17 toneladas/dia (Da Silva Júnior et al., 2022). Portanto, o problema gerado pela produção desse resíduo pode ser mitigado através da digestão anaeróbia, possibilitando sua recuperação energética, produção de biofertilizantes e reuso da água do efluente tratado (Menezes et al., 2024b).

Os RFVs são particularmente adequados para essa aplicação (Azevedo et al., 2025; Mazzanti et al., 2025a; Menezes et al., 2024b) devido seu alto valor de umidade e aos seus compostos orgânicos prontamente biodegradáveis, como carboidratos, que são ideais para fermentação escura. As rotas metabólicas chave desse processo incluem a conversão de glicose em acetato (AAc), butirato (Abu), lactato (ALa) e etanol, com a produção concomitante de  $H_2$  e  $CO_2$  (Lim; Nandong, 2022; Silva et al., 2024; Sultana et al., 2023a; Yahaya et al., 2022).

A fermentação escura é um processo biotecnológico de grande relevância no contexto da produção de energia renovável (Blanco; Oliveira; Zaiat, 2019; Sultana et al., 2023b). Trata-se de uma via metabólica que utiliza matéria orgânica para produção de bio-hidrogênio ( $H_2$ ), ácidos orgânicos voláteis (AOVs) e outros subprodutos, na ausência de luz. Este processo é altamente eficaz para converter materiais orgânicos, como restos de comida (An; Xu; Dai, 2024; Melikoglu; Tekin, 2024; Sultana et al., 2023a), e resíduos agroindustriais (Antonopoulou et al., 2012; Blanco; Oliveira; Zaiat, 2019; Melikoglu; Tekin, 2024; Wagh et al., 2024), dentre eles, os resíduos de frutas e verduras, em energia renovável.

Os desafios associados à utilização do RFV incluem a variação na carga orgânica e composição, que pode afetar a estabilidade do processo e a eficiência de produção de hidrogênio. O RFV é composto principalmente por carboidratos de fácil degradação que pode gerar uma alta produção de ácidos. A fermentação desse substrato também é

sensíveis a variações de cargas orgânicas a depender da operação e tipo de reator utilizado. Tais fatores afetam a estabilidade e eficiência do processo de produção de hidrogênio. A produção de bio-hidrogênio pode ser aprimorada em sistemas de digestão anaeróbia de dois estágios para o RFV (Mazzanti et al., 2025a; Menezes et al., 2024b; Sukphun et al., 2023). No primeiro estágio, a fase acidogênica ou hidrogenogênica é enfatizada, com o objetivo de maximizar a produção de hidrogênios e AOVs. Essa abordagem não só otimiza a produção, como também melhora a estabilidade do processo, permitindo o controle mais eficaz das condições de operação dos reatores, como pH e temperatura, otimizando, também a produção de metano no reator subsequente, uma vez que os AOVs estarão prontamente pré-digeridos, evitando que haja acúmulo de ácidos orgânicos no reator metanogênico, fator inibitório de produção de metano pelas arqueias metanogênicas (An; Xu; Dai, 2024; Devens et al., 2025a; Hou et al., 2025; Mazzanti et al., 2025a; Ribeiro et al., 2024b; Sukphun et al., 2023).

O RALF é uma das escolhas para a fase acidogênica ou hidrogenogênica em sistemas de dois estágios. Neste reator, o substrato é introduzido na base de uma coluna contendo material de suporte, e o fluxo ascendente de líquido – por meio de altas vazões de recirculação – provoca fluidização do leito de partículas (Devens et al., 2025a; Ouppatampanon et al., 2024). O RALF melhora a transferência gás-líquido, além de prevenir a formação de zonas mortas (curto-circuito) e de permitir a preservação da biomassa (Ouppatampanon et al., 2024).

Este reator é ideal para operações com alta carga orgânica volumétrica (COV), permitindo baixos tempos detenção hidráulica (TDH), com altas taxas de produção de biogás (Almeida et al., 2022; Devens et al., 2025a; Menezes, 2018; Ribeiro et al., 2024b) e é a configuração mais prevalente para sistemas de recuperação de fósforo via biomineralização, mais uma alternativa para produção de biofertilizante (Ouppatampanon et al., 2024; Riewklang et al., 2023).

Este estudo almeja desenvolver uma pesquisa abrangente que considere as diferentes concentrações de substrato, a influência do TDH e o processo de adaptação do RALF à fração líquida do resíduo de frutas e verduras (FLRFV).

Ademais, para uma análise mais abrangente dos limites e potencialidades do RALF no tratamento da FLRFV, este trabalho discute e contextualiza os resultados sob a luz de dados operacionais complementares (Almeida et al., 2025), que investigaram o efeito de TDHs decrescentes (e COVs progressivas) sobre o mesmo substrato, permitindo uma

visão integrada das estratégias para viabilizar a produção de bio-hidrogênio a partir deste resíduo complexo.

## 5.2 Metodologia

### 5.2.1 Configuração experimental

O estudo foi realizado por meio de um RALF (Figura 6) constituído em aço inoxidável, com diâmetro interno de 2,2 cm, altura total de 150 cm, com um volume total de 750 cm<sup>3</sup>, volume útil de 570 cm<sup>3</sup>, volume de leito de partículas 160 cm<sup>3</sup>.

Figura 6 – Configuração experimental do RALF utilizada.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

### 5.2.2 Meio suporte e inóculo

Utilizou-se como material suporte do reator argila expandida, que foi devidamente peneirada, mantendo uma faixa de diâmetros entre 2,8 mm e 3,35 mm, para separação de materiais pulverulentos e de grânulos maiores que os desejados.

Para devida eliminação de arqueias metanogênicas, foi realizado o pré-tratamento térmico do lodo de cervejaria. O lodo foi triturado, diluído em água (50% v/v) e aquecido a 90°C por 10 min (Alibardi et al., 2012; Kim; Han; Shin, 2006; Magdalena; González-Fernández, 2020), em homogeneização constante, e resfriado por 6 h, até atingir a temperatura ambiente (García; Cammarota, 2019).

O material destinado ao inóculo foi composto de lodo pré-tratado (10% v/v do barrilete), água, 5 g L<sup>-1</sup> de sacarose e meio nutricional (Tabela 1), e mantido em batelada por 21 dias, com uma vazão de recirculação de 25 L h<sup>-1</sup>, sendo realimentado com sacarose sempre que houvesse consumo de 80% do carboidrato da solução. Após esta etapa o reator passou a ser operado de forma contínua, em condições mesofílicas (30 °C).

Tabela 1 – Meio nutricional utilizado na alimentação do RALF.

Composto	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
<i>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></i>	85,0
<i>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></i>	21,7
<i>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O</i>	33,4
<i>FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O</i>	0,5
<i>FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O</i>	5,0
<i>CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O</i>	62,3
<i>CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O</i>	0,15
<i>Se</i>	0,05
<i>(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO</i>	125

Fonte: Adaptado de Del Nery, (1993).

### 5.2.3 Alimentação e substrato

A FLRFV apresentou uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 116 g L<sup>-1</sup>, conforme dados de caracterização da Tabela 2. O pré-tratamento do RFV envolveu trituração seguida de centrifugação, resultando em uma fração líquida que foi coletada e armazenada a 4°C para evitar a biodegradação antes de seu uso como alimentação do reator.

Tabela 2 – Caracterização do RFV da Ceasa Maracanaú.

Parâmetros	RFV Triturado	RFV Líquido
Demanda Química de Oxigênio total (DQO <sub>t</sub> ) (gDQO L <sup>-1</sup> )	162,8±3,1	115,9±4,2
Sólidos Totais (ST) (%)	15,0	9,2±0,3
Umidade (%)	85,0	90,8±0,3
Sólidos Voláteis (SV) (% ST)	94,6	93,1±0,1

Proporção DQO/SV (kg DQO kg SV <sup>-1</sup> )	1,7±0,1	1,4±0,2
Carboidratos totais (g L <sup>-1</sup> )	55,0	45,7±3,0
Lipídios (%)	1,21±0,1	0,7±0,1
Proteínas bruta (%)	1,3±0,1	1,2±0,1
Nitrogênio Total (g kg <sup>-1</sup> <sub>substrato</sub> )	28,2±0,7	15,2±0,1
Proporção C/N (gDQO g NT <sup>-1</sup> )	5,8	7,6
pH	n.d	4,5±0,1
Ácido Acético (mg L <sup>-1</sup> )	n.d	176,7±36,2
Ácido Lático (mg L <sup>-1</sup> )	n.d	258,2±128,9
Ácido Isobutírico (mg L <sup>-1</sup> )	n.d	505,1±150,1

Fonte: Da Silva Júnior (2025) e Da Silva Júnior et al. (2025).

### 5.3 Programa experimental

O reator foi operado nas seguintes condições: COV (60 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>), TDH de 2h, pH sem correção 4,5 e DQO de 5,0 gO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. As condições A1 até A5, são as fases de adaptação do reator conforme Tabela 3 e Tabela 4: A operação durou 94 dias, incluindo alimentação com sacarose (A1), co-fermentação de sacarose e RFV (A2 – A4) e, por último, somente com RFV pré-tratado (A5), que foi diluído em concentrações crescentes.

Tabela 3 – Etapas de adaptação do RALF à FLRFV.

Etapa	% Sacarose	% FLRFV	Dias de operação
A1	100	0	1 – 29
A2	75	25	30 – 36
A3	50	50	37 – 74
A4	25	75	75 – 86
A5	0	100	87 – 93

Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Cabe ressaltar que se optou por não realizar o controle ativo do pH afluente ao longo deste estudo, visando observar a autorregulação do sistema frente à introdução progressiva da FLRFV. Esta abordagem almeja avaliar a robustez do RALF e a resiliência da comunidade microbiana em condições mais próximas das aplicações em escala real, onde o controle fino de pH pode ser economicamente inviável.

Tabela 4 – Condições de operação do RALF.

Parâmetro	Condição de operação				
	A1	A2	A3	A4	A5
TDH (h)	2	2	2	2	2
DQO (kgDQO.m <sup>-3</sup> )	5	5	5	5	5
COV (kgDQO m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	60	60	60	60	60

Nota: TDH – Tempo de detenção hidráulica; DQO – Demanda Química de Oxigênio; COV – Carga orgânica volumétrica.

Fonte: elaborada pelo autor (2025).

#### 5.4 Métodos analíticos

A DQO (total, particulada e solúvel), os Sólidos Totais (ST), os Sólidos Fixos (SF), os Sólidos Suspensos Totais (SST), os Sólidos Voláteis (SV), os Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), o Nitrogênio Kjeldahl Total (NKT), a  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , o Fósforo Total (PT), o pH e a concentração de carboidratos foram determinados por APHA (2012).

Ácidos Graxos Voláteis Totais (AGVt) foram determinados utilizando titulação direta (DiLallo; Albertson, 1961). A composição de carboidratos totais foi determinada via metodologia de Dubois et al. (1956). A identificação de ácidos graxos voláteis (AGV) foi realizada através de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) Shimadzu UFLC HPLC System.

O volume produzido de biogás foi medido através de um gasômetro tipo tambor Ritter TG 0.5 acoplado ao *headspace* do reator. A composição de  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$  do biogás foi mensurada através de cromatografia gasosa (CG) Shimadzu Nexis GC-2030. Na Tabela 5 encontram-se as frequências de realizações das análises.

Tabela 5 – Frequência e Metodologias das Análises

Análise	Unidade	Frequência	Metodologia
Vazão	L h <sup>-1</sup>	Diária	
pH	-	Diária	
DQO	mg L <sup>-1</sup>	3x na semana	APHA (2012)
Eficiência de remoção de DQO	%, gDQO <sub>r</sub> .gDQO <sub>add</sub> <sup>-1</sup>	3x na semana	
Carboidratos	mg L <sup>-1</sup>	3x na semana	Dubois et al. (1956)
Eficiência de remoção de Carboidrato	%, g <sub>removida</sub> g <sub>adicionada</sub> <sup>-1</sup>	3x na semana	
Vazão de biogás	NmL.d <sup>-1</sup>	Diária	
PVH	NmL H <sub>2</sub> .L <sub>reator</sub> <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Diária	
Vazão de H <sub>2</sub>	NmL H <sub>2</sub> .d <sup>-1</sup>	Diária	
HY	NL H <sub>2</sub> .g <sup>-1</sup> DQO <sub>add</sub> <sup>-1</sup>	3x na semana	
Conversão de H <sub>2</sub>	%, gDQOH <sub>2</sub> .gDQO <sub>rem</sub> <sup>-1</sup>	3x na semana	
SST e SSV	%	3x na semana	APHA (2012)
AGVt	mgAAc.L <sup>-1</sup>	Diária	(DiLallo; Albertson, 1961)

Nota: HY – *Hydrogen Yield* (Rendimento de Hidrogênio); NL – Volume do gás normalizado em CNTP; SST – Sólidos Suspensos Totais; SSV – Sólidos Suspensos Voláteis; DQO – Demanda Química de Oxigênio; PVH – Produção Volumétrica de H<sub>2</sub>; AGVt – Ácidos Graxos Voláteis totais,

Fonte: elaborada pelo autor (2025).

## 5.5 Indicadores de Desempenho

Os indicadores de desempenho do reator foram calculados com base nas equações listadas abaixo.

A taxa de carga orgânica (TCO) teórica aplicada (Equação 1), expressa a razão entre a concentração de carboidratos (Carbo) afluente e o TDH do reator, representando a carga diária de substrato passível de conversão aplicada ao sistema.

$$TCO_{teórica} = \frac{Carbo}{TDH_{teórico}} \quad (1)$$

Carbo – concentração de carboidratos (kg m<sup>-3</sup>);

TDH<sub>teórico</sub> – (dia);

TCO<sub>teórica</sub> – (kg<sub>carboidrato</sub>m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>);

A produção volumétrica de bio-hidrogênio (Equação 2) foi quantificada por meio de dois indicadores principais: a PVH e o HY (Equação 3). A PVH, expressa em mL H<sub>2</sub> L<sup>-1</sup><sub>reator</sub> d<sup>-1</sup>, foi calculada a partir do volume de hidrogênio produzido em condições padrão, refletindo a produtividade do sistema.

$$PVH = \frac{\text{Volume produzido}_{H_2}}{\text{tempo}} \times \frac{1}{\text{Volume útil}_{reator}} \quad (2)$$

$\text{Volume produzido}_{H_2}$  – (L);

Tempo (h);

$\text{Volume útil}_{reator}$  – (L);

$$HY = \frac{PVH}{\text{Carbo}_{consumido}} \quad (3)$$

$PVH$  – ( $\text{mol}_{H_2} d^{-1} m^{-3}$ );

$\text{Carbo}_{consumido}$  – ( $\text{mol}_{hexose} d^{-1} m^{-3}$ );

HY – Rendimento de hidrogênio ( $\text{mol}_{H_2} \text{mol}_{hexose}^{-1}$ )

O HY (rendimento de hidrogênio), por sua vez, expresso em mol de H<sub>2</sub> por mol de hexose consumida ( $\text{mol}_{H_2} \text{mol}_{hexose}^{-1}$ ), relaciona a PVH (convertida para base molar) com a quantidade de carboidratos consumida ( $\text{Carbo}_{consumido}$ , em  $\text{mol}_{hexose} m^{-3} d^{-1}$ ), representando a eficiência de conversão do substrato em hidrogênio.

Para interpretar os resultados à luz das vias metabólicas, foi calculada (Equação 4) a produção teórica de hidrogênio (H<sub>2</sub> teórico), em  $\text{mol L}^{-1} d^{-1}$ , é um indicador estequiométrico baseado nas concentrações efluentes de ácido butírico ([ABu]), ácido acético ([AAc]) e ácido propiônico ([APr]), todos em  $\text{mol L}^{-1}$ , permitindo inferir o predomínio de rotas produtoras ou consumidoras de H<sub>2</sub>.

$$H_2 \text{ teórico} = 2[ABu] + 2[AAc] - [APr] \quad (4)$$

$H_2$  teórico – Produção molar diária de hidrogênio ( $\text{mmol L}^{-1}$ );

[AAc] – concentração de ácido acético ( $\text{mmol L}^{-1}$ );

[ABu] – concentração de ácido butírico ( $\text{mmol L}^{-1}$ );

[APr] – concentração de ácido propiônico ( $\text{mmol L}^{-1}$ );

Finalmente, a ocorrência e magnitude da homoacetogênese, uma via metabólica que consome H<sub>2</sub> para produzir acetato, foram quantificadas (Equação 5) pelo cálculo da produção de ácido acético via homoacetogênese ( $\text{AAc}_{(homoacetogênese)}$ ), em  $\text{mol L}^{-1}$ . Este parâmetro, desenvolvido por Menezes e Silva, (2019), é estimado pela diferença entre a produção teórica e experimental de H<sub>2</sub>, fornecendo uma medida direta da inibição metabólica que impacta o rendimento final do processo.

$$AAC_{(homoacetogênese)} = \frac{2[AAC] + 2[ABu] - [APr] - H_2}{6} \quad (5)$$

$AAC_{(homoacetogênese)}$  – Produção de ácido acético durante homoacetogênese ( $mmol L^{-1}$ );

## 5.6 Resultados e discussões

### 5.6.1 Operação do Reator:

O desempenho do reator na produção de bio-hidrogênio e na conversão de matéria orgânica foi avaliada de forma abrangente com base nos dados operacionais do RALF, coletados ao longo de 5 fases operacionais, resumidos na Tabela 6.

Conforme os dados da Tabela 6, observa-se uma correlação inversa (Pearson = -0,957) entre a introdução progressiva da FLRFV no substrato e na PVH do RALF. Enquanto o sistema foi alimentado exclusivamente com sacarose, um carboidrato de fácil degradação, a PVH manteve-se elevada, atingindo um valor médio de  $4361 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$ . No entanto, a substituição gradual pela FLRFV resultou em um declínio acentuado dessa taxa, que chegou a apenas  $261 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$  quando se utilizou 100% de FLRFV. A grande produção de hidrogênio no caso em que há somente sacarose se deve ao fato de a sacarose ser facilmente assimilada pelos microrganismos (Tunçay et al., 2017) e de não precisar de um processo avançado de hidrólise, já possuindo concentração de açúcares prontamente disponíveis.

Verifica-se que a FLRFV, mesmo sendo um substrato rico em carboidratos (Da Silva Júnior et al., 2025), apresenta uma menor concentração de carboidratos disponíveis, em comparação à sacarose pura, e de rápida assimilação, caracterizando-se por possuir compostos cuja hidrólise é mais demorada.

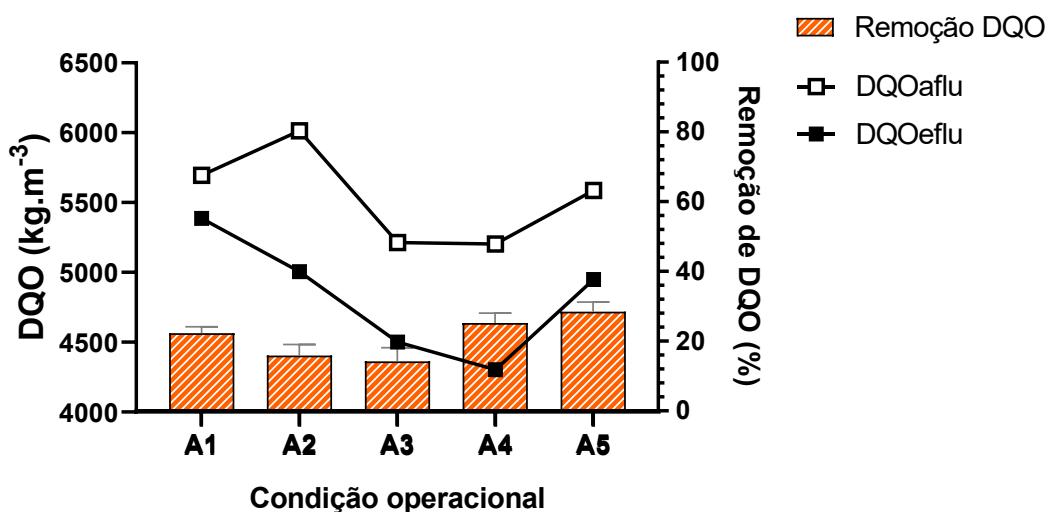
Em segundo lugar, a relação carboidrato/DQO é menos favorável na FLRFV, uma vez que esse substrato incorpora outros constituintes, como lipídios e proteínas, os quais não são diretamente convertidos em hidrogênio pelas vias fermentativas usuais. Ademais, a presença de AGVs no próprio resíduo, como ABu, APr e ALa, pode exercer efeito inibitório sobre as linhagens bacterianas hidrogenogênica ou, ainda, favorecer rotas metabólicas competidoras que consomem  $H_2$ , como a homoacetogênese.

Augusto et al., (2024), ao avaliarem a produção de H<sub>2</sub> através da fermentação escura do melaço de soja, investigaram o papel da homoacetogênese através de análise microbiana e cinética, e concluíram que a essa rota consumiu quase 60% do H<sub>2</sub> produzido. Os pesquisadores apontaram, além da ocorrência desse processo, a presença de microrganismos endógenos no substrato analisado. Há probabilidade de que as mesmas questões apontadas pelos autores tenham ocorrido no presente estudo. O pré-tratamento do RFV não envolve esterilização do substrato, que, naturalmente já apresenta microrganismos autóctones consumidores de H<sub>2</sub> que podem alterar a biota hidrogenogênica estabelecida durante a adaptação à sacarose.

### 5.6.2 Conversão e consumo de substrato

O RALF foi alimentado com COV de 60 kg DQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> em todas as fases de adaptação, considerada uma carga alta de matéria orgânica para tratamento. O reator apresentou eficiência de remoção entre 14,2% e 28,4% (Figura 7), consistente com a literatura para processos de fermentação escura para produção de H<sub>2</sub> com RALFs – que são frequentemente operados com TDH curtos (Dos Reis; Silva, 2011; Marques et al., 2019; Ramos; Silva, 2020) – cujo objetivo é a conversão da matéria orgânica em subprodutos como ácidos orgânicos e hidrogênio, ao invés de sua completa mineralização (Da Silva Júnior et al., 2025).

Figura 7 – DQO e remoção de DQO durante a adaptação do RALF.

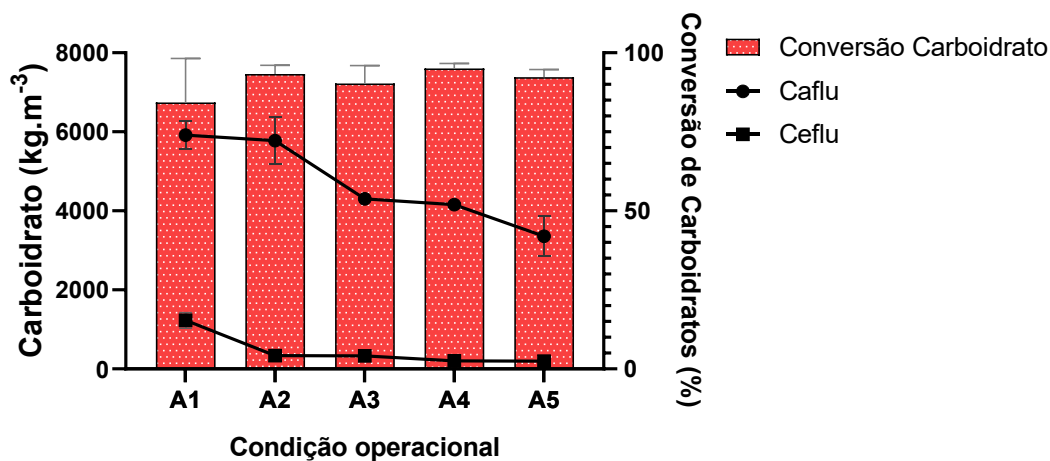


Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Observa-se que a remoção de DQO aumentou conforme houve a substituição gradual da sacarose por RFV (Figura 7). Esse comportamento pode ser atribuído à natureza mais complexa e heterogênea desse substrato em comparação com a sacarose. Enquanto a sacarose é prontamente convertida em produtos fermentativos simples, a FLRFV contém, além de carboidratos, frações significativas de proteínas, lipídios e outros compostos orgânicos mais complexos, que demandam etapas adicionais de hidrólise e de metabolismo microbiano. Conseqüentemente, há um maior consumo da matéria orgânica para a síntese de AOVs e outros intermediários metabólicos, o que se reflete no aumento da eficiência de remoção de DQO, ainda que nem todo carbono orgânico seja direcionado para produção de bio-hidrogênio.

Paralelamente, a taxa de conversão de carboidratos se manteve consistentemente alta e estável (entre 84,3% e 95,0%), conforme Figura 8, o que confirma a estabilidade e eficácia do processo durante a transição, demonstrando que a maioria dos açúcares está sendo eficientemente quebrada em moléculas mais simples (Da Silva Júnior et al., 2025).

Figura 8 – Concentração de carboidratos afluente e efluente durante a adaptação ao substrato.



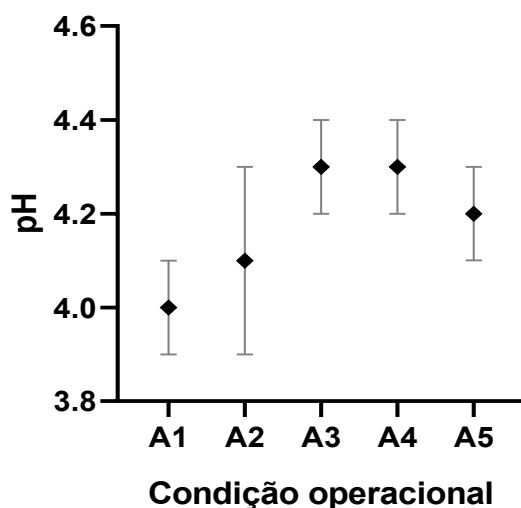
Fonte: elaborada pelo autor (2025).

### 5.6.3 pH

O pH se manteve consistentemente ácido (faixa de 4,0 a 4,3) em todas as etapas de adaptação (Figura 9). Embora essa condição extremamente ácida seja tradicionalmente inibitória para arqueias metanogênicas, ela também pode sê-la para algumas cepas de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>, cujo pH ótimo de produção se situa próximo a 5,5 (Barca et

al., 2015; De Amorim; Sader; Silva, 2012; Hussien et al., 2024). Dessa forma, o ambiente ácido, somado ao potencial acúmulo de AOVs inibidores oriundos da FLRFV, criou uma condição operacional que suprimiu a atividade hidrogenogênica e permitiu o estabelecimento de uma microbiota alternativa, culminando no colapso da produção de  $H_2$ , observados nos estágios finais da adaptação.

Figura 9 – pH do RALF durante a adaptação ao substrato.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Estudos apontam uma faixa ótima de pH para produção de  $H_2$  entre 5,5 e 6,0 (Carosia et al., 2017; Muri et al., 2018; Rawoof et al., 2021; Zhang et al., 2007). Contudo, não é incomum que RALFs operem em faixas de pH abaixo de 4,5. Isto é relatado na literatura, tanto para faixas de pH próximas a 4,0 (Ferreira et al., 2018; Santos et al., 2014a, 2014b, 2014c) quanto para faixas menores que 4,0 (Barros; Silva, 2012; Carosia et al., 2017; Cavalcante de Amorim et al., 2009; Menezes; Silva, 2019; Shida et al., 2009, 2012).

Condições mais ácidas são frequentemente utilizadas para inibição da atividade metanogênica, que competem com microrganismos hidrogenogênicos pelos substratos orgânicos. Essa inibição é fundamental, pois as arqueias metanogênicas consomem o hidrogênio produzido para formação de  $CH_4$ , diminuindo, assim o HY (Agudelo-Patiño; Ortiz-Sánchez; Alzate, 2024; Cisneros-Pérez et al., 2017; Rawoof et al., 2021).

O controle do pH é essencial, uma vez que o acúmulo de AOV pode levar à queda adicional do pH, inibindo a atividade microbiana e a produção de  $H_2$  (Shida et al., 2012; Yan et al., 2023). A adição de substâncias tampão, como bicarbonato de sódio, pode ser utilizada para manter o pH na faixa desejada (De Amorim et al., 2017; Shida et al., 2012).

De Amorim, Sader e Silva (2012) mostraram faixas bem mais ácidas para RALF alimentado com sacarose em todas as concentrações de substrato analisadas, com valores de pH abaixo de 4,1, chegando a 3,3, corroborando com os resultados obtidos com a operação utilizando como substrato exclusivamente a sacarose (A1).

Por sua vez, Ferreira et al. (2018) utilizando o mesmo material suporte (argila expandida), com lodo pré-tratado termicamente e alimentando um RALF mesofílico com sacarose a  $5,0 \text{ g L}^{-1}$  a um TDH de 2h, obteve um HY de  $2,55 \text{ mol H}_2 \text{ mol}^{-1}_{\text{sacarose}}$  (aproximadamente  $6,6 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ ) com um pH médio do reator de 4,2. Isto é, os resultados obtidos pelos autores foram maiores que os obtidos na operação do RALF na condição A1, que alcançou um desempenho de  $2,6 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ .

Comparando os dados da Tabela 6 com o estudo de Rego et al., (2022), que operou com COV de  $60 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , TDH de 2h, e utilizou como substrato a vinhaça da cana-de-açúcar, os autores obtiveram um pH entre 4,5 e 5,2, com  $\text{H}_2$  de 15% do biogás, com HY de  $0,27 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ . A análise revela que:

- a condição A2 (pH 4,1) apresentou melhor desempenho, com 33,5% de  $\text{H}_2$  na composição do biogás e HY de  $1,8 \text{ mmol H}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ , superando o teor de hidrogênio de Rego et al., (2022), porém com rendimento convertido ainda moderado;
- nas condições A3 e A5 (pH 4,2 e 4,3, respectivamente), houve queda acentuada para apenas 1,5 – 7,8 % de  $\text{H}_2$  e HY de 0,2 – 0,8  $\text{mmol H}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ , valores inferiores à referência tanto em teor quanto em rendimento.

#### 5.6.4 Produção de hidrogênio

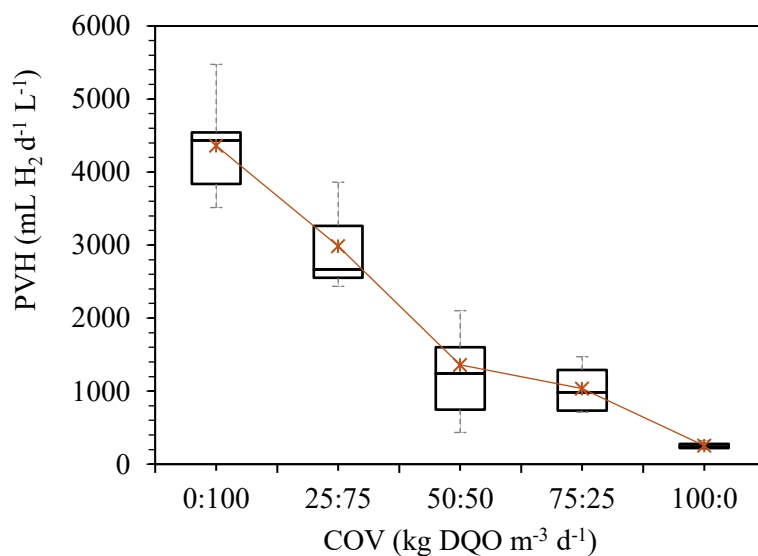
Em contrapartida, a produção de  $\text{H}_2$  (Figura 10) e o HY (Figura 11) reduziram, demonstrando que o RALF passou a ter uma maior taxa de consumo de matéria orgânica, conforme perde sua capacidade hidrogenogênica e se torna acidogênica. Esse cenário indica que apesar da eficiente degradação do substrato, o carbono e a energia estão sendo desviados para vias metabólicas que não resultam em produção de  $\text{H}_2$ , tendo como possíveis causas:

- Produção de outros subprodutos: a formação de AOV como APr ou butanol ao invés de AAc e ABu, ou produção de etanol, que são vias menos

favoráveis para produção de hidrogênio (Bhurat et al., 2020; Marques et al., 2019).

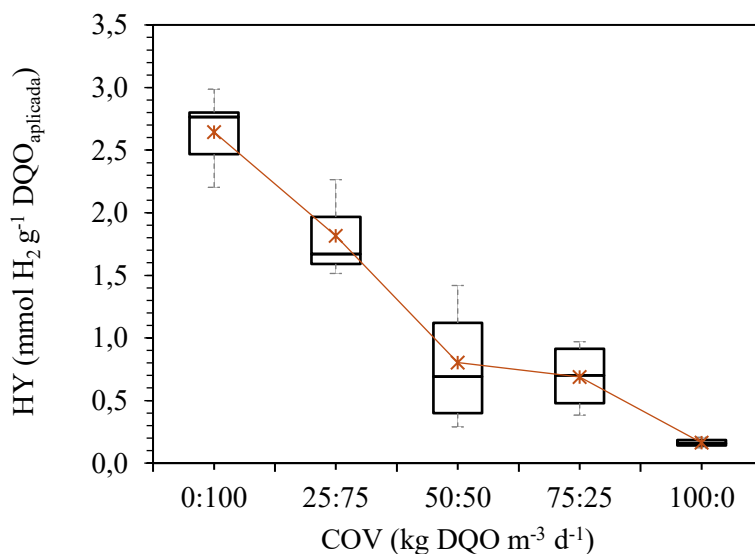
- Condições operacionais subótimas: fatores como pH, TDH, TCO ou a concentração de inibidores podem não estar otimizados para a produção de  $H_2$ , favorecendo a degradação geral da DQO em detrimento do HY (Amorim et al., 2014; Marques et al., 2019; Yan et al., 2023).

Figura 10 – Produção Volumétrica de Hidrogênio do RALF durante adaptação ao substrato.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

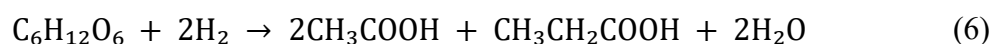
Figura 11 - Rendimento de Hidrogênio durante adaptação ao substrato.



Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Enquanto a condição com 100% de sacarose (A1) apresentou produção volumétrica  $H_2$  (PVH) de 4361 mL  $H_2$   $L_{\text{reator}} d^{-1}$  e um rendimento de  $H_2$  (HY) de 2,6 mmol  $H_2$   $g^{-1} DQO_{\text{aplicada}}$  (Figura 11). A introdução gradual da FLRFV resultou em um declínio acentuado, atingindo apenas 261 mL  $H_2$   $L_{\text{reator}} d^{-1}$  e 0,2 mmol  $H_2$   $g^{-1} DQO_{\text{aplicada}}$  na condição com 100% de FLRFV (A5). A composição de  $H_2$  no biogás também reduziu drasticamente de 34,29% para 1,53%, confirmando a perda da capacidade hidrogenogênica do reator.

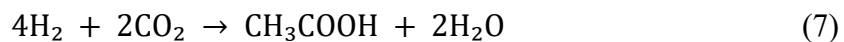
A análise geral dos parâmetros de desempenho e dos metabólitos formados revela uma correlação inversa e significativa entre a introdução progressiva da (FLRFV) e o rendimento de hidrogênio (HY). Este declínio está diretamente associado ao aumento substancial da concentração de ácido propiônico (APr) no efluente, que elevou de 204,0 mg  $L^{-1}$  para 318,0 mg  $L^{-1}$  com a transição de 100% de sacarose para 100% de FLRFV. O incremento paralelo na razão APr/AAc indica um desvio metabólico crítico para a via de produção de propionato, uma rota consumidora de hidrogênio, conforme estequiometria da Equação 6. Este desvio, termodinamicamente favorecido em condições de pH ácido, representa um fator crítico para a supressão da produção de  $H_2$  (Hawkes et al., 2002; Khanal et al., 2004; Valdez-Vazquez; Poggi-Varaldo, 2009).



A quantificação da produção teórica de  $H_2$ , calculada pelo modelo estequiométrico (Equação 4), revela substantivas perdas metabólicas ao longo do processo de adaptação ao novo substrato. Os dados experimentais demonstram uma redução de mais de 90% no rendimento absoluto de hidrogênio (HY), que decaiu de 2,6 mmol  $H_2$   $g^{-1} DQO_{\text{aplicada}}$  para apenas 0,2 mmol  $H_2$   $g^{-1} DQO_{\text{aplicada}}$  com a transição completa para a FLRFV. Paralelamente, a produção volumétrica de hidrogênio (PVH) sofreu redução equivalente, passando de 4361 para 261 mL  $H_2$   $L_{\text{reator}} d^{-1}$ .

Esta drástica diminuição na produção real de  $H_2$ , quando confrontada com o potencial estequiométrico do substrato e com o acúmulo de AOVs particularmente o aumento de 66% na concentração de ácido propiônico (APr), corrobora a ativação de vias metabólicas consumidoras de  $H_2$ . Destaca-se a homoacetogênese (Equação 7) como rota predominante, além da possível inibição microbiana generalizada mediada pela forma não dissociada dos AOVs em pH ácido (Huang et al., 2022; Levin; Chahine, 2010; Ren

et al., 2007; Rosa et al., 2009; Saady, 2013; Siriwongrungronson; Zeng; Angelidaki, 2007; Tanisho; Ishiwata, 1995; Zhu; Béland, 2006).



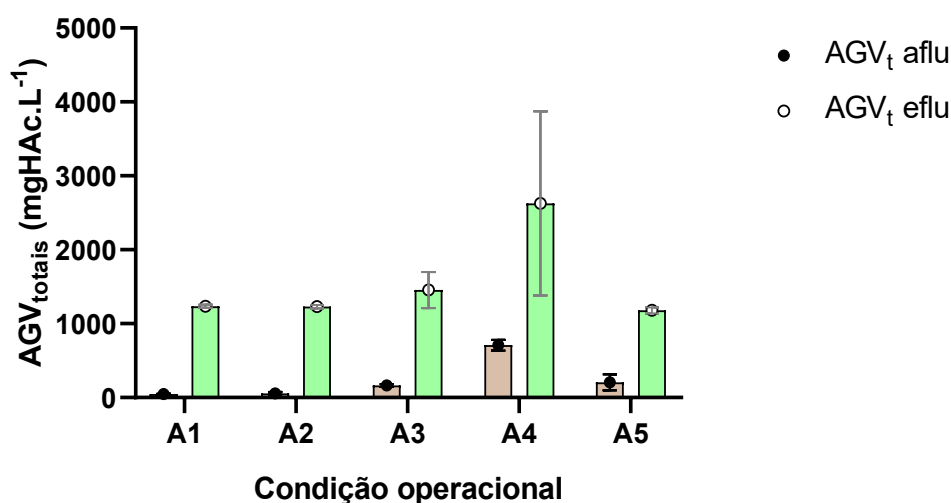
Os resultados indicam que a microbiota do RALF, aclimatada à sacarose, não foi capaz de competir ou se adaptar eficientemente aos inibidores naturais e à complexidade da FLRFV. A rota metabólica predominante mudou de uma hidrogenogênica (associada ao AAc e ao ABu) para uma acidogênica não hidrogenogênica (associada ao APr e ao AAc, via homoacetogênese), consumindo os elétrons que seriam destinados à produção de hidrogênio (Alzate-Gaviria et al., 2007; Menezes et al., 2024b; Sivaramakrishnan et al., 2021).

### 5.6.5 Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs)

A composição e as concentrações de AOVs formados variam significativamente dependendo do tipo de substrato e das condições operacionais do reator (Huang et al., 2022; Jeong; Kim; Lee, 2014; Lata et al., 2002).

O acúmulo de AOVs (Figura 12) como ABu, AIs-Bu, AAc, APr, AVa e AIs-Va exerce um impacto relevante e até mesmo inibitório na produção de H<sub>2</sub> (Eryildiz; Lukitawesa; Taherzadeh, 2020; Kawano et al., 2005). Portanto, um desequilíbrio na relação de produção e consumo desses ácidos pode levar à inibição do processo, por meio da queda de pH provocada pelo acúmulo de AOVs, alterando a atividade enzimática das bactérias hidrogenogênicas, resultando em menor produção de H<sub>2</sub> (Kawano et al., 2005; Sekoai; Chunilall; Ezeokoli, 2023).

Figura 12 – Ácidos Voláteis Totais afluente e efluente durante adaptação ao substrato.

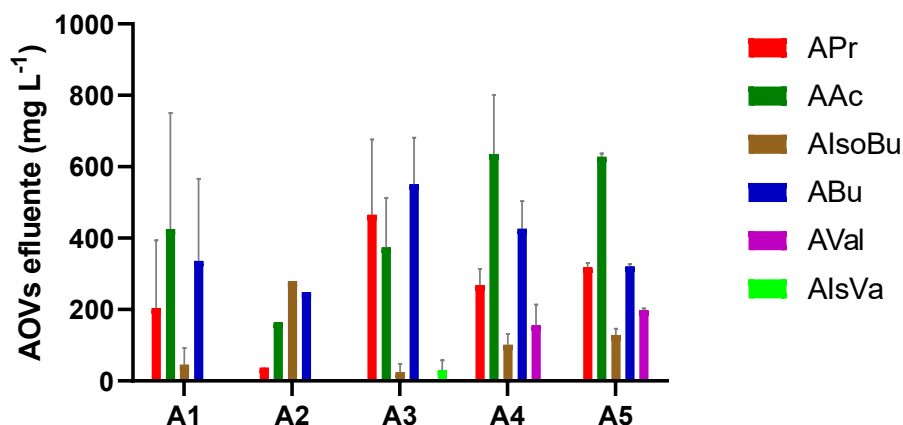


Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Quando os carboidratos são convertidos, eles podem seguir diferentes vias metabólicas, produzindo não apenas H<sub>2</sub>, mas também uma variedade de AOVs, como acetato, butirato e propionato. A produção ótima de hidrogênio está frequentemente associada à formação de AAc e ABu como principais produtos finais. Se a rota metabólica for desviada para produção de outros AOVs, como APr e ALa, ou para produtos como etanol, o rendimento de hidrogênio pode diminuir (Bhurat et al., 2020; Marques et al., 2019). Os valores de COV excessivamente altos podem acarretar no acúmulo de AOVs, resultando em menores HY (Wainaina et al., 2020; Zhang et al., 2013).

Esse comportamento está intrinsecamente relacionado à complexidade composicional da FLRFV e às alterações no perfil de AOVs. A FLRFV, embora rica em carboidratos e com elevada taxa de conversão (superior a 84% em todas as etapas), contém compostos de maior complexidade, como lipídios e proteínas. Conforme pode ser observado Figura 13, o acúmulo de APr, que aumentou de 204,0 mg L<sup>-1</sup> para 318,0 mg L<sup>-1</sup>, associou-se à via de propionogênese (Equação 6), consumidora de H<sub>2</sub>. Paralelamente, observou-se um pico de AOVs totais na condição A4 (2626,6 mgAAc L<sup>-1</sup>), com predominância de ácido acético (AAc) e butírico (ABu), os quais, em pH consistentemente ácido (4,0-4,3), atuaram em seu estado não dissociado, inibindo ainda mais os microrganismos hidrogenogênicos.

Figura 13 – Concentração Ácidos Orgânicos Voláteis efluente durante adaptação ao substrato.



Nota: ALa: ácido láctico; APr: ácido propiônico; AAc: ácido acético; AIsBu: ácido isobutírico; ABu: ácido butírico; AVal: ácido valérico; AIsVa: ácido isovalérico;

Fonte: elaborada pelo autor (2025).

Em concentrações elevadas e valores de pH mais baixo, o ABu pode inibir a produção de H<sub>2</sub> porque uma fração maior desse ácido permanece em seu estado não dissociado (Noguer et al., 2022), ocorrendo o mesmo com o AAc que pode promover a produção de hidrogênio em processos fermentativos. Em contrapartida, concentrações mais elevadas de APr foram encontradas em sistemas com menor produção de H<sub>2</sub>, visto que o acúmulo desse ácido está associado ao consumo do mesmo (Jain et al., 2024).

O resumo dos dados de operação do RALF em todas as etapas está descrito na Tabela 6 abaixo:

Tabela 6 – Características do substrato e resultados de produção de biogás

Parâmetro	Condição operacional				
	A1	A2	A3	A4	A5
TDH (h)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
COV (kgDQO·m <sup>-3</sup> ·d <sup>-1</sup> )	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
pH efluente	4,0 ± 0,1	4,1 ± 0,2	4,3 ± 0,1	4,3 ± 0,1	4,2 ± 0,1
DQO (kgDQO·m <sup>-3</sup> )	5696 ± 612	6014 ± 661	5213 ± 150	5203 ± 452	5586 ± 344
DQO removida (%)	22,3 ± 1,8	15,9 ± 3,1	14,2 ± 3,9	25,2 ± 2,8	28,4 ± 2,8
Carboidrato afluente (kg·m <sup>-3</sup> )	5920 ± 347	5775 ± 590	4303 ± 57	4155 ± 57	3360 ± 505
Carboidrato convertido (%)	84,3 ± 13,9	93,3 ± 2,8	90,3 ± 5,7	95,0 ± 1,6	92,3 ± 2,4
AGVt (mgAAc·L <sup>-1</sup> )	1235 ± 21	1231 ± 23	1456 ± 243	2627±1247	1180 ± 39
H <sub>2</sub> biogás (%)	34,3 ± 0,8	33,5 ± 9,0	7,8 ± 6,4	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,7
PVH (mL H <sub>2</sub> L <sub>reator</sub> d <sup>-1</sup> )	4361 ± 753	2988 ± 766	1127 ± 618	1038±374	261 ± 81
HY (mmol H <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> DQO <sub>adicionada</sub> )	2,6 ± 0,3	1,8 ± 0,4	0,8 ± 0,5	0,7 ± 0,3	0,2 ± 0,1

Nota: HY – *Hydrogen Yield* (rendimento de hidrogênio); PVH- produção volumétrica de hidrogênio; AGVt – ácidos graxos voláteis totais; TDH – Tempo de detenção hidráulica; DQO – Demanda Química de Oxigênio; COV – Carga orgânica volumétrica.

Fonte: elaborada pelo autor (2025)

### 5.6.6 Perspectivas a partir da variação do TDH

Os resultados apresentados demonstram de forma clara o impacto negativo da substituição do substrato modelo (sacarose) pela FLRFV 100% nas condições operacionais testadas neste estudo (TDH de 2 h e COV de  $60 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ reator d}^{-1}$ ). Porém, é imperativo contextualizar esses achados dentro de um espectro operacional mais amplo, particularmente no que tange ao parâmetro TDH.

Um estudo paralelo de Almeida et al., (2025), utilizando o mesmo substrato (FLRFV 100%) e configuração de reator (RALF), investigou sistematicamente o efeito da redução do TDH – e conseqüente aumento da COV – no desempenho hidrogenogênico. Os resultados listados de forma comparativa na Tabela 7 são elucidativos.

A análise do perfil de AOVs proveniente desse trabalho, apresentada na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, permite compreender a transição metabólica que não foi capturada no presente estudo.

Tabela 7 – Comparação do desempenho do RALF operando com FLRFV 100% sob diferentes condições de TDH e COV.

Condição	Reator	TDH (h)	Substrato	Concentração do Substrato (mg L <sup>-1</sup> )	COV (kgDQO.m <sub>reator</sub> <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	PVH (mL H <sub>2</sub> L <sub>reator</sub> <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	HY	pH	Principal metabólito
Almeida et al. (2025)	RALF	12	RFV	10	20	0,0	0,0 <sup>b</sup>	3,9	Lactato
Menezes et al. (2024a)	AnSTBR	6	RFV	5	20	2094	5,13 <sup>a</sup>	N.M.	Lactato
Almeida et al. (2025)	RALF	6	RFV	10	40	0,0	0,0 <sup>b</sup>	4,2	Lactato / Butirato
Este estudo (A5)	RALF	2	RFV	5	60	261	0,2 <sup>a</sup>	4,2	Propionato / Acetato
Almeida et al. (2025)	RALF	3	RFV	10	80	3000	904 <sup>b</sup>	4,6	Butirato
Almeida et al. (2025)	RALF	1	RFV	10	240	9200	821 <sup>b</sup>	4,5	Butirato / Acetato

Nota: HY – *Hydrogen Yield* (rendimento de hidrogênio); PVH- produção volumétrica de hidrogênio; TDH – Tempo de detenção hidráulica; DQO – Demanda Química de Oxigênio; COV – Carga orgânica volumétrica.

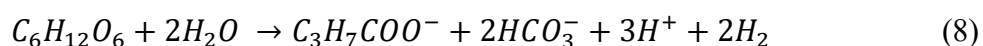
a: mmol H<sub>2</sub> g<sup>-1</sup>DQO<sub>aplicada</sub>

b: mol H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>sacarose<sub>adiccionada</sub>

Fonte: elaborada pelo autor (2025)

Enquanto o presente estudo, com TDH de 2 h, registrou uma produção irrisória ( $261 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) e um desvio metabólico para vias consumidoras de  $\text{H}_2$  (propionogênese), Almeida et al., (2025) demonstraram que a aplicação de TDHs curtos (1 e 3 horas) e COVs mais elevadas ( $80$  e  $240 \text{ kgDQO.m}_{\text{reator}}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente) foram capazes de reverter este cenário, estabelecendo uma rota butírica, caracteristicamente hidrogenogênica, e elevando a PVH em até 35 vezes.

A análise da **Erro! Fonte de referência não encontrada.** revela uma nítida transição metabólica impulsionada pelo TDH. Nos TDHs mais longos (12 e 6 horas), observa-se a dominância do ALa e a presença de AIsBu, indicando uma rota metabólica de baixo rendimento ou não produtoras de  $\text{H}_2$  (Alzate-Gaviria et al., 2007; Menezes et al., 2024b; Sivaramakrishnan et al., 2021). À medida que o TDH é reduzido para 3 e 1 h, ocorre uma mudança intensa: o ALa é drasticamente reduzido e a rota butírica se estabelece como dominante, com concentrações de Abu de  $1050 \text{ mg L}^{-1}$ . Esta via é estequiometricamente associada à produção de hidrogênio (Equação 8).



Este contraste sugere fortemente que a condição operacional A5 (TDH = 2 h e COV =  $60 \text{ kgDQO.m}_{\text{reator}}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) pode representar uma zona crítica para o consórcio microbiano ao processar a FLRFV 100%. Nesta janela operacional, a comunidade bacteriana parece não ser suficientemente pressionada para selecionar vias metabólicas de alta produtividade, ou não possui tempo hábil para conversão eficiente, permitindo o estabelecimento de rotas competidoras, como as produtoras de APr e ALa, e a acidificação crítica do meio.

Portanto, a natureza do substrato, embora crítica, não é um fator limitante absoluto. Seu impacto deletério pode ser mitigado por uma estratégia operacional que utilize TDH como uma ferramenta para moldar o consórcio microbiano e forçar o metabolismo para as vias desejadas.

## 5.7 Conclusão

O presente estudo avaliou a adaptação de um RALF ao aumento progressivo da concentração da (FLRFV) como substrato para produção de bio-hidrogênio. Os resultados demonstraram uma correlação inversa significativa entre a introdução da FLRFV e a PVH. Enquanto o sistema operou exclusivamente com sacarose (Etapa A1), obteve-se valores elevados de PVH ( $4361 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$ ) e de HY ( $2,6 \text{ mmol g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{adicionada}}$ ). No entanto, com a substituição gradual pela FLRFV, observou-se um declínio acentuado na produção de  $\text{H}_2$ , chegando a um PVH de  $261 \text{ mL H}_2 \text{ L}_{\text{reator}} \text{ d}^{-1}$  e HY de  $0,2 \text{ mmol g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{adicionada}}$  na condição de 100% de FLRFV (Etapa A5).

Esse comportamento está diretamente associado a:

- Mudança da composição do substrato;
- Substituição do consórcio hidrogenogênico por microrganismos endógenos do substrato, com rotas desfavoráveis à produção de  $\text{H}_2$ , como homoacetogênicas e produtoras de lactato.

Apesar da elevada conversão de carboidratos (acima de 84%) e do aumento da redução de DQO com a introdução da FLRFV, a produção de  $\text{H}_2$  foi comprometida, indicando um desvio metabólico para acidogênese sem geração significativa de bio-hidrogênio. Conclui-se que, embora a FLRFV seja um substrato rico em carboidratos, sua composição complexa e a presença de inibidores naturais limitam sua aplicação direta em sistemas de fermentação escura para produção de  $\text{H}_2$  sem otimizações operacionais adicionais.

Em conclusão, a queda no HY com a substituição do substrato é um fenômeno multifatorial impulsionado por uma mudança no perfil metabólico para vias acidogênicas consumidoras de  $\text{H}_2$ , uma inibição microbiana induzida pelo ALa e pelo pH baixo, e o consumo competitivo do  $\text{H}_2$  produzido por microrganismos homoacetogênicos. Estes resultados destacam a necessidade de otimizar as condições operacionais, como TDH e COV, e considerar o pré-tratamento do resíduo para suprimir as vias competitivas e inibitórias, viabilizando assim a FLRFV como substrato sustentável para a produção de bio-hidrogênio.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação investigou a produção de bio-hidrogênio a partir da FLRFV em RALF, frente ao desafio de gestão desses resíduos gerados nas Ceasas. O estudo focou na adaptação do reator à substituição gradual de um substrato modelo (sacarose) pelo resíduo complexo (FLRFV) sob carga orgânica elevada e constante, sem controle de pH.

Os resultados demonstraram que, enquanto o sistema operou com sacarose, a produção foi elevada. No entanto, a introdução da FLRFV resultou em um declínio acentuado e sistemático no rendimento e na produção do biogás. Esta queda foi correlacionada com uma mudança crítica no metabolismo microbiano, caracterizada pelo acúmulo de ácido propiônico. Estas condições criaram um ambiente inibitório para as bactérias produtoras de H<sub>2</sub>, desviando o fluxo metabólico para rotas consumidoras de hidrogênio, como a propionogênese e a homoacetogênese.

Evidenciou-se que a natureza complexa da FLRFV e o conseqüente desvio metabólico foram os principais fatores para o colapso na produção de H<sub>2</sub>. Contudo, dados comparativos com Almeida et al. (2025) apontam para um caminho promissor: a otimização do TDH como um parâmetro-chave para superar a complexidade inicial do resíduo. A operação do RALF com TDHs substancialmente mais curtos (1 hora) e COVs mais elevadas mostrou-se uma estratégia eficaz para suprimir vias metabólicas competidoras e estabelecer um consórcio microbiano capaz de converter a FLRFV em H<sub>2</sub> com produtividade significativa.

Conclui-se, portanto que a viabilidade da FLRFV para a produção de bio-hidrogênio está intrinsecamente ligada a uma janela operacional ótima de TDH/COV, a qual deve ser rigorosamente definida para exercer uma pressão seletiva favorável às bactérias hidrogenogênicas.

Para estudos futuros, recomenda-se o desenvolvimento de modelos computacionais avançados para superar as limitações identificadas, incluindo a criação de modelos cinéticos adaptativos com termos de inibição específicos para AOVs, e a implementação de modelos dinâmicos que integrem dados bioquímicos para simular o comportamento do consórcio microbiano. Estas ferramentas permitem prever respostas de sistemas a variações operacionais e otimizar estrategicamente o processo de produção de bio-hidrogênio a partir de resíduos complexos.

## REFERÊNCIAS

ABUBACKAR, Haris Nalakath *et al.* Biohydrogen production from autoclaved fruit and vegetable wastes by dry fermentation under thermophilic condition. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 34, p. 18776–18784, 12 jul. 2019.

ADEKUNLE, Kayode Feyisetan; OKOLIE, Jude Awele. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 06, n. 03, p. 205–212, 2015.

AGUDELO-PATIÑO, Tatiana; ORTIZ-SÁNCHEZ, Mariana; ALZATE, Carlos Ariel Cardona. Prefeasibility Analysis of Different Anaerobic Digestion Upgrading Pathways Using Organic Kitchen Food Waste as Raw Material. **Fermentation**, v. 10, n. 6, 1 jun. 2024.

ALI, A. M. M. ;; MANSOR, M. F. ;; ALAM, M. Z. Achievements and Perspectives on Anaerobic Co-Digestion of Food Waste and Sewage Sludge for Biogas Production. **Inspire, Innovate, Unite and Make a Difference.**, p. 168–170, 2018.

ALIBARDI, Luca *et al.* Effects of heat treatment on microbial communities of granular sludge for biological hydrogen production. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 7, p. 1483–1490, 2012.

ALMEIDA, Priscilla de Souza *et al.* Producing hydrogen from the fermentation of cheese whey and glycerol as cosubstrates in an anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 31, p. 14243–14256, 12 abr. 2022.

ALMEIDA, Priscilla de Souza *et al.* Biomethane recovery through co-digestion of cheese whey and glycerol in a two-stage anaerobic fluidized bed reactor: Effect of temperature and organic loading rate on methanogenesis. **Journal of Environmental Management**, v. 330, 15 mar. 2023.

ALMEIDA, Priscilla S. *et al.* Influence Of Hydraulic Retention Time On Hydrogen From Dark Fermentation Of Fruit And Vegetable Waste. *In: XV Workshop e Simpósio Latino-americano de Digestão Anaeróbia*, Fortaleza, 2025.

ALZATE-GAVIRIA, Liliana M. *et al.* Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 15 SPEC. ISS., p. 3141–3146, 2007.

AMIN, Farrukh Raza *et al.* Functions of bacteria and archaea participating in the bioconversion of organic waste for methane production. **Science of the Total Environment**, v. 763, 1 abr. 2021.

AMORIM, N. C. S. *et al.* Biohydrogen production from cassava wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 3, p. 603–612, 1 jul. 2014.

AN, Xiaona; XU, Ying; DAI, Xiaohu. **Biohythane production from two-stage anaerobic digestion of food waste: A review**. **Journal of Environmental Sciences (China)** Chinese Academy of Sciences, , 1 maio 2024.

ANHURADHA, S.; ARRRIVUKKARASAN, S. Potentiality of fruit and vegetable waste by anaerobic co-digestion with municipal sewage sludge and biogas yield. *In: American Institute of Physics Inc.*, 30 mar. 2020.

ANTONOPOULOU, Georgia *et al.* Modeling of fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract based on modified ADM1. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 1, p. 191–208, jan. 2012.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. 22. ed. Washington, DC: [S.n.].

AREESHI, Mohammed Y. Recent advances on organic biofertilizer production from anaerobic fermentation of food waste: Overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 374, 2 ago. 2022.

ARGUN, Hidayet; KARGI, Fikret. Effects of sludge pre-treatment method on bio-hydrogen production by dark fermentation of waste ground wheat. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 20, p. 8543–8548, out. 2009.

ARNAIZ, C.; GUTIERREZ, J. C.; LEBRATO, J. Support material selection for anaerobic fluidized bed reactors by phospholipid analysis. **Biochemical Engineering Journal**, v. 27, n. 3, p. 240–245, jan. 2006.

ARSLAN, D. *et al.* Selective short-chain carboxylates production: A review of control mechanisms to direct mixed culture fermentations. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 6, p. 592–634, 18 mar. 2016.

ARUN, J. *et al.* Influence of biomass and nanoadditives in dark fermentation for enriched bio-hydrogen production: A detailed mechanistic review on pathway and commercialization challenges. **Fuel**, v. 327, 1 nov. 2022.

ASQUER, Carla; PISTIS, Agata; SCANO, Efsio Antonio. Characterization Of Fruit And Vegetable Wastes As A Single Substrate For The Anaerobic Digestion. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 12, n. S11, p. 89–92, 2013.

AUGUSTO, Isabela Mehi Gaspari *et al.* H<sub>2</sub> production via dark fermentation of soybean molasses: Elucidating the role of homoacetogenesis and endogenous substrate microorganisms by kinetic and microbial analysis. **Energy**, v. 298, 1 jul. 2024.

AZEVEDO, André *et al.* Fruit and vegetable wastes as co-substrates in anaerobic co-digestion: Effect of storage temperature on physicochemical properties and biogas production. **Energy Nexus**, v. 17, 1 mar. 2025.

BABIĄK, Wioleta; KRZEMIŃSKA, Izabela. Extracellular polymeric substances (EPS) as microalgal bioproducts: A review of factors affecting EPS synthesis and application in flocculation processes. **Energies**, v. 14, n. 13, 1 jul. 2021.

BARCA, Cristian *et al.* Anaerobic biofilm reactors for dark fermentative hydrogen production from wastewater: A review. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 386–398, 1 jun. 2015.

BARROS, Aruana Rocha; SILVA, Edson Luiz. Hydrogen and ethanol production in anaerobic fluidized bed reactors: Performance evaluation for three support materials under different operating conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 61, p. 59–65, 15 fev. 2012.

BERMÚDEZ-PENABAD, Noela; KENNES, Christian; VEIGA, Maria C. Anaerobic digestion of tuna waste for the production of volatile fatty acids. **Waste Management**, v. 68, p. 96–102, 1 out. 2017.

BHURAT, Khushboo Swapnil *et al.* Fermentative bio-hydrogen production using lignocellulosic waste biomass: a review. **Waste Disposal and Sustainable Energy**, v. 2, n. 4, p. 249–264, 1 dez. 2020.

BHURAT, Khushboo Swapnil *et al.* A lab fermenter level study on anaerobic hydrogen fermentation using potato peel waste: effect of pH, temperature, and substrate pre-treatment. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 23, n. 4, p. 1617–1625, 1 jul. 2021.

BLANCO, V. M. C.; OLIVEIRA, G. H. D.; ZAIAT, M. Dark fermentative biohydrogen production from synthetic cheese whey in an anaerobic structured-bed reactor: Performance evaluation and kinetic modeling. **Renewable Energy**, v. 139, p. 1310–1319, 1 ago. 2019.

BÜHLMANN, Christopher H. *et al.* Lactic acid from mixed food wastes at a commercial biogas facility: Effect of feedstock and process conditions. **Journal of Cleaner Production**, v. 284, 15 fev. 2021.

BUNDHOO, Zumar M. A. Coupling dark fermentation with biochemical or bioelectrochemical systems for enhanced bio-energy production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 43, p. 26667–26686, 26 out. 2017.

CABROL, Lea *et al.* Microbial ecology of fermentative hydrogen producing bioprocesses: Useful insights for driving the ecosystem function. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 2, p. 158–181, 1 mar. 2017.

CAROSIA, Mariana Fronja *et al.* Influence of C/P and C/N ratios and microbial characterization in hydrogen and ethanol production in an anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 15, p. 9600–9610, 13 abr. 2017.

CAVALCANTE DE AMORIM, Eduardo Lucena *et al.* Anaerobic fluidized bed reactor with expanded clay as support for hydrogen production through dark fermentation of glucose. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 783–790, jan. 2009.

CHEN, Hongwei *et al.* Study on the process and performance of anaerobic circulating fluidized bed: Effects of fluidization velocity and particle circulation rate on hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 91, p. 343–353, 19 nov. 2024.

CHENG, Jun *et al.* Fermentative biohydrogen and biomethane co-production from mixture of food waste and sewage sludge: Effects of physiochemical properties and mix ratios on fermentation performance. **Applied Energy**, v. 184, p. 1–8, 15 dez. 2016.

CHOI, Jeongdong; AHN, Youngho. Biohydrogen fermentation from sucrose and piggery waste with high levels of bicarbonate alkalinity. **Energies**, v. 8, n. 3, p. 1716–1729, 2015.

CIECIURA-WŁOCH, Weronika; BOROWSKI, Sebastian; OTLEWSKA, Anna. Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation. **Renewable Energy**, v. 153, p. 1226–1237, 1 jun. 2020.

CISNEROS-PÉREZ, Christian *et al.* Effect of inoculum pretreatment on the microbial community structure and its performance during dark fermentation using anaerobic fluidized-bed reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 15, p. 9589–9599, 13 abr. 2017.

CORREA-VILLA, Cindy; MORENO-CÁRDENAS, Edilson; DE BRUIJN, Johannes. Presence of lactic acid bacteria in hydrogen production by dark fermentation: competition or synergy. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 12, 1 dez. 2024.

DA SILVA JÚNIOR, Francisco das Chagas Gomes *et al.* Characterization of Fruits and Vegetables Waste Generated at a Central Horticultural Wholesaler: A Case Study for Energy Production Via Biogas. **Industrial Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 235–239, out. 2022.

DA SILVA JÚNIOR, Francisco das Chagas Gomes. **Eficiência energética e gestão sustentável na digestão anaeróbia de resíduos de frutas e verduras de uma CEASA do Ceará**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental)—São Carlos: Programa de pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2025.

DA SILVA JÚNIOR, Francisco das Chagas Gomes *et al.* Anaerobic Digestion of the Liquid Fraction of Fruit and Vegetable Waste: Two-Stage versus Single-Stage Process. **ACS Omega**, v. 10, n. 22, p. 22847–22857, out. 2025.

DAHIYA, Shikha *et al.* Renewable hydrogen production by dark-fermentation: Current status, challenges and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 321, 1 fev. 2021.

DE AMORIM, Eduardo Lucena Cavalcante *et al.* Valorization of Glucose-Based Wastewater Through Production of Hydrogen, Volatile Fatty Acids and Alcohols. *In: Biological Wastewater Treatment and Resource Recovery*. [S.l.]: InTech, 2017.

DE AMORIM, Eduardo Lucena Cavalcante; SADER, Leandro Takano; SILVA, Edson Luiz. Effect of substrate concentration on dark fermentation hydrogen production using

an anaerobic fluidized bed reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 5, p. 1248–1263, mar. 2012.

DE VELA, Roger Jay. A review of the factors affecting the performance of anaerobic membrane bioreactor and strategies to control membrane fouling. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 607–644, 1 set. 2021.

DEL NERY, Valeria. **Digestão Anaeróbia Em Duas Fases Com Culturas Mistas Acidogênicas E Metanogênicas Imobilizadas Separadamente Em Gel Agar**. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento)—São Carlos: Departamento de Hidráulica e Saneamento. Escola De Engenharia De São Carlos. Universidade De São Paulo, mar. 1993.

DENG, Fanghui *et al.* Development and Identification of Novel  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Peptides from Mulberry Leaves. **Foods**, v. 12, n. 21, 1 nov. 2023.

DESSIE, Wubliker *et al.* Lignin valorization: A crucial step towards full utilization of biomass, zero waste and circular bioeconomy. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, 1 ago. 2023.

DEVENS, Kauanna Uyara *et al.* Two-stage versus single-stage anaerobic co-digestion on methane synthesis: Energy prospects and microbial community. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 196, 1 abr. 2025a.

DEVENS, Kauanna Uyara *et al.* Two-stage versus single-stage anaerobic co-digestion on methane synthesis: Energy prospects and microbial community. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 196, out. 2025b.

DHANYA, B. S. *et al.* Development of sustainable approaches for converting the organic waste to bioenergy. **Science of the Total Environment**, v. 723, 25 jun. 2020.

DILALLO, Rosemarie; ALBERTSON, Orris E. Volatile Acids by Direct Titration. **Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 356–365, 1961.

DOS REIS, Cristiane Marques; SILVA, Edson Luiz. Effect of upflow velocity and hydraulic retention time in anaerobic fluidized-bed reactors used for hydrogen production. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 1, p. 28–36, 1 ago. 2011.

DUBOIS, Michel *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, mar. 1956.

DZULKARNAIN, Eka Latiffah Nadia *et al.* Microbiomes of biohydrogen production from dark fermentation of industrial wastes: current trends, advanced tools and future outlook. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2022.

ELLACURIAGA, Marcos; GIL, María Victoria; GÓMEZ, Xiomar. Syngas Fermentation: Cleaning of Syngas as a Critical Stage in Fermentation Performance. **Fermentation**, v. 9, n. 10, 1 out. 2023.

ENNOURI, Hajer *et al.* Effect of thermal pretreatment on the biogas production and microbial communities balance during anaerobic digestion of urban and industrial waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 184–191, 1 ago. 2016.

ERYILDIZ, Bahriye; LUKITAWESA; TAHERZADEH, Mohammad J. Effect of pH, substrate loading, oxygen, and methanogens inhibitors on volatile fatty acid (VFA) production from citrus waste by anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 302, 1 abr. 2020.

ESTEBAN-GUTIÉRREZ, M. *et al.* From sewage sludge and agri-food waste to VFA: Individual acid production potential and up-scaling. **Waste Management**, v. 77, p. 203–212, 1 jul. 2018.

ESTRADA-ARRIAGA, Edson B. *et al.* Anaerobic/aerobic treatment of a petrochemical wastewater from two aromatic transformation processes by fluidized bed reactors. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 12, p. 2754–2763, 2012.

FAN, Yuchuan *et al.* Characterizing the role of hydraulic retention time on nitrate removal indices in denitrifying bioreactors by nonlinear models. **Environmental Technology and Innovation**, v. 32, 1 nov. 2023.

FARIA, Douglas José; CARVALHO, Anna Paula Azevedo de; CONTE-JUNIOR, Carlos Adam. Valorization of Fermented Food Wastes and Byproducts: Bioactive and Valuable Compounds, Bioproduct Synthesis, and Applications. **Fermentation**, v. 9, n. 10, 1 out. 2023.

FERREIRA, Tiago B. *et al.* Improved dark fermentation of cane molasses in mesophilic and thermophilic anaerobic fluidized bed reactors by selecting operational conditions. **International Journal of Energy Research**, v. 44, n. 13, p. 10442–10452, 25 out. 2020.

FERREIRA, Tiago Borges *et al.* 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, 11 out. 2018.

GAO, Zhonglin *et al.* Apparent viscosity of mixed particle system in pulsed gas–solid separation fluidized bed. **Particuology**, v. 71, p. 41–46, 1 dez. 2022.

GARCÍA, Andrés Bedoya; CAMMAROTA, Magali Christe. Biohydrogen production from pretreated sludge and synthetic and real biodiesel wastewater by dark fermentation. **International Journal of Energy Research**, v. 43, n. 4, p. 1586–1596, 25 mar. 2019.

GARDUNO, Rafael; BARANOVA, Elena; KINSLEY, Chris. Valorization of brewery waste slurry with glycerol as co-substrate for hydrogen and butyrate production using dark fermentation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 98, n. 8, p. 1975–1985, 1 ago. 2023.

HAROUN, Mahdi; IDRIS, Azni. Treatment of textile wastewater with an anaerobic fluidized bed reactor. **Desalination**, v. 237, n. 1–3, p. 357–366, fev. 2009.

HASYIM, Rafiani *et al.* Extreme-thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated digested sewage sludge culture. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 14, p. 8727–8734, jul. 2011.

HAWKES, F. R. *et al.* Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, p. 1339–1347, 2002.

HOU, Wenxue *et al.* Effects of lactic acid fermentation on the biomethanation of food waste in two-stage anaerobic digestion. **Fuel**, v. 400, 15 nov. 2025.

HU, Bo *et al.* Changes in microbial community composition following treatment of methanogenic granules with chloroform. **Environmental Progress and Sustainable Energy**, v. 28, n. 1, p. 60–71, abr. 2009.

HU, Bo; CHEN, Shulin. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 15 SPEC. ISS., p. 3266–3273, 2007.

HUANG, Liu *et al.* Volatile fatty acid production from vegetable waste: Effect of organic components in mixed substrates. **IOSR Journal of Environmental Science**, v. 16, p. 38–48, 2022.

HUSSIEN, Mohammed *et al.* Tuning dark fermentation operational conditions for improved biohydrogen yield during co-digestion of swine manure and food waste. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 187, p. 1496–1507, 1 jul. 2024.

JAFARI, Jalil *et al.* Investigation of Anaerobic Fluidized Bed Reactor/ Aerobic Moving Bed Bio Reactor (AFBR/MMBR) System for Treatment of Currant Wastewater. **Iranian Journal of Public Health**, v. 42, n. 8, p. 860–867, 2013.

JAIN, Rupal *et al.* Bio-hydrogen production through dark fermentation: an overview. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 12, p. 12699–12724, 1 jun. 2024.

JEONG, Seung Mi; KIM, Yong Jin; LEE, Dong Hoon. Formation and the effect of resulting volatile fatty acids in food waste on bioethanol production. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 6, n. 4, 2014.

Ji, Chao *et al.* A Review of the Anaerobic Digestion of Fruit and Vegetable Waste. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 183, n. 3, p. 906–922, 1 nov. 2017.

JIANG, Yue; ZHANG, Yue; LI, Hong. Research Progress and Analysis on Comprehensive Utilization of Livestock and Poultry Biogas Slurry as Agricultural Resources. **Agriculture (Switzerland)**, v. 13, n. 12, 1 dez. 2023.

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

KANG, Beom Jung *et al.* Dark Fermentative Hydrogen Production from Spent Coffee Grounds Hydrolysate by *Clostridium butyricum*. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 41, n. 1, p. 95–101, 1 jan. 2024.

KASTNER, Verena; SOMITSCH, Walter; SCHNITZHOFER, Wolfgang. The anaerobic fermentation of food waste: A comparison of two bioreactor systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 34, p. 82–90, out. 2012.

KAWANO, Takashi *et al.* Effect of Volatile Fatty Acid on Hydrogen Fermentation of Organic Waste. **Journal of Japan Society on Water Environment**, v. 28, p. 87–92, 2005.

KHANAL, Samir Kumar *et al.* Biological hydrogen production: Effects of pH and intermediate products. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 11, p. 1123–1131, set. 2004.

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.

KOERICH, Daniela Maria; ROSA, Leonardo Machado da. Analysis of hydrodynamic effects on biofilm thickness in fluidized-bed tapered bioreactors. **Particuology**, v. 58, p. 48–57, 1 out. 2021.

KOTHARI, Richa *et al.* A critical review on factors influencing fermentative hydrogen production. **Frontiers In Bioscience**, v. 22, p. 1195–1220, 2017.

KULKARNI, Sunil J. *et al.* Biohydrogen From Waste Feedstocks – Materials, Methods and Recent Developments. **BioNanoScience**, v. 13, n. 4, p. 1501–1516, 1 dez. 2023.

KUMAR, Gopalakrishnan *et al.* Biomass based hydrogen production by dark fermentation — recent trends and opportunities for greener processes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 50, p. 136–145, 1 abr. 2018.

LATA, Kusum *et al.* Volatile fatty acid production during anaerobic mesophilic digestion of tea and vegetable market wastes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2002.

LAY, C. H. *et al.* Enhancement of anaerobic biohydrogen/methane production from cellulose using heat-treated activated sludge. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 9, p. 1849–1854, 2011.

LEE, Chaeyoung *et al.* Effect of operational pH on biohydrogen production from food waste using anaerobic batch reactors. **Water Science and Technology**, v. 69, n. 9, p. 1886–1893, 2014.

LEITÃO, Anabela; MONI, Dimbi; MARIA, Caetano. Anaerobic co-digestion of food waste with sewage sludge from wastewater treatment plant of Sequele, Luanda-Angola. **Environmental Challenges**, v. 9, 1 dez. 2022.

LEITE, Wanderli Rogério Moreira *et al.* Mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge in an intermittent mixing reactor: Effect of hydraulic retention time and organic loading rate. **Journal of Environmental Management**, v. 338, 15 jul. 2023.

LEROY-FREITAS, Deborah *et al.* Enhancing Biohydrogen Production: The Role of Iron-Based Nanoparticles in Continuous Lactate-Driven Dark Fermentation of Powdered Cheese Whey. **Fermentation**, v. 10, n. 6, 1 jun. 2024.

LEVIN, David B.; CHAHINE, Richard. Challenges for renewable hydrogen production from biomass. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 10, p. 4962–4969, maio 2010.

LIM, Sook Wei; NANDONG, Jobrun. Modeling of biohydrogen production using generalized multi-scale kinetic model: Impacts of fermentation conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 41, p. 17926–17945, 12 maio 2022.

LIU, I. Chun *et al.* The effect of pH on the production of biohydrogen by clostridia: Thermodynamic and metabolic considerations. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 1, p. 439–449, jan. 2011.

LIU, Wei *et al.* Synthesis of core-shell nanostructured SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> photocatalysts via atomic layer deposition in a fluidized bed with central tube. **Particuology**, v. 91, p. 19–28, 1 ago. 2024.

LIU, Xiaoying *et al.* Effects of hydraulic retention time on anaerobic digestion performance of food waste to produce methane as a biofuel. **Environmental Technology and Innovation**, v. 11, p. 348–357, 1 ago. 2018.

ŁUKAJTIS, Rafał *et al.* Hydrogen production from biomass using dark fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p. 665–694, 1 ago. 2018.

MAGAMA, Primrose; CHIYANZU, Idan; MULOPO, Jean. Investigating Dark Fermentation as a Sustainable Organic Waste Management Technology for Producing Biohydrogen From Fruit and Vegetable Waste. **Research Square**, 18 out. 2021.

MAGAMA, Primrose; CHIYANZU, Idan; MULOPO, Jean. A systematic review of sustainable fruit and vegetable waste recycling alternatives and possibilities for anaerobic biorefinery. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, 1 jun. 2022.

MAGDALENA, Jose Antonio; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, Cristina. Archaea inhibition: Strategies for the enhancement of volatile fatty acids production from microalgae. **Waste Management**, v. 102, p. 222–230, 1 fev. 2020.

MARQUES, Thiago D. *et al.* Influence of hydraulic retention time on hydrogen production by treating cheese whey wastewater in anaerobic fluidized bed bioreactor - An approach for developing countries. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 3, p. 1109–1117, 2019.

MARTÍNEZ-MENDOZA, Leonardo J. *et al.* Influence of key operational parameters on biohydrogen production from fruit and vegetable waste via lactate-driven dark fermentation. **Bioresource Technology**, v. 364, 1 nov. 2022.

MAZZANTI, Gaia *et al.* Two-stage anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: Optimization of dark fermentation through thermal pretreatment and co-digestion with sugar-rich wastewater. **Bioresource Technology**, p. 133423, set. 2025a.

MAZZANTI, Gaia *et al.* Two-stage anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: Optimization of dark fermentation through thermal pretreatment and co-digestion with sugar-rich wastewater. **Bioresource Technology**, p. 133423, out. 2025b.

MELIKOGLU, Mehmet; TEKIN, Asli. Biohydrogen production from food and agricultural wastes: A global review and a techno-economic evaluation for Turkey. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 62, p. 913–924, 10 abr. 2024.

MELO, Antonio *et al.* The Role of Extracellular Polymeric Substances in Micropollutant Removal. **Frontiers in Chemical Engineering**, v. 4, 2022.

MENEZES, Camila Aparecida de. **Produção de hidrogênio e compostos de valor agregado em reatores de leito granular expandido mesofílicos a partir do caldo de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento Ambiental)—São Carlos: Departamento de Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2018.

MENEZES, Camila Aparecida de *et al.* Using fruit and vegetable waste to generate hydrogen through dark fermentation. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 29, 2024a.

MENEZES, Camila Aparecida de *et al.* Innovative system to maximize methane production from fruit and vegetable waste. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 54, p. 62825–62839, 1 nov. 2024b.

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. **Industrial Crops and Products**, v. 138, 5 out. 2019.

MENEZES, V. S. *et al.* Biohydrogen production from soft drink industry wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. **Water Practice and Technology**, v. 14, n. 3, p. 579–586, 1 set. 2019.

MENNITI, Adrienne *et al.* Influence of shear on the production of extracellular polymeric substances in membrane bioreactors. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4305–4315, 2009.

MOHANAKRISHNA, Gunda *et al.* Dark fermentative hydrogen production: Potential of food waste as future energy needs. **Science of the Total Environment**, v. 888, 25 ago. 2023.

MOKHTARANI, Babak; ZANGANEH, Jafar; MOGHTADERI, Behdad. A Review on Biohydrogen Production Through Dark Fermentation, Process Parameters and Simulation. **Energies**, v. 18, n. 5, 1 mar. 2025.

MUDA, Khalida *et al.* The effect of hydraulic retention time on granular sludge biomass in treating textile wastewater. **Water Research**, v. 45, n. 16, p. 4711–4721, 2011.

MUMTHA, Chelladurai; MAHALINGAM, Pambayan Ulagan. Biohydrogen production from co-substrates through dark fermentation by bacterial consortium. **3 Biotech**, v. 14, n. 11, 1 nov. 2024.

MUÑOZ-PÁEZ, K. M. *et al.* 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, 2013.

MURI, Petra *et al.* Influence of support materials on continuous hydrogen production in anaerobic packed-bed reactor with immobilized hydrogen producing bacteria at acidic conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 111, p. 87–96, 1 abr. 2018.

NADERI, Azra *et al.* Putting the electro-bugs to work: A systematic review of 22 years of advances in bio-electrochemical systems and the parameters governing their performance. **Environmental Research**, v. 229, 15 jul. 2023.

NEMITALLAH, Medhat A. *et al.* Review on techno-economics of hydrogen production using current and emerging processes: Status and perspectives. **Results in Engineering**, v. 21, 1 mar. 2024.

NGUYEN, Phan Khanh Thinh *et al.* Hydrogen production from macroalgae by simultaneous dark fermentation and microbial electrolysis cell. **Bioresource Technology**, v. 315, 1 nov. 2020.

NING, Yan Yan *et al.* Evaluation of the stability of hydrogen production and microbial diversity by anaerobic sludge with chloroform treatment. **Renewable Energy**, v. 38, n. 1, p. 253–257, fev. 2012.

NKUNA, Simphiwe Gift *et al.* A review of wastewater sludge-to-energy generation focused on thermochemical technologies: An improved technological, economical and socio-environmental aspect. **Cleaner Waste Systems**, v. 7, 1 abr. 2024.

NOGUER, Marie Céline *et al.* Enhanced Fermentative Hydrogen Production from Food Waste in Continuous Reactor after Butyric Acid Treatment. **Energies**, v. 15, n. 11, 1 jun. 2022.

NWOKOLO, Nwabunwanne *et al.* Waste to energy: A focus on the impact of substrate type in biogas production. **Processes**, v. 8, n. 10, p. 1–21, 1 out. 2020.

OFOSU, M. A.; AKLAKU, E. D. Determining the optimum proportion of shea waste in anaerobic co-fermentation process. **Journal of Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 119–128, 2010.

OUNSANEHA, Weerawat *et al.* Biogas production by co-digestion of municipal wastewater and food waste: Performance in semi-continuous and continuous operation. **Water Environment Research**, v. 93, n. 2, p. 306–315, 1 fev. 2021.

OUPPATAMPANON, Tanapong *et al.* Ideal performance assessment of non-recirculating anaerobic fluidized bed reactors treating low to high strength organic loads with low retention time. **Process Biochemistry**, v. 146, p. 262–272, 1 nov. 2024.

PECHAUD, Yoan *et al.* Influence of shear stress, organic loading rate and hydraulic retention time on the biofilm structure and on the competition between different biological aggregate morphotypes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 3, 1 jun. 2022.

PENG, Chang; RUIYANG, Zhang; CHUNHAO, Ding. Dynamic hidden variable fuzzy broad neural network based batch process anomaly detection with incremental learning capabilities. **Expert Systems with Applications**, v. 202, 15 set. 2022.

PEREIRA, Sara B. *et al.* Strategies to obtain designer polymers based on cyanobacterial extracellular polymeric substances (EPS). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 22, 2 nov. 2019.

PEREZ-ESTEBAN, N. *et al.* Temperature-driven carboxylic acid production from waste activated sludge and food waste: Co-fermentation performance and microbial dynamics. **Waste Management**, v. 178, p. 176–185, 15 abr. 2024.

POLICASTRO, Grazia *et al.* Enhancing photo fermentative hydrogen production using ethanol rich dark fermentation effluents. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 1, p. 117–126, 1 jan. 2022.

PRASANNA KUMAR, D. Jaya *et al.* A comprehensive study on anaerobic digestion of organic solid waste: A review on configurations, operating parameters, techno-economic analysis and current trends. **Biotechnology Notes**, v. 5, p. 33–49, 1 jan. 2024.

PREETHI *et al.* Biohydrogen production from industrial wastewater: An overview. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, 1 set. 2019.

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, 14 fev. 2020.

RAWOOF, Salma Aathika Abdur *et al.* Sequential production of hydrogen and methane by anaerobic digestion of organic wastes: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 1043–1063, 1 abr. 2021.

REGO, Gabriel Catucci *et al.* Bioconversion of pretreated sugarcane vinasse into hydrogen: new perspectives to solve one of the greatest issues of the sugarcane biorefinery. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 12, n. 12, p. 5527–5541, 1 dez. 2022.

REN, Nanqi *et al.* Microbial community structure of ethanol type fermentation in biohydrogen production. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 1112–1125, maio 2007.

RIBEIRO, Alexandre Rodrigues *et al.* Synergizing sugarcane waste valorization: Optimization of two-stage anaerobic co-digestion for enhanced methane recovery and organic matter removal. **Industrial Crops and Products**, v. 221, out. 2024a.

RIBEIRO, Alexandre Rodrigues *et al.* Synergizing sugarcane waste valorization: Optimization of two-stage anaerobic co-digestion for enhanced methane recovery and organic matter removal. **Industrial Crops and Products**, v. 221, 1 dez. 2024b.

RIEWKLANG, Kriangsak *et al.* Enhancing chemical phosphorus precipitation from tapioca starch anaerobic digestion effluent in a modified pilot-scale fluidized bed reactor. **Environmental Research**, v. 231, 15 ago. 2023.

RIZK, Maria Cristina *et al.* Anaerobic Co-digestion of Fruit and Vegetable Waste and Sewage Sludge. **International Journal Of Chemical Reactor Engineering**, 2007.

ROCHA, Danilo Henrique Donato; SAKAMOTO, Isabel Kimiko; VARESCHE, Maria Bernadete Amâncio. Alkali-buffering effect to increase hydrogen production on co-fermentation of citrus agroindustrial waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 53, p. 364–382, 31 jan. 2024.

RONGWONG, Wichitpan *et al.* Membrane-based technologies for post-treatment of anaerobic effluents. **NPJ Clean Water**, v. 1, n. 1, nov. 2018.

ROSA, Daniela R. *et al.* Performance and molecular evaluation of an anaerobic system with suspended biomass for treating wastewater with high fat content after enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6170–6176, dez. 2009.

SAADY, Noori M. Cata. Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 30, p. 13172–13191, 8 out. 2013.

SABAH, Menia; ILYES, Nouicer; ABDALLAH, Khellaf. Hydrogen Production by Dark Fermentation. *In*: Ghadaia: SIENR 2021 - 6th International Symposium on New and Renewable Energies, 2021.

SACHDEVA TAGGAR, Monica *et al.* Hydrogen Production Via Dark Fermentation: A Review Of Influential Factors. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 58, n. 9, p. 1051–1063, maio 2024.

SAHIL, Sahil *et al.* Biomass pretreatment, bioprocessing and reactor design for biohydrogen production: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 22, n. 4, p. 1665–1702, 1 ago. 2024.

SANTOS, Sidione Ferreira dos *et al.* Post-harvest losses of fruits and vegetables in supply centers in Salvador, Brazil: Analysis of determinants, volumes and reduction strategies. **Waste Management**, v. 101, p. 161–170, 1 jan. 2020.

SANTOS, Samantha Christine *et al.* Organic loading rate impact on biohydrogen production and microbial communities at anaerobic fluidized thermophilic bed reactors treating sugarcane stillage. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 55–63, 2014a.

SANTOS, Samantha Christine *et al.* Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 17, p. 9000–9011, 5 jun. 2014b.

SANTOS, Samantha Christine *et al.* Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9599–9610, 15 jun. 2014c.

SARANGI, Prakash K.; NANDA, Sonil. Biohydrogen Production Through Dark Fermentation. **Chemical Engineering and Technology**, v. 43, n. 4, p. 601–612, 1 abr. 2020.

SARANGI, Prakash Kumar *et al.* Biorefinery solutions for food processing wastes: A sustainable bioeconomic perspective. **Industrial Crops and Products**, v. 205, 1 dez. 2023.

SARROUH, Boutros Fouad; CONVERTI, Attilio; DA SILVA, Silvio Silvério. Evaluation of hydrodynamic parameters of a fluidized-bed reactor with immobilized yeast. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 83, n. 4, p. 576–580, abr. 2008.

SAUCEDO-TERÁN, R. A. *et al.* Biofilm growth and bed fluidization in a fluidized bed reactor packed with support materials of low density. **Engineering in Life Sciences**, v. 4, n. 2, p. 160–164, abr. 2004.

SEKOAI, Patrick T.; CHUNILALL, Viren; EZEOKOLI, Obinna. Creating Value from Acidogenic Biohydrogen Fermentation Effluents: An Innovative Approach for a Circular Bioeconomy That Is Acquired via a Microbial Biorefinery-Based Framework. **Fermentation**, v. 9, n. 7, p. 1–23, 1 jul. 2023.

SHAHZAD, Hafiz Muhammad Aamir *et al.* Challenges and opportunities in biogas conversion to microbial protein: A pathway for sustainable resource recovery from organic waste. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 185, p. 644–659, 1 maio 2024.

SHANG, Qingna *et al.* Bio-Refinery of Organics into Value-Added Biopolymers: Exploring the Effects of Hydraulic Retention Time and Organic Loading Rate on Biopolymer Harvesting from a Biofilm-Based Process. **Toxics**, v. 13, n. 3, 1 mar. 2025.

SHAUKAT, Muhammad *et al.* Predicting Soil Carbon Sequestration and Harvestable C-Biomass of Rice and Wheat by DNDC Model. **Crops**, v. 3, n. 3, p. 220–240, 1 set. 2023.

SHIDA, Gessia Momoe *et al.* Long-term stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat treated anaerobic sludge inoculum. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 9, p. 3679–3688, maio 2009.

SHIDA, Géssia Momoe *et al.* Performance and composition of bacterial communities in anaerobic fluidized bed reactors for hydrogen production: Effects of organic loading rate and alkalinity. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 22, p. 16925–16934, nov. 2012.

SHOW, K. Y.; ZHANG, Z. P.; LEE, D. J. Design Of Bioreactors For Biohydrogen Production Design Of Bioreactors For Biohydrogen Production. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 67, p. 941–949, 2008.

SHRESTHA, Sujesh *et al.* Recent advances in co-digestion conjugates for anaerobic digestion of food waste. **Journal of Environmental Management**, v. 345, 1 nov. 2023.

SILVA, Aline Neves da *et al.* Biohydrogen production from dairy industry wastewater in an anaerobic fluidized-bed reactor. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, p. 257–264, 1 jan. 2019.

SILVA, T. P. *et al.* Bibliometric analysis of Anaerobic Digestion Model No. 1 for dry anaerobic digestion of fruit and vegetable waste, food waste, and organic fraction of municipal solid waste. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 6, out. 2024.

SILVA-ILLANES, Fernando *et al.* Impact of hydraulic retention time (HRT) and pH on dark fermentative hydrogen production from glycerol. **Energy**, v. 141, p. 358–367, 2017.

SINGH YADAV, Vinod; VINOOTH, R.; YADAV, Dharmesh. Bio-hydrogen production from waste materials: A review. *In: EDP Sciences*, 14 ago. 2018.

SIQUEIRA, Laura M.; DAMIANO, Elisabeth S. G.; SILVA, Edson L. Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogás production in fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 48, n. 13, p. 1707–1716, 10 nov. 2013.

SIRIWONGRUNGSON, Vilailuck; ZENG, Raymond J.; ANGELIDAKI, Irimi. Homoacetogenesis as the alternative pathway for H<sub>2</sub> sink during thermophilic anaerobic degradation of butyrate under suppressed methanogenesis. **Water Research**, v. 41, n. 18, p. 4204–4210, 2007.

SIVANESAN, Jothivel *et al.* Biohythane as a sustainable fuel – A review on prospective synthesis based on feedstock preprocessing, optimization approach and circular economy concept. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 185, p. 739–753, 1 maio 2024.

SIVARAMAKRISHNAN, Ramachandran *et al.* Insights on biological hydrogen production routes and potential microorganisms for high hydrogen yield. **Fuel**, v. 291, 1 maio 2021.

SOŁOWSKI, Gawel; ZIMINSKI, Tadeusz; CENIAN, Adam. A shift from anaerobic digestion to dark fermentation in glycol ethylene fermentation. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021.

SUKPHUN, Prawat *et al.* Two-stage biohydrogen and methane production from sugarcane-based sugar and ethanol industrial wastes: A comprehensive review. **Bioresource Technology**, v. 386, p. 129519, 1 out. 2023.

SULTANA, Nahid *et al.* Biohydrogen from food waste: Modeling and estimation by machine learning based super learner approach. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 48, n. 49, p. 18586–18600, 8 jun. 2023a.

SULTANA, Nahid *et al.* Biohydrogen from food waste: Modeling and estimation by machine learning based super learner approach. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 48, n. 49, p. 18586–18600, 8 jun. 2023b.

TANISHO, S.; ISHIWATA, Y. Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as support of flocks. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 20, n. 7, p. 541–545, 1995.

TAPIA-VENEGAS, Estela *et al.* Biohydrogen production by dark fermentation: scaling-up and technologies integration for a sustainable system. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 761–785, 1 dez. 2015.

TIAN, Xueying *et al.* Microfluidic fabrication of core–shell fucoxanthin nanofibers with improved environmental stability for reducing lipid accumulation in vitro. **Food Chemistry**, v. 442, 1 jun. 2024.

TUNÇAY, Ekin Güneş *et al.* Dark fermentative hydrogen production from sucrose and molasses. **International Journal of Energy Research**, v. 41, n. 13, p. 1891–1902, 25 out. 2017.

UNEP. **Food Waste Index Report 2024. Think Eat Save: Tracking Progress to Halve Global Food Waste.** Nairobi: United Nations, 2024.

VALDEZ-VAZQUEZ, Idania; POGGI-VARALDO, Héctor M. Hydrogen production by fermentative consortia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 5, p. 1000–1013, jun. 2009.

VENDRUSCOLO, Francielo. Starch: A potential substrate for biohydrogen production. **International Journal of Energy Research**, v. 39, n. 3, p. 293–302, 10 mar. 2015.

VIDAL-ANTICH, C. *et al.* Assessing the potential of waste activated sludge and food waste co-fermentation for carboxylic acids production. **Science of the Total Environment**, v. 757, 25 fev. 2021.

VIDAL-ANTICH, C. *et al.* Impact of food waste composition on acidogenic co-fermentation with waste activated sludge. **Science of the Total Environment**, v. 849, 25 nov. 2022.

VÍTĚZ, Tomáš *et al.* Methanogens diversity during anaerobic sewage sludge stabilization and the effect of temperature. **Processes**, v. 8, n. 7, 1 jul. 2020.

WAGH, Mrunal S. *et al.* Valorisation of agro-industrial wastes: Circular bioeconomy and biorefinery process – A sustainable symphony. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 183, p. 708–725, out. 2024.

WAINAINA, Steven *et al.* Anaerobic digestion of food waste to volatile fatty acids and hydrogen at high organic loading rates in immersed membrane bioreactors. **Renewable Energy**, v. 152, p. 1140–1148, 1 jun. 2020.

WANG, Ching Hsiung; LIN, Ping Jei; CHANG, Jo Shu. Fermentative conversion of sucrose and pineapple waste into hydrogen gas in phosphate-buffered culture seeded with municipal sewage sludge. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1353–1358, jun. 2006.

WANG, Jianlong; YIN, Yanan. Progress in microbiology for fermentative hydrogen production from organic wastes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 10, p. 825–865, 19 maio 2019.

WANG, Kui; TESTER, Jefferson William. Sustainable management of unavoidable biomass wastes. **Green Energy and Resources**, v. 1, n. 1, 1 mar. 2023.

WANG, Yi *et al.* A syntrophic co-fermentation model for bio-hydrogen production. **Journal of Cleaner Production**, v. 317, 1 out. 2021.

WANG, Zi Han *et al.* Evaluating Bio-Hydrogen Production Potential and Energy Conversion Efficiency from Glucose and Xylose under Diverse Concentrations. **Fermentation**, v. 8, n. 12, 1 dez. 2022.

YAHAYA, Emmanuel *et al.* A review on process modeling and design of biohydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 71, p. 30404–30427, 19 ago. 2022.

YAN, Yi Juan *et al.* A Review on Start-Up Phase Optimization of Kitchen Waste Anaerobic Digestion. **Fermentation**, v. 9, n. 7, 1 jul. 2023.

YANG, Xuesong; WANG, Shuai; HE, Yurong. Review of catalytic reforming for hydrogen production in a membrane-assisted fluidized bed reactor. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, 1 fev. 2022.

ZAGRODNIK, Roman; DUBER, Anna; SEIFERT, Krystyna. Dark-fermentative hydrogen production from synthetic lignocellulose hydrolysate by a mixed bacterial culture: The relationship between hydraulic retention time and pH conditions. **Bioresource Technology**, v. 358, 1 ago. 2022.

ZENG, Dongdong *et al.* Biosynthesis of poly( $\beta$ -L-malic acid) from rubberwood enzymatic hydrolysates in co-fermentation by *Aureobasidium pullulans*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 257, 1 fev. 2024.

ZHANG, Shan *et al.* Effects of OLRs and HRTs on hydrogen production from high salinity substrate by halophilic hydrogen producing bacterium (HHPB). **Bioresource Technology**, v. 141, p. 227–232, 2013.

ZHANG, Zhen Peng *et al.* Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 2, p. 185–191, fev. 2007.

ZHAO, Quan Bao *et al.* Response of a biohydrogen-producing reactor to the substrate shift from sucrose to lactose. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8344–8347, nov. 2008.

ZHENG, Xinyi; LI, Ruying. Critical Review on Two-Stage Anaerobic Digestion with H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> Production from Various Wastes. **Water (Switzerland)**, v. 16, n. 11, 1 jun. 2024.

ZHU, HEGUANG *et al.* Eliminating methanogenic activity in hydrogen reactor to improve biogas production in a two-stage anaerobic digestion process co-digesting municipal food waste and sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 14, p. 7086–7092, jul. 2011.

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