

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO COMO FONTE DE ENERGIA
E ESTRATÉGIA DE GESTÃO DE RESÍDUOS E MUDANÇAS CLIMÁTICAS**

Vitória Batista Candido do Prado

Trabalho de Graduação apresentado ao
Departamento de Engenharia Química da
Universidade Federal de São Carlos

Orientadora: Profa. Dra. Paula Rúbia Ferreira Rosa

São Carlos – SP
2021

BANCA EXAMINADORA

Trabalho de Graduação apresentado no dia 16 de novembro de 2021 perante a seguinte banca examinadora:

Orientadora: Profa. Dra. Paula Rúbia Ferreira Rosa

Convidado: Prof. Dr. Gustavo Dias Maia

Professor da Disciplina: Prof. Dr. Ruy de Sousa Junior

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à minha mãe Márcia, por sempre ter ficado do meu lado em todas as decisões que tomei, por todas as oportunidades que me proporcionou ao longo da vida, e por ter sido meu porto seguro durante a faculdade, nos melhores e piores momentos.

Agradeço também aos meus familiares que me proporcionaram o apoio financeiro necessário para seguir cursando a universidade em tempo integral.

Amigos são a família que nós escolhemos, e sem dúvida tive a sorte de escolher mais de uma em São Carlos. Por isso meus agradecimentos especiais vão para todos aqueles que com sua amizade me proporcionaram conforto, carinho e força para percorrer o caminho até o final.

Agradeço às minhas amigas com as quais tive a sorte de morar junto, Beatriz Troque e Maria Vitória Reis.

Aos meus amigos da EQ 014 que fizeram tudo ser mais divertido e leve: Alana, Ana Luisa, Barbara, Beatriz, Bruna, Daniele, Monica, Regina, Leonardo, Luiza, Lucas, Paula e Tainá.

Às minhas amigas do 702: Maitê, Fabiana e Débora.

Ao meu irmão de alma, João Victor, por todo o apoio e whisky na varanda.

Agradeço a todos os bons professores que tive na UFSCar, que incentivaram em mim ainda mais o amor ao conhecimento, e em especial à minha orientadora professora doutora Paula Rúbia Ferreira Rosa por ter me guiado de perto todos esses meses e por todo conhecimento compartilhado para que esse trabalho pudesse ser realizado. Agradeço também ao professor Gustavo e ao professor Ruy por participarem dessa banca.

Sou muito grata por ter tido a oportunidade de cursar uma faculdade pública, gratuita e de qualidade, a qual me proporcionou um ambiente plural e um grande aprendizado muito além do técnico e científico.

Espero de alguma forma poder retornar esse investimento de volta à sociedade.

RESUMO

Com o crescente aumento da população e desenvolvimento industrial, o nível de resíduos gerados pelos seres humanos e indústrias vem atingindo um patamar alarmante. Aliado a este fato, a poluição traz à tona a necessidade de desenvolver técnicas sustentáveis e produção de energia mais limpas e dar um valor agregado para esses resíduos. O gás hidrogênio pode ser uma fonte de energia limpa, tendo o maior conteúdo de calor por unidade de massa entre todos os combustíveis que usamos, possuindo um potencial muito alto como portador de energia. A estratégia biológica de produção de hidrogênio envolve utilizar microrganismos os quais degradam a matéria orgânica presente em resíduos orgânicos de forma anaeróbia, de modo a fornecer hidrogênio no final do processo. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma análise de publicações científicas sobre o assunto, apresentando os trabalhos mais relevantes, detalhando os parâmetros mais importantes para a produção de hidrogênio a partir de resíduos orgânicos, e compreendendo referências globais sobre o tema. Para isso, foi feita uma análise detalhada de dados científicos usando o banco de dados na *Web of Science*. A China é o país o qual possui o maior número de publicações nesse tema, e o ano de 2020 se destacou como o mais prolífico em quantidade de trabalhos. Em relação a tipo de publicação, artigos constituem 83,72% dos resultados, e os dois periódicos científicos que mais publicaram foram o *Bioresource Technology* e o *International Journal of Hydrogen Energy*. Dos resultados encontrados no *Web of Science* foi feito um refino com base na relevância dada pela plataforma, selecionando 42 artigos para análise. Dentre eles, 45,23% tinham como objetivo otimizar a produção de hidrogênio, e os dois parâmetros mais variados para verificar a influência na produção do H₂ foram a taxa de carregamento orgânico e o tempo de retenção hidráulica, em 21,42% dos estudos cada. O reator batelada foi o mais utilizado, em 35,71 dos estudos. Em 72% dos estudos foi empregada a temperatura na faixa mesofílica, entre 35 e 38 °C. O pH mais utilizado estava na faixa entre 5 e 6, e em relação a taxa de carregamento orgânico (TCO) a grande maioria empregou de 5 a 50 g DQO / L.dia. Os tempos de retenção hidráulica utilizados foram na faixa entre 6 h e 36 h.

Palavras chave: produção de hidrogênio. fermentação. codigestão anaeróbia. digestão anaeróbia. resíduos orgânicos. águas residuais.

ABSTRACT

With the increasing population growth and industrial development, the level of waste generated by human beings and industries has reached an alarming point. Allied to this fact, the air pollution brings to light the need to develop sustainable techniques and cleaner energy production which could give added value to these wastes. Hydrogen gas can be a clean energy source, having the highest heat content per unit of mass among all the fuels we use, and having a very high potential as an energy carrier. The biological hydrogen production involves using microorganisms which degrade the organic matter present in organic waste in an anaerobic way, in order to provide hydrogen at the end of the process. In this context, the present study aims to carry out an analysis of scientific publications on the subject, presenting the most relevant works, detailing the most important parameters for the hydrogen production from organic waste, and comprising global references on the matter. For this, a detailed analysis of scientific data was performed using the database on the Web of Science. China is the country with the largest number of publications on this topic, and the year 2020 stood out as the most prolific in terms of number of studies. The articles constitute 83.72% of the studies found in the research, and the two scientific journals that published the most were Bioresource Technology and the International Journal of Hydrogen Energy. The results found in the Web of Science were refined based on the relevance given by the platform, selecting 42 articles for analysis. Among them, 45.23% had the objective of optimizing the hydrogen production, and the two most varied parameters to verify the influence on the H₂ production were the organic loading rate and the hydraulic retention time, in 21.42% of the studies. The batch reactor was the most used, in 35.71 of the studies. In 72% of the studies, the temperature was used in the mesophilic range, between 35 and 38 °C. The most used pH was in the range between 5 and 6, and in relation to the organic loading rate (OLR) the vast majority used 4 to 100 g COD / L.day. The hydraulic retention times used were in the range between 6 h and 36 h.

Keywords: hydrogen production. fermentation. anaerobic codigestion. anaerobic digestion. organic waste. wastewaters.

*“O ser humano é a espécie mais insana.
Adora um Deus invisível e destrói uma natureza visível.
Sem saber que essa natureza que ele está destruindo
é esse Deus que ele está adorando. ”*

— Hubert Reeves

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1: Consumo de eletricidade, Mundo 1990-2019	4
Figura 2.2: Geração de eletricidade por fonte, Mundo 1990-2019	5
Figura 2.3: Caminhos para o gerenciamento de resíduos sólidos	7
Figura 2.4 - Resumo das etapas da Biodigestão Anaeróbia	9
Figura 2.5: Fontes e caminhos para produção de hidrogênio	11
Figura 2.6: Etapas da Fermentação no escuro	13
Figura 2.7 – Via geral da fermentação no escuro para produção de hidrogênio	14
Figura 2.8 – Desenho esquemático de UASB	41
Figura 2.9: Diagrama esquemático do reator anaeróbio compartimentado	45
Figura 2.10: Perspectiva de geração de bioenergia utilizando biomassa até 2025	47
Figura 2.11: Investimento global cumulativo em infraestrutura de hidrogênio e combustíveis relacionados no Cenário de Desenvolvimento Sustentável, 2019-2070	48
Figura 2.12: Demanda de Hidrogênio - América Latina 2019	49
Figura 3.1 - Fluxograma do procedimento de pesquisa das publicações	52
Figura 3.2 – Fluxograma da classificação feita das publicações relevantes indicadas pela plataforma	53
Figura 4.1 – Resultados da pesquisa em relação a publicações por ano	55
Figura 4.2 – Gráfico das porcentagens de cada tipo de publicação encontrados	56
Figura 4.3: Gráfico do número de publicações por país	57
Figura 4.4: Gráfico do número de publicações dos dez periódicos que mais publicaram	58
Figura 4.5 – Gráfico da distribuição por ano das publicações analisadas	59
Figura 4.6 – Parâmetros variados pelos autores e quantidade de publicações nas quais eles são mencionados	60
Figura 4.7 Faixas de TCO pesquisadas nos estudos	62
Figura 4.8 –Faixas de TDH pesquisadas nos estudos	64
Figura 4.9: Distribuição de publicações por objetivo do estudo	65
Figura 4.10: Distribuição das publicações por faixa de temperatura	67
Figura 4.11: Temperatura na qual cada experimento foi conduzido	68
Figura 4.12 – Gráfico da distribuição de pH por publicações	69

Figura 4.13: Distribuição de tipos de reatores utilizados nos estudos	70
Figura 4.14: Distribuição de estudos de codigestão e apenas um substrato	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Experimentos para a produção de hidrogênio usando codigestão	16
Tabela 2.2: Trabalhos sobre produção de hidrogênio por digestão anaeróbia utilizando diferentes parâmetros	20
Tabela 4.1 – Valores de TCO utilizados nos estudos nos quais foi variada para avaliação	61
Tabela 4.2 – Valores de TDH utilizados nos estudos nos quais foi variado para avaliação	63

LISTA DE SIGLAS

TDH – Tempo de retenção hidráulica

TCO – Taxa de carregamento orgânico

DQO – Demanda química de oxigênio

MJ – Mega Joule

TWh – Terawatts hora

VS – Sólidos voláteis

VSS – Sólidos suspensos voláteis

TS – Sólidos totais

SLS – Soro de látex desnatado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Questão Climática	4
2.2 Conversão de Resíduos em Energia	6
2.3 Conversão de resíduos a partir da digestão anaeróbia	8
2.3.1 Hidrólise	9
2.3.2 Acidogênese	9
2.3.3 Acetogênese	9
2.3.4 Metanogênese.....	10
2.3.5 Sulfetogênese.....	10
2.3.4 Aplicações da energia a partir da biomassa	10
2.4 Métodos para a produção de hidrogênio	11
2.4.1 Métodos Bioquímicos	12
2.4.1.1 Biofotólise	12
2.4.1.2 Fotofermentação	12
2.4.1.3 Fermentação no Escuro	12
2.5 Parâmetros e Conceitos para a Produção de H₂	14
2.5.1 Codigestão anaeróbia	14
2.5.2 Fontes de carbono e composição de nutrientes	18
2.5.3 Pré-Tratamento do Substrato	26
2.5.4 Temperatura.....	26
2.5.5 pH	28
2.5.6 Inóculo.....	29
2.5.7 Pré-tratamento do Lodo	31
2.5.8 Tempo de Retenção Hidráulica.....	32
2.5.9 Taxa de Carregamento Orgânico.....	35
2.5.10 Água com nanobolhas	36

2.5.11	Comparação de um com dois estágios.....	37
2.5.12	Concentração de Substratos	38
2.5.13	Efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano em bactérias termofílicas	38
2.5.14	Extração de ácidos graxos voláteis	38
2.5.15	Recirculação de efluente.....	39
2.5.16	Adição de resíduo de fermentação	39
2.5.17	Pressão do headspace e da mistura do reator	39
2.5.18	Razão carboidrato / proteína	39
2.6	Tipos de reatores os quais podem ser utilizados no processo ...	40
2.6.1	UASB	40
2.6.2	Batelada	42
2.6.3	CSTR	43
2.6.4	RALF.....	43
2.6.5	APBR	44
2.6.6	Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial (RABS).....	44
2.6.7	ABR	45
2.7	Futuro e Atuais Perspectivas	46
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
4.1	Análise das publicações pesquisadas	54
4.1.1	Ano	54
4.1.2	Tipo de publicação	55
4.1.3	Países.....	56
4.1.4	Títulos de periódicos.....	57
4.2	Publicações científicas relevantes	58
4.2.1	Distribuição anual dos estudos analisados.....	58
4.2.2	Análise da Influência dos parâmetros na produção	59
4.2.2.1	Carga orgânica.....	60

4.2.2.2	Tempo de retenção hidráulica	62
4.2.3	Objetivos dos estudos	64
4.2.4	Temperatura.....	66
4.2.5	pH	68
4.2.6	Tipo do Reator	69
4.2.7	Codigestão	70
5.	CONCLUSÕES	72
	REFERÊNCIAS.....	73

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Agência Internacional de Energia, em 2018 os combustíveis fósseis representavam mais de 80% do fornecimento global de energia, sendo eles óleo, carvão e gás natural (IEA, 2018). A emissão de gases do efeito estufa atingiram o pico em 2018, e não há previsão de queda nos próximos anos, portanto tomar decisões que contribuam para reduzir o uso de combustíveis fósseis nas atividades industriais pode ser vital para lidar com as questões das mudanças climáticas (Aydin et al., 2021).

As águas residuais são geradas principalmente por fontes domésticas e industriais, e hoje em dia uma parte dessa água ainda é despejada em corpos d'água, sendo que as fontes de água doce potável em muitas partes do mundo estão poluídas de alguma forma, como relatam Aydin et al. (2021). Além disso, os autores alertam que até 2050 espera-se que cerca de 6 bilhões de pessoas tenham dificuldade de acesso a recursos de água potável. Segundo Hou et al. (2021) os resíduos sólidos orgânicos têm uma estimativa para chegar em cerca de 2,3 bilhões de toneladas anuais até 2025, compondo várias problemáticas as quais têm levado os pesquisadores a procurarem formas mais sustentáveis de se produzir energia, focando muitas vezes na bioenergia.

Segundo Wu et al (2021) a biomassa vem se tornando hoje uma das principais fontes de energia dentre o meio rural, e mundialmente tem ficado em quarto lugar no ranking de fontes de energia, atrás do carvão, petróleo e gás natural. Segundo os autores, a biomassa é proveniente principalmente de colheitas e florestas, resíduos agrícolas e florestais e resíduos biodegradáveis urbanos e industriais, e tem se tornado cada vez mais uma alternativa promissora em relação aos combustíveis fósseis. Uma das alternativas de valorização desta biomassa seria o tratamento anaeróbio, na qual é possível produzir bioenergia além de tratar esta biomassa a qual poderia se tornar um resíduo a ser descartado.

O gás hidrogênio (H_2) representa uma das fontes de energia limpa pesquisadas atualmente, além de ser um transportador de energia que contém uma quantidade considerável de energia, cerca de 120 MJ / kg, sendo maior do que a do metano (50,0 MJ / kg), gasolina (44,5 MJ / kg), e diesel (42,5 MJ / kg) (Abe et al., 2019). O hidrogênio pode ser produzido pelos métodos biológico, elétrico, fotônico e térmico (Acar e Dincer, 2019). Porém, todos esses métodos requerem estoques de energia e matéria-

prima, podendo incluir combustíveis fósseis não renováveis e biomassa renovável, energia eólica e solar, e envolvem emissões de resíduos, sendo que todas essas variáveis afetam o quão limpo esse hidrogênio é (Ji e Wang, 2021). Dentro desse ponto é importante ressaltar que os métodos comumente usados de produção de hidrogênio requerem um alto aporte de energia que limita suas aplicações, incluindo a reforma a vapor, eletrólise, gaseificação, e métodos fotoquímicos e termoquímicos. Tendo esses fatores em vista, há uma necessidade de produção de hidrogênio a partir de recursos renováveis usando métodos biológicos sustentáveis (Saravanan et al, 2021 *in press*).

Neste contexto, a produção biológica de hidrogênio tem recebido atenção por ser uma fonte de energia limpa e não-tóxica (Ji e Wang, 2021). A conversão de matéria orgânica (biomassa) em hidrogênio, é realizada por um grupo de microrganismos na ausência de oxigênio. Carboidratos são o substrato mais eficaz para a produção de H₂ pelo método fermentativo (Show et al., 2012), portanto resíduos orgânicos e águas residuais os quais são ricos em carboidratos são adequados para essa função, além de serem altamente disponíveis e biodegradáveis (Acar e Dincer, 2019).

Vários pesquisadores têm relatado a produção de hidrogênio a partir de resíduos sólidos como Elsamadony e Tawfik (2015), Ramos et al. (2020), Yan et al. (2020), Mateus et al. (2020), e Dessi et al. (2020). Outra fonte de substrato largamente utilizada para a produção de hidrogênio por meio biológico são as águas residuais, as quais foram estudadas como fonte de hidrogênio por Shi et al. (2010), Mohan et al. (2011), Intanoo et al. (2014), Intanoo et al. (2014), Xi et al. (2014), Rosa et al. (2016), e Intanoo et al. (2016), que são tratadas concomitantemente com a produção de hidrogênio (Aydin et al., 2021).

Para estes substratos, parâmetros de importância como o tipo de inóculo, temperatura, pH, e composição nutricional, bem como a importância da utilização de métodos de pré-tratamento no substrato foram relatados (Saravens et al. 2021). Saravens et al. 2021 demonstraram que o método de pré-tratamento mais comumente utilizado para resíduos sólidos é o tratamento com ácido e base, mas podendo se estender também ao ultrassom, tratamento térmico e micro-ondas.

O aumento da eficiência da produção de hidrogênio depende das condições do reator, da estrutura do substrato e da atividade dos microrganismos, e com a ajuda de campos como engenharia metabólica e engenharia genética, o desenvolvimento de

microrganismos com maior atividade de produção de hidrogênio permitirá que essas tecnologias avancem ainda mais (Aydin et al. 2021).

No entanto, embora os estudos sejam realizados em vários e específicos tópicos sobre a produção de hidrogênio a partir de diferentes substratos, é necessário um entendimento completo dos parâmetros ideais e bioconversões eficazes de resíduos em hidrogênio. Assim, o presente trabalho tem como objetivo fazer uma abrangente revisão e avaliação comparativa para a produção de hidrogênio a partir de resíduos sólidos, águas residuais, entre outros substratos, reconhecendo potenciais e aspectos deste processo.

Um levantamento de diversos artigos foi feito para discutir os benefícios, possíveis desafios e futuras direções dos métodos de produção biológica de hidrogênio limpo com tratamento integrado. Com isso, foi possível avaliar o progresso da pesquisa de várias tecnologias de produção de hidrogênio.

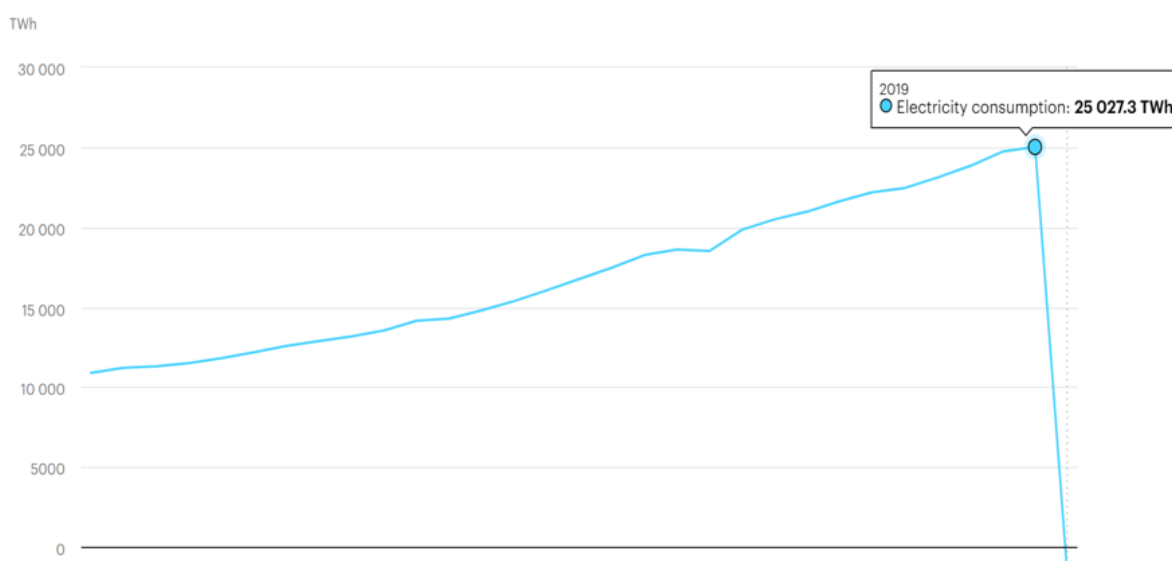
A revisão busca entender as características principais e a distribuição dos diferentes aspectos das publicações realizadas sobre o tema ao longo dos anos, e afunilando em relação às publicações mais relevantes, analisar as faixas de parâmetros empregados, o objetivo dos estudos e a variação de diferentes métricas no rendimento final de H₂ por meio dos resultados experimentais encontrados nos artigos pesquisados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Questão Climática

A produção e o consumo de energia têm um grande impacto no desenvolvimento mundial, sendo essa produção essencial para os processos industriais, as atividades residenciais e comerciais, para o transporte e atividades de agricultura. Nos últimos 30 anos, o consumo de energia vem crescendo exponencialmente, atingindo a marca de quase 25 mil TWh no ano de 2018, segundo dados da Agência Internacional de Energia (Figura 2.1).

Figura 2.1: Consumo de eletricidade, Mundo 1990-2019

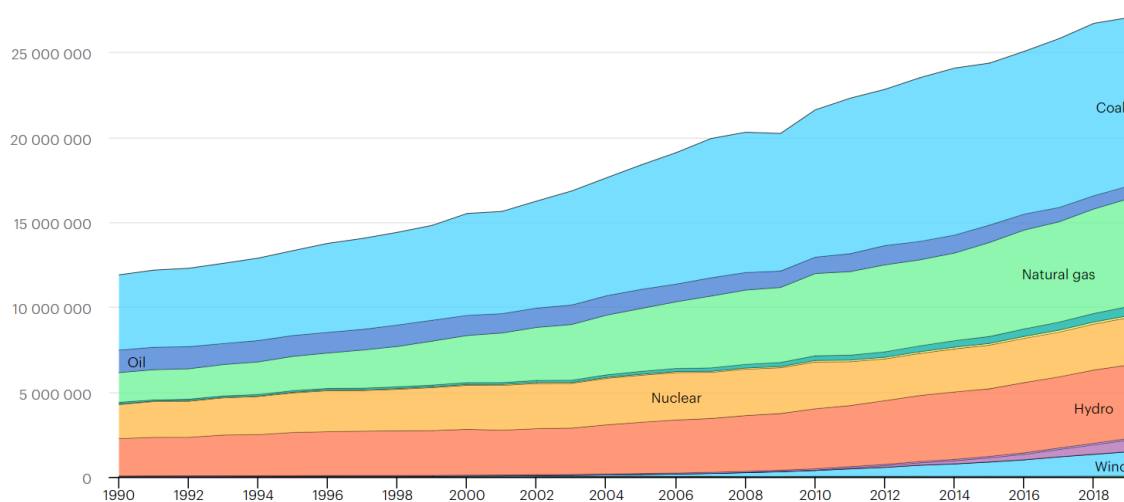


Fonte¹: IEA, *Electricity consumption, World 1990-2019*, IEA, Paris. Disponível em <https://www.iea.org/data-and-statistics/data-browser?country=WORLD&fuel=Energy%20consumption&indicator=TotElecCons>. Acesso em 09 out. 2021

¹ O uso da imagem da Agência Internacional de Energia atende aos critérios de permissão de uso do material, contido no documento <https://iea.blob.core.windows.net/assets/3bf6ce57-3df6-4639-bf60-d73ee8f017c0/IEA-Terms-April-2020.pdf>

As principais fontes mundiais de energia sempre foram em sua maior parte provenientes de combustíveis fósseis, sendo em grande parte derivados de petróleo (óleo, gás natural e carvão). Segundo dados da Agência Internacional de Energia do ano de 2018, o carvão era a fonte da qual vinha cerca de 37% do fornecimento de energia, seguido pelo gás natural (em torno de 23%) e o energia hidroelétrica (em torno de 20%), e a porcentagem representada pelas energias geradas de fontes renováveis ou limpas, como biocombustíveis, a partir de resíduos sólidos, eólica ou solar, somados representam em torno de 10%. Essas proporções podem ser encontradas no gráfico representado pela Figura 2.2.

Figura 2.2: Geração de eletricidade por fonte, Mundo 1990-2019



Fonte²: IEA, *Electricity generation by source, World 1990-2019*, IEA, Paris. Disponível em <https://www.iea.org/data-and-statistics/data-browser?country=WORLD&fuel=Energy%20supply&indicator=ElecGenByFuel>. Acesso em 09 out. 2021

A oferta de combustíveis fósseis é limitada, e segundo pesquisas muitos países em algumas décadas irão ter suas fontes esgotadas (Dawood et al., 2020). O consumo de energia proveniente de combustíveis fósseis ocasiona uma alta produção de CO₂, CO, SO₂, fumaça e outras substâncias tóxicas, as quais agravam a poluição ambiental, trazendo problemas como a produção de gases do efeito estufa e chuva

² O uso da imagem da Agência Internacional de Energia atende aos critérios de permissão de uso do material, contido no documento <https://iea.blob.core.windows.net/assets/3bf6ce57-3df6-4639-bf60-d73ee8f017c0/IEA-Terms-April-2020.pdf>

ácida. Além disso, países que possuem sua matriz energética baseada na energia hidroelétrica, como o Brasil o qual possui 65%, têm enfrentado problemas por conta da crise hídrica e a incapacidade de suprir a crescente demanda por água (GOVERNO FEDERAL. Disponível em <https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-e-combustiveis/2021/10/brasil-e-referencia-no-campo-da-energia-limpa-e-renovavel>. Acesso em 20 out. 2021). Essa crise hídrica tem origem na degradação do meio ambiente, e uma de suas consequências é impossibilitar o fornecimento de energia por hidrelétricas. (EUROPA. Disponível em <https://europa.com.br/blog/causa-e-impacto-crise-hidrica>. Acesso em 20 out. 2021).

Governos e pesquisadores tem investido no desenvolvimento de formas de produzir energia de fontes sustentáveis, utilizando biomassa, energia solar, eólica, H₂, energia geotérmica, entre outras. A energia gerada pela biomassa permite ao mesmo tempo o reaproveitamento de resíduos que seriam descartados (BRASIL ESCOLA. Disponível em <https://brasilecola.uol.com.br/geografia/bioenergia.htm>. Acesso em 29 out. 2021). A conversão de resíduos em energia ataca várias problemáticas de uma vez, indo da disposição dos resíduos produzidos em grande volume à produção da energia tão necessitada nos dias de hoje.

2.2 Conversão de Resíduos em Energia

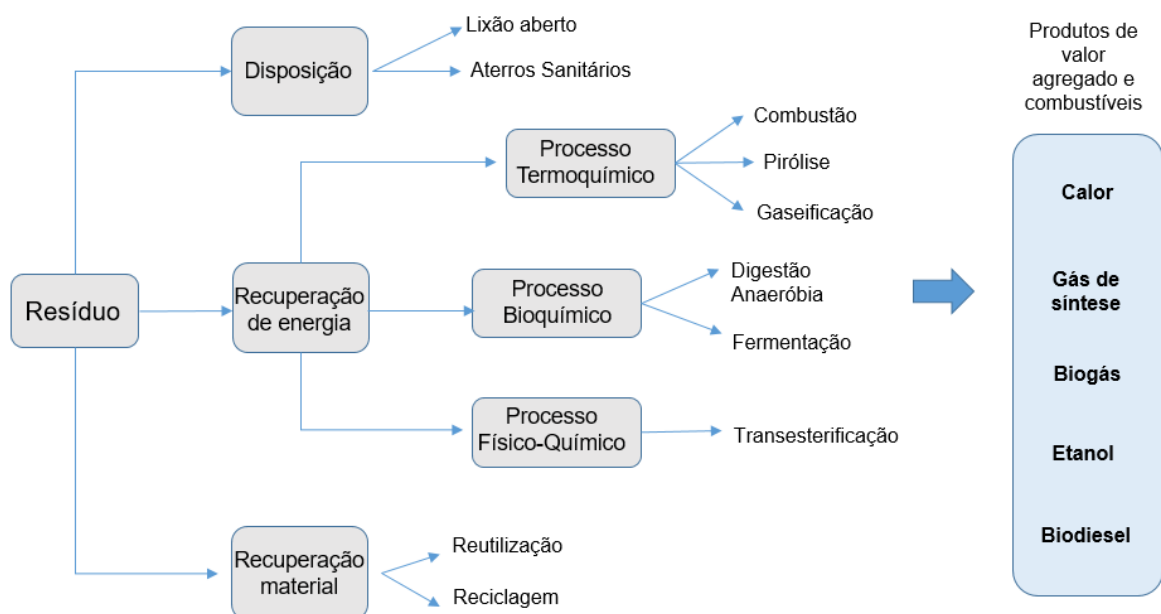
Os resíduos são provenientes de diferentes fontes, domésticas como resíduos alimentares, industriais como efluentes e subprodutos da produção sólidos, e da agricultura como excremento de animais, palha, entre outros. A interpretação da natureza do resíduo é um fator importante para gerenciar e projetar sistemas de tratamento.

Dependendo da disposição dos resíduos, eles podem causar grandes danos, como acúmulo de lixo em cidades, poluição do solo, poluição atmosférica causada pelo incineramento de lixo, e poluição da água quando esses resíduos contendo alta carga de matéria orgânica são despejados em lagos e rios (Milbrandt et al., 2018). As projeções para a geração global de resíduos sólidos mostram que, até 2050, a produção aumentará de 2,01 bilhões de toneladas em 2016 para cerca de 3,40 bilhões de toneladas de resíduos sólidos (Campos et al. 2021).

Dentro deste contexto, estudos recentes apresentam valorização de resíduo, e existem basicamente três caminhos para o gerenciamento dos mesmos, que incluem

seu descarte, recuperação de energia ou reciclagem. Eles são apresentados no fluxograma da Figura 2.3, o qual também ilustra os possíveis processos e produtos obtidos no final a partir dos resíduos.

Figura 2.3: Caminhos para o gerenciamento de resíduos sólidos



Fonte³: adaptado de Campos et al., 2021

A tecnologia de conversão em energia é uma ótima oportunidade para os resíduos orgânicos serem transformados em fonte renovável de energia, neutralizando seus custos ambientais e de manejo (Milbrandt et al., 2018). A aplicação de sistemas que podem produzir energia limpa enquanto fazem o tratamento de resíduos é importante tanto para a redução de emissões de gases de efeito estufa quanto para a recuperação da energia gasta no tratamento (Campos et al. 2021).

Em relação ao setor agrícola, há oportunidades em relação ao aproveitamento energético da biomassa obtida como subproduto não comercializado e resíduos os quais são descartados como lixo, resíduos estes que podem trazer impactos negativos

³ Requisição do uso da imagem feita por meio do serviço RightsLink® do Copyright Clearance Center para uso em tese/dissertação

ao meio ambiente quando são descartados de forma inadequada. Os agro-resíduos são ricos em carbono, nitrogênio e nutrientes essenciais que podem ser utilizados na produção de produtos de valor agregado (Campos et al., 2021).

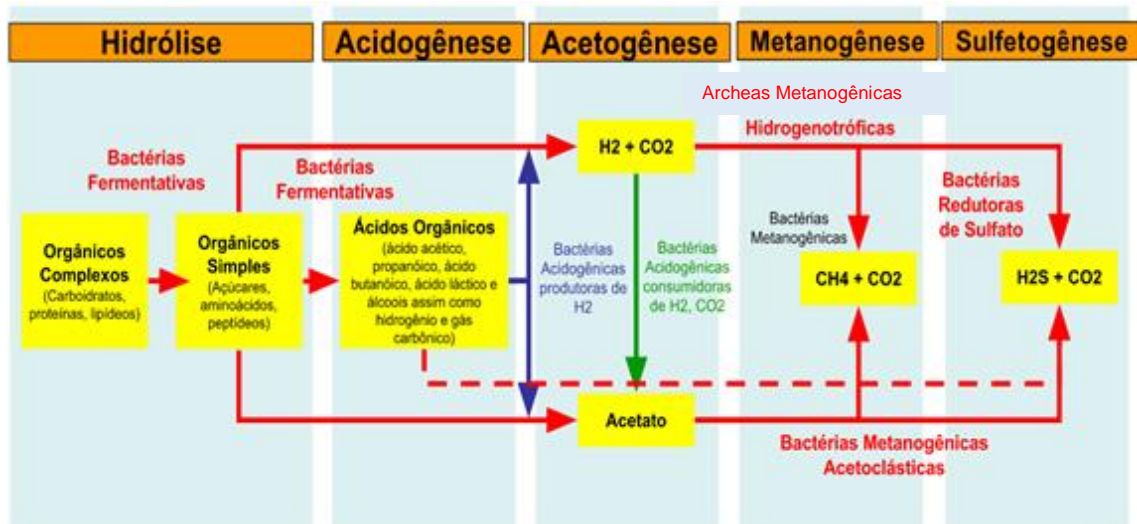
Outro resíduo gerado em larga escala, principalmente por fontes domésticas e industriais, são as águas residuais, as quais necessitam passar por um tratamento antes de serem despejadas em corpos d'água na natureza. Porém, geralmente essas águas consistem em material orgânico com alto potencial energético, e é possível aliar a redução dos impactos ambientais com a utilização do tratamento de águas residuais para atingir a realização desse potencial (Aydin et al., 2021).

A energia proveniente da biomassa tem um papel significativo nos recursos renováveis devido a possuir inúmeras fontes, possuir uma demanda técnica de baixo nível, um baixo custo e grande lucro (Reddy e Yang, 2005; Pan et al., 2009). Os principais desafios das tecnologias de conversão de resíduos em energia estão relacionados à economia, bem como aos seus aspectos ambientais e sociais. Assim, os subprodutos obtidos devem ter valor de mercado para tornar o manejo dos resíduos economicamente atraente (Campos et al., 2021).

2.3 Conversão de resíduos a partir da digestão anaeróbia

A biodigestão anaeróbia é um dos processos que utiliza resíduos para a conversão de bioenergia. Tal processo degrada bioquimicamente a matéria orgânica, e permite o consumo de resíduos com altas taxa de carga orgânica para a geração de biogás. As etapas para essa geração contemplam Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese, Metanogênese, e as vezes de forma indesejada e dependendo da composição do substrato, a Sulfetogênese (Chernicharo, 2008). Na Figura 2.4 tem-se um esquema dessas etapas.

Figura 2.4 - Resumo das etapas da Biodigestão Anaeróbia



Fonte: PORTAL DO BIOGÁS. Disponível em: <http://www.portaldobiogas.com> Acesso em 05 out. 2021.

2.3.1 Hidrólise

Na hidrólise, os compostos orgânicos complexos como carboidratos, proteínas e lipídios, são decompostos por microrganismos fermentativos, também chamadas de bactérias hidrolíticas, em compostos orgânicos simples como açúcares, aminoácidos e peptídeos. A decomposição ocorre em meio extracelular através de enzimas liberadas por essas bactérias (Chernicharo, 2008).

2.3.2 Acidogênese

Na fase da acidogênese ocorre a fermentação ácida dos compostos orgânicos simples no interior de microrganismos dando origem aos ácidos orgânicos voláteis tais como ácido acético, ácido propanóico, ácido butanóico, ácido láctico e álcoois, assim como hidrogênio e gás carbônico (Chernicharo, 2008).

2.3.3 Acetogênese

Durante a fase da acetogênese, os produtos gerados durante a fase da acidogênese são decompostos em ácido acético, dióxido de carbono, hidrogênio e metano em sua maioria. As responsáveis são algumas bactérias estritamente

anaeróbias que vivem em simbiose com as bactérias metanogênicas. A produção de acetato é fortemente influenciada pela concentração de hidrogênio, sendo que quanto maior a concentração de hidrogênio, mais baixo será o pH e conseqüentemente menor a produção de acetado. O acúmulo de ácidos orgânicos provoca a inibição da ação das bactérias metanogênicas e atrapalha a geração de biogás (Chernicharo, 2008).

2.3.4 Metanogênese

A metanogênese é um processo de respiração anaeróbia, o qual promove a geração de metano a partir da descarboxilação do acetato, e também através da redução do CO_2 com H_2 . Durante essa fase, o ácido acético, o CO_2 e o H_2 são convertidos em metano e gás carbônico através da ação de microrganismos metanogênicos, sendo esses microrganismos classificados como Archea. As Archeas são morfologicamente semelhantes às bactérias, mas genética e bioquimicamente semelhantes aos eucariotas (Chernicharo, 2008).

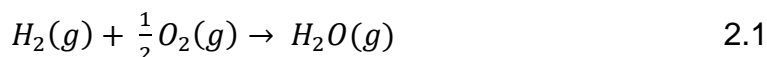
2.3.5 Sulfetogênese

Na fase da Sulfetogênese, na maioria das vezes indesejada, ocorre uma reação em paralelo e de modo concorrente com a produção de biogás, formando sulfeto de hidrogênio. As bactérias redutoras de sulfato competem com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas pelos substratos disponíveis, e assim ocorre a geração de sulfeto de hidrogênio (H_2S), que pode promover a precipitação de íons metálicos e gás carbônico (Chernicharo, 2008).

2.3.4 Aplicações da energia a partir da biomassa

Algumas tecnologias estão sendo exploradas e investigadas, como a tecnologia de produção de biohidrogênio, produção de biodiesel e tecnologia de produção de etanol celulósico (Yang et al. 2021).

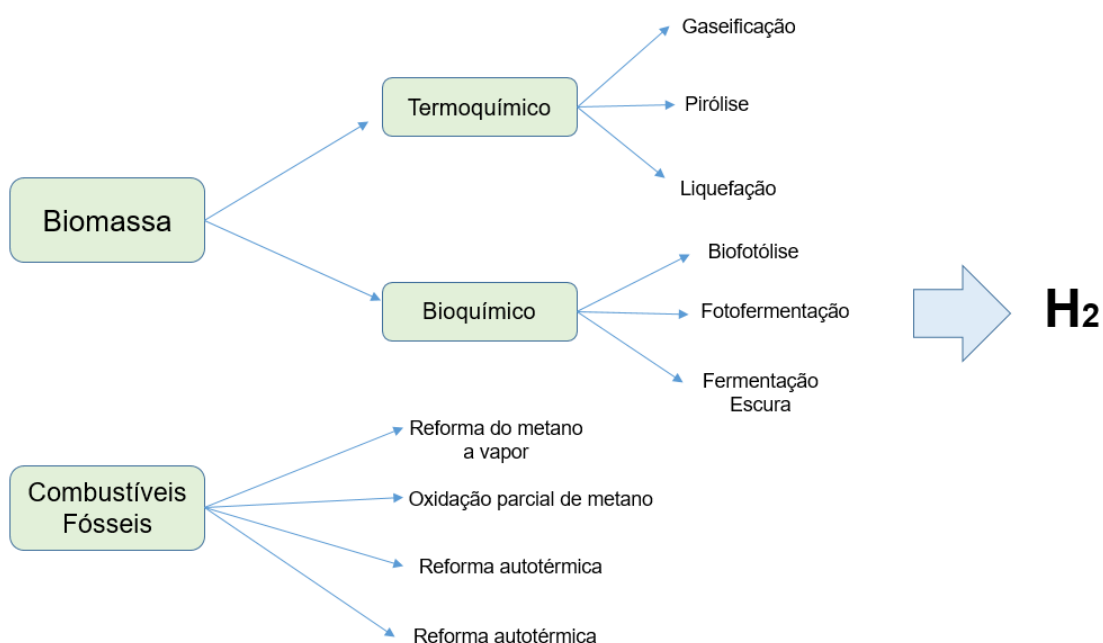
O hidrogênio vem se tornando uma das opções mais promissoras de fornecimento de energia por ter um bom rendimento energético, por da sua queima com oxigênio a água é obtida como subproduto (como demonstrado pela equação 2.1).



2.4 Métodos para a produção de hidrogênio

Como relatado por Ji et al., 2021, o H_2 pode ser produzido utilizando vários caminhos, entre eles a partir da utilização de combustíveis fósseis, por exemplo com a reforma do metano a vapor, oxidação parcial de metano, reforma autotérmica e a gaseificação de carvão. Pode também ser produzido a partir da biomassa por métodos termoquímicos como gaseificação, pirólise e liquefação e por processos bioquímicos de microrganismos, como biofotólise, foto fermentação e fermentação no escuro. Na Figura 2.5 é possível ver as diferentes fontes e caminhos para produção de hidrogênio, e a seguir esses métodos são mais explorados e explicados.

Figura 2.5: Fontes e caminhos para produção de hidrogênio



Fonte⁴: adaptado de Wang e Yin, 2018

⁴ Requisição do uso da imagem feita por meio do serviço RightsLink® do Copyright Clearance Center para uso em tese/dissertação

2.4.1 Métodos Bioquímicos

2.4.1.1 Biofotólise

A biofotólise pode ser dividida em biofotólise direta e biofotólise indireta. Na direta os microrganismos utilizam a luz para as reações de decomposição da água as quais produzem hidrogênio, e ocorre em microrganismos que fazem fotossíntese. Já a biofotólise indireta é um processo no qual na primeira etapa o CO₂ é fixado como carboidratos, que são então decompostos pela ação da enzima hidrogenase para produzir hidrogênio. A biofotólise representa poluição zero, consome apenas água como matéria-prima e não tem emissões adicionais de carbono, porém não possui o adicional de consumir resíduos simultaneamente (Jin e Wang, *in press*, 2021).

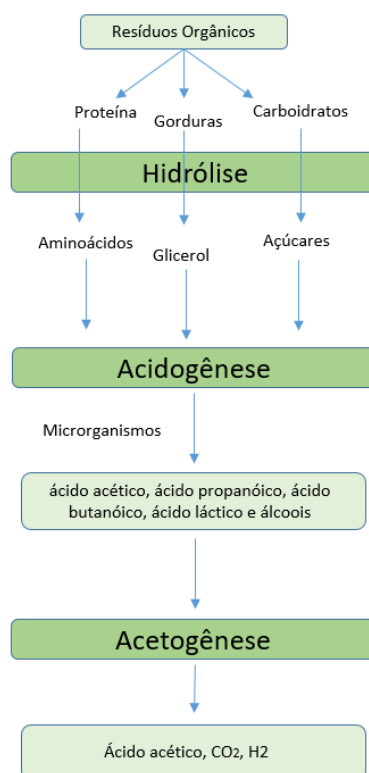
2.4.1.2 Fotofermentação

A fotofermentação é um processo no qual os microrganismos utilizam a energia da luz para converter substratos orgânicos em hidrogênio e CO₂.

2.4.1.3 Fermentação no Escuro

A fermentação no escuro é obtida pela interrupção do processo de digestão anaeróbia, fazendo com que apenas as etapas de hidrólise, acidogênese e acetogênese ocorram, como representado na Figura 2.6. Esta interrupção é alcançada principalmente por baixo pH (4,0–5,5) e altas taxas de carregamento orgânico, e em alguns casos a escolha de um inóculo adequado (e seu possível pré-tratamento) e a estratégia de inicialização do reator também são vitais para a produção de hidrogênio (Lovato et al., 2021). Este processo não requer o fornecimento de fonte de luz, por isso é chamado de fermentação escura, ou fermentação no escuro.

Figura 2.6: Etapas da Fermentação no escuro

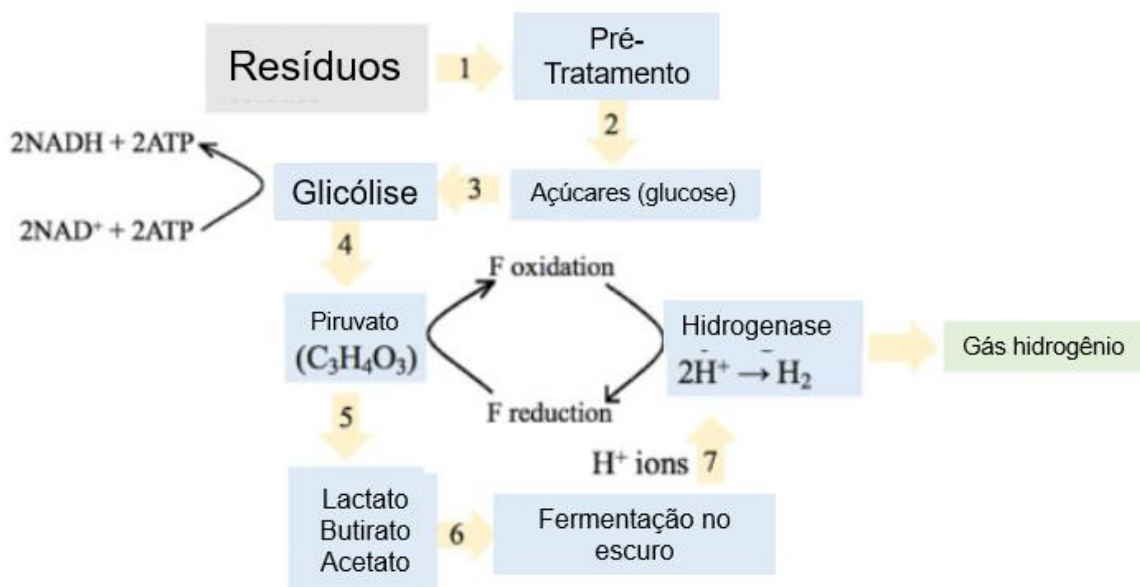


Fonte: Adaptado de <https://www.intechopen.com/chapters/59846>. Acesso em 09 out. 2021

Durante o processo de fermentação no escuro, a glicose forma ácido pirúvico por glicólise, assim como ATP e NADH. Então, o ácido pirúvico é convertido em acetil-CoA, o qual pode gerar H₂ e CO₂, por meio da ação de bactérias fermentativas anaeróbias. Sob diferentes condições, acetil-CoA pode ser convertido em ácido acético, ácido butírico e álcool etílico por diferentes microrganismos. De acordo com as diferentes composições do produto de fermentação final, a produção de hidrogênio por fermentação pode ser dividida em três tipos, ácido butírico, ácido propiônico, e álcool etílico (Yang, Ma, Lui, 2020).

As vias metabólicas representam uma restrição e são cruciais na fermentação no escuro. Na Figura 2.7 se encontra a representação da via geral de fermentação no escuro para produção de hidrogênio (Saravanan et al., 2021).

Figura 2.7 – Via geral da fermentação no escuro para produção de hidrogênio



Fonte⁵: Adaptado de Saravan et al., 2021

2.5 Parâmetros e Conceitos para a Produção de H₂

2.5.1 Codigestão anaeróbia

A codigestão envolve a combinação de dois substratos ou mais para que sirvam de matéria orgânica na biodigestão anaeróbia.

Devido ao seu alto conteúdo orgânico e sua natureza facilmente hidrolisável, os resíduos de alimentos são ótimos substratos para a produção de hidrogênio por fermentação no escuro. No entanto, esse tipo de substrato pode carecer de uma fonte de nitrogênio, o qual consiste em um nutriente essencial para a produção de hidrogênio (Kim, Han, Shin, 2004). Portanto, muitas pesquisas se voltam para a adição de uma fonte de nitrogênio para ser co-digerida juntamente com os resíduos alimentares a fim de maximizar a produção de hidrogênio.

Sreela-or et al. (2011) estudaram a combinação de resíduos alimentares com lodo de tanque de flotação, enquanto Tawfik e El-Qelish (2012) dos resíduos alimentares com águas residuais. Kim et al. (2011) teve como substratos a palha de arroz codigerida com lodo de esgoto, Hernández et al. (2014) focaram no esterco

⁵ Requisição do uso da imagem feita por meio do serviço RightsLink® do Copyright Clearance Center para uso em tese/dissertação

suíno combinado com mucilagem de café e Tena et al. (2021) no lodo de esgoto com vinhaça. Alguns pesquisadores realizaram uma combinação de três substratos para estudo, como Zhou et al. (2013) os quais pesquisaram resíduos alimentares combinados com lodo primários e resíduos de lodo ativado, Elsamadony e Tawfik, (2015) que focaram em resíduos sólidos urbanos com resíduos sólidos de gelatina e lodo de papelão, e Malolan et al. (2021) que combinaram esterco de vaca, esterco de galinha, e a microalga *Chlorella pyrenoidosa*.

Alguns trabalhos voltados para codigestão estudaram a otimização da produção de hidrogênio de acordo com diferentes proporções de co-substratos empregados. Observa-se que a maioria dos substratos utilizados foram uma combinação de resíduos alimentares e combinados com águas ou lodo residuais. Hernández et al. (2014) avaliaram três razões para co-digestão de mucilagem de café com esterco de suíno. A melhor relação C / N foi 53,4, produzindo uma taxa de de biohidrogênio de 557,8 NmL H₂ / L W d. A alta disponibilidade de fonte de carbono pode ser responsável pelo crescimento de outros tipos de microrganismos ou ocasionar uma alta pressão parcial de hidrogênio, alterando a principal via metabólica alcançada no experimento. Um aumento na taxa de carregamento orgânico na relação ótima de C / N obteve sucesso em controlar melhor a atividade metanogênica e melhorar a produção de hidrogênio.

Tabela 2.1: Experimentos para a produção de hidrogênio usando codigestão

Co-Substratos	Relação Carbono/Nitrogênio ótima	Reator	Temperatura	pH	Rendimento máximo de H ₂	Referências
resíduos alimentares e lodo de tanque de flotação de ar dissolvido	33,14	Batelada em lote	30 ± 2 ° C	substrato 7,2 lodo 6,8	102,63 mL H ₂ / g-sólidos voláteis adicionados	Sreela-or et al., 2011
palha de arroz e lodo de esgoto	25 no lodo não tratado	Batelada em Lote	55 ° C	4,5–5,5	-	Kim et al., 2011
resíduos alimentares e águas residuais	-	reator anaeróbico mesofílico defletor (ABR)	35 ° C	substrato 5,2 lodo 6,6 final 5,0–5,2	245 ± 131 ml H ₂ / g DQO para uma taxa de carregamento orgânico de 36 g DQOtotal/L.d	Tawfik e El-Qelish, 2012
resíduos alimentares (A), lodo primário (B) e resíduos de lodo ativado (C)	-	Batelada em Lote	37 ° C	(A) 6 ± 0,2, (B) 6 ± 0,3, (C) 7 ± 0,3, lodo 7 ± 0,2	76 ± 4,3 mL H ₂ / g DQO , para 80/15/5	Zhou et al., 2013
esterco de suíno e mucilagem do café	53,4	Batelada em lote	55 ° C	5,15–5,5	7,6 NL H ₂ / L substrato .dia	Hernández et al., 2014
resíduos sólidos urbanos (A), resíduos sólidos de gelatina (B) e lodo de papelão (C)	29,4 ± 0,3 para razão de substratos 70/20/10	Batelada em lote seco	(55 ± 2 ° C)	(A) 3,88 ± 0,2, (B) 6,91 ± 0,4, (C) 12,71 ± 0,9, lodo 6,49 ± 0,2	144,9 ± 9,8 mL H ₂ / gVS removido, com razão de substratos de 70/20/10	Elsamadony e Tawfik, 2015
esterco de vaca, esterco de galinha, <i>Chlorella pyrenoidosa</i> (microalga)	-	Batelada	35 ° C	6,4-7,6	-	Malolan et al., 2021
lodo de esgoto e vinhaça	-	CSTR acidogênico termofílico	55	5,39 ± 0,03	35,19 mL H ₂ / g de VS adicionado	Tena et al., 2021

Fonte: Acervo Pessoal, 2021

Zhou et al. (2013) conduziram de co-digestão anaeróbica em lote utilizando misturas de resíduos alimentares, lodo primário e lodo ativado, e os resultados mostraram que a melhor combinação se deu com a codigestão na proporção de 80:15:5, gerando uma relação C / N de 30 e rendimento de hidrogênio de 76 ± 4,3 mL H₂ / g DQO. Sreela-or et al. (2011) investigaram o efeito da proporção de co-substratos resíduos alimentares e lamas, e a condição ótima encontrada foi uma relação C / N de 33,14, com rendimento máximo de hidrogênio de 102,63 mL H₂ / g-

VS adicionado e taxa de produção de hidrogênio específico de 59,62 mL H₂ / g VSS.h, sendo que a relação C / N e a concentração de inóculo apresentaram os maiores efeitos individuais e interativos sobre esses dois resultados.

Os microrganismos requerem um suplemento adequado de nitrogênio para otimizar o metabolismo durante a fermentação, e por meio desses estudos é possível concluir que a codigestão pode fornecer essa razão equilibrada de C / N, a qual pode aumentar a atividade dos microrganismos e conseqüentemente a produção de hidrogênio. Além disso, os efeitos sinérgicos da co-digestão puderam ser avaliados, mostrando que as produções de hidrogênio provenientes da codigestão de substratos podem muitas vezes ser maior que a produção a partir do substrato simples de cada fração, como comprovado por Zhou et al. (2013).

Sreela-or et al. (2011) estudaram a codigestão de resíduos alimentares e lodo de tanque de flotação de ar dissolvido em um reator de batelada em lote, e obtiveram um rendimento de 102,63 mL H₂ / g-sólidos voláteis adicionados. Tawfik e El-Qelish (2012) avaliaram o impacto da taxa de carregamento orgânico no desempenho do reator anaeróbico mesofílico defletor com a codigestão de resíduos municipais e águas residuais de cozinha. Os valores de TCO utilizados foram de 29, 36 e 47 g DQO total / L.d, enquanto o tempo de retenção hidráulica era de 1,6 dias. Os resultados mostraram que aumentar de 29 para 36 g DQO total / L.d, ocasionou uma queda de produtividade do hidrogênio de 6,0 ± 0,5 para 5,4 ± 1,04 L H₂ / d. Os pesquisadores constataram que a geração de H₂ deveu-se principalmente à conversão de DQO (57%) e carboidrato (81%).

Tena et al. (2021) investigaram o efeito do tempo de retenção hidráulica na produção de hidrogênio a partir de lodo de esgoto codigerido com vinhaça de vinho em um reator de tanque agitado continuamente em condições termofílicas. O tempo de retenção hidráulica foi variado de 5,0 a 0,25 dias. A produção máxima de hidrogênio e a produção específica de hidrogênio de 0,90 L H₂ / L reator.d e 35,19 mL H₂/ g de VS adicionado foram obtidas em um TDH de 0,5 dias.

Malolan et al. (2021) utilizaram água de digestão anaeróbia para cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* e empregaram os co-substratos de esterco de vaca e esterco de galinha para produção de metano e hidrogênio. Neste estudo, a produção de foi realizada com proporção variável de esterco de vaca para resíduos de galinha (1: 0, 0: 1, 1: 1, 2: 1, 1: 2, 3: 1 e 1: 3) para 40 dias, e o rendimento máximo de metano e

hidrogênio foi de 68% (30º dia) e 29% (10º dia) para a proporção de 2: 1: 2, respectivamente.

2.5.2 Fontes de carbono e composição de nutrientes

Os nutrientes que compõe o substrato influenciam fortemente no processo de produção do hidrogênio, sendo o carbono, nitrogênio, fósforo e micronutrientes como magnésio e níquel os responsáveis pelo desenvolvimento dos microrganismos e consequente conversão do hidrogênio. A relação carbono / nitrogênio também desempenha um papel importante no processo de conversão, interferindo no processo de fermentação (Saravanan et al., 2021).

Os padrões de escolha em relação aos resíduos que serão os substratos consistem em disponibilidade, custo, quantidade total de carboidratos e biodegradabilidade, sendo que as melhores fontes de carbono são os monossacarídeos como glicose e dissacarídeos como lactose ou sacarose (Yang et al, 2020). Inúmeras pesquisas estudam a biodigestão com foco na produção de hidrogênio utilizando os mais diversos substratos como fonte de carbono (Tabela 2.1)

Muitos pesquisadores utilizam como substrato as águas residuais, Mohan et al. (2011) pesquisaram as águas residuais provenientes de destilaria, assim como Intanoo et al. (2014) que estudaram as mesmas com resquícios de fermentação. Shi et al. (2009) investigaram o uso água residual da cervejaria, Zhaoa et al. (2007) com adição de sacarose sintética, e Xie et al. (2014) a proveniente de amido, enquanto Intanoo et al. (2015) focaram na água residual da mandioca. Aydin et al. (2021) realizaram uma revisão avaliando diferentes métodos de produção de hidrogênio a partir de águas residuais como substrato, Alzate-Gaviriaa et al. (2005) comparou a utilização das mesmas com resíduos sólidos urbanos, e Lay et al. (2018) tratou do efluente proveniente de tratamento de águas residuais.

Outro substrato comumente utilizado são os resíduos alimentares, pesquisados por Hou et al. (2021), Yan et al. (2020), e Mateus et al. (2020), e Wang et al., 2010 que estudaram o bagaço de maçã especificamente.

Os subprodutos agrícolas também foram estudados, como a vinhaça, objeto de pesquisa de Nasr et al (2011), Ramos et al. (2020), Arellano-García et al. (2021), e Santos et al. (2013) que a pesquisaram diluída com glucose, o glicerol puro e residual estudado por Reungsang et al. (2013), o caule de milho pesquisado por Xing

et al. (2011), o soro de queijo por Dessi et al. (2020), melão de beterraba (Aceves-Lara et al., 2009), bagaço de Agave tequilana (Arreola-Vargas et al., 2015), e o efluente da fábrica de óleo de palma por Zinatizadeh et al. (2017).

Diferentes substratos também podem ser empregados, como o soro de látex desnatado investigado por Kongjan et al. (2014), biomassa de sorgo doce estudada por Antonopoulou et al. (2007), resíduos de lodo ativado com adição de carboidratos (Chen et al., 2012), esterco suíno (Hernández et al., 2012), leite em pó desnatado (Clark et al., 2011), polímero à base de amido de mandioca (Cremonez et al., 2020), microalgas (Nagarajana et al., 2020), e amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano (Dong et al., 2020). Yan et al. (2020) estudaram o uso de substratos diferentes na produção de hidrogênio, sendo eles resíduos alimentares provenientes de padaria, resíduos de restaurante chinês, resíduos de restaurante de estilo ocidental e resíduos de mercado úmido. O maior rendimento veio da digestão dos resíduos de restaurante chinês, com 61,0 L / kg·VS adicionado, e também mostrou que os substratos com alta concentração de carboidratos levam a uma maior taxa de carga orgânica, o que induz um acúmulo de ácidos graxos e conseqüentemente diminuiu o pH levando a diminuição da atividade dos microrganismos que produzem o hidrogênio.

Há muitas publicações atualmente as quais tratam da produção de hidrogênio a partir da biodigestão anaeróbia, e cada trabalho desenvolve sua investigação em relação aos diferentes parâmetros os quais podem influenciar essa produção, buscando pontos ótimos para cada um. Na Tabela 2.2 podemos encontrar diferentes trabalhos que fazem essa pesquisa, com as informações de diferentes substratos conforme foram mencionados, juntamente com seus inóculos, reatores, objetivos e variações de parâmetros diversos. Dentre os trabalhos destacados na Tabela 2.2 há muitos tipos de substratos, se destacando resíduos alimentares presente em 8 trabalhos e águas residuais presentes em 9 trabalhos. A vinhaça proveniente de cana-de-açúcar, tequila, e vinho está presente em alguns dos trabalhos discutidos, e é utilizada nesse tipo de processo por conter uma alta carga orgânica, a qual precisa ser reduzida e ao mesmo tempo pode ser utilizada para produção de biogás ou hidrogênio (o presente caso). Em geral, muito resíduos agroindustriais são empregados como substratos pois de outra forma seriam descartados, assim podem ter uma destinação a qual agrega valor a esses produtos.

Tabela 2.2: Trabalhos sobre produção de hidrogênio por digestão anaeróbia utilizando diferentes parâmetros

Substrato	Inóculo	Reator	Objetivo	O que foi variado	Codigestão	pH	Temperatura (° C)	Rendimento Máximo de Hidrogênio	Referências
Bagaço de maçã	lodo ativado pré-tratado por ultravioleta e ultrassônico	Batelada	Pré Tratamento do Lodo	Pré Tratamento do Lodo	Não	-	37	107,0 ml/gTS 15,0 ml/gTS.h	Wang et al., 2010
Melaço de beterraba sacarina	lodo de digestor de leito fixo	CSTR	Controle preditivo de modelo (MPC)	Concentração de Substrato	Não	5,5	37	8,27 mL H ₂ /L.min	Aceves-Lara et al., 2010
Água residual da cervejaria	lodo de UASB	Batelada	Otimizar Produção de H ₂	Temperatura, pH, Concentração de Substrato	Não	-	-	149,6 ml de H ₂ /g DQO	Shi et al., 2010
Vinhaça fina	- ADS coletado do digestor de metano anaeróbico - AADS coletados de um sistema de fluxo contínuo com a semente de ADS	Batelada	Otimizar Produção de H ₂	Lodo / Inóculos	Não	5,47 ± 0,04	37	19,5 L H ₂ / L	Nasr et al., 2011
águas residuais de destilaria	lodo de esgoto	Reator anaeróbico em bateladas sequenciais	Substituir Cultura Microbiana	TDH	Não	7,0 ± 0,1	28 ± 2	0,32 mol H ₂ / m ³ .dia	Mohan et al., 2011
resíduos alimentares e lodo de tanque de flotação de ar dissolvido	inóculo obtido de UASB	Batelada em lote	Otimizar Produção de H ₂	Proporção de Co-substratos	Sim	substrato 7,2 lodo 6,8	30 ± 2	102,63 mL H ₂ / g-sólidos voláteis adicionados	Sreela-or et al., 2011

palha de arroz e lodo de esgoto	lodo de esgoto	Batelada em Lote	Pré Tratamento do Lodo	Lodo / Inóculos	Sim	4,5–5,5	55		Kim et al., 2011
resíduos de lodo ativado com adição de carboidrato	lodo ativado	Batelada	Otimizar Produção de H ₂	Razão Carboidrato/Proteína, pH	Não	-	37 ± 1	100,6 mL / g-DQO	Chen et al., 2012
Leite em pó desnatado	O inóculo mesofílico de digestor mesofílico primário	Batelada	Otimizar Produção de H ₂	pressão do headspace e da mistura do reator	Não	7	37	-	Clark et al., 2012
resíduos alimentares e águas residuais	inóculo obtido de UASB	Anaeróbio mesofílico defletor	Otimizar Produção de H ₂	TCO	Sim	5,0–5,2	35	245 ± 131 ml H ₂ / g DQO	Tawfik e El-Qelish, 2012
glicerol puro e residual	Enterobacter aerogenes ATCC 13048 imobilizados em grânulos de lodo tratado termicamente	UASB	Comunidade microbiana principal	TCO	Não	5,5	37 ± 2	9 e 6,2 mmol H ₂ /L.h	Reungsang et al., 2013
esterco suíno	O inóculo de reator anogênico sob condições mesofílicas. Bacteroides, Eubacterium e Clostridium	Anaeróbio mesofílico defletor	Otimizar Produção de H ₂	pH, TCO, TDH	Não	-	55	102,1 mL H ₂ / h	Hernández et al., 2013
resíduos alimentares (A), lodo primário (B) e resíduos de	O lodo digerido anaeróbio de estação de tratamento de águas residuais	Batelada em Lote	Otimizar Produção de H ₂	Proporção de Co-substratos	Sim	(A) 6 ± 0,2, (B) 6 ± 0,3, (C) 7 ±	37	76 ± 4,3 mL H ₂ / g DQO , para 80/15/5	Zhou et al., 2013

lodo ativado (C)						0,3, lodo 7 ± 0,2			
Soro de látex desnatado (skim latex serum)	O lodo granular metanogênico de águas residuais	UASB	Otimizar Produção de H ₂	TDH	Não	4,97 ± 0,21	Termofílica	2,25 ± 0,09 L H ₂ / L-SLS	Kongjan et al., 2014
soro de queijo e glicose	lodo de águas residuais de avícola	RALF	Otimizar Produção de H ₂	Proporção de Co-substratos	Sim	6	30 ± 1	1,7 mmol H ₂ /g-DQO	Rosa et al., 2014
Vinhaça de cana de açúcar diluída misturada com glucose	Inóculo UASB de usina de produção de etanol	RALF	Comunidade microbiana principal	TDH	Não	4	55	5,73 mmol /gDQO adicionado	Santos et al., 2014
águas residuais de álcool com resíduo de fermentação	Lodo de UASB	Reator anaeróbio em bateladas sequenciais	Otimizar Produção de H ₂	Adição de Resíduo de Fermentação	Não	5,5	55	128 ml / g DQO removido	Intanoo et al., 2014
Água residual de mandioca	Lodo de UASB	UASB	Otimizar Produção de H ₂ e Metano	TCO	Não	5,5	55	54,22 ml H ₂ / g DQO aplicado	Intanoo et al., 2014
Águas residuais de amido	Lodo de UASB	UASB	Comunidade microbiana principal	Recirculação do efluente	Não	5,5	55	3,45 ± 0,25 L H ₂ / (L · d) e 5,79 ± 0,41 mmol H ₂ / g DQO adicionados	Xie et al., 2014
esterco de suíno e mucilagem do café	inóculo foi obtido em uma fase preliminar do mesmo reator	Batelada em lote	Otimizar Produção de H ₂	Proporção de Co-substratos	Sim	5,15–5,5	55	7,6 NL H ₂ / L substrato .dia	Hernández et al., 2014

resíduos sólidos urbanos (A), resíduos sólidos de gelatina (B) e lodo de papelão (C)	lodo de estação de tratamento de águas residuais	Batelada em lote seco	Comunidade microbiana principal	Proporção de Co-substratos	Sim	(A) 3,88 ± 0,2, (B) 6,91 ± 0,4, (C) 12,71 ± 0,9, lodo 6,49 ± 0,2	55 ± 2	144,9 ± 9,8 mL H ₂ / gVS removido, com razão de substratos de 70/20/10	Elsamadony e Tawfik, 2015
soro de queijo	lodo de águas residuais de suínos	RALF	Papel das bactérias de ácido láctico homo e heterofermentativas	TCO	Não	4 - 4,5	30	2,3 mol/mol lactose	Gomes et al. , 2015
água residual de processamento de mandioca	lodo de águas residuais de suínos	RALF	Caracterização e atividade antimicrobiana de bactérias lácticas	TCO	Não	5	30	2,0 mmol/g-DQO, 2,1 L H ₂ /d .L	Rosa et al., 2016
água residual da mandioca	Lama bacteriana de lagoa anaeróbia	UASB	Otimizar Produção de H ₂	TCO	Não	5,5	37	39,83 L H ₂ / kg DQO removido	Intanoo et al., 2016
Bagaço de Agave tequilana proveniente de destilaria	Lodo de UASB	Batelada	Comparar 1 estágio com 2 estágios	Comparar 1 estágio com 2 estágios	Não	7	37	-	Arreola-Vargas et al., 2016
efluente da fábrica de óleo de palma (POME)	Lodo de UASB	UASB	Pré Tratamento do Lodo	Lodo / Inóculos	Não	5,5	35 ± 2	31,4 mL H ₂ / g VSS. d	Zinatizadeh et al., 2017
REVIEW: biomassas: Lodo ativado residual , biomassa de algas e biomassa à	Lodo ativado	CSTR	Otimizar Produção de H ₂	Diferentes Substratos, Pré Tratamento do Substrato	Não	-	-	-	Wanga et al., 2018

base de celulose									
Efluente de baixa resistência de tratamento de águas residuais	Lodo ativado de fábrica de frutose enriquecido com águas residuais de bebidas	UASB	Otimizar Produção de H ₂	TDH, Lodo / Inóculos	Não	5,5 ± 0,1	35 ± 1	taxa 0,33 L / L.d 1,42 L/gDQO	Lay et al., 2019
polímero à base de amido de mandioca (Manihot esculenta Crantz)	O inóculo de culturas de biodigestor	CSRT e tubular	Otimizar Produção de H ₂ e metano	Concentração de Substrato	Não	05/jun.	37 ± 1,0	19,9 mL /gVS -1	Cremonez et al., 2020
vinhaça de cana-de-açúcar	lodo granular de um reator UASB metanogênico termofílico	RALF	Comparar 1 estágio com 2 estágios	Comparar 1 estágio com 2 estágios	Não	5 - 5,5	55 ± 1	1,30 ± 0,16 L H ₂ /dia.L 0,34 ± 0,08 mmol H ₂ /g DQO	Ramos et al., 2020
resíduos alimentares	Lodo digerido anaerobicamente	Reator de leite lixiviado, UASB	Efeito da composição do substrato na produção acidogênica	Diferentes Substratos	Não	-	35 ± 1	61,0 L / kg · VS adicionado	Yan et al., 2020
resíduos de frutas	lodo anaeróbico flocular	CSTR	Otimizar Produção de H ₂ e Metano	Diferentes Substratos, TDH	Não	4,5–5,5	30	-	Mateus et al., 2020
soro de queijo	lodo ativado	UASB	Otimizar Produção de H ₂	Extração de ácidos graxos voláteis (AGVs)	Não	5,0 e 4,5	20 e 35	0,66 L / L .d	Dessi et al., 2020
- Microalgas (Chlorophyta)	-	Vários	Review	Pré Tratamento do Substrato	Não	-	-	-	Nagarajana et al., 2020
amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano	Lodo anaeróbico	Batelada	Mecanismo de toxicidade	Efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de	Não	5,7	55	100,0 mL	Dong et al., 2020

				perfluorooctano em bactérias termofílicas					
Resíduos Alimentares	lodo digerido anaerobicamente	Batelada	Suplementação de água com nanobolhas	suplementação de água com nanobolhas	Não	5,50 ± 0,10	38 ± 1	373,63 ± 3,58 mL H ₂ / g-VS adicionado	Hou et al., 2021
resíduos alimentares	lodo digerido anaerobicamente	Batelada	Otimizar Produção de H ₂ e Metano	suplementação de água com nanobolhas	Não	5,50 ± 0,20	-	197,55 ± 0,63 mL H ₂ / g-VS	Hou et al., 2021
águas residuais	-	Vários	Review	Métodos de produção de H ₂	Não	-	-	-	Aydin et al., 2021
- efluente de fábrica de óleo de palma	lodo de lagoa anaeróbia	Híbrido (UASB + Filme fixo)	Otimizar Produção de H ₂	TDH, TCO	Não	5,5-5,8	37 ± 0,2	11,75 L H ₂ /L.dia	Akhbari et al., 2021
vinhaça de tequila concentrada	Lodo granular de digestor anaeróbio	CSTR	Comunidade microbiana principal	TCO	Não	5,5	-	13,3 ± 31,8 mmol H ₂ / mol SCA consumido	Arellano-García et al., 2021
esterco de vaca, esterco de galinha, Chlorella pyrenoidosa (microalga)	lodo de estação de tratamento de águas residuais	Batelada	Otimizar Produção de H ₂ e Metano	Proporção de Co-substratos, pH	Sim	6,4-7,6	35	-	Malolan et al., 2021
lodo de esgoto e vinhaça	lodo ativado residual	CSTR	Otimizar Produção de H ₂	TDH	Sim	5,39 ± 0,03	55	35,19 mL H ₂ / g de VS adicionado	Tena et al., 2021

Fonte: Acervo pessoal, 2021

2.5.3 Pré-Tratamento do Substrato

Aplicar uma etapa de pré-tratamento no substrato pode aumentar a eficiência da produção de hidrogênio, visto que a hidrólise em moléculas menores é uma possível limitação para a taxa de degradação da biomassa. O processo de pré-tratamento é capaz de reduzir o grau de polimerização das substâncias, liberando componentes através da lise da parede celular da biomassa, deixando essas substâncias mais disponíveis para os microrganismos (Wang e Yin, 2018).

Wang e Yin (2018) estudaram vários métodos de pré-tratamento, como tratamentos físicos os quais incluem moagem, raios ultra-sônicos, aquecimento, congelamento e descongelamento, microondas e radiação ionizante; tratamentos químicos, os quais compreendem tratamento ácido e alcalino, oxidação por agente oxidante e adição de inibidores metanogênicos; e também tratamentos biológicos, os quais consistem principalmente em tratamento enzimático e hidrólise bacteriana.

A revisão feita por Nagarajan et al. (2020) estudou a influência do pré-tratamento do substrato de microalgas na produção de hidrogênio, e concluíram que os carboidratos de microalgas são uma fonte de carbono eficaz para a fermentação no escuro, e que os métodos de pré tratamento mecânicos consomem muita energia porém com alta eficiência de extração, os métodos químicos geram inibidores de fermentação, apesar da baixa demanda de energia, e que os métodos de tratamento com ácido térmico ou alcalino são os mais comumente usados.

2.5.4 Temperatura

Dentre os fatores que afetam o crescimento e a atividade microbiana podemos citar a temperatura como um dos mais influentes. A temperatura é um fator determinante na escolha da espécie do microrganismo, já que diferentes microrganismos se desenvolvem melhor em diferentes faixas de temperatura (CHERNICHARO, 2008).

A temperatura escolhida para a produção de hidrogênio depende dos tipos de substrato e microrganismos, e há pesquisas que indicam altas taxas de produção volumétrica de hidrogênio utilizando microrganismos mesofílicos devido ao resultado

de baixas densidades celulares e taxa lenta de proliferação, enquanto rendimentos mais elevados são obtidos com organismos termofílicos (Saravanan et al., 2021).

Sattar et al. (2016) investigaram o efeito da temperatura na geração de hidrogênio usando como substrato palha de arroz, casca de arroz, resíduo de arroz e farelo de arroz por fermentação em lote em um biorreator anaeróbio. A temperatura foi variada entre 37 e 55 ° C e observou-se um aumento na produção de hidrogênio a medida em que se aumentou a temperatura.

Lovato et al. (2021) investigaram a estratégia de inicialização para produção de hidrogênio a partir da fermentação no escuro termofílica conduzida a 55 °C, testando três diferentes estratégias de inicialização em relação a temperatura, revelando que aumentar a temperatura lentamente até a condição ótima de 55 °C favorece termodinamicamente as rotas de produção de hidrogênio.

Shi et al. (2010) fez um estudo utilizando três níveis e três fatores para encontrar as condições ideais de produção de H₂, analisando os efeitos de temperatura, pH e concentração de água residual da cervejaria. Os melhores resultados foram alcançados sob temperatura de 35,9 °C, pH 5,95 e concentração de substrato de 6,05 g / L, com rendimento de hidrogênio de 149,6 ml de / g DQO. A temperatura ótima para a produção de hidrogênio obtida no estudo foi próxima à faixa mesofílica, o que é favorável à economia de energia para operar sistemas biológicos produtores, e o pH ideal de 5,95 esteve dentro da faixa ácida, o que contraria estudos anteriores. Isso se deve provavelmente a diferença do tipo de substrato e inóculo utilizado.

De acordo com Shao et al. (2020), uma das principais vantagens de utilizar um microrganismo adaptado ao meio termofílico é que ele pode utilizar diferentes substratos celulósicos e resultar em alto rendimento de hidrogênio. Saravanan et al. (2021) cita que altas taxas de produção volumétrica de hidrogênio são alcançadas com organismos mesofílicos devido as baixas densidades celulares e taxa lenta de proliferação.

2.5.5 pH

O pH pode afetar o meio de cultivo de duas maneiras diferentes, diretamente e indiretamente. Pode afetar diretamente alterando a atividade enzimática e mudando a estrutura de algumas proteínas ou indiretamente inibindo o processo anaeróbio e aumentando a toxicidade do meio (LETTINGA, 1996).

Um tampão é necessário para reduzir a flutuação do pH durante a fermentação do hidrogênio, pois a formação do hidrogênio é sempre acompanhada por ácidos graxos voláteis (AGVs) ou solventes, e um possível desequilíbrio no pH e na concentração de AGVs pode ser responsável por interromper a produção de hidrogênio (Lin e Lay, 2004).

O controle de pH é um método importante para manter os microrganismos produtores de hidrogênio, e a mudança de pH ocorre devido a produção de ácido acético e ácido butírico que acompanha a produção de hidrogênio (Capson-Tojo et al., 2016). Na maioria dos processos de fermentação no escuro, o pH ideal considerado é o ligeiramente ácido porque a via do butirato é mais favorável que a via do acetato. No entanto, em alguns casos, observou-se que o pH neutro é a condição ideal (Saravanan et al., 2021).

Chen et al. (2012) realizaram um estudo da produção de hidrogênio durante a fermentação anaeróbia de lodo ativado usando o controle de pH, e observaram uma produção máxima de hidrogênio de 100,6 mL/g-DQO para a proporção de Carboidrato/Proteína de 5, com um pH de 8. O pH foi considerado ótimo, porém como ainda havia um consumo de hidrogênio, a fim de aumentar a produção foi implementada uma estratégia de controle de pH em duas etapas (pH 8 + pH 10), a qual impactou positivamente a produção de hidrogênio em 17,6%.

Li et al. (2020) estudaram o efeito da salinidade e do pH na fermentação no escuro de águas residuais de suínos sob condição mesofílica, e a pesquisa evidenciou um pH ótimo de 6,0 com uma salinidade de 1,5%. Outros pontos ressaltados foram a inibição da atividade do hidrogênio quando o pH se encontrava em 5,0, e o acúmulo de matéria orgânica solúvel no substrato em condições alcalinas.

A manutenção do pH é um ponto muito importante de se ter em foco na fermentação no escuro, pois dele depende a atividade dos microrganismos produtores de hidrogênio, e seu valor ideal pode mudar ligeiramente dependendo dos substratos empregados. Hernández e Rodriguez (2013) estudaram o efeito do pH na produção

de hidrogênio por digestão anaeróbia de esterco de porco, empregando os valores de 5,0, 5,5 e 6,0, entregando uma condição ácida forte, média e fraca respectivamente. O pH 5,5 teve uma concentração máxima de hidrogênio e taxa de produção de 26,9% e 31,8 mL H₂ / h, e de acordo com os resultados, a produção de hidrogênio foi limitada devido ao forte ambiente ácido no reator, o que poderia alterar o caminho para a formação mais reduzida de metabólitos, sendo que uma mudança para o pH intermediário de 5,5 melhorou as condições para produção de hidrogênio.

2.5.6 Inóculo

O inóculo utilizado na produção biológica de hidrogênio é constituído por diversos microrganismos, os quais podem ser divididos em três grupos: bactérias fermentativas, bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio, e archeas metanogênicas (CHERNICHARO, 2008).

Microrganismos produtores de hidrogênio provém de várias fontes, como por exemplo lodo anaeróbiamente digerido, amostras do solo, e águas residuais que passam por um tratamento térmico (O-Thong et al., 2009).

Os microrganismos envolvidos na fermentação no escuro necessitam que ocorra um pré-aquecimento do lodo a temperaturas em torno de 100°C para enriquecer as bactérias formadoras de esporos produtoras de hidrogênio e inibir as bactérias metanogênicas consumidoras de hidrogênio (Kim et al., 2012).

A produção de hidrogênio encontra muitos desafios como a presença de matéria orgânica em águas residuais as quais não são diretamente utilizáveis pelas bactérias fermentadoras de hidrogênio, sendo o processo muito sensível às condições operacionais, como tempo de retenção de sólidos (TRS), taxa de carregamento orgânico (TCO) e pressão parcial do gás hidrogênio.

Um grande número de espécies microbianas são potenciais produtores de hidrogênio, incluindo os estritamente anaeróbios como *Clostridia*, *C. butyricum*, *C. welchii*, *C. pasteurianum*, e *C. beijerinckii* e anaeróbios facultativos como *Enterobacteriaceae*, os quais tem resistência a eventuais traços de oxigênio dissolvido, *Enterobacter sp*, *Escherichia coli*, *Bacillus sp.* e *B. licheniformis* (O-Thong, 2020).

Alissara et al. (2013) estudaram a produção de hidrogênio a partir do substrato glicerol utilizando *Enterobacter aerogenes* imobilizado em grânulos de manta de lodo,

e a partir da análise da comunidade microbiana concluiu que os produtores de hidrogênio predominantes foram *E. aerogenes* ATCC 13048 e bactérias firmicutes incluindo *Clostridium*, *Bacillus* e *Dialister* sp.

Noha et al. (2011) pesquisaram a cultura microbiana predominante na produção de hidrogênio a partir de vinhaça fina usando lodo de digestor anaeróbico convencional e aclimatado, e mostraram que os produtores de hidrogênio predominantes foram *Clostridium acetobutyricum*, *Klebsiella pneumonia*, *Clostridium butyricum* e *Clostridium pasteurianum*.

Elsamadony e Tawfik (2014) ao estudarem a produção de hidrogênio em condições termofílicas a partir de águas residuais de amido juntamente com reciclagem de efluente metanogênico constataram a dominância dos microrganismos *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* e *Clostridium thermosaccharolyticum* durante a produção de hidrogênio, e das archeas pertencentes a *Euryarchaeota* no reator de metano.

Nasr et al. (2011) avaliaram a viabilidade da produção de biohidrogênio a partir de vinhaça fina, comparativa o lodo digestor anaeróbico e lodo digestor anaeróbico aclimatizado. Um rendimento máximo de hidrogênio de 19,5 L H₂ / L de vinhaça fina foi alcançado para o lodo aclimatado. Esse estudo revelou a importância do uso de lodo aclimatado, sendo altamente recomendado seu uso em sistema de fluxo contínuo para avaliar a produção de biohidrogênio de um resíduo específico, em oposição à técnica mais amplamente usada de estudos de lote com lodo de digestor anaeróbico pré-tratado. Kim et al. (2021) compararam a utilização de duas condições de tratamento para o lodo de esgoto (bruto e tratado termicamente).

Reungsang et al. (2013) estudaram a produção de hidrogênio a partir de glicerol por *Enterobacter aerogenes* imobilizado em grânulos de manta de lodo anaeróbico de UASB. Através dos métodos de hibridização fluorescente *in situ*, e microscopia de varredura eletrônica, foi revelado que os produtores de hidrogênio predominantes são *E. aerogenes* e bactérias firmicutes incluindo *Clostridium*, *Bacillus* e *Dialister* sp.

Arellano-García et al. (2021) estudaram o perfil da comunidade microbiana na fermentação no escuro da vinhaça de tequila, e constataram que a predominância do microrganismo *Clostridium* em relação a *Sporolactobacillus* mudou depois de um carregamento de 160g DQO/L.dia, e também que o conteúdo original de vinhaça influenciou o perfil de ácidos carboxílicos e a população bacteriana. Santos et al.

(2014) no seu estudo sobre produção de hidrogênio a partir de vinhaça diluída utilizando um RALF a 55°C, conseguiram identificar bactérias como *Thermoanaerobacterium* sp. e *Clostridium* sp. presentes, e constataram que a disponibilidade de vinhaça como única fonte de carbono não produz modificações na estrutura do microrganismo termofílico. Xie et al. (2014) estudaram o desempenho da hidrogenese termofílica acoplada à metanogênese mesofílica, e constataram a presença de duas espécies de bactérias eficazes na hidrogenese, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* e *Clostridium thermosaccharolyticum*, sendo que o efluente reciclado foi capaz de fornecer substratos alcalinos para as bactérias produtoras de hidrogênio.

2.5.7 Pré-tratamento do Lodo

Por conter um alto teor de nitrogênio o lodo se torna complementar ao teor de carbono necessário na biodigestão anaeróbia, podendo ser utilizado como substrato. Kim et al. (2012) investigaram a interferência de duas condições para o lodo, ele na sua forma bruta e sendo tratado termicamente. Conforme demonstram seus resultados, a produção de biogás e hidrogênio em todas proporções estudadas de substrato e lodo bruto aumentou mais rapidamente e também obteve uma produção de hidrogênio mais longa e mais alta em comparação com os casos de lodo tratado termicamente, sendo também a atividade microbiana do lodo bruto muito maior que a do lodo tratado termicamente.

Wang et al. (2010) avaliaram o impacto de pré-tratamentos de lodo por ultravioleta e ultrassônico e adição de ácidos orgânicos na produção de hidrogênio por fermentação anaeróbia. O melhor resultado foi encontrado na utilização do lodo irradiado com ultravioleta por 15 minutos, retornando uma taxa máxima de produção de hidrogênio de 15,0 ml/ g.TS.h. Com base no método ideal de pré-tratamento de lodo, mais experimentos foram conduzidos com o substrato embebido no licor de amônia de 6% aumentando a produção de hidrogênio em 80,6% em comparação com o lodo não pré-tratado. O efeito da adição de vários ácidos orgânicos na produção também foi investigado sob a condição ideal de pré-tratamento de lodo, e uma produção de hidrogênio de 138,9 ml /gTS foi obtido quando o ácido láctico foi adicionado no sistema reacional.

Wang et al. (2010) estudaram a produção de hidrogênio usando bagaço de maçã como substrato em experimentos de batelada em lote para investigar os efeitos do pré-tratamento de lodo ativado com raios ultravioletas e ultrassônicos, e os resultados mostraram que uma produção cumulativa máxima de H₂ de 107,0 ml / g de substrato e uma taxa média de produção de H₂ de 15,0 ml/g substrato.h foram obtidas usando o lodo pré-tratado com ultravioleta por 15 minutos.

Zinatizadeh et al. (2017) pesquisaram os impactos dos pré-tratamentos térmicos e químicos na morfologia e resistência do lodo granular com objetivo de otimizar a produção de hidrogênio, bem como na manta de lodo do UASB tratando efluente da fábrica de óleo de palma, e concluíram que o pré-tratamento térmico mostrou efeitos devastadores nas características morfológicas e estruturais dos grânulos, porém no pré-tratamento químico os grânulos permaneceram estruturalmente estáveis e relativamente não danificados. Apesar disso, o pré-tratamento térmico aumentou a produção cumulativa de hidrogênio em 40% e 76%, respectivamente, sobre o pré-tratamento químico e o teste de controle sem tratamento.

2.5.8 Tempo de Retenção Hidráulica

O Tempo de Retenção Hidráulica (TDH) é o tempo em que a carga a ser tratada permanece no interior do reator, também conhecido com Tempo de Residência e tem grande importância para a definição de velocidade do processo. Pode ser obtido através da Equação 2.2:

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (2.2)$$

Onde:

V: Volume total do reator (m³);

Q: Vazão (m³/dia);

Uma operação com baixo tempo de retenção hidráulica (em torno de 2 dias), ajuda a eliminar bactérias metanogênicas de crescimento lento do reator de hidrogênio.

Muitos pesquisadores avaliaram a variação da produção de hidrogênio em diferentes tempos de retenção hidráulica, como Kongjan et al. (2014) os quais pesquisaram esse fator em dois reatores UASB em série, utilizando soro de látex desnatado como substrato para produzir hidrogênio no primeiro e metano no segundo reator. O primeiro reator para produção de hidrogênio foi operado alimentando 38 g-VS / L-SLS em tempos de 60, 48, 36 e 24 horas, e foi obtido um rendimento ótimo de produção de hidrogênio de $2,25 \pm 0,09 \text{ LH}_2/\text{L-SLS}$ no tempo de 36 horas.

Antonopoulou et al. (2008) exploraram a digestão anaeróbia da biomassa de sorgo doce como fonte de hidrogênio e metano em diferentes tempos de retenção hidráulica, nos valores de 24, 12, 8, 6 e 4 horas. Os resultados mostraram que a maior taxa de produção de hidrogênio ($2550 \text{ ml H}_2/\text{d}$) foi obtida no tempo de 6 horas, enquanto o maior rendimento de hidrogênio produzido por kg de biomassa de sorgo foi obtido no tempo de 12 horas ($10,4 \text{ L H}_2/\text{kg de sorgo doce}$).

Santos et al. (2014) estudaram a produção contínua de hidrogênio termofílico e análise a partir da digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar diluída em um reator anaeróbio termofílico de leite fluidizado, e testaram tempos de retenção hidráulica 8, 6, 4, 2 e 1 horas, obtendo um rendimento de H_2 de $5,73 \text{ mmol g/DQO}$ adicionado no tempo ótimo de 4 horas, com taxa de carregamento orgânico de $52,7 \text{ kg DQO/m}^3.\text{d}$.

Tena et al. (2021) estudaram o efeito do tempo de retenção hidráulica na produção de hidrogênio a partir de lodo de esgoto e vinhaça de vinho em um CSTR acidogênico termofílico, e variaram o tempo de retenção hidráulica a nove valores diferentes, 5 a 0,25 dias. Os estudos concluíram que a diminuição do tempo de retenção hidráulica foi inversamente correlacionada a produção de hidrogênio e ao tamanho da população microbiana. O tempo de retenção hidráulica ideal encontrado foi de 0,5 dia trazendo uma atividade microbiana máxima e produção de $15,28.10^{-10} \text{ L H}_2/\text{células}$.

É relatado na literatura que a fermentação no escuro necessita de tempos de retenção hidráulica curtos para inibir os consumidores de hidrogênio, como os metanógenos (Tena et al., 2021). Alguns estudos avaliaram a influência do tempo de retenção hidráulica na produção de hidrogênio exclusivamente.

Tena et al. (2021) testaram nove TDH com valores de 5,0 a 0,25 dias para a produção de hidrogênio a partir de lodo de esgoto e vinhaça de vinho, e obtiveram uma produção máxima de hidrogênio e a produção específica de hidrogênio de 0,90

L H₂ / L.reator.d e 35,19 mL H₂ / g de VS ambas para um TDH de 0,5 dias. Foi constatado que uma redução no tempo de retenção hidráulica ocasionou um aumento tanto na produção de hidrogênio, quando na população microbiana, mas passado o tempo ótimo diminuir ainda mais ocasiona lavagem dos organismos do processo. Akhbari et al. (2021) estudaram a produção de biohidrogênio a partir de efluente de fábrica de óleo de palma, no qual a concentração de substrato foi aumentada gradativamente enquanto o TDH era diminuído. Os resultados ótimos foram obtidos em um TDH de 8 h com produção de hidrogênio de 0,8 L H₂ / g DQO consumida.

Santos et al. (2014) analisaram a produção contínua de hidrogênio termofílico a partir da digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar diluída, e aplicaram uma redução no tempo de retenção hidráulica nos valores de 8, 6, 4, 2 e 1 h, e obtiveram um rendimento máximo de 5,73 mmol H₂/g DQO adicionada para o tempo de 4h. Foi observada uma redução no rendimento de hidrogênio com a utilização de TDH mais baixos, de 2 e 1 h, e o rendimento associado a um TDH de 4 h de 5,73 mmol H₂ / g COD adicionado diminuiu com um TDH de 1 h, com 1,97 mmol H₂ / g COD adicionado. Kongjan et al. (2014) estudaram a digestão anaeróbia de soro de látex desnatado para produção de hidrogênio e metano, com uma variação no TDH de 60, 48, 36 e 24 h, obtendo um rendimento ótimo de produção de hidrogênio de 2,25 ± 0,09 L H₂/ L-SLS em um TDH de 36 h. Observou-se uma tendência de aumento na produção de hidrogênio conforme se diminuía o TDH, porém ao diminuir o TDH para 24 h obteve-se uma redução no rendimento para 41,4 ± 1,9 mL H₂/ g-VS. Mohan et al. (2011) estudou a substituição de microrganismos durante a operação de forma a otimizar a produção de hidrogênio, e utilizou diferentes TDH para isso, de 3, 5 10 e 15 dias, juntamente com a variação na taxa de carregamento orgânico. Independentemente do tempo de retenção, o sistema mostrou uma melhora acentuada na produção de H₂ com aumento subsequente no carregamento do substrato e no tempo de retenção, sendo o TDH ideal encontrado o de 10 dias com produção volumétrica de hidrogênio de 0,32 mol / m³.dia.

Em geral, tempos de retenção hidráulica mais curtos favorecem o aumento na produção de hidrogênio, porém mudanças na taxa de carregamento orgânico em conjunto podem otimizar essa produção. Além disso, ao atingir um limite mínimo de tempo de retenção hidráulica, a produção de hidrogênio começa a cair, indicando que o reator enfrenta sobrecarga orgânica (Kongjan et al., 2014).

2.5.9 Taxa de Carregamento Orgânico

A taxa de carregamento orgânico (TCO), também conhecida como Carga Orgânica Volumétrica (COV), consiste na massa de matéria orgânica aplicada periodicamente no reator representada por kgDQO/m³.dia, e pode ser obtida pela equação 2.3:

$$TCO = \frac{Q \times S}{V} \quad (2.3)$$

Onde:

Q: Vazão (m³/dia);

S: Concentração de substrato afluente (kgDQO/m³);

V: Volume total do reator (m³);

Pesquisas mostram que a relação entre TCO e a produção de hidrogênio não está estabelecida claramente ainda. Em alguns estudos, um aumento no TCO resultou em uma diminuição na produção de hidrogênio enquanto em outros casos resultou em um aumento no conteúdo de hidrogênio (Ginkel et al., 2005).

Em relação aos estudos que analisaram a variação da taxa de carregamento orgânico, Arellano-García et al. (2021) estudaram a produção de hidrogênio através da fermentação no escuro da vinhaça de tequila utilizando TCO que variaram de 40 a 160 gDQO/ L.d, e conseguiram obter uma produção de hidrogênio estável de 1,1 LH₂ / Ld a um TCO de 80 gDQO / Ld. Além disso, relataram que uma taxa de carregamento orgânico acima de 100 g DQO / L.dia geralmente inibe a produção de hidrogênio na fermentação no escuro devido ao acúmulo de carboxilatos curtos, induzindo um baixo pH dentro das células, onde também altas pressões parciais de H₂ podem intensificar essa inibição.

Cremones et al fizeram essa avaliação em base úmida, com faixas de TCO de 8, 10, 12 e 14 g/L, e a análise dos resultados mostrou que com a concentração de 10 g/L os melhores resultados foram obtidos, chegando a 19,9 mL de hidrogênio/ gVS. Intanoo et al. (2016) utilizaram os valores de 10, 20, 25 e 30 kg / m³d de TCO para

otimizar produção de hidrogênio e metano a partir de água residual de mandioca, e obteve uma taxa de produção específica de H₂ máxima de 0,39 L H₂ / Ld e um rendimento máximo de 39,83 L H₂/kg DQO removido foram encontrados com o TCO de 25 kg / m³d. Rosa et al. (2016) variaram a TCO de 4 a 30 kg DQO/m³d, e um rendimento máximo de hidrogênio de 2,0 mmol /g DQO e uma taxa máxima de produção de hidrogênio de 2,1 L H₂/d.L foram alcançados com TCOs de 10 kg DQO/m³d e 14 kg DQO/m³d, respectivamente. Intanoo et al. (2014) utilizaram 30, 60, 90, 120 e 150 kg/m³d de TCO para otimizarem a produção separada de hidrogênio e metano a partir de águas residuais de mandioca, e a taxa de carregamento ideal encontrada foi de 90 kg / m³d a qual forneceu um rendimento máximo de 54,22 ml H₂/g DQO aplicado e uma taxa de produção de hidrogênio específico de 197,17 ml / gMLVSS d.

Da mesma forma, Tawfik e El-Qelish (2012) estudaram a produção de hidrogênio a partir da co-digestão de resíduos alimentares municipais e águas residuais de cozinha, e variaram a taxa de carregamento orgânico em 29, 36 e 47 g DQO total / L d, chegando a uma produção máxima de hidrogênio de 245 ± 131 ml H₂ / g DQO para uma taxa de carregamento orgânico de 36 g DQOtotal/L.d.

Esses resultados mostram, como por exemplo os autores Intanoo et al. (2014), Arellano-García et al. (2021) e Cremonez et al. (2020) relataram, que há uma tendência geral de aumento de produção de hidrogênio com o aumento da TCO, porém o substrato tem um limite de saturação em relação a TCO, que quando atingido faz com que a produção de hidrogênio até então crescente comece a cair.

A taxa de carregamento orgânico está relacionada a dois parâmetros independentes: o tempo de retenção hidráulica e concentração de DQO.

2.5.10 Água com nanobolhas

Recentemente, a água com nanobolhas (NBW), a qual consiste em água contendo bolhas com diâmetro variado, tem sido aplicada para remediação ambiental devido às suas características únicas e poluição zero (Azevedo et al., 2019; Hu e Xia, 2018; Li et al., 2014). Os substratos orgânicos com alto teor de sólidos geralmente requerem um grande volume de adição de água ou água residual antes de passarem pela digestão anaeróbia, devido às limitações de transferência de massa (Bollon et

al., 2013). A utilização de água com nanobolhas pode melhorar esse processo devido à sua alta capacidade de transferência de massa. Hou et al (2021) investigaram a adição de água com nanobolhas de ar com o objetivo de mitigar a inibição da alta salinidade na de hidrogênio e metano por meio da codigestão anaeróbia de resíduos alimentares. O estudo concluiu que nos reatores com adição de nanobolhas nos quais foi adicionado de 0 a 30 g NaCl / L, o rendimento de hidrogênio foi aumentado de 21 a 65% com o rendimento de metano subsequente elevado entre 14 e 43% em comparação ao grupo de controle tratado com água deionizada. Este estudo foi pioneiro em confirmar que quando a digestão anaeróbia de resíduos alimentares de dois estágios é exposta ao mesmo nível de salinidade, a adição de nanobolhas de ar poderia aumentar as atividades enzimáticas no estágio individual, aumentando consequentemente o rendimento de hidrogênio e metano.

Hou et al (2021) pesquisaram o efeito comparativo de suplementação com N₂ e com água com nanobolhas de ar na digestão anaeróbia de resíduos alimentares para a produção separada de hidrogênio e metano. No primeiro estágio produtor de hidrogênio, o maior rendimento cumulativo de H₂ foi de 27,31 ± 1,21 mL / g-VS adicionado foi obtido do substrato resíduos alimentares suplementado com água com nanobolhas de ar, aumentando em 38% em relação ao controle (resíduos alimentares com água deionizada).

Hou et al. (2021) avaliaram a adição de água com nanobolhas de ar para mitigar a inibição de alta salinidade na coprodução de hidrogênio e metano a partir da digestão anaeróbia de dois estágios de resíduos alimentares. Foi constatado que nos reatores com essa suplementação o rendimento de hidrogênio foi aumentado em 21-65% em relação ao grupo de controle. Além disso constatou-se que a água com nanobolhas de ar reduz a inibição de sal, encurta a fase de latência do estágio produtor de hidrogênio e aumenta as atividades enzimáticas mesmo em alta salinidade.

2.5.11 Comparação de um com dois estágios

Ramos et al. (2020) compararam a produção termofílica de hidrogênio e metano a partir da vinhaça de cana-de-açúcar em reatores anaeróbicos de leito fluidizado de um e de dois estágios. A conclusão do estudo mostrou uma eficiência maior do RALF de dois estágios, além de trazer um rendimento de energia 52,8%

maior, e uma melhor estabilidade para o sistema. O máximo rendimento de hidrogênio encontrado foi de 0,34 mmol H₂ /g DQO.

2.5.12 Concentração de Substratos

Shi et al. (2010), no seu estudo sobre otimização das condições para a produção de hidrogênio a partir de águas residuais de cervejaria por lodo anaeróbio usando a avaliação de três fatores como mencionado, também avaliou o impacto da concentração de substratos na produção de hidrogênio, e constatou que a concentração do substrato pode aumentar notavelmente a capacidade de produção de H₂, porém em níveis muito elevados podem diminuí-la.

2.5.13 Efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano em bactérias termofílicas

Dong et al. (2010) investigaram os efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano em bactérias termofílicas produtoras de hidrogênio e os mecanismos de interação, e concluíram que o amino poliestireno utilizado sozinho reduz a produção de H₂ em 53,9%, enquanto combinado com sulfonato de perfluorooctano diminuição de 31,6%. Os principais mecanismos dos dois são aumentar a permeabilidade celular e induzir o estresse oxidativo, porém ficou constatado que a adição de sulfonato de perfluorooctano é capaz de avaliar o efeito tóxico aos microrganismos do amino poliestireno.

2.5.14 Extração de ácidos graxos voláteis

Dessi et al. (2020) estudaram a produção de hidrogênio fermentativo a partir do soro de queijo com produção e extração simultâneas de ácidos graxos voláteis, sendo que o ácido butírico era extraído seletivamente do caldo usando uma membrana de silicone, e açúcares, ácido láctico e nutrientes eram retidos pela membrana. Os pesquisadores inferiram que o pH 4,5 aumenta a migração de ácidos graxos voláteis pela membrana, mas diminui o rendimento de H₂. Foi obtido um rendimento de hidrogênio de até 2 L/L.d e extração de ácido butírico até 2,5 g/L.

2.5.15 Recirculação de efluente

Xi et al. (2014) estudaram a influência da recirculação de efluente na produção de hidrogênio termofílico a partir de águas residuais de amido usando fermentação em lote. A recirculação do efluente metanogênico enriqueceu os metabólitos e microrganismos no reator produtor de hidrogênio, pois forneceu a maior parte do álcali necessário para essa produção. A recirculação do efluente não afetou significativamente o reator de metano.

2.5.16 Adição de resíduo de fermentação

Intanoo et al. (2014) investigaram o impacto da adição de resíduo de fermentação na produção de hidrogênio a partir de águas residuais de álcool em um reator de lote de sequenciamento anaeróbio sob operação termofílica. Foi constatado que adicionar resíduo de fermentação sob operação termofílica aumentou a produção de H₂, e que os termófilos degradam a celulose e a hemicelulose, mas não a lignina.

2.5.17 Pressão do headspace e da mistura do reator

Clark et al. (2012) estudaram o efeito da baixa pressão e da mistura na produção de hidrogênio biológico por meio da fermentação anaeróbia. O controle da metanogênese foi alcançado com baixo pH causado por alta carga de leite em pó desnatado, e em relação ao controle da pressão do headspace foi constatado que sua manutenção abaixo dos níveis atmosféricos não teve um efeito significativo na produção de gás. Segundo os autores, estes resultados demonstram a rápida produção de hidrogênio e inibição da metanogênese via carregamento e mistura de substrato, e fornecem um método prático para aumentar a recuperação de energia em digestores anaeróbios de dois estágios.

2.5.18 Razão carboidrato / proteína

Chen et al. (2012) estudaram o aumento da produção de hidrogênio durante a fermentação anaeróbia de lodo ativado por resíduo de adição de substrato de carboidrato e controle de pH, e concluíram que a produção máxima de hidrogênio

(100,6 mL / gDQO) foi alcançada em uma proporção 5:1 em relação a carboidrato e proteína, e que isso se deu em função do efeito sinérgico da adição de carboidratos na produção de hidrogênio, o aumento da degradação da proteína do lodo e atividades de protease e amilase, chegando a via de fermentação adequada para a produção de hidrogênio.

2.6 Tipos de reatores os quais podem ser utilizados no processo

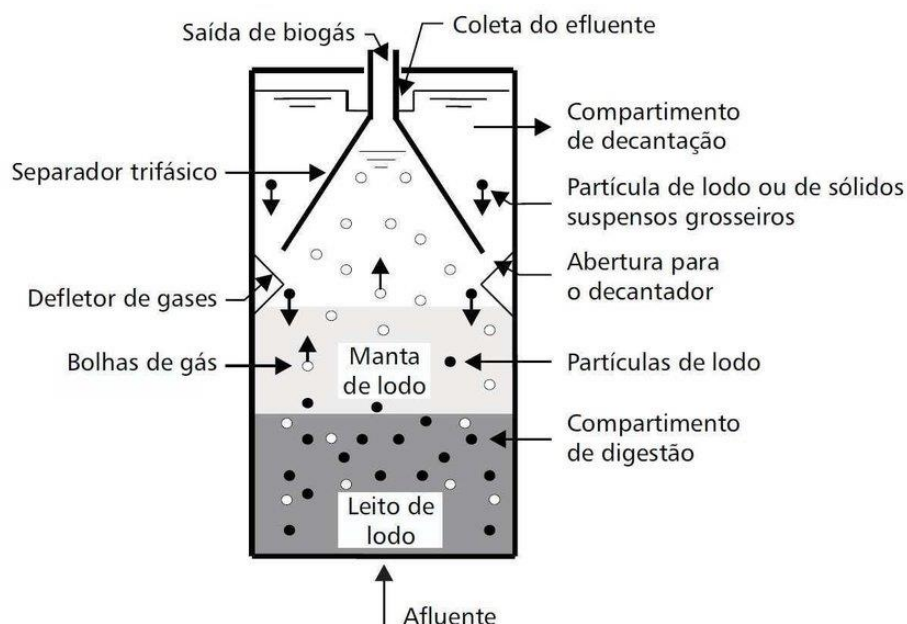
O tipo do reator é um quesito o qual muda dependendo do objetivo do estudo, e muitos tipos de reatores podem ser utilizados para a produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia, devido a ser um processo simples o qual se limita apenas aos princípios da própria biodigestão anaeróbia. A Tabela 2.2 mostra os diferentes reatores utilizados nos estudos, entre eles o reator manta de lodo anaeróbico de fluxo ascendente (UASB), reator contínuo de tanque agitado (CSTR), reator anaeróbio mesofílico defletor, e batelada nas modalidades simples, em lote, e em lote seco. Um reator bastante presente é o RALF, reator anaeróbio de leiteo fluidizado. Além desses estão presentes algumas combinações como um reator híbrido combinando UASB e filme fixo, um combinando UASB e reator de leiteo lixiviado, e um trazendo uma combinação de CSTR com reator tubular.

2.6.1 UASB

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (Upflow Anaerobic Sludge Reactor - UASB) foi desenvolvido e aplicado inicialmente na Holanda por Gatzke Lettinga. Este reator é amplamente utilizado no tratamento de efluentes domésticos e industriais por processar grandes quantidades de material.

O processo consiste em um fluxo ascendente da matéria orgânica a qual passa por um leiteo de lodo para ser biodigerida. A matéria orgânica entra pela parte inferior do reator e, passa pelo processo de biodigestão, e deixa o reator através de um decantador interno na parte superior. Para que o lodo não saia do reator, está presente um dispositivo de separação gás-sólido. O biogás gerado captado na parte superior. O esquema de um reator UASB está representado na Figura 2.8.

Figura 2.8 – Desenho esquemático de UASB



Fonte: Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/344601294_METODOLOGIA_DE_ANALISE_DE_RISCO_DE_INVESTIMENTO_EM_SISTEMAS_DE_GERACAO_DISTRIBUIDA_A_PARTIR_DE_BIOGAS_PRODUZIDO_EM_ESTACOES_DE_TRATAMENTO_ANAEROBIO_DE_ESGOTO_DO_MESTICO Acesso em 19 out. 2021

O reator UASB é frequentemente utilizado na pesquisa sobre produção de hidrogênio por via anaeróbia, como Reungsang et al. (2013), que estudaram a produção de hidrogênio a partir de glicerol por *Enterobacter aerogenes* imobilizado em grânulos de UASB tratados termicamente, Kongjan et al. (2014) que pesquisaram sobre digestão anaeróbia de soro de látex desnatado usando um processo de dois estágios com UASB em série, para produção de hidrogênio no primeiro e metano no segundo. Intanoo et al. (2014) também investigaram as produções separadas de hidrogênio e metano em dois UASB em série, utilizando como substrato águas residuais de mandioca, assim como Lay et al. (2019), cujo substrato eram águas residuais de baixa intensidade proveniente de bebidas.

Xie et al. (2014) fizeram seus estudos sobre a produção de hidrogênio termofílico a partir de águas residuais de amido utilizando a reciclagem de efluente metanogênico do UASB. Intanoo et al. (2016) avaliaram o impacto de diferentes taxas de carregamento de orgânico sobre a produção de hidrogênio e metano a partir de águas residuais de mandioca usando UASB, enquanto Zinatizadeh investigaram a

influência do pré-tratamento térmico e químico na estabilidade estrutural do lodo granular para produção de hidrogênio de alta taxa em um UASB.

Dessi et al. (2020) pesquisaram a geração de hidrogênio a partir do soro de queijo com produção e extração simultâneas de ácidos graxos voláteis em reatores UASB. Alzate-Gaviria et al. (2007) fizeram uma comparação de dois sistemas anaeróbios, um composto por UASB com um composto por um reator de leito fixo, e Akhbari et al. (2021) utilizou um reator híbrido de UASB com reator de filme fixo de para conduzir a produção de hidrogênio a partir de efluente de fábrica de óleo de palma.

2.6.2 Batelada

O reator batelada não conta com entrada nem saída de reagentes ou produtos durante o processamento da reação. Todos os reagentes são introduzidos no reator de uma só vez. Em seguida são misturados e reagem entre si. Após algum tempo, os produtos obtidos também são descarregados de uma só vez. Nesse tipo de reator, as variáveis como temperatura e concentração não variam com a posição dentro do reator, mas variam com o tempo.

Esse tipo de reator é empregado em muitas pesquisas de otimização de produção de hidrogênio por meio de digestão anaeróbia, como nos estudos de Nasr et al. (2011), Chen et al. (2012), Shi et al. (2009), Arreola-Vargas et al. (2015), e Clark et al. (2011).

O reator batelada é comumente utilizado em lote sequencial, como no estudo de Wang et al. (2010) os quais realizaram uma série de experimentos em lote para investigar os efeitos do lodo ativado pré-tratado na produção fermentativa anaeróbia de hidrogênio, Sreela-ou et al. (2011) no seu estudo sobre a co-digestão de resíduos alimentares e lodos para produção de hidrogênio por culturas anaeróbicas mistas, Kim et al. (2011) investigando o pré tratamento do lodo na produção de hidrogênio por co-digestão anaeróbia de palha de arroz e lodo de esgoto, Hernández et al. (2014) avaliando as diferentes proporções de co-substratos mucilagem do café com esterco de suíno, e Zhou et al. (2013) que estudaram a otimização da produção de hidrogênio para co-digestão anaeróbia de resíduos de alimentos e biossólidos de águas residuais.

Elsamadony e Tawfik (2015) investigaram a batelada em lote seco empregada na co-digestão anaeróbica de fração orgânica de resíduos municipais com lodo de fábrica de papelão e resíduos sólidos de gelatina visando otimizar a produção de hidrogênio.

2.6.3 CSTR

O reator contínuo de tanque agitado dentre os reatores produtores de biohidrogênio, é o que tem a cobertura mais extensa para aplicações, e isso se dá devido a possuir uma alta taxa de transferência de massa entre gás e líquido, menos inibição no metabolismo microbiano e menos subprodutos. No entanto, devido à limitação de sua construção, os microrganismos dentro do CSTR estão em modo de crescimento de suspensão. (Yang et al., 2021).

O reator CSTR foi empregado em estudos para a produção de hidrogênio por biodigestão anaeróbia, como o estudo de Antonopoulou et al. (2007) o qual enfoca na exploração da biomassa de sorgo doce como fonte de hidrogênio e metano, assim como Aceves-Lara et al. (2010) cuja pesquisa aborda o problema de otimização da produção de hidrogênio em digestores anaeróbios contínuos utilizando uma estratégia de controle preditivo. Wang e Yin et al. (2018) também utilizaram um reator desse tipo em sua pesquisa comparando diferentes substratos para a produção de hidrogênio fermentativo. Arellano-García et al. (2021) estudaram a produção contínua de hidrogênio e perfil da comunidade microbiana na fermentação no escuro da vinhaça de tequila utilizando um CSTR.

2.6.4 RALF

Os reatores anaeróbios de leito fluidizado (RALF) são sistemas de tratamento que utilizam o princípio da fluidização para promover adequada transferência de massa entre o líquido a ser tratado e os microrganismos que atuarão na degradação da matéria orgânica. Neste processo, a biomassa cresce aderida a suportes de pequeno tamanho e formam biofilmes delgados. Com a retenção dos microrganismos dentro do reator, consegue-se desmembrar o tempo de detenção hidráulica do tempo de retenção celular. (SHIDA, 2008)

Ramos et al. (2020) estudaram a viabilidade da produção de hidrogênio e metano em dois estágios de digestão anaeróbica termofílica da vinhaça de cana-de-açúcar, e para isso utilizaram dois estágios com um reator anaeróbio acidogênico de leito fluidizado com um reator anaeróbio metanogênico, e realizaram uma comparação com um único estágio composto por um terceiro reator anaeróbio de leito fluidizado metanogênico.

Santos et al. (2014) pesquisaram a produção contínua de hidrogênio termofílico e análise da comunidade microbiana a partir da digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar diluída utilizando um reator anaeróbio termofílico de leito fluidizado a 55 °C.

2.6.5 APBR

Os reatores anaeróbicos de leito fixo (anaerobic packed bed reactor) são utilizados na produção de hidrogênio, e possuem uma configuração simples, sendo capazes de aumentar o tempo de retenção celular resultando em maior concentração de biomassa no reator. (Ferraz Júnior, Etchebehere et al., 2015). Além disso, esses reatores não necessitam de agitação mecânica e aparelhos de recirculação, e essas características resultam em menores custos de construção e operação (Leite, Fernandes et al, 2008).

Barca et al. (2015) realizaram uma pesquisa revisional a qual analisa um número relevante de estudos recentes que com foco na produção do hidrogênio por meio da fermentação no escuro com substrato de águas residuais utilizando dois tipos diferentes de reatores anaeróbicos de biofilme: reator anaeróbio de leito fixo (APBR) e reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF).

2.6.6 Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial (RABS)

O reator anaeróbio operado em batelada sequencial (anaerobic sequencing batch reactor) utiliza ciclos de enchimento e esvaziamento de efluente, possuindo quatro etapas de enchimento, aeração, sedimentação e decantação, e no qual os processos de oxidação biológica e decantação secundária ocorrem no mesmo reator em intervalos sequenciais, contínuos e bem definidos. (Singh et al., 2011)

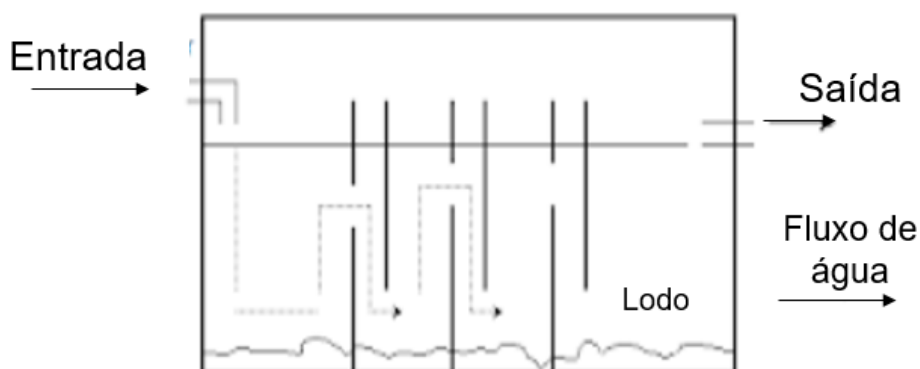
Mohan et al. (2011) estudaram as condições do reator sequencial em batelada para desenvolver e analisar a comunidade microbiana produtora de hidrogênio, realizando a substituição de uma bactéria oxidante de hidrogênio durante o processo, enquanto Intanoo et al. (2014) investigaram o aumento da produção de hidrogênio a partir de águas residuais de álcool pela adição de resíduo de fermentação utilizando um reator de batelada de sequenciamento anaeróbio em operação termofílica.

2.6.7 ABR

O reator anaeróbio compartimentado com chicanas (ABR), ou reator anaeróbio defletor, foi sugerido por vários pesquisadores como uma tecnologia promissora para a produção de H_2 a partir de resíduos e capaz de manter a biomassa no reator por um longo período de tempo (longo tempo de retenção de sólidos) (Tawfik et al., 2011a).

Além disso, o projeto do reator é simples, sem partes móveis ou mistura mecânica, tornando-o relativamente barato de construir (Tawfik et al. 2011b).

Figura 2.9: Diagrama esquemático do reator anaeróbio compartimentado



Fonte: WASTEWATER SYSTEM. Disponível em:

<http://www.wastewatersystem.net/2009/10/anaerobic-baffled-reactors-abr.html>

Acesso em 21 out. 2021

Esse reator foi utilizado nos estudos de Tawfik e El-Qelish (2012) para avaliar o impacto da taxa de carregamento orgânico no desempenho do reator para a produção de hidrogênio a partir da co-digestão de resíduos alimentares municipais

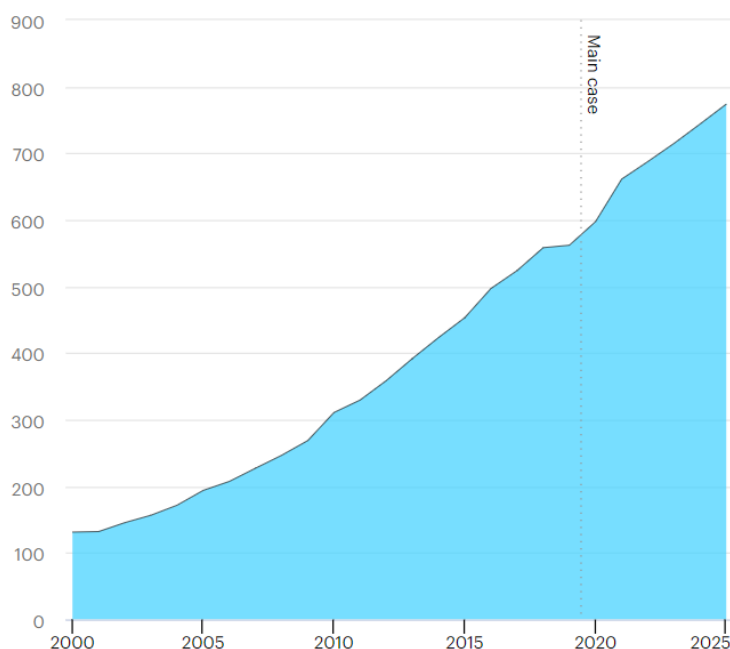
com águas residuais de cozinha, assim como na pesquisa de Hernández e Rodríguez (2013), os quais conduziram experimentos para avaliar a influência do pH, da carga orgânica e do tempo de retenção na produção de hidrogênio utilizando esterco suíno como substrato.

Hernández et al. (2014) empregaram esse tipo de reator na avaliação de três proporções diferentes dos co-substratos esterco suíno e mucilagem de café, assim como um aumento na carga orgânica objetivando melhorar a produção de hidrogênio.

2.7 Futuro e Atuais Perspectivas

Segundo a Agência Internacional de Energia (AIE, 2021), uma das maiores pautas entre os governos atualmente é o objetivo de emissões líquidas zero, e atualmente mais de uma dúzia de países e a União Europeia formalizaram essas ambições em lei, assim como muitas empresas têm estabelecido metas de carbono neutro. O alcance de emissões líquidas zero depende do desenvolvimento e implantação em larga escala de tecnologias de energia limpa.

Um dos caminhos para realizar essa meta passa pela produção de eletricidade por meio de bioenergia. Na Figura 2.10 temos as perspectivas de produção de energia utilizando biomassa, segundo o relatório de energias renováveis da AIE.

Figura 2.10: Perspectiva de geração de bioenergia utilizando biomassa até 2025

Fonte⁶: IEA, Bioenergy generation, IEA, Paris. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts>

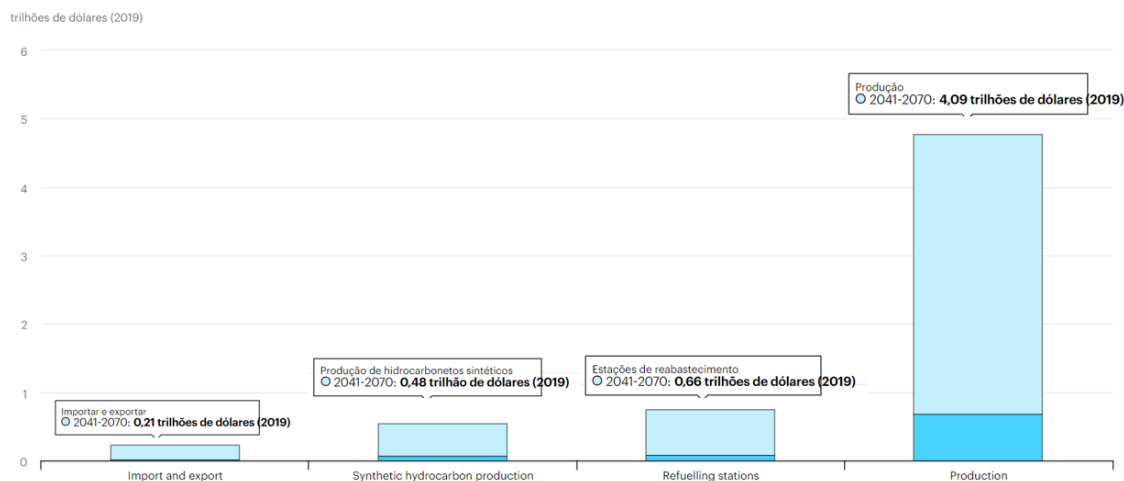
Acesso em: 12 out. 2021

O hidrogênio é conhecido há muito tempo como um possível combustível com baixo teor de carbono que pode ser produzido a partir da biomassa, e recentemente segundo a AIE, tem ganhado força um ímpeto político para o uso do hidrogênio, o que influenciaria positivamente o objetivo de emissões de carbono neutras. É essencial que se invista no desenvolvimento de rotas de produção de hidrogênio com baixo teor de carbono, a fim de auxiliar nas transições de energia limpa. A maior parte do hidrogênio é produzida atualmente por meio da reforma do gás natural com uso intensivo de emissões e da gaseificação do carvão, segundo a AIE relata em seu relatório sobre o hidrogênio.

Na Figura 2.11 temos a projeção de investimento global em infraestrutura para hidrogênio e combustíveis relacionados, a qual mostra uma grande intenção de investimento na produção do hidrogênio até o ano de 2070.

⁶ O uso da imagem da Agência Internacional de Energia atende aos critérios de permissão de uso do material, contido no documento <https://iea.blob.core.windows.net/assets/3bf6ce57-3df6-4639-bf60-d73ee8f017c0/IEA-Terms-April-2020.pdf>

Figura 2.11: Investimento global cumulativo em infraestrutura de hidrogênio e combustíveis relacionados no Cenário de Desenvolvimento Sustentável, 2019-2070



Fonte⁷: IEA, Global investment in hydrogen production, IEA, Paris. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts>

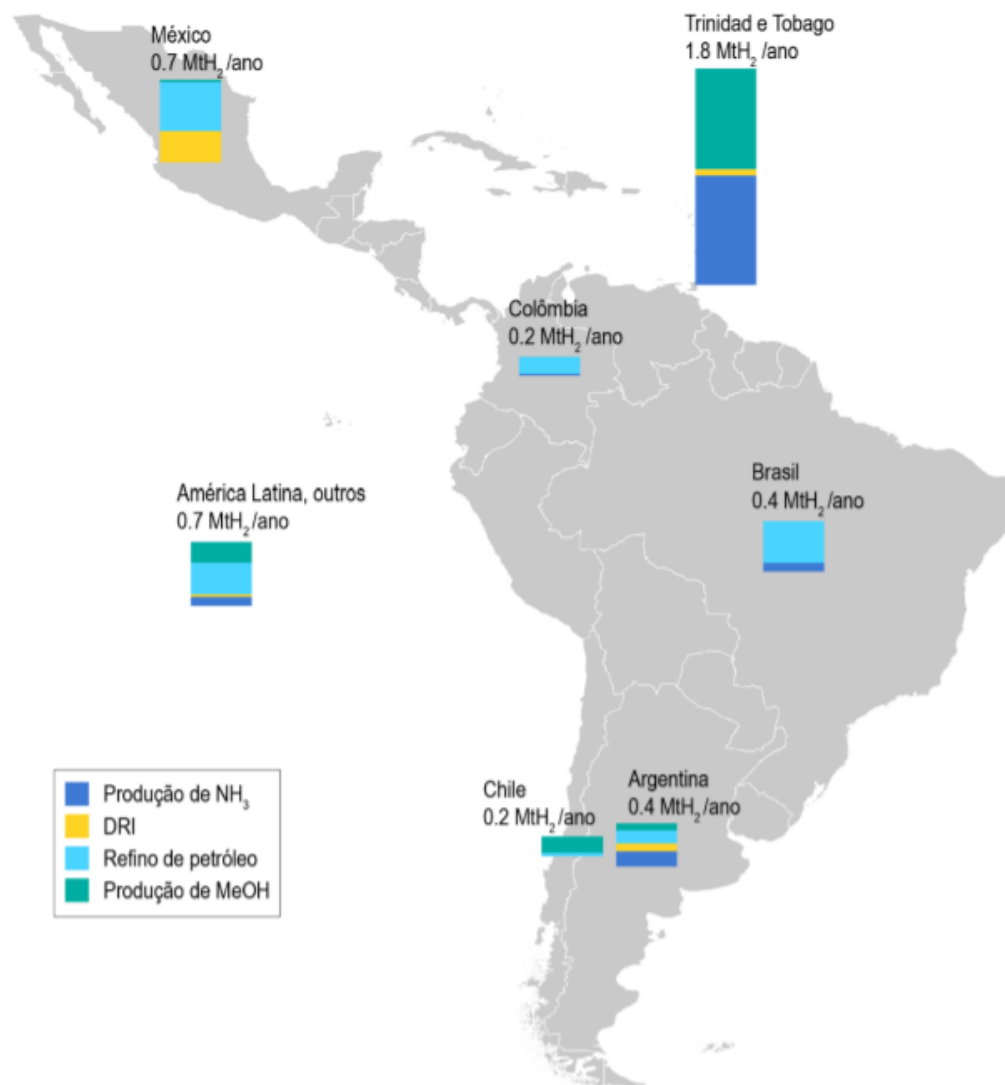
Acesso em: 12 out. 2021

A alta demanda por hidrogênio já é uma realidade na América Latina, sendo que os setores industriais e de refino de petróleo em 2019 necessitaram de aproximadamente 4 Mt de hidrogênio, com a finalidade de produzir amônia, metanol, aço e produtos refinados de petróleo (AIE, 2021).

Como é possível observar na Figura 2.12, em 2019 Trinidad e Tobago foi sozinho responsável por mais de 40% da demanda total na região, enquanto o Brasil apresentou uma demanda de 0,4 Mt de hidrogênio nesse ano (AIE, 2021, Disponível em <https://www.iea.org/reports/hydrogen-in-latin-america> Acesso em 20 out. 2021).

⁷ O uso da imagem da Agência Internacional de Energia atende aos critérios de permissão de uso do material, contido no documento <https://iea.blob.core.windows.net/assets/3bf6ce57-3df6-4639-bf60-d73ee8f017c0/IEA-Terms-April-2020.pdf>

Figura 2.12: Demanda de Hidrogênio - América Latina 2019



Fonte⁸: IEA (2021), Hydrogen in Latin America , IEA, Paris <https://www.iea.org/reports/hydrogen-in-latin-america> Acesso em 22 out. 2021

É possível constatar que o impulso para a produção do hidrogênio de baixo carbono está crescendo na América Latina, com muitos países atualmente desenvolvendo estratégias de longo prazo de produção de hidrogênio, segundo consta no relatório da AIE. Porém esse é um desafio na região pois segundo consta no relatório, a produção e o uso de hidrogênio com baixo teor de carbono dependem

⁸ O uso da imagem da Agência Internacional de Energia atende aos critérios de permissão de uso do material, contido no documento <https://iea.blob.core.windows.net/assets/3bf6ce57-3df6-4639-bf60-d73ee8f017c0/IEA-Terms-April-2020.pdf>

de muitas tecnologias que ainda não estão maduras, e para esse cenário se tornar realidade serão exigidos investimentos massivos em infraestrutura e um trabalho coordenado em várias frentes, unindo governos, indústria, agências de pesquisa e inovação, serviços financeiros, sindicatos e sociedade civil.

A orientação presente no relatório indica que durante a próxima década os países devem concentrar seus esforços em apoiar as estruturas de pesquisa e desenvolvimento, na implantação inicial de tecnologias de produção e consumo de hidrogênio com baixo teor de carbono, e na preparação do para que seja feita uma adoção em larga escala a longo prazo.

Um exemplo de empresa focada em produção de hidrogênio com baixo teor de carbono a partir de resíduos agroindustriais é a brasileira Ergostech, a qual é responsável pela única planta existente no mundo para a produção de bio-hidrogênio via processo fermentativo anaeróbico, a qual investe constantemente em pesquisa e desenvolvimento, visando melhorias de processo e produtividade.

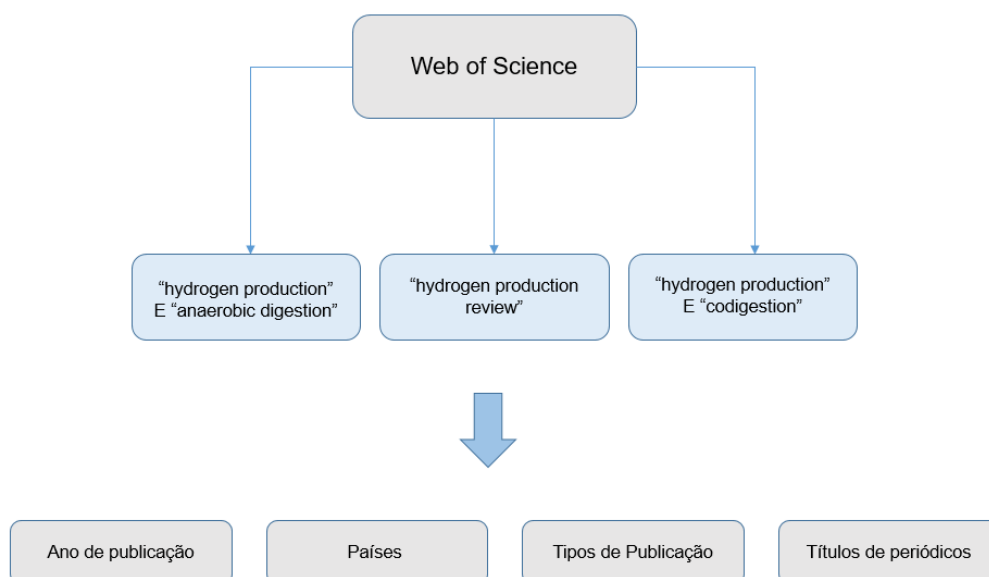
Há muitos desafios que devem ser superados ainda para que a produção em larga escala de hidrogênio seja possível, como alto custo operacional e baixa taxa de produção os quais devem ser minimizados, além da otimização dos parâmetros que influenciam a produção.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Com o objetivo de estudar a influência de diferentes características e condições empregadas na produção de hidrogênio por via anaeróbia, foi feito um levantamento de artigos científicos os quais abordam aspectos relacionado a esse tema. Utilizando a base de dados do Thomson Reuters ISI Web of Knowledge (Web of Science), as palavras-chaves utilizadas foram “hydrogen production” E “anaerobic digestion”, “hydrogen production review”, “hydrogen production” E “codigestion” (Figura 3.1).

Primeiramente foram avaliados os resultados gerais de pesquisa sobre publicações as quais tratam do tema na plataforma Web of Science, analisando ano de publicação, países de origem, tipos de publicação e títulos de periódico.

Como nos resultados das pesquisas foi encontrada uma grande quantidade de artigos, na casa dos milhares, foi feita uma seleção dos artigos os quais seriam analisados para a pesquisa com base na relevância disponibilizada pela própria plataforma. Sendo assim, a partir dessa pesquisa foi feita uma busca avançada restringindo a data de publicação dos artigos para os últimos dois anos (2021 e 2020), levando em consideração a relevância disponibilizada pela base de dado para que fosse possível ter o máximo de informações recentes sobre o tema pesquisado (Figura 3.2). Depois, ao afunilar os resultados usando como critério a relevância dada pela própria plataforma, as publicação são avaliadas principalmente em termos de fatores que influenciam os processos de bioconversão, como tipo de substrato, taxa de carregamento orgânico, tempo de retenção hidráulica, pH, temperatura, tipos de reatores, pré-tratamento do lodo, pré tratamento do substrato, utilização de um estágio em comparação com dois estágios, suplementação de água com nanobolhas, tipos de microrganismos, pressão do headspace e da mistura do reator, recirculação do efluente, e extração de ácidos graxos voláteis. Além disso também é feita uma análise de tipos de reatores utilizados, objetivo do estudo, e utilização da codigestão ou não.

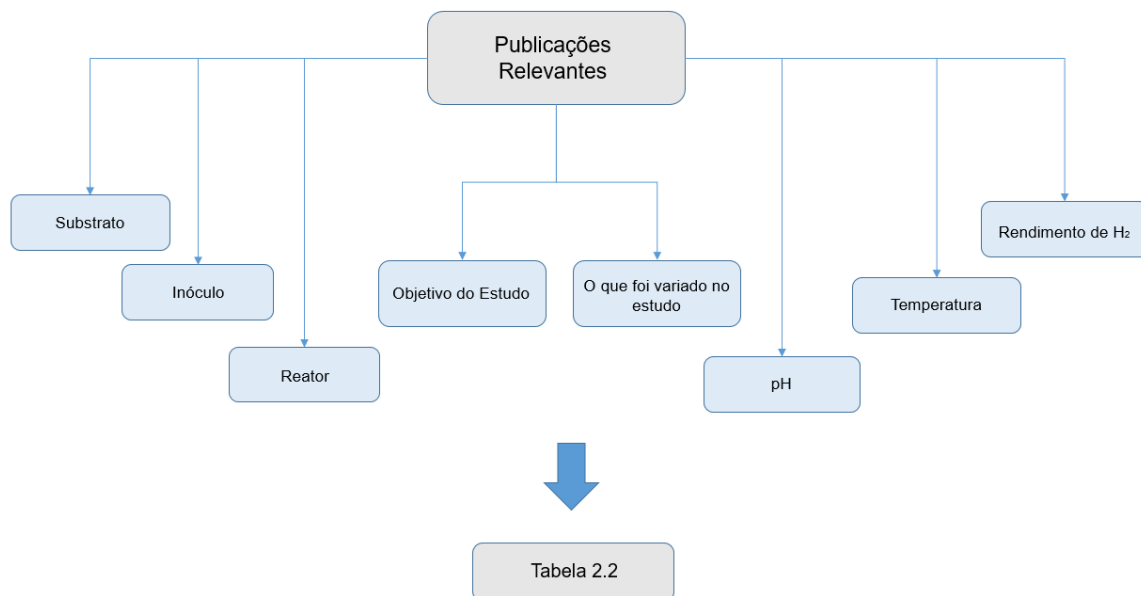
Figura 3.1 - Fluxograma do procedimento de pesquisa das publicações

Fonte: Acervo pessoal, 2021

Os 42 artigos selecionados foram dispostos em uma tabela contendo as informações de nome, autores, ano de publicação, substrato e lodo utilizado, tipo de reator, condições operacionais e rendimento de hidrogênio, gerando a Tabela 2.2, conforme indicado no fluxograma representado na Figura 3.2.

A revisão bibliográfica se iniciou com a pesquisa dos artigos focados na avaliação da influência das diferentes condições que se pretendia avaliar, seguindo para sua classificação mais detalhada, e pesquisa sobre a teoria em relação a produção de hidrogênio por via anaeróbia. Após, foram elaborados gráficos e tabelas os quais mediram em termos quantitativos e qualitativos o foco e resultados dos artigos obtidos na pesquisa primária, trazendo assim os resultados e conclusões finais em resposta aos objetivos propostos no trabalho.

Figura 3.2 – Fluxograma da classificação feita das publicações relevantes indicadas pela plataforma



Fonte: Acervo pessoal, 2021

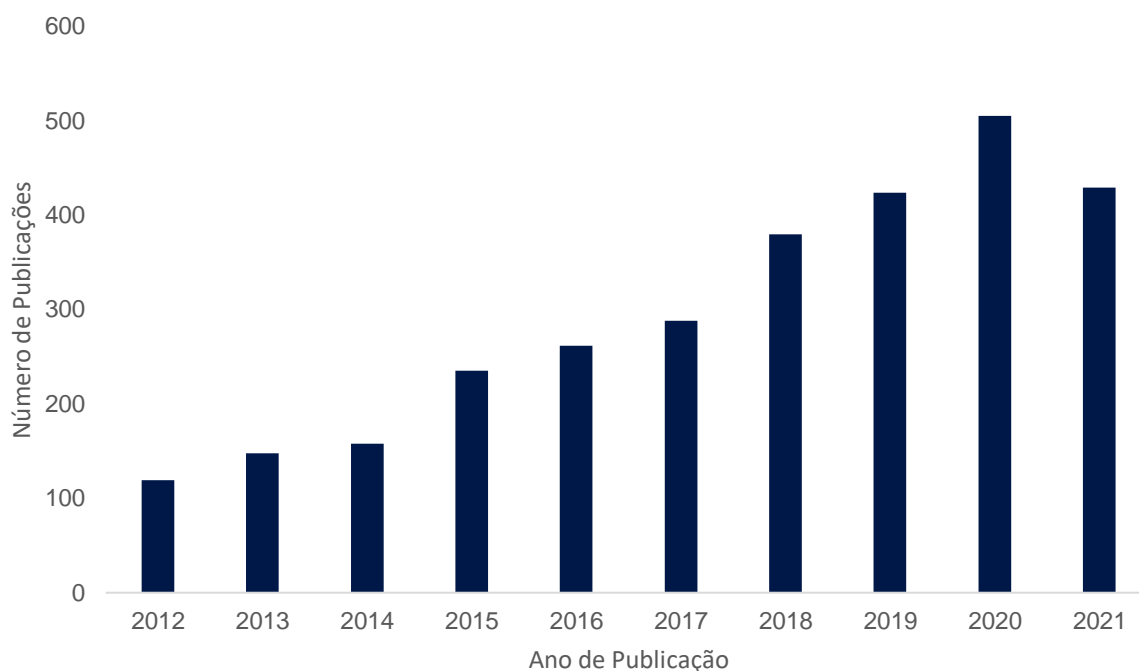
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análise das publicações pesquisadas

Inicialmente, em relação à pesquisa feita no portal Web of Science com as palavras-chave combinadas “hydrogen production” e “anaerobic digestion”, foram gerados gráficos de análise em relação aos resultados obtidos.

4.1.1 Ano

Foram encontrados um total de 3711 resultados para essa combinação de palavras-chave, e na Figura 4.1 consta o gráfico do número de publicações por ano a partir do ano de 2012, no qual as publicações entraram na casa das centenas. É possível observar uma tendência em geral crescente a partir do ano 2012, o qual conta com 119 publicações até o ano de 2020, com o valor de 505 publicações, o mais alto até o momento. O ano de 2021 já apresenta um valor mais alto que do ano de 2019, 429 contra 424 publicações, indicando uma tendência crescente para este ano, em função da pesquisa ter sido feita em outubro de 2021 tendo mais alguns meses para aumentar e ultrapassar os valores do ano de 2020.

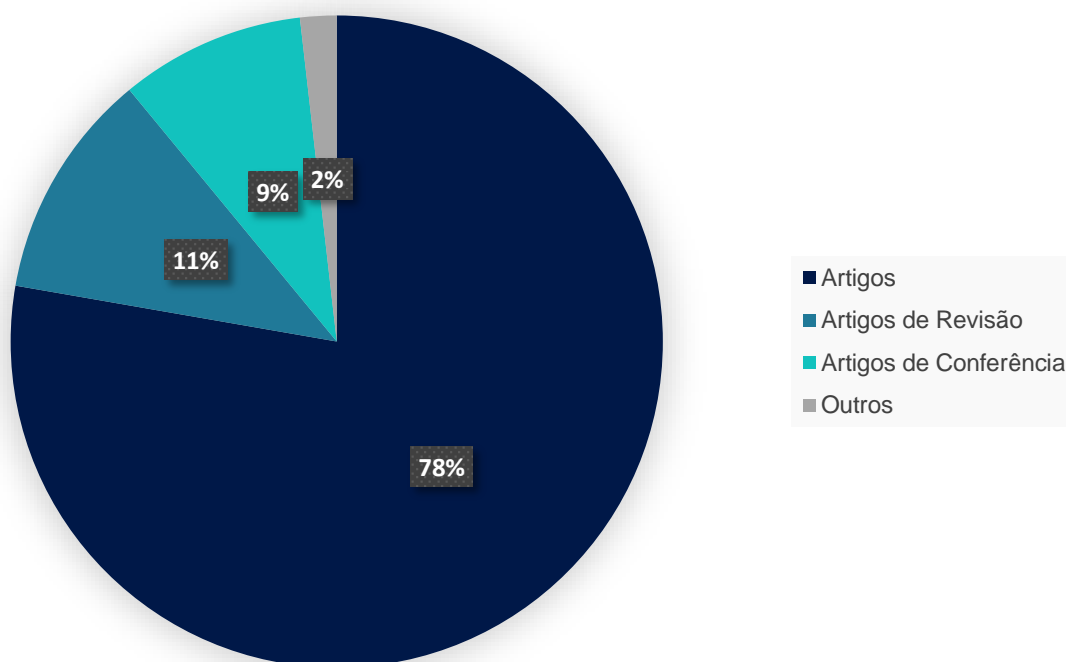
Figura 4.1 – Resultados da pesquisa em relação a publicações por ano

Fonte: acervo pessoal, 2021

4.1.2 Tipo de publicação

A base de dados faz uma separação em relação ao tipo de publicação, e na Figura 4.2 é possível encontrar o gráfico que representa a distribuição da quantidade de publicações dentro dos diferentes tipos (artigos, artigos de revisão, artigos de conferência, capítulos de livros, e materiais editoriais). Os artigos constituem a grande maioria dentre os tipos, com um resultado de 2885 publicações representando 83,72% do total, seguido pelos artigos de revisão com 12,16%, e os artigos de conferência com 9,87%. Isso se dá em razão da pesquisa de biodigestão anaeróbia com foco na produção de hidrogênio ser relativamente recente, sendo assim há bem menos artigos de revisão. Há outros tipos de publicação os quais representam menos de 2% dos resultados, dentre eles capítulos de livros e materiais editoriais, os quais foram englobados na categoria “outros”.

Figura 4.2 – Gráfico das porcentagens de cada tipo de publicação encontrados

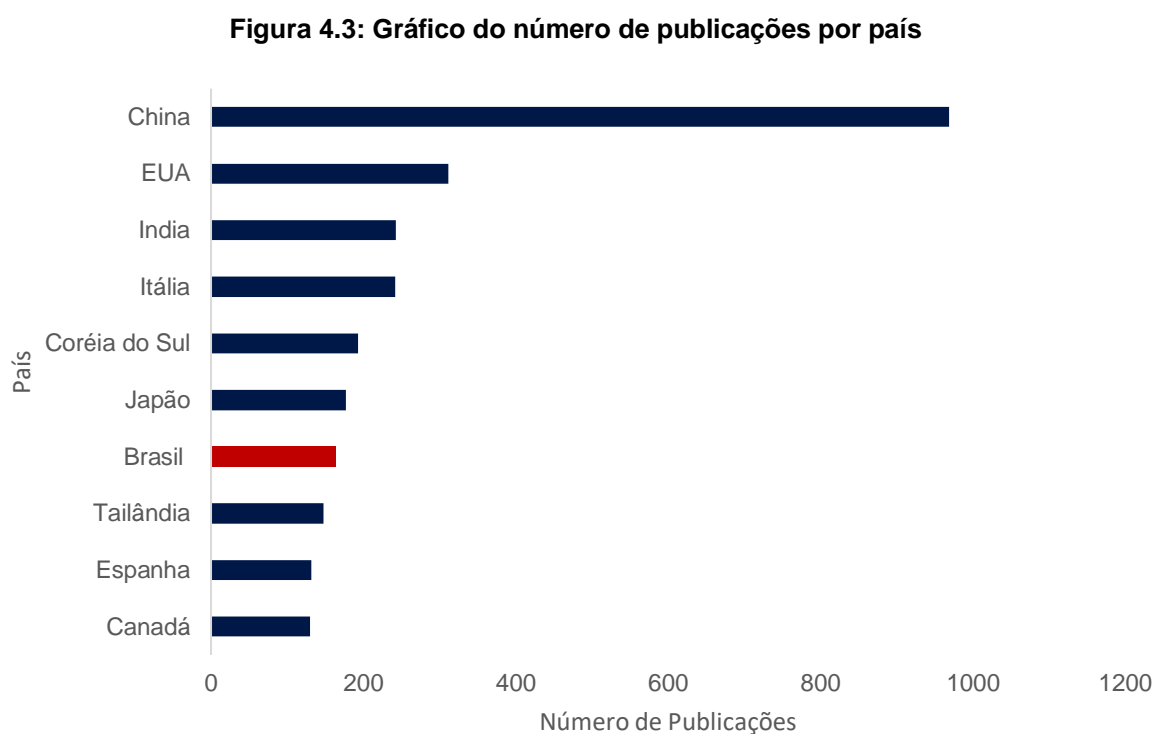


Fonte: acervo pessoal, 2021

4.1.3 Países

Fazendo uma análise das pesquisas por país, e selecionando os 10 países que mais publicaram com o tema procurado, é possível conferir a quantidade de publicações e o país correspondente no gráfico representado na Figura 4.3.

A China é o país com mais publicações, 969, seguida pelos Estados Unidos e pela Índia com 312 e 243 publicações respectivamente. O Brasil se faz presente no top 10, em sétimo lugar com 163 publicações sobre o assunto ao longo dos anos desde 2012.

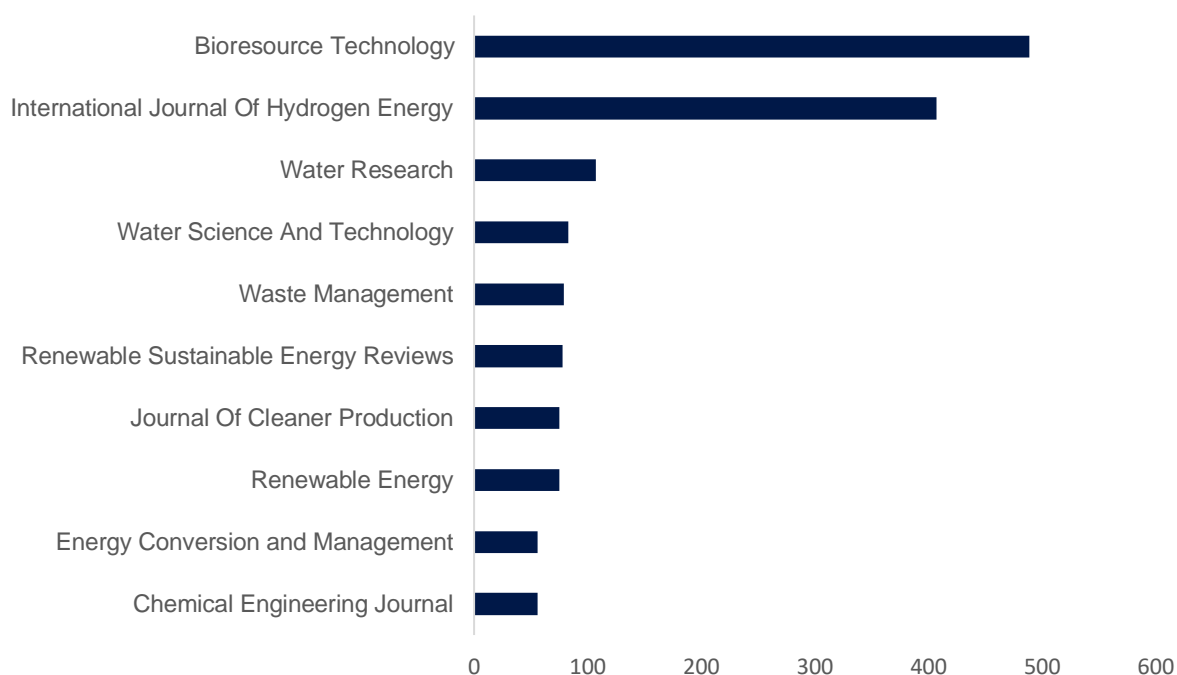


Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.1.4 Títulos de periódicos

As publicações analisadas estão dispostas nos mais diversos periódicos, e os dois que se destacam com maior número de publicações são o *Bioresource Technology* e o *International Journal of Hydrogen Energy*, com 489 e 407 publicações respectivamente. Dentro do ranking dos dez periódicos com mais publicações também se encontram o *Water Research*, *Water Science and Technology*, *Waste Management*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *Journal of Cleaner Production*, *Renewable Energy*, *Energy Conversion and Management*, e *Chemical Engineering Journal*. Na Figura 4.4 é possível analisar os dados comparativos relativos ao número de publicações por diferentes títulos de periódicos.

Figura 4.4: Gráfico do número de publicações dos dez periódicos que mais publicaram



Fonte: Acervo Pessoal, 2021

4.2 Publicações científicas relevantes

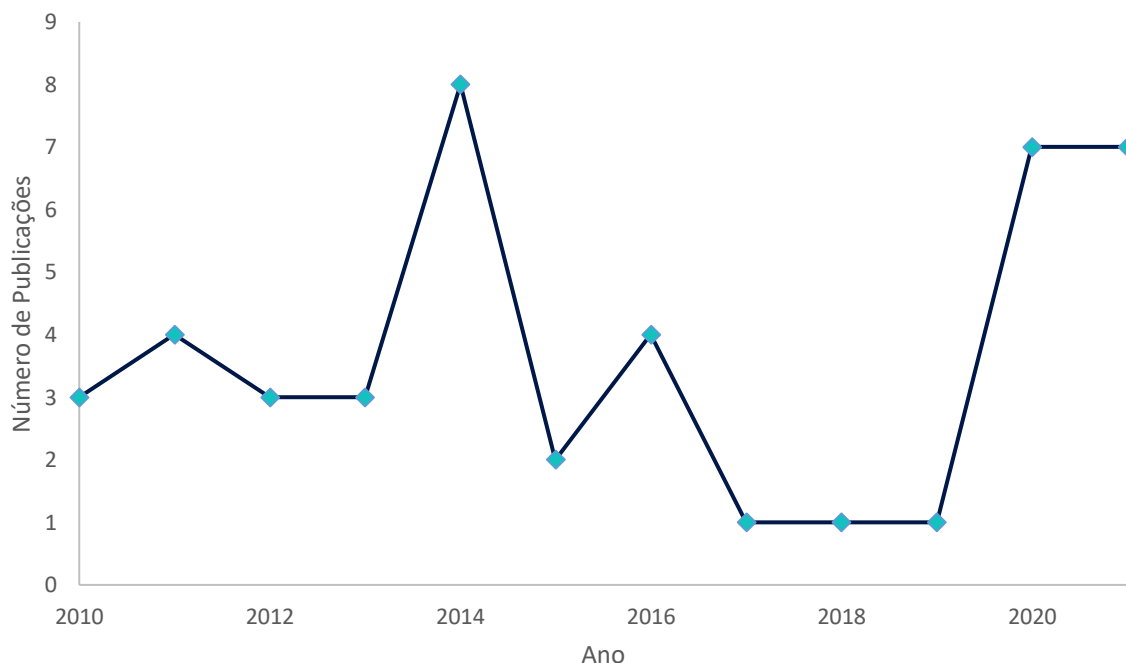
Dentre todos os resultados obtidos na pesquisa feita na base Web of Science, foi feita uma seleção com base na relevância distribuída pela própria plataforma, dentre a qual foram selecionados 42 artigos (Tabela 2.2) com diferentes características e tipos de variações de parâmetros. A partir deles foi feita uma análise do ano de publicação, a influência dos parâmetros na produção, objetivo dos estudos, temperatura ótima utilizada, pH empregado, tipos de reatores e emprego de codigestão ou não.

4.2.1 Distribuição anual dos estudos analisados

Em relação aos 42 estudos analisados, foi feita uma avaliação da distribuição dos anos de publicação dos selecionados, de 2010 a 2021, a qual consta no gráfico representado pela Figura 4.5. Os anos de 2014, 2020 e 2021 são os mais presentes em relação a quantidade, o que pode ser justificado por muitas publicações relevantes terem sido publicadas nos últimos dois anos sobre a produção de hidrogênio por

biodigestão anaeróbia, em função do período de quarentena o qual foi muito prolífico em termos de publicações sobre o tema.

Figura 4.5 – Gráfico da distribuição por ano das publicações analisadas



Fonte: Acervo Pessoal, 2021

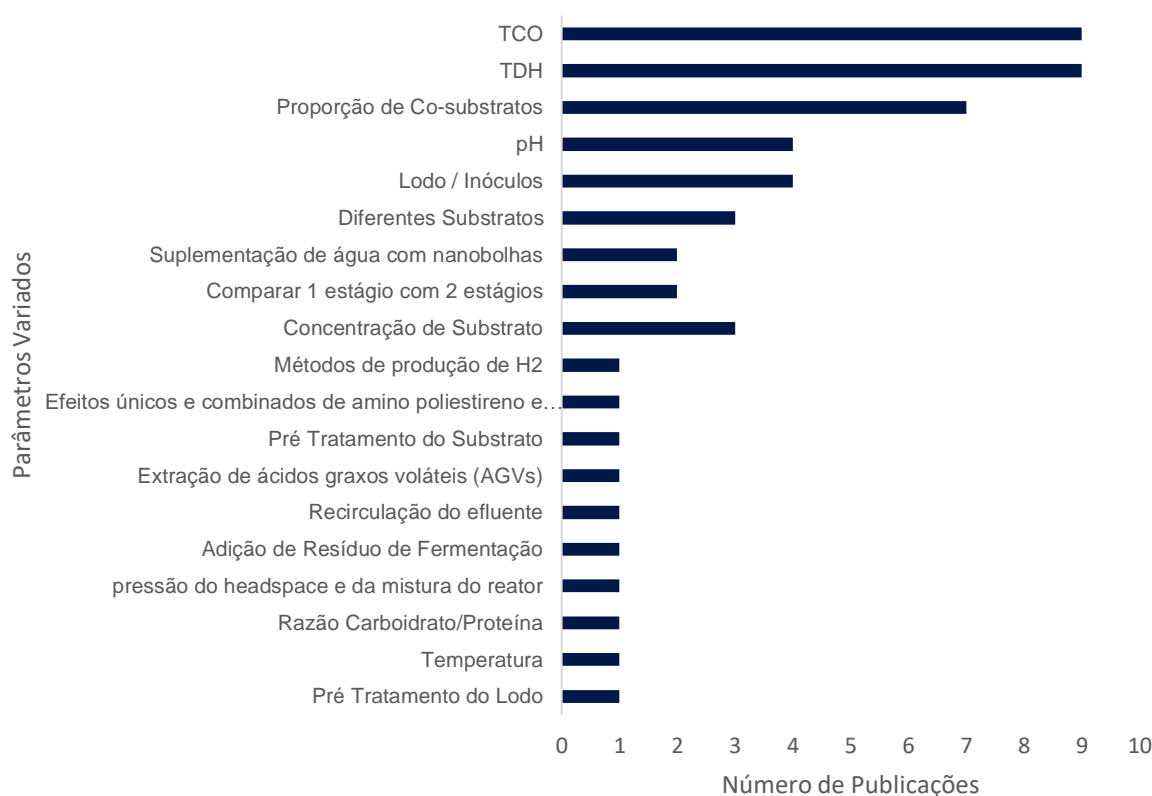
4.2.2 Análise da Influência dos parâmetros na produção

São diversos os parâmetros que podem influenciar em um estudo sobre bioconversão anaeróbia de hidrogênio, e na Figura 4.6 é possível conferir os parâmetros variados pelos autores, cuja influência na produção de hidrogênio está sendo avaliada no presente trabalho.

Dentre os estudos analisados, a taxa de carregamento orgânico (TCO) e o tempo de retenção hidráulica (TDH) foram os parâmetros cuja influência se estudou em um maior número de trabalhos, com 9 estudos cada, seguidos pela proporção de co-substratos, a qual foi analisada em 7 dos estudos que tratavam de codigestão. A variação do parâmetro pH, e a variação de lodo ou inóculo estiveram presentes em 4 estudos, a análise do emprego de diferentes substratos em 3, e a suplementação de água com nanobolhas, comparação de um com dois estágios, e concentrações de substrato em 2 cada. Alguns parâmetros foram encontrados sendo variados em apenas um estudo dentre os analisados cada, e são eles diferentes métodos de

produção de hidrogênio, efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano em bactérias termofílicas, pré-tratamento de substrato, a extração de ácidos graxos voláteis, recirculação de efluente, adição de resíduo de fermentação, pressão do headspace e da mistura do reator, razão carboidrato / proteína, temperatura, e tratamento do lodo.

Figura 4.6 – Parâmetros variados pelos autores e quantidade de publicações nas quais eles são mencionados



Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.2.1 Carga orgânica

A taxa de carregamento orgânico (TCO) foi o parâmetro mais avaliados dentre os 42 artigos analisados juntamente com o tempo de retenção hidráulica, cada um estando presentes em 9 artigos como parâmetro variado para avaliação. Os estudos os quais avaliaram a TCO foram Tawfik e El-Qelish (2012), Reungsang et al. (2013), Hernández et al. (2013), Intanoo et al. (2014), Gomes et al. (2015), Rosa et al. (2016), Intanoo et al. (2016), Akhbari et al. (2021), e Arellano-García et al. (2021). Na Tabela

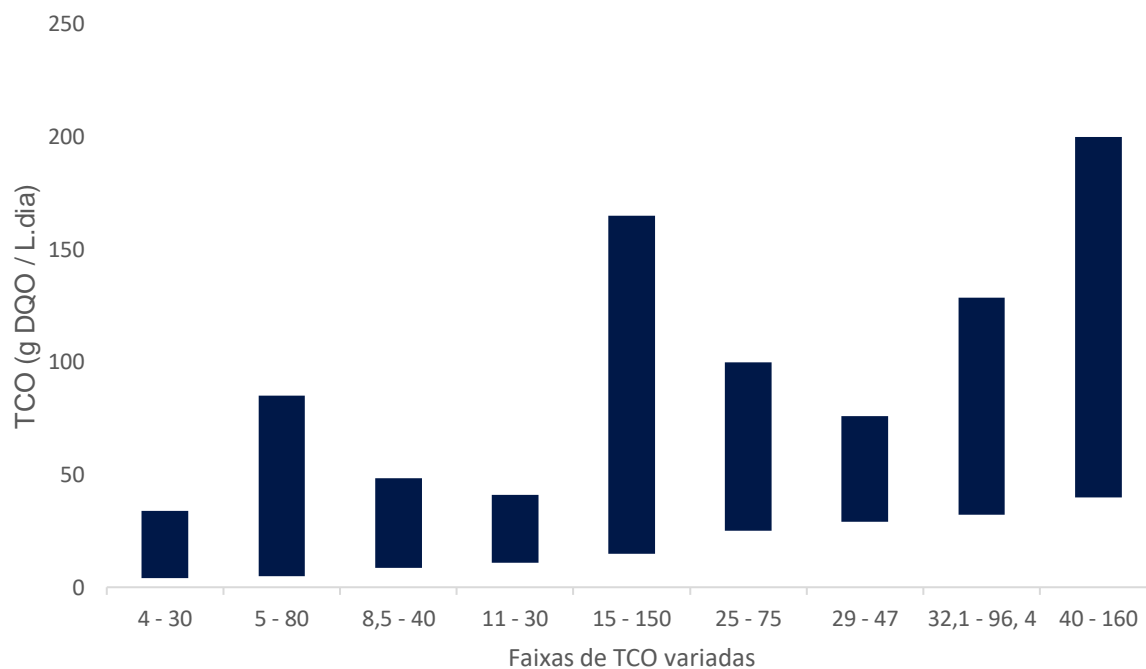
4.1 estão dispostos os valores variados para a taxa de carregamento orgânico juntamente com o nome dos autores do estudo correspondente. Na Figura 4.7 é possível observar o gráfico gerado das diferentes faixas de TCO as quais foram pesquisadas, em unidade de g DQO/ L.dia. Conforme demonstra o gráfico, embora a amplitude das faixas de TCO utilizadas seja ampla, todos os estudos empregaram pelo menos um valor entre 5 e 50 g DQO/ L.dia, devido a estudos prévios na literatura os quais indicam valores nessa faixa para otimização da produção, porém muitos autores testam a COV em valores mais altos, até 160 g DQO/ L.dia, variando em conjunto o tempo de retenção hidráulica e a concentração do substrato para atingir condições ótimas de produção.

Tabela 4.1 – Valores de TCO utilizados nos estudos nos quais foi variada para avaliação

Autores	TCO variada (g DQO / L.dia)
Tawfik e El-Qelish, 2012	29, 36 e 47
Reungsang et al., 2013	25, 37,5, 50, 62,5 e 75
Hernández et al. , 2013	96,4, 48,2 e 32,1
Intanoo et al., 2014	15 a 150
Gomes et al. , 2015	8,5, 10, 12, 15, 20, 28, e 40
Rosa et al., 2016	6, 4, 10, 12, 14, 18, 22, e 30
Intanoo et al., 2016	10, 20, 25 e 30
Akhbari et al., 2021	5 a 80
Arellano-García et al., 2021	40 a 160

Fonte: Acervo pessoal, 2021

Figura 4.7 Faixas de TCO pesquisadas nos estudos



Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.2.2 Tempo de retenção hidráulica

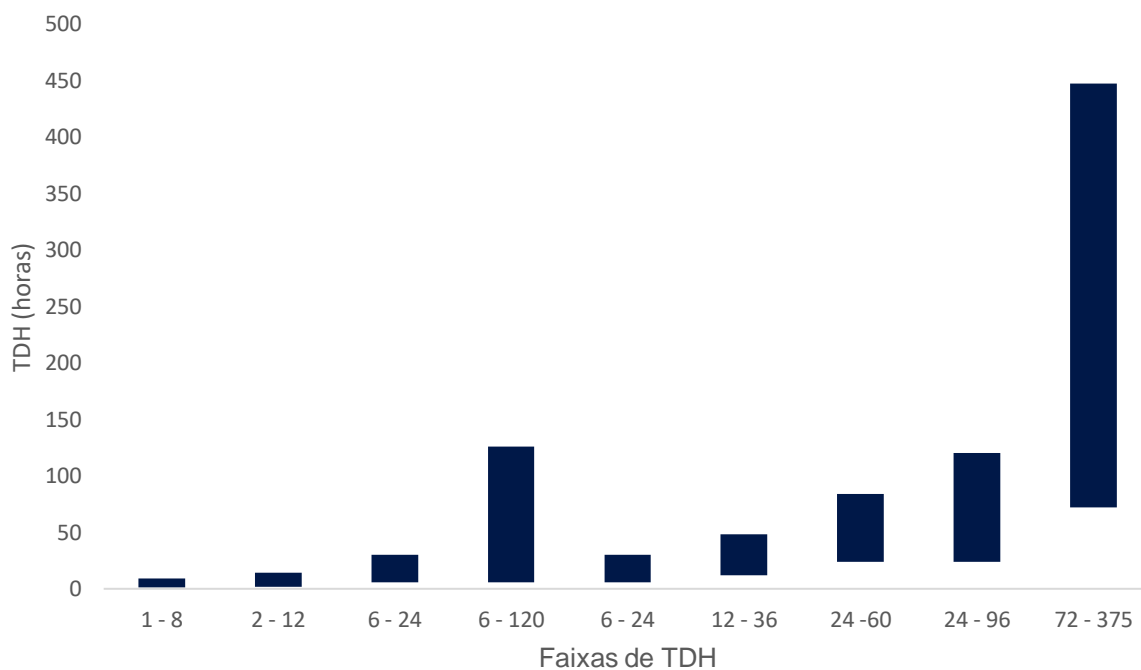
O tempo de retenção hidráulica foi um parâmetro variado em 9 das publicações analisadas, e os autores são Mohan et al. (2011), Hernández et al. (2013), Kongjan et al. (2014), Santos et al. (2014), Lay et al. (2019), Mateus et al. (2020), Akhbari et al. (2021), Tena et al. (2021), Akhbari et al. (2021). Na tabela 4.2 estão presentes os valores variados de TDH pelos autores, juntamente com a referência do estudo.

Tabela 4.2 – Valores de TDH utilizados nos estudos nos quais foi variado para avaliação

Autores	TDH
Mohan et al., 2011	3, 5, 10 e 15 dias
Hernández et al., 2013	12, 24, 36 h
Kongjan et al., 2014	60, 48, 36 e 24 h
Santos et al., 2014	8, 6, 4, 2 e 1 h
Lay et al., 2019	2, 4, 6, 8 e 12 h
Mateus et al., 2020	1, 2 e 4 dias
Akhbari et al., 2021	6 a 24 horas
Tena et al., 2021	5, 4, 3,6, 3,2,5, 2, 1, 0,5, 0,25 dias
Akhbari et al., 2021	6 a 24 horas

Fonte: Acervo pessoal, 2021

Na Figura 4.8 estão dispostas as diferentes faixas de TDH empregadas. É possível observar que a maioria empregou tempos entre 6 e 36 horas, e isso se deve possivelmente a recomendação da literatura de que com baixo tempo de retenção hidráulica (até 2 dias) acontece a eliminação das archeas metanogênicas de crescimento lento dentro do reator de hidrogênio

Figura 4.8 –Faixas de TDH pesquisadas nos estudos

Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.3 Objetivos dos estudos

Os estudos analisados possuíam diversos objetivos, os quais estão representados na Figura 4.9, a qual contém o gráfico de distribuição de número de publicações por objetivos do estudo. A grande maioria dos estudos, 19 de 42, tinham como objetivo principal a otimização da produção de hidrogênio variando diferentes parâmetros e condições.

Figura 4.9: Distribuição de publicações por objetivo do estudo



Fonte: Acervo Pessoal, 2021

Cinco estudos dentre os analisados utilizam o efluente do reator produtor de hidrogênio como afluente para um reator produtor de metano, portanto tinham como objetivo otimizar tanto a produção de hidrogênio quanto a de metano, sendo eles Intanoo et al. (2014), Cremones et al. (2020), Mateus et al. (2020), Hou et al. (2021), e Malolan et al. (2021).

A comunidade microbiana é de grande importância na biodigestão anaeróbia, e cinco dos estudos analisados tem como foco determinar a comunidade de microrganismos principal presente, sendo eles Reungsang et al. (2013), Santos et al. (2014), Xie et al. (2014), Elsamadony e Tawfik (2015), Arellano-García et al. (2021).

O pré tratamento do lodo foi outros dos objetivos dos estudos, o qual correspondeu a 3 estudos dentre os analisados, feitos por Wang et al. (2010), Kim et al. (2011), e Zinatizadeh et al. (2017).

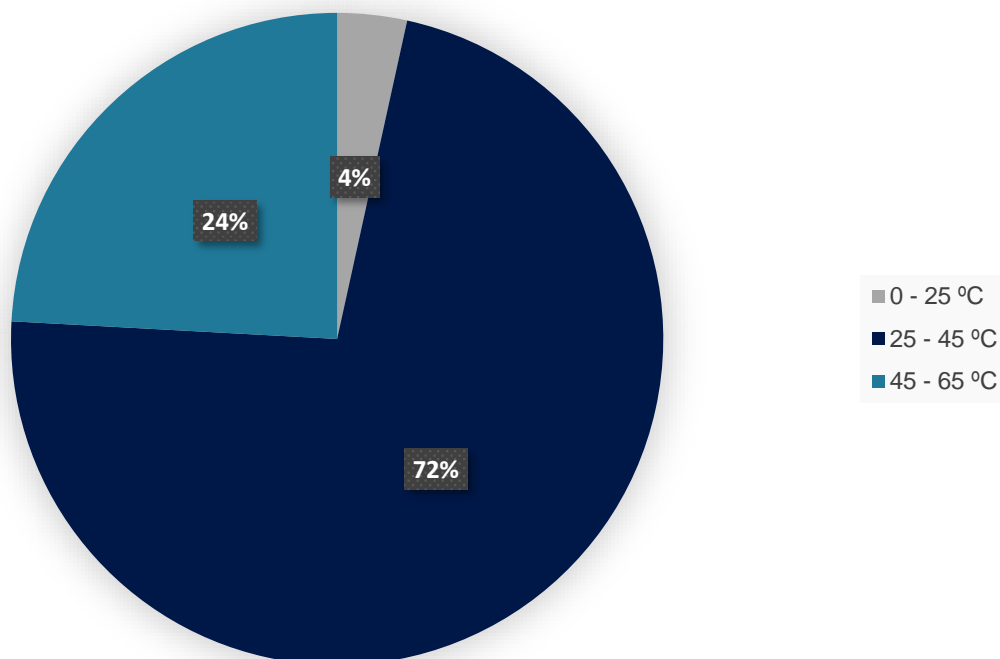
A viabilidade de realizar um estudo em dois estágios, comparativamente a um único estágio foram estudadas por duas pesquisas, Arreola-Vargas et al. (2016) e Ramos et al. (2020). Ambos os pesquisadores encontraram mais vantagens no uso de dois estágios, sendo maiores os rendimentos dos produtos finais.

Alguns objetivos estão representados dentro dos estudos analisados com somente um representante em termos de pesquisa, entre eles o estudo de Hou et al. (2021) o qual investigou o efeito da água com nanobolhas de ar na digestão anaeróbia de resíduos alimentares para a produção separada de hidrogênio e metano, e constatou que a adição de água com nanobolhas promoveu tanto o estágio de acidificação quanto o estágio de metanogênese. Outras dessas pesquisas são a investigação do papel das bactérias de ácido láctico homo e heterofermentativas conduzido por Gomes et al. (2015), substituir a cultura microbiana por Mohan et al. (2011), a caracterização e atividade antimicrobiana de bactérias lácticas por Rosa et al. (2016), o efeito da composição do substrato na produção acidogênica por Yan et al. (2020), e os efeitos únicos e combinados de amino poliestireno e sulfonato de perfluorooctano em bactérias termofílicas por Dong et al (2020).

4.2.4 Temperatura

A temperatura é um importante fator, o qual influencia a bioconversão de resíduos em hidrogênio, sendo que esse processo por ocorrer nas faixas psicrófila (0–25 ° C), mesófila (25–45 ° C), termófila (45–65 ° C) e hipertermófila (acima de 80 ° C). Nos trabalhos analisados, como consta na Figura 4.10, as faixas presentes foram mesófila, termófila, e apenas um estudo em temperaturas psicrófila. De acordo com o gráfico de distribuição percentual 72% dos estudos foram conduzidos em condição mesófila, e 24% em termófila, o que equivale a 21 e 7 dos 42 estudos os quais disponibilizaram a temperatura de operação, respectivamente.

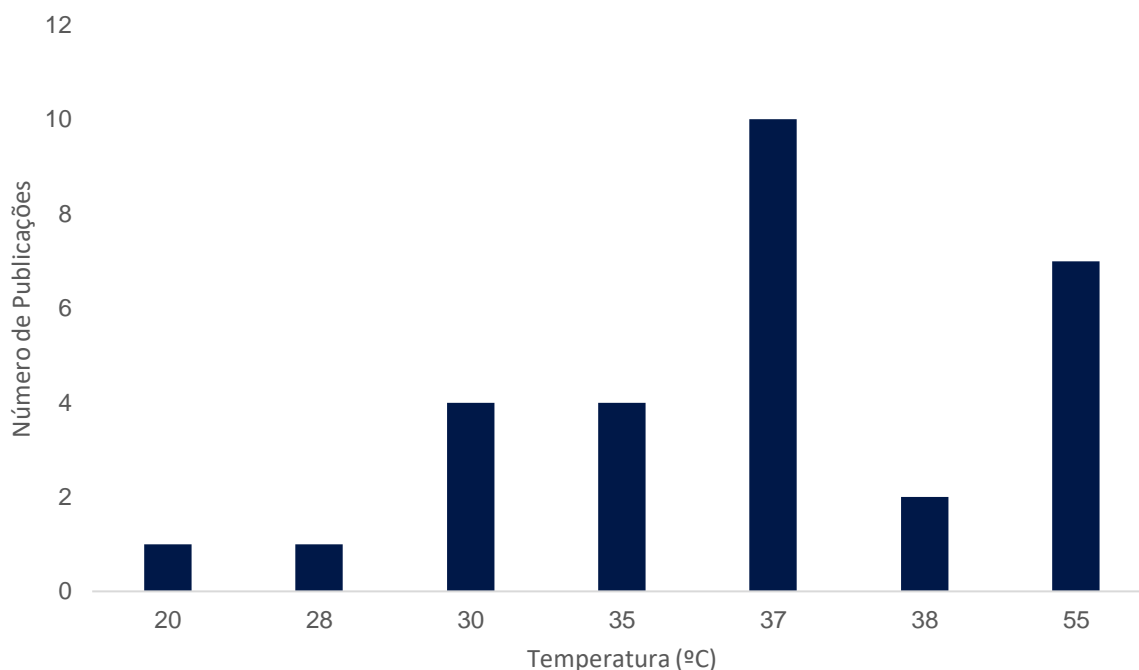
Figura 4.10: Distribuição das publicações por faixa de temperatura



Fonte: Acervo pessoal, 2021

Na Figura 4.11 é possível ter uma visualização das temperaturas na quais cada trabalho foi realizado, e constatar que a maioria foi conduzida em temperatura mesofílica, com valores entre 35 e 38 °C.

Figura 4.11: Temperatura na qual cada experimento foi conduzido



Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.5 pH

A manutenção do pH durante o processo de fermentação é essencial para atingir o rendimento máximo de hidrogênio, pois além de afetar as reações químicas pelas quais ocorre a conversão de compostos orgânicos em hidrogênio, o pH muitas vezes é utilizado para exercer o papel de controlador dos microrganismos metanógenos os quais consomem o hidrogênio produzido (Saravanan et al., 2021).

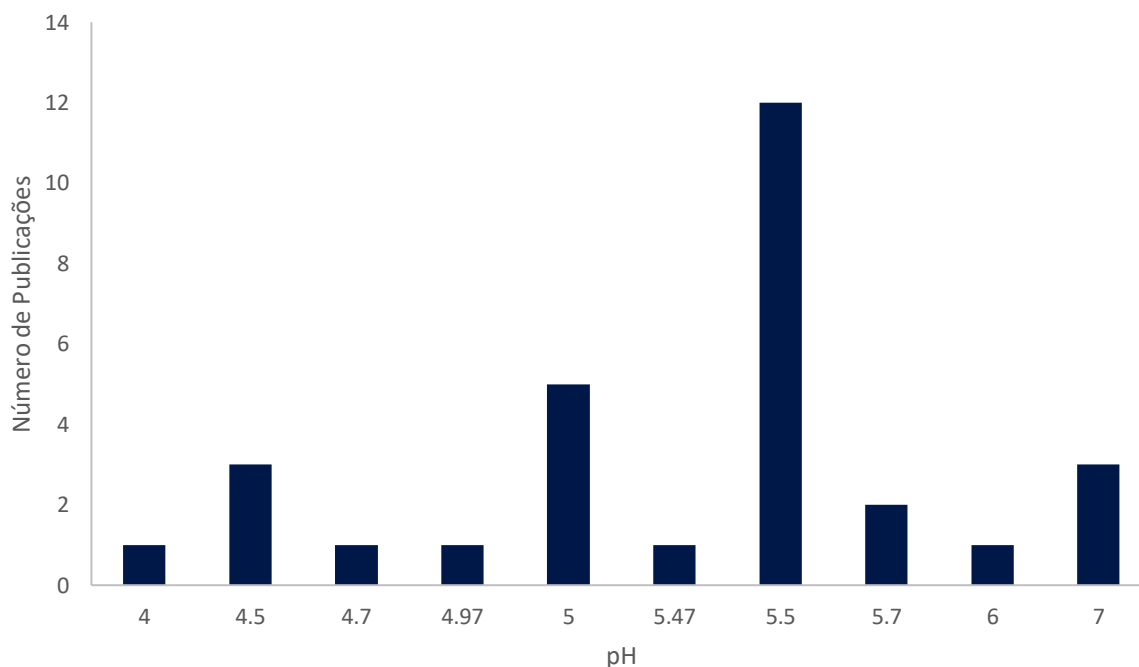
A Figura 4.12 representa o gráfico da distribuição do valor de pH empregado nos estudos analisados, sendo que é possível constatar que grande parte dos estudos relataram um pH ótimo no valor de 5,5, com pequenas variações, sendo 12 os artigos que utilizaram pH no valor de 5 dentre os 30 que explicitaram a faixa de pH empregada. A maioria dos estudos valaiou a faixa de pH entre 5 e 6.

O pH ótimo pode ser ligeiramente deslocado dependendo da razão entre carboidratos e proteínas. Isso se confirma em estudos sobre o pH ótimo nesse tipo de

produção, como os realizados por Guo et al. (2010), os quais concluíram que o pH ideal para a produção de biohidrogênio usando fermentação no escuro de resíduos de alimentos está entre 5 e 6, enquanto que para águas residuais de processamento animais o recomendado seria o pH neutro.

Quatro estudos possuíam pH ótimo acima de 6, e cinco estudos utilizaram pH abaixo de 5, pois como já foi relatado, os microrganismos sofrem grandes alterações em sua atividade fora de uma faixa específica.

Figura 4.12 – Gráfico da distribuição de pH por publicações



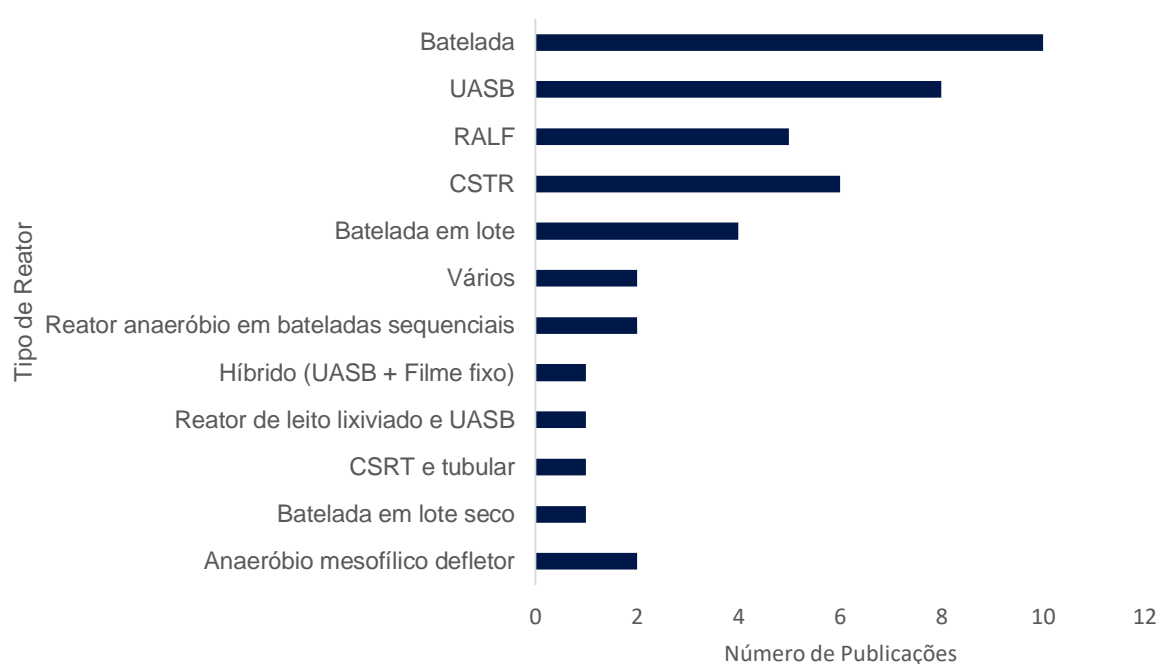
Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.6 Tipo do Reator

A Figura 4.13 abaixo mostra a distribuição dos tipos de reatores utilizados nos estudos. Dentre os estudos analisados, o reator batelada foi o mais empregado, contando com dez utilizações em batelada simples, quatro de batelada em lote, e um de batelada em lote seco. O reator UASB é utilizado em oito das publicações estudadas, seguido pelo reator contínuo CSTR com seis utilizações e pelo RALF com cinco. Dois estudos empregam o reator anaeróbico mesofílico defletor, e alguns utilizam uma combinação de reatores diferentes, como um híbrido de UASB com filme

fixo, um de UASB com reator de leito lixiviado, e um combinando um CSTR com um reator tubular. Vários tipos de reatores foram estudados em pesquisas as quais comparavam o desempenho de mais de um tipo de reator na biodigestão anaeróbia para produção de hidrogênio. O reator anaeróbio em bateladas sequenciais foi relatado em duas publicações analisadas.

Figura 4.13: Distribuição de tipos de reatores utilizados nos estudos



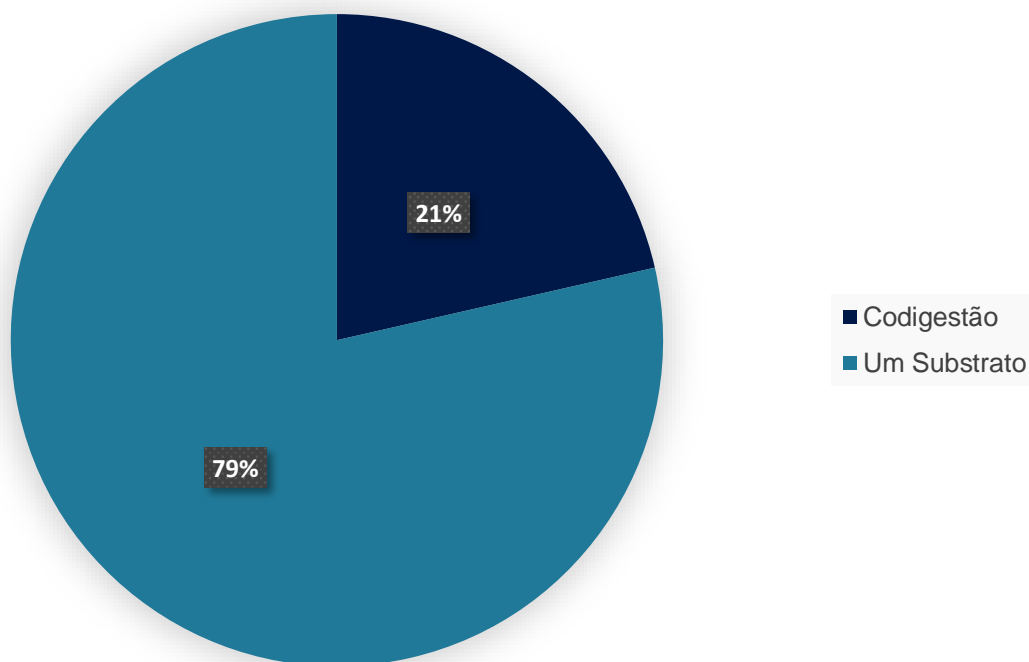
Fonte: Acervo pessoal, 2021

4.2.7 Codigestão

Parte dos estudos analisados se dedicaram ao estudo da produção de hidrogênio por codigestão anaeróbia, correspondendo a um percentual de 21%, como é possível observar na Figura 4.14.

Dentre esses nove estudos sobre codigestão, estão Sreela-or et al. (2011), Kim et al. (2011), Tawfik e El-Qelish (2012), Zhou et al. (2013), Rosa et al. (2014), Hernández et al. (2014), Elsamadony e Tawfik (2015), Malolan et al. (2021), e Tena et al. (2021).

Figura 4.14: Distribuição de estudos de codigestão e apenas um substrato



Fonte: Acervo pessoal, 2021

Dentre os métodos para otimizar a produção de hidrogênio por biodigestão anaeróbia, muitos pesquisadores estão voltando sua atenção para a codigestão de diferentes fontes de carbono com fontes complementares de nitrogênio, mesmo que ainda sejam predominantes as pesquisas utilizando apenas um substrato voltados para otimização dos parâmetros no estudo.

5. CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou a viabilidade de produção de hidrogênio através da biodigestão anaeróbia com diferentes substratos, reatores e inovações na forma de execução da pesquisa, demonstrando um amplo campo a ser expandido.

A partir da análise dos artigos na base de dado da Web of Science foi possível observar que a China é o país predominante em relação a quantidade de publicações produzidas, seguida pelos Estados Unidos e Índia, ficando o Brasil em 7º lugar. Esses países investem alto em pesquisas de todos os tipos, o que é um dos motivos que incentiva seus pesquisadores a encontrar soluções otimizadas para produção de energia. O número de pesquisas sobre esse tema vem crescendo ao longo dos anos, e apresentam uma tendência de aumentar ainda mais neste ano de 2021, sendo que o ano de 2020 até agora é o que possui um maior número de publicações. Isso provavelmente se deve ao momento de pandemia de covid-19 a qual acometeu o planeta a partir de 2020 e restringiu a mobilidade e exercício da profissão de muitas pessoas, podendo então os pesquisadores focarem em expandir seus estudos em laboratório. Os artigos constituem 83,72% do total em relação aos tipos de publicação, seguido pelos artigos de revisão com 12,16%, o que pode ser justificado pelo tema da pesquisa ser relativamente recente, gerando bem menos artigos de revisão. Os dois periódicos científicos os quais mais se destacaram em número de publicações foram o Bioresource Technology e o International Journal of Hydrogen Energy, com 489 e 407 publicações respectivamente cada, dentre um total de 3711 encontradas.

Em relação aos estudos mais relevantes os quais foram analisados, 45,23% dos trabalhos tiveram foco em otimizar a produção de hidrogênio, e os parâmetros mais variados dentre as influências no processo foram a TCO (faixa de 5 a 50 g DQO / L.dia) e o TDH (faixa entre 6 h e 36 h), ambos variados em 21,42% dos estudos. A grande maioria (72%) foram realizados utilizando temperatura na faixa mesofílica, estando a maioria entre 35 e 38 °C. O pH mais utilizado foi igual ou próximo a 5,5. Dentre os estudos, 35,71% utilizaram alguma forma de reator em batelada (15 dentre 42 estudos), sendo simples ou em lote, e apresentando uma operação em batelada em lote seco.

Muitos processos ainda estão em fase piloto e se desenvolvendo, porém, considerando os custos, demanda de energia e possíveis poluições geradas por métodos mais difundidos de produção de hidrogênio, conclui-se que é importante

escalar os métodos que irão reduzir a pegada de carbono, como a fermentação no escuro. O Brasil é um país o qual já utiliza uma boa parte da eletricidade proveniente de biocombustíveis e resíduos, e isso abre portas para um caminho mais sustentável, no qual pesquisas para a produção do hidrogênio limpo podem ser levadas para larga escala.

REFERÊNCIAS

- ABE, J. O., POPOOLA, A. P. I., AJENIFUJA, E., & POPOOLA, O. M. (2019). **Hydrogen energy, economy and storage: Review and recommendation.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(29), 15072–15086. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2019.04.068>
- ACAR, C., & DINCER, I. (2019). **Review and evaluation of hydrogen production options for better environment.** *Journal of Cleaner Production*, 218, 835–849. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.02.046>
- ACEVES-LARA, C. A., LATRILLE, E., & STEYER, J. P. (2010). **Optimal control of hydrogen production in a continuous anaerobic fermentation bioreactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10710–10718. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2010.02.110>
- AKHBARI, A., CHUEN, O. C., & IBRAHIM, S. (2021). **Start-up study of biohydrogen production from palm oil mill effluent in a lab-scale up-flow anaerobic sludge blanket fixed-film reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10191–10204. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2020.12.125>
- AKHBARI, A., CHUEN, O. C., & IBRAHIM, S. (2021). **Start-up study of biohydrogen production from palm oil mill effluent in a lab-scale up-flow anaerobic sludge blanket fixed-film reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10191–10204. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2020.12.125>
- AKHBARI, A., CHUEN, O. C., ZINATIZADEH, A. A., & IBRAHIM, S. (2020). **Start-Up Study on Biohydrogen from Palm Oil Mill Effluent in a Pilot-Scale Reactor.** *Clean - Soil, Air, Water*, 48(7–8). <https://doi.org/10.1002/CLEN.202000192>
- AKHBARI, A., IBRAHIM, S., ZINATIZADEH, A. A., BONAKDARI, H., EBTEHAJ, I., S. KHOZANI, Z., VAFAEIFARD, M., & GHARABAGHI, B. (2019). **Evolutionary Prediction of Biohydrogen Production by Dark Fermentation.** *Clean - Soil, Air, Water*, 47(1). <https://doi.org/10.1002/CLEN.201700494>
- AKHBARI, A., KUTTY, P. K., CHUEN, O. C., & IBRAHIM, S. (2020). **A study of palm oil mill processing and environmental assessment of palm oil mill effluent treatment.** *Environmental Engineering Research*, 25(2), 212–221. <https://doi.org/10.4491/EER.2018.452>
- AKHBARI, A., ONN, C. C., & IBRAHIM, S. (2021). **Analysis of biohydrogen production from palm oil mill effluent using a pilot-scale up-flow anaerobic sludge blanket fixed-film reactor in life cycle perspective.** *International Journal of Hydrogen Energy*.
- AKHBARI, A., ZINATIZADEH, A. A., VAFAEIFARD, M., MOHAMMADI, P., ZAINAL, B. S., & IBRAHIM, S. (2019). **Effect of operational variables on biological hydrogen production from palm oil mill effluent by dark fermentation using response surface methodology.** *Desalination and Water Treatment*, 137, 101–113. <https://doi.org/10.5004/DWT.2019.23169>

ARELLANO-GARCÍA, L., VELÁZQUEZ-FERNÁNDEZ, J. B., MACÍAS-MURO, M., & MARINO-MARMOLEJO, E. N. (2021). **Continuous hydrogen production and microbial community profile in the dark fermentation of tequila vinasse: Response to increasing loading rates and immobilization of biomass.**

Biochemical Engineering Journal, 172, 108049.

<https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2021.108049>

ARREOLA-VARGAS, J., FLORES-LARIOS, A., GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, V., CORONA-GONZÁLEZ, R. I., & MÉNDEZ-ACOSTA, H. O. (2016). **Single and two-stage anaerobic digestion for hydrogen and methane production from acid and enzymatic hydrolysates of Agave tequilana bagasse.** International Journal of Hydrogen Energy, 41(2), 897–904. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2015.11.016>

AYDIN, M. I., KARACA, A. E., QURESHY, A. M. M. I., & DINCER, I. (2021). **A comparative review on clean hydrogen production from wastewaters.** Journal of Environmental Management, 279, 111793.

<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2020.111793>

BADIEI, M., JAHIM, J. M., ANUAR, N., & SHEIKH ABDULLAH, S. R. (2011). **Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production from palm oil mill effluent in anaerobic sequencing batch reactor.** International Journal of Hydrogen Energy, 36(10), 5912–5919.

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

<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.02.063>

BAYKARA, S. Z. (2018). **Hydrogen: A brief overview on its sources, production and environmental impact.** International Journal of Hydrogen Energy, 43(23), 10605–10614. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2018.02.022>

FERRAZ DE CAMPOS, V. A., SILVA, V. B., CARDOSO, J. S., BRITO, P. S., TUNA, C. E., & SILVEIRA, J. L. (2021). **A review of waste management in Brazil and Portugal: Waste-to-energy as pathway for sustainable development.** Renewable Energy, 178, 802–820. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2021.06.107>

CAPORASO, J. G., LAUBER, C. L., WALTERS, W. A., BERG-LYONS, D., HUNTLEY, J., FIERER, N., OWENS, S. M., BETLEY, J., FRASER, L., BAUER, M., GORMLEY, N., GILBERT, J. A., SMITH, G., & KNIGHT, R. (2012). **Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms.** ISME Journal, 6(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2012.8>

CHEN, W. M., TSENG, Z. J., LEE, K. S., & CHANG, J. S. (2005). **Fermentative hydrogen production with Clostridium butyricum CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge.** International Journal of Hydrogen Energy, 30(10), 1063–1070.

CHEN, W., YUAN, D., SHAN, M., YANG, Z., & LIU, C. (2020). **Single and combined effects of amino polystyrene and perfluorooctane sulfonate on hydrogen-**

producing thermophilic bacteria and the interaction mechanisms. *Science of The Total Environment*, 703, 135015.

<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.135015>

CHEN, Y., XIAO, N., ZHAO, Y., & MU, H. (2012). **Enhancement of hydrogen production during waste activated sludge anaerobic fermentation by carbohydrate substrate addition and pH control.** *Bioresource Technology*, 114, 349–356. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.03.052>

CHENG, Y. W., LEE, Z. S., CHONG, C. C., KHAN, M. R., CHENG, C. K., NG, K. H., & HOSSAIN, S. S. (2019). **Hydrogen-rich syngas production via steam reforming of palm oil mill effluent (POME) – A thermodynamics analysis.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 20711–20724.

CHOONG, Y. Y., NORLI, I., ABDULLAH, A. Z., & YHAYA, M. F. (2016). **Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review.** *Bioresource Technology*, 209, 369–379.

CLARK, I. C., ZHANG, R. H., & UPADHYAYA, S. K. (2012). **The effect of low pressure and mixing on biological hydrogen production via anaerobic fermentation.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(15), 11504–11513. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2012.03.154>

CREMONEZ, P. A., SAMPAIO, S. C., TELEKEN, J. G., MEIER, T. W., FRIGO, E. P., DE ROSSI, E., DA SILVA, E., & ROSA, D. M. (2020). **Effect of substrate concentrations on methane and hydrogen biogas production by anaerobic digestion of a cassava starch-based polymer.** *Industrial Crops and Products*, 151, 112471. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112471>

DAS, D., & VEZIROGLU, T. N. (2008). **Advances in biological hydrogen production processes.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(21), 6046–6057. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2008.07.098>

DAVILA-VAZQUEZ, G., COTA-NAVARRO, C. B., ROSALES-COLUNGA, L. M., DE LEÓN-RODRÍGUEZ, A., & RAZO-FLORES, E. (2009). **Continuous biohydrogen production using cheese whey: Improving the hydrogen production rate.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(10), 4296–4304.

DAWOOD, F., ANDA, M., & SHAFIULLAH, G. M. (2020). **Hydrogen production for energy: An overview.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(7), 3847–3869. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2019.12.059>

DESSÌ, P., PORCA, E., WATERS, N. R., LAKANIEMI, A. M., COLLINS, G., & LENS, P. N. L. (2018). **Thermophilic versus mesophilic dark fermentation in xylose-fed fluidised bed reactors: Biohydrogen production and active microbial community.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(11), 5473–5485.

ELSAMADONY, M., & TAWFIK, A. (2015). **Dry anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal waste with paperboard mill sludge and gelatin solid waste for enhancement of hydrogen production.** *Bioresource Technology*, 191, 157–165. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.05.017>

ETCHEBEHERE, C., CASTELLÓ, E., WENZEL, J., DEL PILAR ANZOLA-ROJAS, M., BORZACCONI, L., BUITRÓN, G., CABROL, L., CARMINATO, V. M., CARRILLO-REYES, J., CISNEROS-PÉREZ, C., FUENTES, L., MORENO-ANDRADE, I., RAZO-FLORES, E., FILIPPI, G. R., TAPIA-VENEGAS, E., TOLEDO-ALARCÓN, J., & ZAIAT, M. (2016). **Microbial communities from 20 different hydrogen-producing reactors studied by 454 pyrosequencing**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(7), 3371–3384. <https://doi.org/10.1007/S00253-016-7325-Y>

FERREIRA ROSA, P. R., SANTOS, S. C., & SILVA, E. L. (2014). **Different ratios of carbon sources in the fermentation of cheese whey and glucose as substrates for hydrogen and ethanol production in continuous reactors**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(3), 1288–1296. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2013.11.011>

GOMES, B. C., ROSA, P. R. F., ETCHEBEHERE, C., SILVA, E. L., & AMÂNCIOVARESCE, M. B. (2015). **Role of homo-and heterofermentative lactic acid bacteria on hydrogen-producing reactors operated with cheese whey wastewater**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(28), 8650–8660. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2015.05.035>

GUO, X. M., TRABLY, E., LATRILLE, E., CARRRE, H., & STEYER, J. P. (2010). **Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10660–10673. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2010.03.008>

HALLENBECK, P. C. (2009). **Fermentative hydrogen production: Principles, progress, and prognosis**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(17), 7379–7389.

HAWKES, F. R., HUSSY, I., KYAZZE, G., DINSDALE, R., & HAWKES, D. L. (2007). **Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(2), 172–184.

HERNÁNDEZ, M. A., RODRÍGUEZ SUSANA, M., & ANDRES, Y. (2014). **Use of coffee mucilage as a new substrate for hydrogen production in anaerobic co-digestion with swine manure**. *Bioresource Technology*, 168, 112–118. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.02.101>

HERNÁNDEZ, M., & RODRÍGUEZ, M. (2013). **Hydrogen production by anaerobic digestion of pig manure: Effect of operating conditions**. *Renewable Energy*, 53, 187–192. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2012.11.024>

HOU, T., ZHAO, J., LEI, Z., SHIMIZU, K., & ZHANG, Z. (2021). **Addition of air-nanobubble water to mitigate the inhibition of high salinity on co-production of hydrogen and methane from two-stage anaerobic digestion of food waste**. *Journal of Cleaner Production*, 314, 127942. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.127942>

HOU, T., ZHAO, J., LEI, Z., SHIMIZU, K., & ZHANG, Z. (2021). **Enhanced energy recovery via separate hydrogen and methane production from two-stage**

anaerobic digestion of food waste with nanobubble water supplementation.

Science of The Total Environment, 761, 143234.

<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.143234>

HUANG, S., HUANG, R., ZHOU, P., ZHANG, Y., YIN, Z., & WANG, Z. (2021). **Role of cellular wavelengths in self-acceleration of lean hydrogen-air expanding flames under turbulent conditions.** International Journal of Hydrogen Energy, 46(17), 10494–10505.

IEA (2020), **Hydrogen**, IEA, Paris. Disponível em:

<https://www.iea.org/reports/hydrogen>. Acesso em 20 out. 2021

IEA (2021), **Hydrogen in Latin America**, IEA, Paris

<https://www.iea.org/reports/hydrogen-in-latin-america>

INTANOO, P., CHAIMONGKOL, P., & CHAVADEJ, S. (2016). **Hydrogen and methane production from cassava wastewater using two-stage upflow anaerobic sludge blanket reactors (UASB) with an emphasis on maximum hydrogen production.** International Journal of Hydrogen Energy, 41(14), 6107–6114. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2015.10.125>

INTANOO, P., RANGSANVIGIT, P., MALAKUL, P., & CHAVADEJ, S. (2014). **Optimization of separate hydrogen and methane production from cassava wastewater using two-stage upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) system under thermophilic operation.** Bioresource Technology, 173, 256–265. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.09.039>

INTANOO, P., SUTTIKUL, T., LEETHOCHAWALIT, M., GULARI, E., & CHAVADEJ, S. (2014). **Hydrogen production from alcohol wastewater with added fermentation residue by an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) under thermophilic operation.** International Journal of Hydrogen Energy, 39(18), 9611–9620. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.04.105>

JAFARY, T., WAN DAUD, W. R., GHASEMI, M., ABU BAKAR, M. H., SEDIGHI, M., KIM, B. H., CARMONA-MARTÍNEZ, A. A., JAHIM, J. M., & ISMAIL, M. (2019). **Clean hydrogen production in a full biological microbial electrolysis cell.** International Journal of Hydrogen Energy, 44(58), 30524–30531. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2018.01.010>

JAFARY, T., WAN DAUD, W. R., GHASEMI, M., ABU BAKAR, M. H., SEDIGHI, M., KIM, B. H., CARMONA-MARTÍNEZ, A. A., JAHIM, J. M., & ISMAIL, M. (2019). **Clean hydrogen production in a full biological microbial electrolysis cell.** International Journal of Hydrogen Energy, 44(58), 30524–30531.

JI, M., & WANG, J. (2021). **Review and comparison of various hydrogen production methods based on costs and life cycle impact assessment indicators.** International Journal of Hydrogen Energy. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2021.09.142>

KANCHANASUTA, S., PROMMEENATE, P., BOONAPATCHARONE, N., & PISUTPAISAL, N. (2017). **Stability of Clostridium butyricum in biohydrogen**

production from non-sterile food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(5), 3454–3465.

KHAN, A. A., GAUR, R. Z., TYAGI, V. K., KHURSHEED, A., LEW, B., MEHROTRA, I., & KAZMI, A. A. (2011). **Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: A review.** *Resources, Conservation and Recycling*, 55(12), 1232–1251. <https://doi.org/10.1016/J.RESCONREC.2011.05.017>

KIM, M., YANG, Y., MORIKAWA-SAKURA, M. S., WANG, Q., LEE, M. V., LEE, D. Y., FENG, C., ZHOU, Y., & ZHANG, Z. (2012). **Hydrogen production by anaerobic co-digestion of rice straw and sewage sludge.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(4), 3142–3149. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2011.10.116>

KIM, M., YANG, Y., MORIKAWA-SAKURA, M. S., WANG, Q., LEE, M. V., LEE, D. Y., FENG, C., ZHOU, Y., & ZHANG, Z. (2012). **Hydrogen production by anaerobic co-digestion of rice straw and sewage sludge.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(4), 3142–3149. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2011.10.116>

KONGJAN, P., JARIYABOON, R., & O-THONG, S. (2014). **Anaerobic digestion of skim latex serum (SLS) for hydrogen and methane production using a two-stage process in a series of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(33), 19343–19348. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.06.057>

KONGJAN, P., JARIYABOON, R., & O-THONG, S. (2014). **Anaerobic digestion of skim latex serum (SLS) for hydrogen and methane production using a two-stage process in a series of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(33), 19343–19348. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.06.057>

KRAEMER, J. T., & BAGLEY, D. M. (2007). **Improving the yield from fermentative hydrogen production.** *Biotechnology Letters*, 29(5), 685–695. <https://doi.org/10.1007/S10529-006-9299-9>

KRISHNAN, S., SINGH, L., SAKINAH, M., THAKUR, S., WAHID, Z. A., & SOHAILI, J. (2016). **Effect of organic loading rate on hydrogen (H₂) and methane (CH₄) production in two-stage fermentation under thermophilic conditions using palm oil mill effluent (POME).** *Energy for Sustainable Development*, 34, 130–138.

KRISHNAN, S., SINGH, L., SAKINAH, M., THAKUR, S., WAHID, Z. A., & GHRAYEB, O. A. (2017). **Role of organic loading rate in bioenergy generation from palm oil mill effluent in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket continuous-stirred tank reactor.** *Journal of Cleaner Production*, 142, 3044–3049.

KUDINOV, I. V., PIMENOV, A. A., KRYUKOV, Y. A., & MIKHEEVA, G. V. (2021). **A theoretical and experimental study on hydrodynamics, heat exchange and diffusion during methane pyrolysis in a layer of molten tin.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10183–10190.

KUMAR, G., BAKONYI, P., PERIYASAMY, S., KIM, S. H., NEMESTÓTHY, N., & BÉLAFI-BAKÓ, K. (2015). **Lignocellulose biohydrogen: Practical challenges and recent progress.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44(1), 728–737.

LAY, C. H., VO, T. P., LIN, P. Y., ABDUL, P. M., LIU, C. M., & LIN, C. Y. (2019). **Anaerobic hydrogen and methane production from low-strength beverage wastewater**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(28), 14351–14361. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2019.03.165>

LEVIN, D. B., ISLAM, R., CICEK, N., & SPARLING, R. (2006). **Hydrogen production by *Clostridium thermocellum* 27405 from cellulosic biomass substrates**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(11), 1496–1503.

LI, X., GUO, L., LIU, Y., WANG, Y., SHE, Z., GAO, M., & ZHAO, Y. (2020). **Effect of salinity and pH on dark fermentation with thermophilic bacteria pretreated swine wastewater**. *Journal of Environmental Management*, 271, 111023. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2020.111023>

LIN, C. Y., & LAY, C. H. (2004). **Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29(1), 41–45. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(03\)00083-1](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(03)00083-1)

LIN, C. Y., LAY, C. H., SEN, B., CHU, C. Y., KUMAR, G., CHEN, C. C., & CHANG, J. S. (2012). **Fermentative hydrogen production from wastewaters: A review and prognosis**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(20), 15632–15642.

LIN, C. Y., WU, C. C., & HUNG, C. H. (2008). **Temperature effects on fermentative hydrogen production from xylose using mixed anaerobic cultures**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(1), 43–50.

LOVATO, G., ALBANEZ, R., STRACIERI, L., RUGGERO, L. S., RATUSZNEI, S. M., & RODRIGUES, J. A. D. (2018). **Hydrogen production by co-digesting cheese whey and glycerin in an AnSBBR: Temperature effect**. *Biochemical Engineering Journal*, 138, 81–90. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2018.07.007>

MAAROFF, R. M., MD JAHIM, J., AZAHAR, A. M., ABDUL, P. M., MASDAR, M. S., NORDIN, D., & ABD NASIR, M. A. (2019). **Biohydrogen production from palm oil mill effluent (POME) by two stage anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) system for better utilization of carbon sources in POME**. *International Journal of Hydrogen Energy*, 3395–3406.

MAHMUD, S. S., AZAHAR, A. M., TAN, J. P., JAHIM, J. M., ABDUL, P. M., MASTAR, M. S., ANUAR, N., MOHAMMED YUNUS, M. F., ASIS, A. J., & WU, S. Y. (2019). **Operation performance of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) bioreactor for biohydrogen production by self-granulated sludge using pre-treated palm oil mill effluent (POME) as carbon source**. *Renewable Energy*, 134, 1262–1272.

MALOLAN, R., JAYARAMAN, R. S., ADITHYA, S., ARUN, J., GOPINATH, K. P., SUNDARRAJAN, P. S., NASIF, O., KIM, W., & GOVARTHANAN, M. (2021). **Anaerobic digestate water for *Chlorella pyrenoidosa* cultivation and employed as co-substrate with cow dung and chicken manure for methane and hydrogen production: A closed loop approach**. *Chemosphere*, 266, 128963. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128963>

MAMIMIN, C., CHAIKITKAEW, S., NIYASOM, C., KONGJAN, P., & O-THONG, S. (2015). **Effect of Operating Parameters on Process Stability of Continuous Biohydrogen Production from Palm Oil Mill Effluent under Thermophilic Condition.** *Energy Procedia*, 79, 815–821.

MARBANIANG, P., INGAVALE, S., KARUPPANAN, P., SWAMI, A., & KAKADE, B. (2021). **Rationale approach of nitrogen doping at defect sites of multiwalled carbon nanotubes: A strategy for oxygen reduction electrocatalysis.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10268–10280.

MATEUS, S., CARVALHEIRA, M., CASSIDY, J., FREITAS, E., OEHMEN, A., & REIS, M. A. M. (2020). **Two-stage anaerobic digestion system treating different seasonal fruit pulp wastes: Impact on biogas and hydrogen production and total energy recovery potential.** *Biomass and Bioenergy*, 141, 105694. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2020.105694>

MISHRA, P., THAKUR, S., SINGH, L., AB WAHID, Z., & SAKINAH, M. (2016). **Enhanced hydrogen production from palm oil mill effluent using two stage sequential dark and photo fermentation.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(41), 18431–18440.

MOHAMMADI, P., IBRAHIM, S., & MOHAMAD ANNUAR, M. S. (2014). **High-rate fermentative hydrogen production from palm oil mill effluent in an up-flow anaerobic sludge blanket-fixed film reactor.** *Chemical Engineering Research and Design*, 92(10), 1811–1817.

MOHAMMADI, P., IBRAHIM, S., ANNUAR, M. S. M., KHASHIJ, M., MOUSAVI, S. A., & ZINATIZADEH, A. (2017). **Optimization of fermentative hydrogen production from palm oil mill effluent in an up-flow anaerobic sludge blanket fixed film bioreactor.** *Sustainable Environment Research*, 27(5), 238–244. <https://doi.org/10.1016/J.SERJ.2016.04.015>

MOHAMMADI, P., IBRAHIM, S., ANNUAR, M. S. M., KHASHIJ, M., MOUSAVI, S. A., & ZINATIZADEH, A. (2017). **Optimization of fermentative hydrogen production from palm oil mill effluent in an up-flow anaerobic sludge blanket fixed film bioreactor.** *Sustainable Environment Research*, 27(5), 238–244.

MOHAMMADI, P., IBRAHIM, S., MOHAMAD ANNUAR, M. S., & LAW, S. (2011). **Effects of different pretreatment methods on anaerobic mixed microflora for hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent.** *Journal of Cleaner Production*, 19(14), 1654–1658.

NAGARAJAN, D., CHANG, J. S., & LEE, D. J. (2020). **Pretreatment of microalgal biomass for efficient biohydrogen production – Recent insights and future perspectives.** *Bioresource Technology*, 302, 122871. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.122871>

NASR, N., ELBESHISHY, E., HAFEZ, H., NAKHLA, G., & EL NAGGAR, M. H. (2011). **Bio-hydrogen production from thin stillage using conventional and acclimatized anaerobic digester sludge.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(20), 12761–12769. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2011.07.032>

O-THONG, S., PRASERTSAN, P., INTRASUNGKHA, N., DHAMWICHUKORN, S., & BIRKELAND, N. K. (2007). **Improvement of biohydrogen production and treatment efficiency on palm oil mill effluent with nutrient supplementation at thermophilic condition using an anaerobic sequencing batch reactor.** *Enzyme and Microbial Technology*, 41(5), 583–590.

O-THONG, S., SUKSONG, W., PROMNUAN, K., THIPMUNEE, M., MAMIMIN, C., & PRASERTSAN, P. (2016). **Two-stage thermophilic fermentation and mesophilic methanogenic process for biohythane production from palm oil mill effluent with methanogenic effluent recirculation for pH control.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(46), 21702–21712.

QIAN, C. X., CHEN, L. Y., RONG, H., & YUAN, X. M. (2011). **Hydrogen production by mixed culture of several facultative bacteria and: Anaerobic bacteria.** *Progress in Natural Science: Materials International*, 21(6), 506–511.

RAMA MOHAN, S. (2015). **Structure and growth of research on biohydrogen generation using wastewater.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(46), 16056–16069. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2015.08.072>

RAMOS, L. R., & SILVA, E. L. (2020). **Thermophilic hydrogen and methane production from sugarcane stillage in two-stage anaerobic fluidized bed reactors.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(8), 5239–5251. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2019.05.025>

RATTI, R. P., DELFORNO, T. P., SAKAMOTO, I. K., & VARESCHE, M. B. A. (2015). **Thermophilic hydrogen production from sugarcane bagasse pretreated by steam explosion and alkaline delignification.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(19), 6296–6306.

RENAUDIE, M., CLION, V., DUMAS, C., VUILLEUMIER, S., & ERNST, B. (2021). **Intensification and optimization of continuous hydrogen production by dark fermentation in a new design liquid/gas hollow fiber membrane bioreactor.** *Chemical Engineering Journal*, 416, 129068. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2021.129068>

REUNGSANG, A., SITTIJUNDA, S., & O-THONG, S. (2013). **Bio-hydrogen production from glycerol by immobilized *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 on heat-treated UASB granules as affected by organic loading rate.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(17), 6970–6979. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2013.03.082>

ROSA, P. R. F., GOMES, B. C., VARESCHE, M. B. A., & SILVA, E. L. (2016). **Characterization and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from fermentative bioreactors during hydrogen production using cassava processing wastewater.** *Chemical Engineering Journal*, 284, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2015.08.088>

SANTOS, S. C., FERREIRA ROSA, P. R., SAKAMOTO, I. K., AMÂNCIO VARESCHE, M. B., & SILVA, E. L. (2014). **Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of**

diluted sugar cane stillage. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(17), 9000–9011. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.03.241>

SARAVANAN, A., KUMAR, P. S., MAT ARON, N. S., JEEVANANTHAM, S., KARISHMA, S., YAASHIKAA, P. R., CHEW, K. W., & SHOW, P. L. (2021). **A review on bioconversion processes for hydrogen production from agro-industrial residues.** *International Journal of Hydrogen Energy*. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2021.08.055>

SATTAR, A., ARSLAN, C., JI, C., SATTAR, S., UMAIR, M., SATTAR, S., & BAKHT, M. Z. (2016). **Quantification of temperature effect on batch production of bio-hydrogen from rice crop wastes in an anaerobic bio reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(26), 11050–11061. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2016.04.087>

SEENGENYOUNG, J., MAMIMIN, C., PRASERTSAN, P., & O-THONG, S. (2019). **Pilot-scale of biohythane production from palm oil mill effluent by two-stage thermophilic anaerobic fermentation.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(6), 3347–3355.

SHAO, W., WANG, Q., RUPANI, P. F., KRISHNAN, S., AHMAD, F., REZANIA, S., RASHID, M. A., SHA, C., & MD DIN, M. F. (2020). **Biohydrogen production via thermophilic fermentation: A prospective application of *Thermotoga* species.** *Energy*, 197, 117199. <https://doi.org/10.1016/J.ENERGY.2020.117199>

SHI, C., & MAIMAITIYIMING, X. (2021). **Three dimensional nitrogen, phosphorus and sulfur doped porous graphene as efficient bifunctional electrocatalysts for direct methanol fuel cell.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10247–10258.

SHI, X. Y., JIN, D. W., SUN, Q. Y., & LI, W. W. (2010). **Optimization of conditions for hydrogen production from brewery wastewater by anaerobic sludge using desirability function approach.** *Renewable Energy*, 35(7), 1493–1498. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2010.01.003>

SINGH, L., WAHID, Z. A., SIDDIQUI, M. F., AHMAD, A., RAHIM, M. H. A., & SAKINAH, M. (2013). **Application of immobilized upflow anaerobic sludge blanket reactor using *Clostridium* LS2 for enhanced biohydrogen production and treatment efficiency of palm oil mill effluent.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(5), 2221–2229.

SINGH, M. S.; SRIVASTAVA, R. K. **Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review.** *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* 2011; 6: 3–13.

SIVAGURUNATHAN, P., ANBURAJAN, P., KUMAR, G., & KIM, S. H. (2016). **Effect of hydraulic retention time (HRT) on biohydrogen production from galactose in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(46), 21670–21677.

SIVAGURUNATHAN, P., KUMAR, G., BAKONYI, P., KIM, S. H., KOBAYASHI, T., XU, K. Q., LAKNER, G., TÓTH, G., NEMESTÓTHY, N., & BÉLAFI-BAKÓ, K. (2016).

A critical review on issues and overcoming strategies for the enhancement of dark fermentative hydrogen production in continuous systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(6), 3820–3836.

SREELA-OR, C., PLANGKLANG, P., IMAI, T., & REUNGSANG, A. (2011). **Co-digestion of food waste and sludge for hydrogen production by anaerobic mixed cultures: Statistical key factors optimization.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(21), 14227–14237.
<https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2011.05.145>

SUN, J., FENG, H., XU, J., JIN, H., & GUO, L. (2021). **Investigation of the conversion mechanism for hydrogen production by coal gasification in supercritical water.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10205–10215.

SUN, J., FENG, H., XU, J., JIN, H., & GUO, L. (2021). **Investigation of the conversion mechanism for hydrogen production by coal gasification in supercritical water.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(17), 10205–10215.

TAIT, S., HARRIS, P. W., & MCCABE, B. K. (2021). **Biogas recovery by anaerobic digestion of Australian agro-industry waste: A review.** *Journal of Cleaner Production*, 299, 126876. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.126876>

TAIT, S., HARRIS, P. W., & MCCABE, B. K. (2021). **Biogas recovery by anaerobic digestion of Australian agro-industry waste: A review.** *Journal of Cleaner Production*, 299, 126876. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.126876>

TAWFIK, A., & EL-QELISH, M. (2012). **Continuous hydrogen production from co-digestion of municipal food waste and kitchen wastewater in mesophilic anaerobic baffled reactor.** *Bioresource Technology*, 114, 270–274.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.02.016>

TENA, M., PEREZ, M., & SOLERA, R. (2021). **Effect of hydraulic retention time on hydrogen production from sewage sludge and wine vinasse in a thermophilic acidogenic CSTR: A promising approach for hydrogen production within the biorefinery concept.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(11), 7810–7820. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2020.11.258>

TIANG, M. F., FITRI HANIPA, M. A., ABDUL, P. M., JAHIM, J. M. D., MAHMUD, S. S., TAKRIFF, M. S., LAY, C. H., REUNGSANG, A., & WU, S. Y. (2020). **Recent advanced biotechnological strategies to enhance photo-fermentative biohydrogen production by purple non-sulphur bacteria: An overview.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(24), 13211–13230.

VAFAEIFARD, M., IBRAHIM, S., WONG, K. T., PASBAKSH, P., PICHIAH, S., CHOI, J., YOON, Y., & JANG, M. (2019). **Novel self-assembled 3D flower-like magnesium hydroxide coated granular polyurethane: Implication of its potential application for the removal of heavy metals.** *Journal of Cleaner Production*, 216, 495–503.

- VENKATA MOHAN, S., AGARWAL, L., MOHANAKRISHNA, G., SRIKANTH, S., KAPLEY, A., PUROHIT, H. J., & SARMA, P. N. (2011). **Firmicutes with iron dependent hydrogenase drive hydrogen production in anaerobic bioreactor using distillery wastewater.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(14), 8234–8242. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2011.04.021>
- WANG, H., FANG, M., FANG, Z., & BU, H. (2010). **Effects of sludge pretreatments and organic acids on hydrogen production by anaerobic fermentation.** *Bioresource Technology*, 101(22), 8731–8735. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.06.131>
- WANG, J., & WAN, W. (2009). **Factors influencing fermentative hydrogen production: A review.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(2), 799–811.
- WANG, J., & YIN, Y. (2017). **Principle and application of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from mixed cultures.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(8), 4804–4823.
- WANG, J., & YIN, Y. (2018). **Fermentative hydrogen production using various biomass-based materials as feedstock.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 284–306. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2018.04.033>
- WANG, J., & YIN, Y. (2018). **Fermentative hydrogen production using various biomass-based materials as feedstock.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 284–306. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2018.04.033>
- XIE, L., DONG, N., WANG, L., & ZHOU, Q. (2014). **Thermophilic hydrogen production from starch wastewater using two-phase sequencing batch fermentation coupled with UASB methanogenic effluent recycling.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(36), 20942–20949. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.10.049>
- XU, R., YANG, Z. H., ZHENG, Y., ZHANG, H. B., LIU, J. B., XIONG, W. P., ZHANG, Y. R., & AHMAD, K. (2017). **Depth-resolved microbial community analyses in the anaerobic co-digester of dewatered sewage sludge with food waste.** *Bioresource Technology*, 244, 824–835.
- YADAV, S., SINGH, V., MAHATA, C., & DAS, D. (2021). **Optimization for simultaneous enhancement of biobutanol and biohydrogen production.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(5), 3726–3741. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2020.10.267>
- YAN, B. H., SELVAM, A., & WONG, J. W. C. (2020). **Bio-hydrogen and methane production from two-phase anaerobic digestion of food waste under the scheme of acidogenic off-gas reuse.** *Bioresource Technology*, 297, 122400. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.122400>
- YANG, G., & WANG, J. (2017). **Enhanced Hydrogen Production from Sewage Sludge by Co-fermentation with Forestry Wastes.** *Energy and Fuels*, 31(9), 9633–9641. <https://doi.org/10.1021/ACS.ENERGYFUELS.7B02135>

YANG, G., & WANG, J. (2018). **Enhancement of biohydrogen production from grass by ferrous ion and variation of microbial community.** *Fuel*, 233, 404–411.

YANG S., MA, K., LIU, Z. (2021). **Sustainable waste management: valorization of waste for biohydrogen production.** *School of Energy Science and Engineering, Central South University, Changsha, Hunan, China*

YIN, Y., HU, J., & WANG, J. (2014). **Enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge by different pretreatment methods.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(25), 13550–13556.

<https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.01.145>

ZHOU, P., ELBESHISHY, E., & NAKHLA, G. (2013). **Optimization of biological hydrogen production for anaerobic co-digestion of food waste and wastewater biosolids.** *Bioresource Technology*, 130, 710–718.

<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.12.069>

ZIARA, R. M. M., MILLER, D. N., SUBBIAH, J., & DVORAK, B. I. (2019). **Lactate wastewater dark fermentation: The effect of temperature and initial pH on biohydrogen production and microbial community.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(2), 661–673. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2018.11.045>

ZINATIZADEH, A. A. L., MOHAMED, A. R., ABDULLAH, A. Z., MASHITAH, M. D., HASNAIN ISA, M., & NAJAFPOUR, G. D. (2006). **Process modeling and analysis of palm oil mill effluent treatment in an up-flow anaerobic sludge fixed film bioreactor using response surface methodology (RSM).** *Water Research*, 40(17), 3193–3208.

ZINATIZADEH, A. A. L., MOHAMED, A. R., NAJAFPOUR, G. D., HASNAIN ISA, M., & NASROLLAHZADEH, H. (2006). Kinetic evaluation of palm oil mill effluent digestion in a high rate up-flow anaerobic sludge fixed film bioreactor. *Process Biochemistry*, 41(5), 1038–1046.

ZINATIZADEH, A. A., MIRGHORAYSHI, M., BIRGANI, P. M., MOHAMMADI, P., & IBRAHIM, S. (2017). **Influence of thermal and chemical pretreatment on structural stability of granular sludge for high-rate hydrogen production in an UASB bioreactor.** *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(32), 20512–20519. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2017.07.029>