



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ENERGIA

SOFIA LUCK TEIXEIRA

**PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE-
AÇÚCAR: Influência da Pressão Parcial de Hidrogênio no Sistema.**

Recife - PE

2025



CARACTERIZAÇÃO E SIMULAÇÃO DE RESERVATÓRIOS, ENERGIAS RENOVÁVEIS
E BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Apoio



Gestão



Autora: _____

SOFIA LUCK TEIXERA

**PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE-
AÇÚCAR: Influência da Pressão Parcial de Hidrogênio no Sistema.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Energia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Energia.

Orientador: _____

Prof. Dr. Emmanuel Dutra

Universidade Federal de Pernambuco

Coorientador: _____

Msc. Felipe Filgueiras

Universidade Federal de Pernambuco

Recife - PE

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Teixeira, Sofia Luck.

Produção de biohidrogênio a partir da vinhaça de cana-de-açúcar: influência da pressão parcial de hidrogênio no sistema / Sofia Luck Teixeira. - Recife, 2025.

46 : il., tab.

Orientador(a): Emmanuel Dutra

Coorientador(a): Felipe Filgueiras

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Engenharia de Energia - Bacharelado, 2025.

Inclui referências.

1. biodigestão anaeróbia. 2. biohidrogênio. 3. cana-de-açúcar. 4. energia. 5. pressão parcial. 6. vinhaça. I. Dutra, Emmanuel. (Orientação). II. Filgueiras, Felipe . (Coorientação). IV. Título.

620 CDD (22.ed.)

SOFIA LÜCK TEIXEIRA

**PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO A PARTIR DA VINHAÇA DE CANA-DE-
AÇÚCAR: Influência da Pressão Parcial de Hidrogênio no Sistema.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Energia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Energia.

Aprovado em: 07/04/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Costa (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Allan Albuquerque (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, Fred e Renata, pelo incentivo, apanhados e oportunidades que me proporcionam e que já me proporcionaram, obrigada.

Obrigada aos meus irmãos: Nato, Cas e Frê. Que sempre param pra me escutar, mesmo que seja para falar de ideias aleatórias, problemas ou babados. Agradeço o tempo, conselhos, animos e cafés.

Agradecer, também, aos meus amigos, pela compreensão e apoio. Em especial, a Galera de Sofia (e Agregados), que foram os melhores companheiros que eu poderia sonhar em ter ao longo desses anos. Sem vocês, não sei o que seria de mim ao longo dessa jornada. Espero sempre poder contar com vocês.

O Time Caprótico, não poderia faltar. Tive a oportunidade de trabalhar com a equipe mais animada dessa universidade, que mesmo com os sufocos (e foram muitos) ninguém tirava o sorriso do rosto e não desistia. Venho agradecer principalmente: ao meu coorientador de TCC, Felipe Figueiras, sempre rápido, eficiente e amigo; Carolzinha, a minha dupla e grande amiga; Thaise, pelos ensinamentos e apoio; Fabrício Lima, por me ensinar a ter paciência; E a todos que entraram ou saíram, fazendo parte disso, obrigada por tanto.

Além disso, agradeço a Bruna Fernandes por acreditar em mim e me arrastar para o PRH, fazer pesquisa e me fazer acreditar que consigo lidar com tudo.

E sou muito grata a Savia Gavazza, que foi minha orientadora de pesquisa, sempre crítica e estimada, me mostrando que preciso ver além do usual. Aprendi muito, obrigada.

Agradeço fortemente aos técnicos do LSA, vocês são incríveis.

Gostaria de dar o meu grande obrigado a todos os professores do meu curso, os quais contribuíram fortemente para o meu desenvolvimento ao longo da graduação. Em especial, agradeço a Alexandre Costa e Renata Santos por sempre me incentivarem, José Araújo e Antônio Antonino por sempre arrumarem tempo para me ouvir e ajudar, Jair Bezerra e Emerson Torres pelo grande apoio, e Emmanuel Dutra, por aceitar ser o meu Orientador e me mostrar pela primeira vez o potencial do hidrogênio.

À Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP, à Financiadora de Estudos e Projetos - FINEP e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, por meio do Programa de Formação de Recursos

Humanos da ANP para o Setor de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP/FINEP, suportado com recursos provenientes do investimento de empresas petrolíferas qualificadas nas Cláusulas da Resolução ANP Nº 50/2015. Em particular ao PRH 48.1 “Caracterização e Simulação de Reservatórios, Energias Renováveis e Biotecnologia Ambiental” (PROCESSOS ANP Nº48610.201019/2019-38 e FAPESP Nº2024/10544-2), sediado no Departamento de Energia Nuclear do Centro de Tecnologia e Geociências da UFPE, pelo apoio financeiro.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a conclusão desse trabalho e ao meu desenvolver nessa graduação. Muito obrigada!

“[...] A Ilha Desconhecida fez-se enfim ao mar, à procura de si mesma.” (Saramago, 2016, p. 62).

RESUMO

A produção de biohidrogênio a partir da vinhaça da cana-de-açúcar representa uma alternativa sustentável para o aproveitamento de resíduos agroindustriais. Este trabalho investigou, em escala de microcosmos, o efeito da pressão parcial de hidrogênio na eficiência da biodigestão anaeróbia, utilizando a vinhaça como substrato e a manipueira como inóculo previamente tratado termicamente. Dois grupos experimentais foram analisados: um com purga periódica do gás (remoção do bioH₂ da atmosfera) e outro sem purga. Os resultados mostraram que a condição com purga apresentou maior produção de H₂, atingindo até 71% da eficiência teórica, enquanto a condição sem purga alcançou cerca de 50%. A ausência de metano nas análises confirmou a eficácia do pré-tratamento aplicado. Os dados reforçam o potencial da vinhaça como fonte energética renovável, evidenciam a importância do controle da pressão parcial de hidrogênio para otimização da produção de bioH₂ e destacam o papel estratégico da digestão anaeróbia na transição para uma matriz energética mais limpa e circular.

Palavras-chave: biodigestão anaeróbia; biohidrogênio; cana-de-açúcar; energia; pressão parcial; vinhaça.

ABSTRACT

The production of biohydrogen from sugarcane vinasse represents a sustainable alternative for the use of agro-industrial residues. This study investigated, on a microcosm scale, the effect of hydrogen partial pressure on the efficiency of anaerobic digestion, using vinasse as the substrate and manipueira as the thermally pre-treated inoculum. Two experimental groups were analyzed: one with periodic gas purging (removal of bioH₂ from the atmosphere) and one without purging. The results showed that the purged condition yielded higher H₂ production, reaching up to 71% of the theoretical efficiency, while the non-purged condition reached about 50%. The absence of methane in the analyses confirmed the effectiveness of the applied pre-treatment. The data reinforce the potential of vinasse as a renewable energy source, highlight the importance of hydrogen partial pressure control for optimizing bioH₂ production, and emphasize the strategic role of anaerobic digestion in the transition to a cleaner and more circular energy matrix.

Keywords: anaerobic digestion; biohydrogen; energy; partial pressure; sugarcane; vinasse.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1 – | Processos de produção de Hidrogênio | 20 |
| Figura 2 – | Fluxograma Resumo: Cana-de-Açúcar à Digestão Anaeróbia | 24 |
| Figura 3 – | Ilustração do Reator | 31 |
| Figura 4 – | Produção de BioH ₂ | 35 |
| Figura 5 – | Produção de Hidrogênio | 36 |
| Figura 6 – | Comparação Observado x Predito para Condições A e B | 37 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Caracterização da Vinhaça de Cana-de-Açúcar | 29 |
| Tabela 2 – Produção Teórica de Hidrogênio | 34 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1 | OBJETIVO | 15 |
| 1.1.1 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 15 |
| 2 | CONCEITOS PRELIMINARES | 17 |
| 2.1 | BIODIGESTÃO ANAERÓBIA | 17 |
| 2.2 | INÓCULOS | 17 |
| 2.3 | SUBSTRATO | 18 |
| 2.4 | VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR | 18 |
| 2.5 | MANIPUEIRA | 18 |
| 2.6 | BIOHIDROGÊNIO (bioH₂) | 19 |
| 2.7 | MICROCOSMOS | 19 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 20 |
| 3.1 | HIDROGÊNIO | 20 |
| 3.2 | PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO POR BIODIGESTÃO ANAERÓBIA | 21 |
| 3.2.1 | pH | 22 |
| 3.2.2 | TEMPERATURA | 22 |
| 3.2.3 | CONCENTRAÇÃO E TIPO DE SUBSTRATO | 23 |
| 3.2.3.1 | VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR | 24 |
| 3.2.4 | TIPO E PRÉ-TRATAMENTO DO INÓCULO | 25 |
| 3.2.4.1 | MANIPUEIRA | 25 |
| 3.2.5 | ROTAS METABÓLICAS | 26 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 4.1 | MÉTODOS ANALÍTICOS | 28 |
| 4.2 | REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NAS ANÁLISES | 28 |
| 4.3 | INÓCULO | 29 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.4 | SUBSTRATO | 29 |
| 4.5 | CINÉTICA | 30 |
| 4.6 | EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE BIOH₂ | 31 |
| 4.7 | HIDROGÊNIO TEÓRICO E EFICIÊNCIA TEÓRICA | 32 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 34 |
| 6 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 40 |
| | REFERÊNCIAS | 42 |

1. INTRODUÇÃO

O etanol se tornou um dos principais combustíveis do mundo depois das grandes crises do petróleo e da assinatura do Protocolo de Kyoto (Michellon et al., 2008). Com isso, e se aproveitando da cultura agrária historicamente desenvolvida no Brasil – a cana-de-açúcar – foi realizada uma política nacional denominada Pró-Ácool, um programa do governo brasileiro para substituição dos carros movidos por derivados de petróleo pelos movidos à álcool, obtendo consequências permanentes: a melhoria nas condições socioambientais, diminuição da dependência brasileira do petróleo e a maior flexibilidade na produção de açúcar, além da alternativa renovável que trouxe para o setor energético do Estado.

Assim, o Pró-Ácool teve forte adesão no Brasil, como o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com grande destaque para a produção do nordeste do Estado e em São Paulo. À vista disso, é uma matéria prima que possui altos percentuais utilizados para a geração de bioetanol, sendo esse produto produzido no país valores próximos de 30 bilhões de litros por ano (CONAB, 2024).

O bioetanol é um combustível produzido mediante a fermentação da sacarose ou de outros açúcares de origem vegetal (Kohlhepp, 2010), causando em média 80% menos gases de efeito estufa na atmosfera se for especificamente proveniente da cana-de-açúcar do que a gasolina. Apesar de ser renovável e mais sustentável, o álcool etílico produz bastante rejeitos, um dos principais é a vinhaça, foco deste estudo.

De forma geral, a vinhaça é o resíduo pastoso, com odor forte e fétido que sobra após a destilação fracionada do caldo de cana-de-açúcar fermentado, para a obtenção do etanol. De acordo com Poveda (2014), no Brasil, considerando à proporção que para cada litro de álcool produzido, são gerados, em média, 12 litros de vinhaça como resíduo, se tornando evidente a necessidade de um reaproveitamento energético.

Atualmente esse resíduo costuma ser utilizado pelas usinas sucroalcooleiras para fertirrigação no cultivo da cana-de-açúcar, pois nele existe elevadas concentrações de nitratos, potássio e matéria orgânica, o que ocasiona em uma maior produtividade agrícola e reduz o uso de fertilizantes químicos. Contudo, tal destino libera gases de efeito estufa na atmosfera, além de, ao longo do tempo promover o aumento das concentrações de determinados compostos e alterar a capacidade do

solo em trocar e reter íons, provocando modificações nas propriedades físicas e químicas da área, podendo contaminar o lençol freático ou águas superficiais (Silva et al., 2006).

Dessa forma, é fundamental o desenvolvimento de uma solução viável que tenha como base este efluente orgânico, para colocar o destino da fertirrigação em segundo plano, ao mesmo tempo que gere menos poluentes ao ecossistema. Além disso, o alto teor de matéria orgânica torna a vinhaça atrativa para ser utilizada como substrato em processos biotecnológicos (Poveda, 2014).

Entre esses, o processo de biodigestão anaeróbia, se destaca degradando compostos orgânicos, na ausência de oxigênio, em substâncias mais simples como hidrogênio (H_2), gás carbônico (CO_2), ácidos, metano (CH_4) e outros compostos. Dessa forma, utilizando a vinhaça de cana-de-açúcar é possível obter H_2 , composto versátil, que pode ser utilizado como combustível, é leve, possui alto poder calorífico, não gera poluição ao sofrer o processo de combustão e é mais valorizado no mercado, sendo considerado uma alternativa promissora no setor energético para as próximas décadas por promover a aceleração da transição energética em segmentos de difícil descarbonização como é o caso de transportes pesados, aquaviário, aviação, fertilizantes e siderurgia (EPE, 2021).

Nesse contexto, a aplicação da vinhaça de cana-de-açúcar para a geração de H_2 requer pesquisas de desenvolvimento e otimização do processo de biodigestão anaeróbia deste resíduo. Com o seu aperfeiçoamento, permite a conversão da matéria orgânica em $bioH_2$ de forma mais eficiente, mitigando impactos ambientais e promovendo a economia circular ao transformar resíduos em uma fonte de energia limpa e renovável, proposta que busca ser promovida neste trabalho.

1.1 OBJETIVO

Avaliar a influência da pressão parcial de hidrogênio na produção de $BioH_2$ utilizando vinhaça da produção de etanol de primeira geração em ensaios de microcosmos.

1.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as condições operacionais ótimas para a produção de $bioH_2$;
- Analisar a influência da pressão parcial no sistema;

- Analisar a aplicação da vinhaça como substrato e da manipueira como inóculo na produção de H_2 ;
- Avaliar a aplicação do tratamento térmico no inóculo para a produção de H_2 ;

2 CONCEITOS PRELIMINARES

Este capítulo apresenta alguns dos conceitos fundamentais para a compreensão deste trabalho, abordando temas fora do escopo tradicional da Engenharia.

2.1 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA

Biodigestão anaeróbia é um processo biológico no qual microrganismos decompõem matéria orgânica na ausência de oxigênio, podendo produzir, bioH_2 , metano, e outros compostos, além do digestato. Assim, o processo é marcado por quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. A fermentação escura, análoga ao processo de biodigestão anaeróbia tem como etapa final a hidrólise, onde moléculas complexas são decompostas em compostos simples, liberando H_2 e CO_2 na atmosfera. Já na acidogênese, os açúcares, aminoácidos e alguns ácidos orgânicos simples são convertidos principalmente em ácidos graxos voláteis. Enquanto na acetogênese, quando a biodigestão anaeróbia avança para estágios posteriores e a fermentação escura deixa de acontecer, esses intermediários são transformados em substratos para a metanogênese, onde arqueias metanogênicas produzem metano e dióxido de carbono (Meegoda et al, 2018; Chen, 2008).

Com isso, fatores como temperatura, pH, relação carbono/nitrogênio e carga orgânica influenciam diretamente a eficiência do processo de digestão anaeróbia, sendo a estabilidade e o controle desses parâmetros essenciais para garantir eficiência satisfatória dos sistemas (Sá et al., 2014).

2.2 INÓCULOS

Inóculos são materiais biológicos naturalmente ricos em microrganismos, os quais são essenciais para iniciar ou acelerar processos biológicos, como no processo de biodigestão anaeróbia. A escolha do inóculo adequado é crucial para obter maiores produções e garantir as rotas metabólicas desejadas, pois cada tipo de inóculo apresenta características específicas que podem influenciar a eficiência e a velocidade do processo (Lopes et al., 2004).

2.3 SUBSTRATO

O substrato é o material utilizado como fonte de nutrientes e energia em processos biológicos, como a biodigestão anaeróbia. Ele serve como alimento para os microrganismos envolvidos no processo, permitindo a produção de subprodutos como gases e digestato, sendo a escolha do substrato um dos fatores mais importantes para o sucesso do processo, pois sua composição química, quantidade e características físicas afetam diretamente a eficiência da conversão e a qualidade dos produtos gerados (Ginkel, 2001).

2.4 VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR

A vinhaça de cana-de-açúcar é um subproduto gerado durante o processo de destilação do etanol, resultante da fermentação do caldo da cana, é composto majoritariamente por água, mas também contém altos teores de matéria orgânica, potássio, cálcio, magnésio, enxofre e outros nutrientes, além de ácidos orgânicos e compostos fenólicos (Searmsirimongkol et al, 2011). Nesse sentido, devido à sua composição, pode ser reaproveitada em processos como biodigestão anaeróbia para geração de metano e H₂, além de ser utilizada como fertilizante ou suplemento nutricional para a alimentação animal. Seu manejo adequado é fundamental para reduzir impactos ambientais e otimizar a eficiência da cadeia produtiva da cana (Poveda, 2014).

2.5 MANIPUEIRA

Manipueira é o resíduo líquido resultante do processamento da mandioca, particularmente durante a etapa de prensagem para extração do amido. Assim, é um subproduto agroindustrial amplamente produzido em fábricas de farinha e casas de processamento de mandioca (Wosiacki e Cereda, 2002). Apesar de ser um efluente potencialmente poluente, a manipueira tem grande potencial de aproveitamento devido à sua composição rica em nutrientes e compostos orgânicos.

Do ponto de vista ambiental, a manipueira é considerada um efluente de alta carga poluidora por conter compostos como carboidratos, proteínas e cianeto livre (Cereda et al, 2001). Se descartada de forma inadequada, pode causar impactos significativos em corpos d'água e no solo, incluindo contaminação e eutrofização. No entanto, quando tratada ou reaproveitada, pode se tornar um recurso valioso.

2.6 BIOHIDROGÊNIO (bioH₂)

BioH₂ é um tipo de H₂ produzido por processos biológicos que convertem matéria orgânica em gás H₂. Podendo ocorrer por diferentes métodos biológicos, os quais utilizam microrganismos específicos para converter compostos orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídios) em produtos mais simples e H₂, aproveitando recursos como luz solar ou matéria orgânica abundante (Sá et al., 2014).

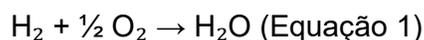
2.7 MICROCOSMOS

Microcosmos são sistemas experimentais em escala reduzida que simulam condições ambientais naturais para estudar processos biológicos, químicos ou físicos em ambientes controlados. Com isso, são amplamente utilizados em pesquisas científicas, permitindo explorar fenômenos complexos de forma simplificada e reproduzível, além de testar hipóteses com maior controle sobre variáveis como temperatura, pH, composição do substrato e concentração de gases, permitindo realizar experimentos com menos recursos e em menos tempo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HIDROGÊNIO

O H₂ é a molécula mais simples e abundante do universo, composta por dois átomos de hidrogênio ligados por uma ligação covalente simples (Grabowski, 2011). Ainda, é um gás diatômico incolor, inodoro e altamente inflamável, que apresenta baixa densidade, alta reatividade e pode existir em diferentes formas alotrópicas. Assim, suas propriedades físico-químicas incluem uma baixa temperatura de liquefação (-252,87°C), o que impõe desafios para seu armazenamento e transporte, e alto poder calorífico (142 kJ g⁻¹), tornando-o uma excelente fonte de energia (Balat e Kirtay, 2010). Além disso, emite apenas água como subproduto de sua combustão direta (Equação 1), gerando menos poluentes através do seu consumo direto como energia.



A produção de H₂ pode ser realizada por diferentes métodos, que variam em eficiência, custo e impacto ambiental. Assim, possui várias classificações, elencadas a partir da sua forma de geração em cores relacionadas ao seu grau de sustentabilidade, como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 – Processos de produção de Hidrogênio

| Cor | Resumo do processo de produção do hidrogênio |
|---|---|
|  | Gaseificação do carvão mineral (sem CCUS*); |
|  | Reforma a vapor do gás natural (sem CCUS*); |
|  | Reforma a vapor do gás natural (com CCUS*); |
|  | Pirólise do metano (sem CO ₂); |
|  | Eletrólise da água com energia de fontes renováveis (eólia/solar); |
|  | Reformas catalíticas, gaseificação ou biodigestão anaeróbia de biomassa ou biocombustíveis; |
|  | Energia nuclear como fonte; |
|  | Energia da rede elétrica, composta por diversas fontes; |
|  | Extração do H ₂ natural ou geológico; |

*CCUS: Carbon Capture, Utilization and Storage

Fonte: Autora (2024). Adaptado de Bases para a Consolidação da Estratégia Brasileira do Hidrogênio (EPE, 2021)

Atualmente, as principais rotas de produção são a reforma a vapor do gás natural e a gaseificação do carvão, essas formas de produção, conhecidas como H₂ cinza, são economicamente viáveis, mas contribuem significativamente para o aumento das emissões de gases de efeito estufa (EPE, 2021).

Com isso, métodos mais sustentáveis vêm sendo desenvolvidos e aperfeiçoados, como a eletrólise da água, que utiliza eletricidade para decompor a molécula de H₂O em H₂ e oxigênio. Quando a eletricidade é proveniente de fontes renováveis, como solar ou eólica, o H₂ produzido é chamado de H₂ verde, uma opção promissora para a transição energética (EPE, 2021; Nikolaidis e Poullikkas, 2017). Outras tecnologias emergentes incluem a fotocatálise, que utiliza luz solar para a separação da água, e a produção biológica por meio de microrganismos que, apesar do alto custo atual dessas alternativas, investimentos em pesquisa e desenvolvimento vêm tornando essas rotas mais competitivas e estratégicas para um futuro sustentável (Kotay e Das, 2008). Dessa forma, quando produzido de forma limpa, o H₂ pode substituir os combustíveis fósseis em diversos setores, contribuindo significativamente para a descarbonização da economia, e sua versatilidade permite aplicações que vão desde a geração de eletricidade em células a combustível até seu uso como matéria-prima na indústria química e siderúrgica.

Apesar do grande potencial, a implementação do H₂ enfrenta desafios como custos elevados de produção, necessidade de infraestrutura específica para transporte e armazenamento, e eficiência energética para sua conversão. No entanto, avanços tecnológicos e políticas de incentivo, como investimentos em pesquisa e desenvolvimento e subsídios para a produção sustentável, estão acelerando sua competitividade no mercado. Além disso, nas últimas décadas, pesquisas vêm explorando processos biológicos para a geração de H₂, promovendo a sustentabilidade por meio do reuso de resíduos em biotecnologia energética, que promovem o reuso de compostos orgânicos e buscam reduzir o tempo de produção dos produtos (Perera et al., 2012; Das e Veziroglu, 2008).

3.2 PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO POR BIODIGESTÃO ANAERÓBIA

É possível produzir H₂ biológico interrompendo parte do processo de biodigestão anaeróbia, antes da fase de acetogênese, obtendo-se um processo

chamado de fermentação escura, onde diversos parâmetros devem ser cuidadosamente considerados, como concentração de substrato, pH e temperatura, pois desempenham um papel crucial na eficiência e viabilidade do processo. A seguir são apresentados alguns dos principais fatores que influenciam diretamente o desempenho e a otimização da produção por meio da digestão anaeróbia, visando obter as melhores condições para montagem do experimento.

3.2.1 pH

O pH do sistema é um fator que desempenha um papel fundamental na produção de H_2 , por influenciar diretamente o comportamento das vias metabólicas dos microrganismos envolvidos no processo. Além disso, variações no pH podem chegar a provocar mudança de população microbiana, desfavorecer ou até inibir a produção de H_2 (Lin et al., 2012).

Assim, o pH neutro, próximo de 7,0, favorece o crescimento das arqueas metanogênicas e prejudica a obtenção da separação da fase para a produção de H_2 , reduzindo a eficiência de produção (Luo et al, 2011). Embora menos comum, o uso de pH básico (>7,0) pode favorecer vias metabólicas alternativas e o crescimento de microrganismos que consomem H_2 , reduzindo sua produção líquida (Ghimire et al., 2015). Portanto, o controle do pH se faz essencial para inibir a atividade metanogênica no sistema.

Quando o pH do meio de fermentação é muito baixo, a atividade metabólica da população bacteriana produtora de H_2 pode ser inibida, ou pode haver uma mudança na via metabólica, resultando na interrupção da geração de $bioH_2$. Mas o pH do sistema sendo ligeiramente ácido, em torno de 5,5, é possível otimizar a conversão e ter uma maior produção de H_2 (Azbar et al., 2009; Lay et al., 2010).

Para realizar o controle ao pH desejado, podem ser utilizados ácidos, bases ou soluções tampão, sendo possível moderar o uso desses insumos através do estudo do pH do substrato a ser empregado no sistema, pois o uso excessivo pode reduzir a viabilidade econômica e a sustentabilidade do processo, além de poder aumentar a concentração de sais nos efluentes (Ghimire et al., 2015).

3.2.2 TEMPERATURA

O controle da temperatura do sistema é um fator crucial para a produção biológica de H_2 , pois afeta diretamente a atividade e o metabolismo das bactérias

fermentativas (Madigan, 1997). A faixa ideal de temperatura varia de acordo com o tipo de microrganismo utilizado, sendo que a maioria das bactérias produtoras de H_2 apresenta melhor desempenho em condições mesofílicas (30-45°C) ou termofílicas (50-60°C). Manter uma temperatura adequada garante uma fermentação eficiente, aumentando a taxa de conversão do substrato em H_2 e evitando a proliferação de microrganismos indesejados (Lee et al., 2008; Zhang et al., 2003).

Temperaturas abaixo da faixa ideal reduzem a atividade metabólica das bactérias e a eficiência da fermentação, favorecendo microrganismos que não produzem H_2 e podendo gerar subprodutos indesejados. Já temperaturas muito altas podem degradar enzimas essenciais, inativar bactérias produtoras de H_2 e favorecer microrganismos termotolerantes não produtores de H_2 (Madigan, 1997). Além disso, o calor excessivo pode estimular bactérias consumidoras de H_2 , como as metanogênicas, reduzindo ainda mais os rendimentos do processo. Portanto, a manutenção da temperatura dentro da faixa ideal é essencial para garantir a máxima eficiência e estabilidade da produção de H_2 biológico (Lazaro et al, 2014).

3.2.3 CONCENTRAÇÃO E TIPO DE SUBSTRATO

A concentração e o tipo de substrato são fatores determinantes para a produção biológica de H_2 , pois influenciam diretamente a atividade microbiana, a eficiência do processo fermentativo e o rendimento final de $bioH_2$. Substratos de fácil biodegradação, como glicose, sacarose e amido, geralmente proporcionam taxas de produção mais elevadas, enquanto substratos mais complexos requerem etapas prévias para serem adequadamente aproveitados pelos microrganismos envolvidos no processo (Wang e Wan, 2009; Lay et al., 2003).

Além disso, quando a concentração do substrato é excessivamente alta, pode ocorrer uma sobrecarga orgânica no sistema, resultando no acúmulo excessivo de ácidos orgânicos e na conseqüente redução do pH do meio, o que prejudica significativamente a atividade das bactérias produtoras de H_2 e compromete a eficiência da conversão do substrato. Por outro lado, quando a concentração do substrato é baixa, há uma limitação no crescimento bacteriano, o que reduz a taxa de produção de H_2 e torna o processo menos eficiente (Wicher, et al., 2013). Dessa forma, a seleção adequada do tipo de substrato, aliada ao controle rigoroso da sua

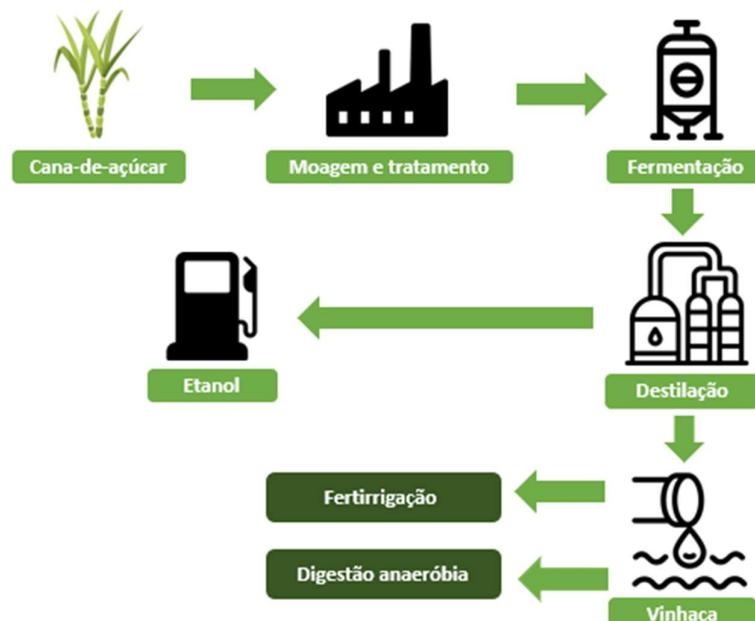
concentração no sistema, é essencial para garantir um ambiente favorável à fermentação e para otimizar a geração de H₂ de forma sustentável e eficiente.

3.2.3.1 VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Devido à sua composição rica em minerais e matéria orgânica, a vinhaça possui um alto potencial poluente quando descartada inadequadamente no meio ambiente, podendo causar a contaminação do solo e dos corpos d'água, além de contribuir para a emissão de gases de efeito estufa (Silva et al., 2006).

Apesar de seu impacto ambiental, a vinhaça pode ser reaproveitada em diversas aplicações sustentáveis. Um de seus usos mais comuns é como fertilizante agrícola, devido à sua alta concentração de potássio e outros nutrientes essenciais para o crescimento das plantas, reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos. Além disso, pode ser utilizada na geração de metano e H₂ por meio da digestão anaeróbia, permitindo a produção de energia renovável e a redução da carga poluente do resíduo (Peixoto et al., 2012). A Figura 2 apresenta um fluxograma da origem ao destino deste resíduo.

Figura 2 – Fluxograma Resumo: Cana-de-Açúcar à Digestão Anaeróbia



Fonte: Autora (2023).

Portanto, o manejo adequado da vinhaça não apenas minimiza seus impactos ambientais, mas também promove a economia circular na cadeia produtiva da cana-de-açúcar (Poveda, 2014).

3.2.4 TIPO E PRÉ-TRATAMENTO DO INÓCULO

O inóculo desempenha um papel fundamental na produção biológica anaeróbia de H_2 , pois contém os microrganismos responsáveis pela fermentação dos substratos orgânicos. Dessa forma, o tratamento adequado influencia diretamente a eficiência do processo, favorecendo as bactérias produtoras de H_2 e inibindo concorrentes, como os microrganismos metanogênicos (Penteado et al., 2013).

A escolha do pré-tratamento ideal depende do tipo de inóculo utilizado e das características do substrato a ser fermentado. Além disso, o uso de pré-tratamentos adequados pode aumentar significativamente a taxa de produção de H_2 , tornando o processo mais eficiente e viável para aplicações em larga escala, exaltando como a aplicação correta do inóculo e do pré-tratamento adequado são aspectos essenciais para o sucesso da produção biológica de H_2 (Wang e Wan, 2008).

3.2.4.1 MANIPUEIRA

A manipueira é o principal resíduo líquido produzido durante o processamento da mandioca em casas de farinha. O descarte inadequado desse efluente pode representar um alto risco de toxicidade ao ecossistema, devido ao seu elevado conteúdo orgânico e à presença de glicosídeos cianogênicos em sua composição (Cereda et al, 2001). A escolha do efluente de mandioca como inóculo se deve à ocorrência comum de microrganismos do gênero *Clostridium* produtores de H_2 nesse resíduo (Tonello, 2022; Kawagoshi et al., 2005), ao fato de ser adquirido de forma barata, além de proporcionar uma alternativa para o aproveitamento deste resíduo (Wosiacki e Cereda, 2002).

Um dos desafios na geração de H_2 por meio da fermentação anaeróbia utilizando culturas mistas é a presença de microrganismos produtores de metano e consumidores ou inibidores de H_2 (Amorim, 2018; Chaganti et al., 2012). Portanto, métodos de pré-tratamento e controle de pH são empregados para garantir que a via metabólica favoreça a produção de H_2 .

Logo, para aumentar a eficiência e buscar garantir a produção de H_2 , podem ser realizados vários métodos de pré-tratamento do inóculo, como: tratamento térmico (aquecimento ou congelamento), tratamento químico (alcalinização ou acidificação) ou aeração (Wang e Wan, 2009). Embora não haja um consenso sobre o melhor método, os pré-tratamentos térmico e químico têm mostrado os resultados mais promissores (Penteado et al., 2013; Chaganti et al., 2012), sendo possível a combinação desses métodos.

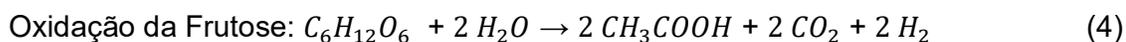
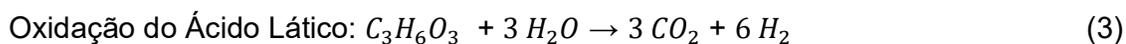
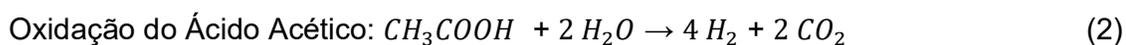
Dessa forma, o tratamento prévio do inóculo pode ser fundamental para otimizar sua atuação, eliminando microrganismos indesejados ou adaptando-o ao ambiente do biodigestor. A qualidade, quantidade e preparo do inóculo são fatores determinantes para o equilíbrio microbiano e a produtividade final, afetando diretamente a conversão da matéria orgânica em $bioH_2$.

3.2.5 ROTAS METABÓLICAS

As rotas metabólicas desempenham um papel essencial na produção biológica de H_2 por determinarem a eficiência dos substratos na produção de H_2 e influenciarem diretamente o rendimento do processo. Assim, durante a fermentação escura, caracterizado por ser um processo anaeróbio em que microrganismos degradam matéria orgânica para produzir H_2 e ácidos orgânicos sem a presença de luz. Nesse caso há diferentes vias metabólicas que são utilizadas por microrganismos anaeróbios para decompor compostos orgânicos e liberar subprodutos. (Temudo et al, 2008). A rota metabólica depende do tipo de substrato disponível, microrganismos presentes e das condições operacionais do sistema, sendo fundamental compreender os mecanismos envolvidos para otimizar a eficiência da produção e minimizar a formação de subprodutos indesejados (Svensson et al., 2005). Assim, a escolha da rota metabólica ideal e o controle dos parâmetros são essenciais para maximizar a geração de H_2 e minimizar subprodutos indesejados.

Na fermentação escura a produção de H_2 pode ocorrer por diferentes rotas metabólicas, sendo a oxidação do ácido acético, do ácido láctico e da frutose os processos essenciais para a liberação de H_2 (Antonopoulou et al, 2008). Na oxidação do ácido acético (Equação 2), bactérias fermentativas convertem o acetato em CO_2 e H_2 por meio da via da acetogênese, embora esse processo seja menos eficiente, pois

muitas bactérias produtoras de H_2 não conseguem metabolizar o ácido acético diretamente. Já na oxidação do ácido láctico (Equação 3), o lactato gerado pela glicólise pode ser degradado em CO_2 , ácidos orgânicos e H_2 , sendo essa uma das rotas mais relevantes para a produção de H_2 em sistemas anaeróbios, pela alta eficiência, produzindo 6 H_2 por molécula oxidada. Já a oxidação da frutose (Equação 4) segue um caminho semelhante ao da glicose, onde a frutose é convertida em intermediários, permitindo a geração de H_2 . Embora este último produza menor quantidade de H_2 , forma ácido acético como subproduto, o qual pode ser reaproveitado em processos semelhantes, promovendo a valorização do ciclo produtivo. (Hawkes et al., 2007; Guo et al., 2010.).



Afinal, essas equações refletem os processos de degradação e conversão de compostos orgânicos em produtos específicos, e servem como base para avaliar e comparar as condições experimentais sugeridas neste estudo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste tópico, serão apresentados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento deste trabalho, incluindo as condições experimentais aplicadas, os procedimentos adotados para coleta e análise dos dados, e as técnicas empregadas para modelagem da produção de H₂ nos sistemas.

4.1 MÉTODOS ANALÍTICOS

As análises realizadas para a caracterização do substrato, como demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio amoniacal, fósforo total, sólidos totais, os sólidos voláteis e os sólidos fixos foram de acordo com o proposto por Baird et al. (2018). Já o nitrogênio total Kjeldahl foi medido utilizando o método de Kjeldahl, e o pH foi medido com o uso de uma sonda multiparâmetro ACH CO HQ40d (Hach, Ames, Iowa, EUA).

Os açúcares foram medidos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, Shimadzu, Kyoto, Japão), modelo LC-20AT, com detector de índice de refração (RID). Na análise de ácidos carboxílicos uma coluna Aminex HPX-87H foi utilizada para separar os compostos (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Além disso, os ácidos graxos voláteis foram analisados por meio de cromatografia gasosa equipada com um detector de ionização por chama (GC-FID), utilizando o modelo 7890A da Agilent Technologies (Santa Clara, CA, EUA).

A composição dos gases foi analisada utilizando cromatografia gasosa com detector de condutividade térmica (GC-TCD, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), modelo 7890^a, para a quantificação da composição dos gases presentes na atmosfera dos microcosmos, foi utilizada uma coluna Carboxen® - 1010 PLOT (30 m x 0,53 mm) com argônio sendo aplicado como gás de arraste na análise. Dessa forma, os parâmetros utilizados foram: temperatura do injetor: 100°C; modo de injeção: split 50:1; fluxo: 3 mL/min; temperatura do detector: 200°C; temperatura do forno: 150°C. Cada análise teve duração de 3,5 minutos.

4.2 REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NAS ANÁLISES

Os reagentes químicos utilizados nas análises deste experimento foram: ácido sulfúrico, H₂SO₄ (CAS #7664-93-9, 95-97% de pureza, Merck, Alemanha); éter etílico,

C₄H₁₀O (CAS #60-29-7, 97- 87% de pureza, Vetec, Duque de Caxias, Brasil); e ácido crotônico, C₄H₆O₂ (CAS #107-93-7, 98% de pureza, Sigma-Aldrich, Alemanha).

4.3 INÓCULO

Como inóculo foi usada a manipueira, o principal resíduo líquido produzido durante o processamento da mandioca. A escolha do efluente de mandioca como inóculo se deve à ocorrência comum de microrganismos produtores de H₂ nesse resíduo. Este resíduo foi coletado de uma fábrica de mandioca em Taquarana – Alagoas, sendo armazenado a 4°C.

Este inóculo sofreu pré-tratamento térmico, sendo mantido na temperatura de 90°C por 10 minutos no banho-maria, visando reduzir atividade de microrganismos metanogênicos no microcosmo.

4.4 SUBSTRATO

Foi utilizado como substrato a vinhaça de cana-de-açúcar obtida da Usina Petribu em Lagoa do Itaenga-PE e armazenada a -4°C até o início do experimento.

Sendo realizada, inicialmente a caracterização do substrato, principal composto a ser utilizado no reator. Para isso, foram realizadas as análises de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Série de Sólidos, Ácidos graxos, Açúcares e Álcoois, pH, Sulfato e Nitrato da vinhaça coletada. Por meio dos dados deste resíduo, foi possível analisar e adquirir uma base para as proporções a serem utilizadas no experimento, como pode ser visualizado abaixo na Tabela 1:

Tabela 1 - Caracterização da Vinhaça de Cana-de-Açúcar

| Componente | Unidade | Valor |
|-------------------------------|--|-----------------|
| Parâmetros físico-químicos | | |
| COD | <i>g COD.L⁻¹</i> | 25,2 ± 2,8 |
| pH | | 3,6 |
| Sulfato | <i>mg SO₄.L⁻¹</i> | 1211,9 ± 7,1 |
| Nitrogênio Kjeldahl | <i>mg N^{-NT} L⁻¹</i> | 263,2 ± 17,0 |
| Nitrogênio Amoniacal | | 14,9 ± 1,4 |
| Total Fósforo | <i>mg PO₄.L⁻¹</i> | 49,8 ± 5,1 |
| Sólidos Totais | <i>mg ST.L⁻¹</i> | 19535,7 ± 75,3 |
| Sólidos Voláteis Totais Fixos | <i>mg STF.L⁻¹</i> | 5317,3 ± 587,8 |
| Sólidos Voláteis Totais | <i>mg STV.L⁻¹</i> | 14218,3 ± 552,1 |

| Ácidos | | |
|----------------------------|--------------|--------------------|
| Ácido Etanoico (C2) | $mg. L^{-1}$ | $1799,3 \pm 100,1$ |
| Ácido Láctico (C3) | $mg. L^{-1}$ | $4790,6 \pm 6,9$ |
| Ácido Propanoico (C3) | $mg. L^{-1}$ | $23,8 \pm 0,3$ |
| Ácido Isobutanoico (i-C4) | $mg. L^{-1}$ | $2,3 \pm 0,1$ |
| Ácido Butanoico (C4) | $mg. L^{-1}$ | $6,6 \pm 0,1$ |
| Ácido Isopentanoico (i-C5) | $mg. L^{-1}$ | $0,6 \pm 0,02$ |
| Ácido Pentanoico (C5) | $mg. L^{-1}$ | 0 ± 0 |
| Ácido Hexanoico (C6) | $mg. L^{-1}$ | $4,9 \pm 0,02$ |
| Açúcares | | |
| Sacarose | $mg. L^{-1}$ | ND |
| Glucose | $mg. L^{-1}$ | ND |
| Frutose | $mg. L^{-1}$ | $3915,9 \pm 10,0$ |
| Glicerol | $mg. L^{-1}$ | $1133,6 \pm 84,8$ |
| 1, 3 Propanodiol | $mg. L^{-1}$ | $1226,2 \pm 8,6$ |

Fonte: Autora (2024)

4.5 CINÉTICA

Análises cinéticas dos microcosmos foram realizadas para avaliar a produção de H_2 para cada uma das condições trabalhadas, através das seguintes equações.

$$r = \frac{dC}{dt} = k \cdot C^m \quad (5)$$

$$C = C_0 + k_0(t - t_0) \quad (6)$$

Assim, a Equação 5 é fundamental na cinética química para descrever como a velocidade de uma reação varia com a concentração (Levenspiel, 2000). Com isso, a taxa de variação da concentração (C) de uma substância ao longo do tempo (t) em uma reação química, onde r é a velocidade da produção de H_2 , k é a constante de velocidade para ajuste da curva e m é a ordem da reação.

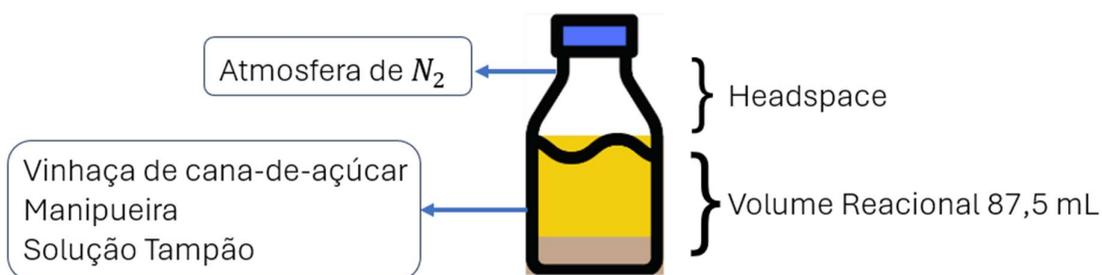
A Equação 5 é integrada de t_0 a t, resultando na Equação 6, para reações de ordem zero ($m = 0$). Descrevendo a variação da concentração de um reagente ao longo do tempo. Nessa formulação, a constante cinética (k_0) corresponde à inclinação da reta no gráfico da concentração do reagente (C) em função do tempo, refletindo a taxa constante da reação. A concentração inicial (C_0) representa o valor do reagente presente no sistema no instante t_0 .

O coeficiente de determinação R^2 foi utilizado para determinar a qualidade do ajuste da reta aos dados e a ordem da reação.

4.6 EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE BiOH_2

Foram utilizados seis frascos de 120 mL cada como reatores, com volume reacional de 87,5 mL, contendo como substrato a vinhaça de cana-de-açúcar diluída e, como inóculo, a manipueira pré-tratada termicamente, conforme ilustrado na Figura 3. Com base no que foi evidenciado na revisão bibliográfica, o pH do sistema foi ajustado inicialmente para 5,5 usando uma solução de NaOH 5M. Solução tampão de fosfato de 0,05 mol/L foi utilizada para minimizar variações de pH nos microcosmos e buscar inibir as arqueas metanogênicas.

Figura 3 – Ilustração do Reator



Fonte: Autora (2024).

Após a montagem, os reatores foram selados, travados e purgados com nitrogênio por dois minutos, com o objetivo de retirar todo o oxigênio do sistema, limpando a pequena atmosfera. Em seguida, os microcosmos foram despressurizados utilizando uma seringa de vidro para equalizar a pressão interna com a pressão atmosférica. Em seguida, foram colocados em um incubador agitador a uma temperatura constante de $37,5^\circ\text{C}$ e rotacionados a 150 rpm durante todo o período do experimento.

Esses experimentos permitiram analisar a viabilidade da produção de H_2 a partir da vinhaça de cana-de-açúcar, avaliando a influência da remoção do bioH_2 produzido. Para isso, foram realizados experimentos em triplicata sob duas condições:

- **Condição A:** a atmosfera (headspace) foi purgada a cada 24 horas com nitrogênio. Reatores: R₄, R₅, R₆.
- **Condição B:** sem purgas no headspace. Reatores: R₁, R₂, R₃.

O experimento teve duração de 166 horas, com análises de cromatografia gasosa realizadas duas vezes ao dia, em intervalos de 8 horas. A análise dos gases foi feita utilizando um cromatógrafo a gás (GC-TCD), injetando 0,2 mL da atmosfera do sistema. Antes de cada análise do conteúdo gasoso, a produção volumétrica de bioH₂ no reator foi medida utilizando uma seringa de vidro de 100 mL da marca Arti Glass, retirando o excesso de pressão.

As análises de ácidos graxos, açúcares e álcoois foram realizadas por GC-FID e HPLC duas vezes por semana. Para essas análises, o volume de 1 mL da amostra foi retirado do reator, centrifugado por 10 minutos a 14.000 rpm, filtrado utilizando filtros descartáveis RC de 0,22 µm e diluído a 50% com água Milli-Q para ser utilizado nas análises.

Vale ressaltar que a aplicação em microcosmos não pode ser facilmente replicada para escalas maiores, pois diversos fatores limitantes surgem quando o processo é ampliado. Entre eles, destacam-se as diferenças no controle de condições operacionais, como temperatura, pH e pressão, que são mais difíceis de manter homogêneos e controlados em reatores de maior volume. Além disso, a transferência de massa e a disponibilidade de nutrientes podem ser comprometidas, impactando a eficiência dos microrganismos na conversão de substratos em H₂.

4.7 HIDROGÊNIO TEÓRICO E EFICIÊNCIA TEÓRICA

O cálculo do H₂ teórico se baseia nos compostos medidos ao longo do tempo, levando em conta o que foi consumido e gerado nos sistemas, além da base fornecida e a quantidade de H₂ gerado pelas equações descritas anteriormente no tópico de Rotas Metabólicas (item 3.2.5 deste trabalho) para a Oxidação do Ácido Acético (Equação 2), Oxidação do Ácido Lático (Equação 3) e Oxidação da Frutose (Equação 4). De forma que a Equação 7 permite estimar o hidrogênio teórico.

$$H_2 \text{ Teórico} = \Delta C_{(Frutose)} \cdot 2 + \Delta C_{(A.Acético)} \cdot 4 + \Delta C_{(A.Lático)} \cdot 6 + \Delta C_{(Frutose)} \cdot 2 \cdot 4 \quad (7)$$

Vale ressaltar que a última parcela da equação acima representa a concentração de H₂ gerado pelo ácido acético proveniente da reação de oxidação da frutose no sistema, conforme equação 4.

A concentração consumida (*C*) pelo sistema por cada uma das equações em mMol/L é dada pela Equação 8, abaixo:

$$\Delta C = C_{(Começo)} - C_{(Final)} \quad (8)$$

A partir do valor do H₂ teórico, e comparando com a quantidade de H₂ nos sistemas, medida por meio da cromatografia gasosa, foi possível encontrar a Eficiência Teórica de H₂ a partir da equação Equação 9.

$$\eta_{H_2} = \frac{H_2 \text{ Medido}}{H_2 \text{ Teórico}} \quad (9)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com base nas principais fontes de carbono presentes na vinhaça da cana-de-açúcar, e a partir dos dados obtidos nas análises contínuas realizadas para determinar os compostos orgânicos predominantes no reator ao longo do experimento, foram propostas e utilizadas as Equações 2, 3 e 4 químicas como rotas principais para a produção de H₂. Dessa forma, foi possível avaliar a condição reacional que pode maximizar a eficiência da conversão, como pode ser visualizado na Tabela 2.

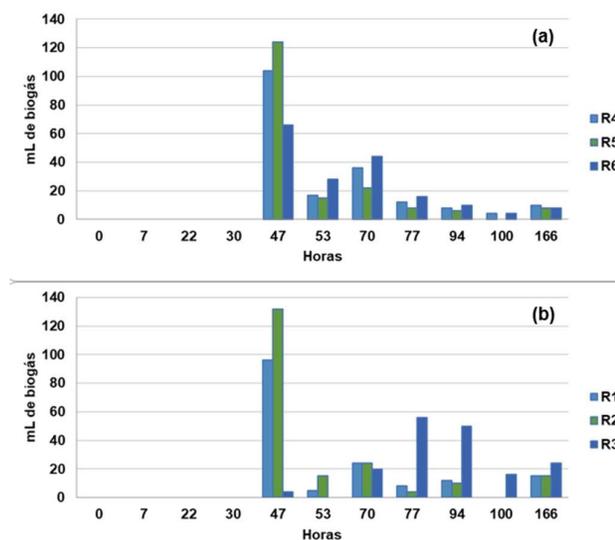
Tabela 2 – Produção Teórica de Hidrogênio

| Estágio | Frutose (mMol·L⁻¹) | Ácido acético (mMol·L⁻¹) | Ácido láctico (mMol·L⁻¹) | Acético da Frutose (mMol·L⁻¹) |
|-------------------------------------|--|--|--|---|
| Início | 10,54 | 27,64 | 32,21 | 21,07 |
| Final | 0,56 | 6,85 | 0,07 | 1,12 |
| Consumido | 9,98 | 20,79 | 32,14 | 19,95 |
| H ₂ Teórico Produzido | 19,95 | 83,16 | 192,84 | 79,80 |

Fonte: Autora (2024).

Conforme indicado na Tabela 2, as rotas avaliadas consideram os produtos gerados no microcosmo com potencial para produzir H₂. Assim, era esperado que os reatores apresentassem uma produção média de 32,9 mMol de H₂ teórico, calculada com base no volume da fase gasosa (headspace) que pode ser observado na Figura 4.

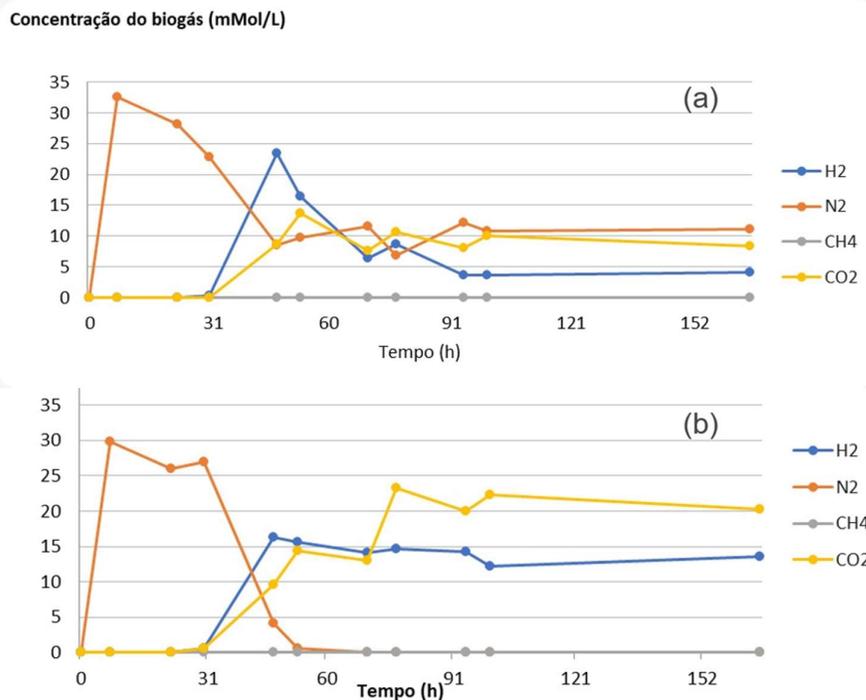
Figura 4 – Produção de BioH₂. (a) representa os microcosmos com purga (R₄, R₅, R₆) enquanto (b) os microcosmos sem purga (R₁, R₂, R₃).



Fonte: Autora (2025)

Ainda, com as medições de bioH₂ realizadas nos reatores, que ilustram a Figura 4, é possível observar que, inicialmente os reatores não produziram nenhum valor considerável de gás, e tiveram seu pico de produção volumétrica de H₂ em 47h, sendo então este o ponto escolhido para análise de eficiência e comparação entre os sistemas. Assim, a produção de H₂ em mMol·L⁻¹ ao longo das 166 horas do experimento (Figura 5), evidencia que a condição A (23,40 mMol·L⁻¹ em 47h) apresentou uma produção de H₂ superior à condição B (16,34 mMol·L⁻¹ em 47h). Observa-se, também, a produção de CO₂, conforme esperado das rotas supracitadas, e nota-se que apenas a Condição A (Figura 5a) apresentou nitrogênio em sua atmosfera, resultado das purgas realizadas durante o ensaio.

Figura 5 – Produção de Hidrogênio. (a) representa os microcosmos com purga, enquanto (b) os microcosmos sem purga



Fonte: Autora (2024)

Adicionalmente, verificou-se que não houve produção de metano ao longo do experimento, o que demonstra a eficácia do processo escolhido como pré-tratamento para a inibição de bactérias metanogênicas, mesmo que tenha sido aplicado apenas no inóculo. Esse resultado é relevante, pois a ausência de metano é um indicativo de que o processo favoreceu rotas metabólicas específicas para a produção de H_2 , minimizando as perdas de H_2 para outras vias que não contribuem para a rota desejada (Chaganti, 2012; Hawkes, 2007).

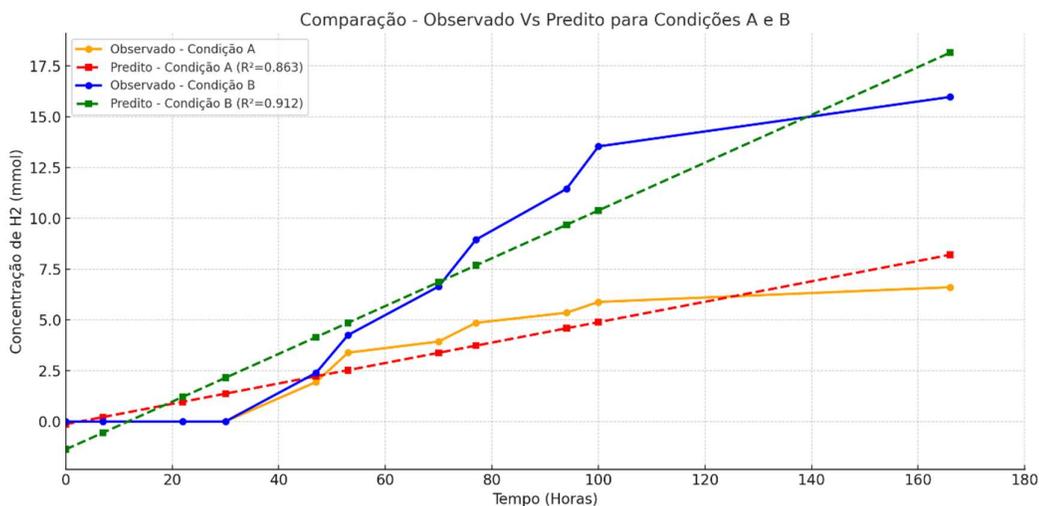
A Condição B (Figura 5b) atingiu uma concentração máxima de $16.34 \text{ mMol}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2 , equivalente a cerca de 50% da eficiência teórica esperada para as rotas. Em uma análise semelhante, a Condição A (Figura 5a) teve uma concentração máxima de $23.40 \text{ mMol}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2 , correspondendo a 71% da eficiência teórica esperada.

Laurent et al (2012), tiveram como objetivo otimizar a produção de $BioH_2$ pela mudança da Pressão Parcial de Hidrogênio (HPP) utilizando a cepa *Clostridium butyricum* em um reator horizontal rotativo operado a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ alimentado por efluente sintético composto principalmente por 12.5 g de glicose. Os autores notaram que uma

redução na pressão de 1.18 bar para 0.89 bar correspondeu a um aumento de rendimento de 34% ($142 \text{ mLH}_2 \cdot \text{h}^{-1}$ para $191 \text{ mLH}_2 \cdot \text{h}^{-1}$). Isso se dá por conta da diminuição do hidrogênio dissolvido no meio, permitindo as bactérias que desloquem a reação metabólica para o lado dos produtos. Logo, analogamente neste experimento, na condição onde houve purga (Condição A), ou seja, diminuição do hidrogênio dissolvido, houve um maior pico de concentração de hidrogênio. Logo, uma pressão parcial devidamente otimizada se faz necessária para que a produção de H_2 seja impulsionada mesmo para culturas complexas e abertas utilizando-se de efluentes. Assim, a influência da pressão parcial de H_2 acaba por desempenhar um papel crítico em equilibrar as vias metabólicas durante a digestão anaeróbica, favorecendo microrganismos produtores de H_2 em detrimento de outros grupos.

Além disso, com base nos cálculos cinéticos para cada uma das condições, foi possível construir o seguinte gráfico (Figura 6) para a Taxa Acumulada de geração de H_2 no sistema:

Figura 6 – Comparação Observado x Predito para Condições A e B.



Fonte: Autora (2024)

A Figura 6 apresenta a comparação entre as concentrações observadas e as concentrações calculadas de H_2 ao longo do tempo, assumindo uma reação de ordem zero para as duas condições de acordo com os valores obtidos de R^2 , apesar de inicialmente se comportar de forma curvilínea, a longo prazo se estabelece como linear, caracterizando uma reação de ordem zero nas 166h.

No Observado na Condição A (Linha Laranja) nota-se um crescimento mais lento na produção de H_2 em comparação com a Condição B. É visível o aumento progressivo, mas a produção desacelera após cerca de 100 horas. Já no Observado na Condição B (Linhas Azul) é apresentado um crescimento mais rápido e consistente na concentração de H_2 ao longo do tempo, superando a Condição A significativamente. Isso se dá devido ao fato da purga eliminar o hidrogênio do sistema, enquanto na condição B, sem purga, este se mantém acumulado. Enquanto as linhas de previsão (Vermelha e Verde) representam bem os ajustes do modelo aos dados experimentais e seguem a tendência de crescimento linear esperada de uma reação de ordem zero. Assim, as duas Condições demonstram ao final do experimento diminuição considerável na geração de H_2 , demonstrando que os sistemas provavelmente já estavam passando para outra fase da biodigestão anaeróbia.

Em comparação com a literatura, foi observada a investigação do efeito de diferentes temperaturas (37°C e 55°C) e concentrações de vinhaça de cana-de-açúcar na produção de H_2 , utilizando garrafas de vidro de 2 L (1,2L de volume reacional e 0,8L de headspace) e aplicando como inóculo águas residuais pré-tratada termicamente a 90°C por 10 minutos (Lazaro et al, 2014). Os resultados mostraram que houve a produção de H_2 em todas as condições testadas, sendo que o aumento da concentração de vinhaça favoreceu a produção a 37°C , enquanto a 55°C houve redução. Na pesquisa de Lazaro et al. (2014), a condição mais semelhante com o experimento deste trabalho, avaliou 37°C e $12\text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ alcançando uma produção de $28,4\text{ mMol}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2 em 150 horas. Já o presente estudo, realizado a $37,5^\circ\text{C}$ e $13\text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$, obteve uma produção significativa de $23,40\text{ mMol}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2 em 47 horas, evidenciando a importância dos resultados aqui apresentados e reforçando a relevância deste estudo para a otimização de processos de produção de H_2 .

A influência da concentração de vinhaça de tequila (40 a $120\text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$) na produção de H_2 em reatores contínuos também foi comparada ao estudo de Arellano-garcía et al. (2021). Nesse trabalho, foi utilizado lodo residual de águas residuais de fábrica de tequila como inóculo, previamente tratado termicamente (120°C por 24 horas) e foi ajustado a um pH de 5,5 o reator. O trabalho aqui proposto possui uma condição de $13\text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$, que apresentou uma produção de $0,74\text{ mol}$ de H_2 por mol de açúcar consumido, enquanto a condição com $40\text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ a mais próxima em

termos de DQO, observada nesta literatura, alcançou uma produção de 0,8 mol de H₂ por mol de açúcar consumido, uma produção bastante similar. Dessa forma, esses resultados destacam a influência significativa da concentração do substrato na produção de H₂, evidenciando que concentrações mais altas podem favorecer o processo.

Comparando a produção de H₂ com o trabalho de Antonopoulou (2008), que utilizou em um reator contínuo substrato a base de biomassa remanescente de sorgo doce, à temperatura de 35°C (sistema mesofílico), foi possível observar que a DQO operacional se destacava por ser um pouco mais alta (18,5 g DQO·L⁻¹) do que a apresentada neste trabalho. Ainda, é possível observar que a geração de H₂ obtida foi de 17,18 mMol·L⁻¹ no trabalho de Antonopoulou (2008), se destacando por se tratar de um sistema contínuo, que acaba por não limitar o substrato para os microrganismos, corroborando com o potencial dos valores encontrados neste experimento.

Com isso, manter condições iniciais e operacionais, incluindo uma Pressão Parcial de Hidrogênio (HPP) adequada pode, portanto, melhorar significativamente a eficiência do processo, maximizando a conversão de substratos orgânicos em H₂ (Nath e Das, 2004). Além disso, a otimização da pressão parcial reduziu perdas energéticas no sistema, tornando o processo mais sustentável e eficiente, enquanto a análise comparativa entre as condições reforça a importância do controle operacional para alcançar altos rendimentos na produção de H₂, uma fonte de energia limpa e promissora.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A utilização de resíduos para a geração de combustíveis se faz fundamental para o desenvolvimento energético renovável, como a aplicação da vinhaça da cana-de-açúcar como substrato e a manipueira pré-tratada como inóculo, tornam essas vias atrativas do ponto de vista da sustentabilidade. Além disso, o H_2 produzido pode ser utilizado como fonte de energia limpa em células a combustível, contribuindo para a transição energética em múltiplos setores. Dessa forma, apesar das emissões de CO_2 existirem, a captura e reutilização desse gás em processos industriais podem minimizar o impacto ambiental, aumentando a viabilidade e escalonamento do processo, abrindo caminhos para a integração em biorrefinarias, promovendo a economia circular e a valorização de resíduos orgânicos em aplicações energéticas.

Como pôde ser demonstrado neste trabalho, a alta eficiência na aplicação de uma pressão parcial de H_2 mínima, junto à aplicação da vinhaça como substrato, além do efeito do método de pré-tratamento térmico e da diversidade microbiana da manipueira como inóculo, são diretrizes e parâmetros importantes para a geração de H_2 . Com isso, este trabalho destaca sua importância de praticar a sustentabilidade e a otimização na produção de H_2 por digestão anaeróbia, reforçando a necessidade de uma produção que possua uma seleção adequada de materiais biológicos e parâmetros de processo.

No futuro, as pesquisas devem se concentrar na otimização do processo e na seleção de microrganismos, aumentando o rendimento dos produtos gerados. Essas medidas são cruciais para avançar na concretização do conceito de biorrefinaria, que envolve a sinergia de diferentes processos e parâmetros para a melhor utilização de materiais de base biológica para a geração de energia. Dessa forma, isso ajudará a inserir o $bioH_2$ de forma competitiva como uma inovação promissora na indústria de energética.

Outros trabalhos sugeridos a serem desenvolvidos sobre o assunto:

- Estudar o efeito da pressão parcial em um reator com uma atmosfera hiperbárica de H_2 .
- Analisar um sistema que já começasse com a atmosfera saturada de H_2 ao invés de N_2 , visando analisar a fase lag inicial para a produção de $bioH_2$.

- Trabalhar em bateladas contínuas no auge da produção de H_2 , visando estudar o desempenho de microrganismos adaptados a determinadas condições para a otimização do processo.

REFERÊNCIAS

- ANTONOPOULOU, Georgia et al. Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. **Bioresource technology**, v. 99, n. 1, p. 110-119, 2008.
- AMORIM, N. C. dos S. **PRODUÇÃO de ÁCIDO CAPRÓICO ASSOCIADO À PRODUÇÃO de HIDROGÊNIO UTILIZANDO a MANIPUEIRA**, Universidade Federal de Pernambuco, 2018, p.128.
- ARELLANO-GARCÍA, Luis et al. 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**, v. 172, p. 108049, 2021.
- AZBAR, Nuri et al. Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions. **International journal of Hydrogen energy**, v. 34, n. 17, p. 7441-7447, 2009.
- BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; RICE, E. W. **Standard Methods for The Examination Of Water and Wastewater**. 23rd ed. ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association (APHA), American WaterWorks Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), 2018.
- BALAT, Havva; KIRTAY, Elif. Hydrogen from biomass—present scenario and future prospects. **International journal of hydrogen energy**, v. 35, n. 14, p. 7416-7426, 2010.
- CEREDA, M. P. et al. Caracterização dos subprodutos da Mandioca. Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca, v. 4 (1). Fundação Cargill. São Paulo. P.19, 2001.
- CHAGANTI, Subba Rao; KIM, Dong-Hoon; LALMAN, Jerald A. Dark fermentative hydrogen production by mixed anaerobic cultures: Effect of inoculum treatment methods on hydrogen yield. **Renewable Energy**, v. 48, p. 117-121, 2012.
- CHEN, Ye; CHENG, Jay J.; CREAMER, Kurt S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Série Histórica das Safras**. Brasília: 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. Acesso em 14/02/2024.
- DAS, Debabrata; VEZIROGLU, T. Nejat. Advances in biological hydrogen production processes. **International journal of hydrogen energy**, v. 33, n. 21, p. 6046-6057, 2008.
- EMPRESA DE PESQUISA ENERGETICA - EPE. **Bases para a Consolidação da Estratégia Brasileira do Hidrogênio**. Brasília: 2021 <https://www.epe.gov.br/sites->

pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-569/Hidroge%CC%82nio_23Fev2021NT%20(2).pdf. Acesso em 05/11/2024.

GHIMIRE, Anish et al. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. **Applied Energy**, v. 144, p. 73-95, 2015.

GINKEL, Steven Van; SUNG, Shihwu; LAY, Jiunn-Jyi. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environmental science & technology**, v. 35, n. 24, p. 4726-4730, 2001.

GRABOWSKI, Sławomir Janusz. What is the covalency of hydrogen bonding?. **Chemical reviews**, v. 111, n. 4, p. 2597-2625, 2011.

GUO, Xin Mei et al. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. **International journal of hydrogen energy**, v. 35, n. 19, p. 10660-10673, 2010.

HAWKES, Freda R. et al. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress. **International journal of hydrogen energy**, v. 32, n. 2, p. 172-184, 2007.

KAWAGOSHI, Yasunori et al. Effect of inoculum conditioning on hydrogen fermentation and pH effect on bacterial community relevant to hydrogen production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 5, p. 524-530, 2005.

KOHLHEPP, Gerd. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, v. 24, p. 223-253, 2010.

KOTAY, Shireen Meher; DAS, Debabrata. Biohydrogen as a renewable energy resource—prospects and potentials. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 1, p. 258-263, 2008.

LAURENT, Beckers et al. Effects of hydrogen partial pressure on fermentative biohydrogen production by a chemotropic Clostridium bacterium in a new horizontal rotating cylinder reactor. **Energy procedia**, v. 29, p. 34-41, 2012.

LAY, Chyi-How et al. Biohydrogen production from soluble condensed molasses fermentation using anaerobic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 24, p. 13445-13451, 2010.

LAY, Jiunn-Jyi et al. Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 28, n. 12, p. 1361-1367, 2003.

LAZARO, Carolina Zampol et al. Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: the effects of temperature and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 12, p. 6407-6418, 2014.

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

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas**. 3. ed. Oregon: Editora Blucher, 2000.

LIN, Chiu-Yue et al. Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis. **International journal of hydrogen energy**, v. 37, n. 20, p. 15632-15642, 2012.

LOPES, Wilton Silva; LEITE, Valderi Duarte; PRASAD, Shiva. Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste. **Bioresource technology**, v. 94, n. 3, p. 261-266, 2004.

LUO, Gang et al. Long-term effect of inoculum pretreatment on fermentative hydrogen production by repeated batch cultivations: Homoacetogenesis and methanogenesis as competitors to hydrogen production. **Biotechnology and bioengineering**, v. 108, n. 8, p. 1816-1827, 2011.

MADIGAN, Michael T. et al. **Brock biology of microorganisms**. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall, 1997.

MEEGODA, Jay N. et al. A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 10, p. 2224, 2018.

MICHELLON, Ednaldo; SANTOS, Ana Aracelly Lima; RODRIGUES, Juliano Ricardo Alves. Breve descrição do Proálcool e perspectivas futuras para o etanol produzido no Brasil. 2008.

NATH, Kaushik; DAS, Debabrata. Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 65, p. 520-529, 2004.

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

PEIXOTO, Guilherme et al. Hydrogen and methane production, energy recovery, and organic matter removal from effluents in a two-stage fermentative process. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 168, p. 651-671, 2012.

PENTEADO, Eduardo Delloso et al. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6137-6145, 2013.

PERERA, K. R. J.; KETHEESAN, B.; ARUDCHELVAM, Y.; NIRMALAKHANDAN, N. Fermentative biohydrogen production II: Net energy gain from organic wastes. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, n. 1, p. 167-178, 2012.

POVEDA, Manuel Moreno Ruiz. **Análise econômica e ambiental do processamento da vinhaça com aproveitamento energético**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SÁ, Lívian R.; CAMMAROTA, Magali C.; FERREIRA-LEITÃO, Viridiana S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia-aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. *Química Nova*, v. 37, p. 857-867, 2014.

SARAMAGO, José. **O conto da ilha desconhecida**. Editora Companhia das Letras, 2016.

SEARMSIRIMONGKOL, Pawinee et al. Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using an anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 36, n. 20, p. 12810-12821, 2011.

SILVA, M. A. S. DA; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* **Uso de Vinhaça E Impactos Nas Propriedades Do Solo E Lençol Freático**. 2006, 11 (1), 108–114.

SVENSSON, C. I.; SCHÄFERS, M.; JONES, T. L.; POWELL, H.; SORKIN, L. S. *Biofuels for fuel cells: renewable energy from biomass fermentation*, IWA Publishing, London, UK (2005), pp. 209-220

TEMUDO, Margarida F. et al. Diversity of microbial communities in open mixed culture fermentations: impact of the pH and carbon source. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 80, p. 1121-1130, 2008.

TONELLO, T. U. (2022). *Produção de hidrogênio a partir da água residuária e do bagaço da extração de fécula de mandioca em AnSBBR*. 2022.

WANG, Jianlong; WAN, Wei. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. *International journal of hydrogen energy*, v. 33, n. 12, p. 2934-2941, 2008.

WANG, Jianlong; WAN, Wei. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: a review. *International journal of hydrogen energy*, v. 34, n. 1, p. 235-244, 2009.

WANG, Jianlong; WAN, Wei. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. *International journal of hydrogen energy*, v. 34, n. 2, p. 799-811, 2009.

WICHER, E. et al. Hydrogen gas production from distillery wastewater by dark fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 19, p. 7767-7773, 2013.

WOSIACKI, Gilvan; CEREDA, Marney Pascoli. Valorização de resíduos do processamento de mandioca. 2002.

ZHANG, Tong; LIU, Hong; FANG, Herbert HP. Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic condition. **Journal of environmental management**, v. 69, n. 2, p. 149-156, 2003.