

RESSALVA

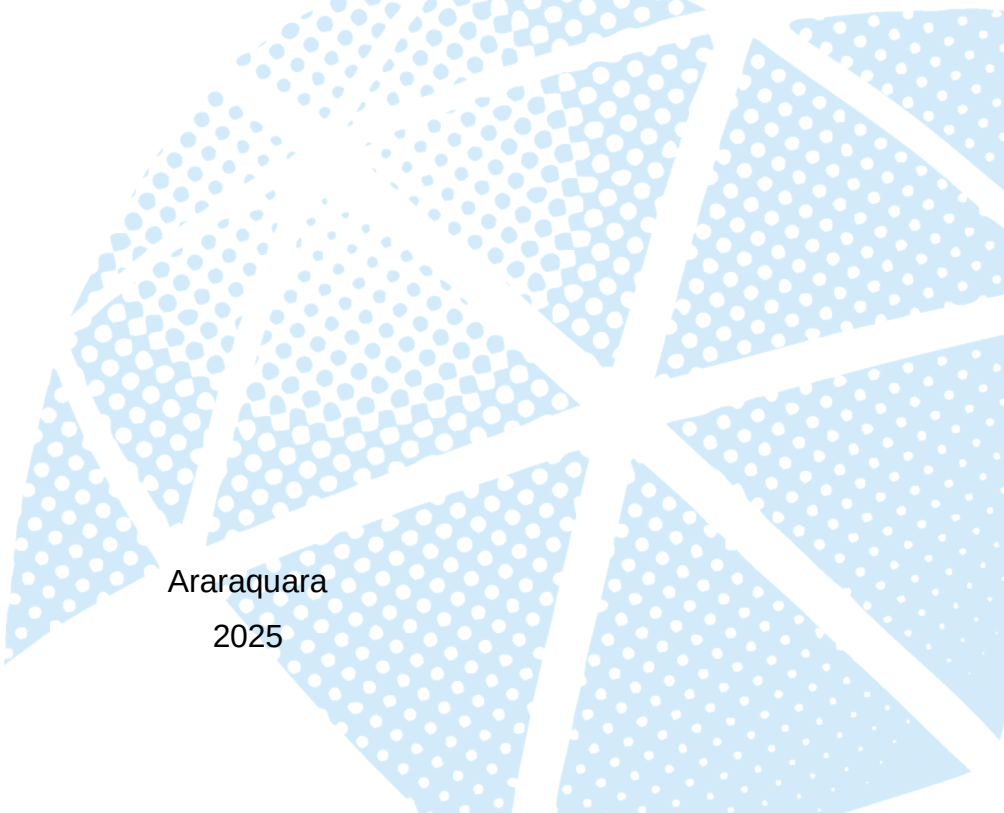
Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/01/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

GABRIEL SILVA RIBEIRO

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA
COM RESÍDUO DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA BANANA USANDO
METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA**

Araraquara
2025



GABRIEL SILVA RIBEIRO

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA
COM RESÍDUO DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA BANANA USANDO
METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Sandra Imaculada Maintinguer

Araraquara

2025

R484o Ribeiro, Gabriel Silva
Otimização da produção de hidrogênio por digestão anaeróbia com resíduo do processamento industrial da banana usando metodologia de superfície de resposta / Gabriel Silva Ribeiro. -- Araraquara, 2025
101 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara

1. Hidrogênio. 2. Metano. 3. Digestão anaeróbia. 4. Otimização matemática. 5. Banana. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A produção de biogás a partir dos resíduos do processamento agroindustrial da banana apoia diversas ODS, destacando-se a ODS 7 (Energia Limpa e Acessível), ao gerar energia renovável; a ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ao reduzir o desperdício; e a ODS 13 (Ação Climática), ao diminuir emissões de gases de efeito estufa.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The production of biogas from the residues of the agro-industrial processing of bananas supports several SDGs, particularly SDG 7 (Affordable and Clean Energy), by generating renewable energy; SDG 12 (Responsible Consumption and Production), by reducing waste; and SDG 13 (Climate Action), by decreasing greenhouse gas emissions.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Otimização da produção de hidrogênio por digestão anaeróbia com resíduo do processamento industrial da banana usando metodologia de superfície de resposta"

AUTOR: GABRIEL SILVA RIBEIRO

ORIENTADORA: SANDRA IMACULADA MAINTINGUER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
SANDRA IMACULADA MAINTINGUER
Data: 30/01/2025 15:41:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a SANDRA IMACULADA MAINTINGUER (Participação Virtual)
IPBEN / Instituto de Pesquisa em Bioenergia - UNESP - Rio Claro

Documento assinado digitalmente
LORENA OLIVEIRA PIRES
Data: 30/01/2025 11:06:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a LORENA OLIVEIRA PIRES (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia, Física e Matemática / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Documento assinado digitalmente
MARCUS CESAR AVEZUM ALVES DE CASTRO
Data: 30/01/2025 12:30:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. MARCUS CESAR AVEZUM ALVES DE CASTRO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Ambiental / Instituto de Geociências e Ciências Exatas - UNESP - Rio Claro

Araraquara, 30 de janeiro de 2025

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO	
	GABRIEL SILVA RIBEIRO 03/07/1999
Nacionalidade	brasileira
Nome em citações bibliográficas:	Ribeiro, G. S.
Endereço profissional	Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara Biotecnologia Rua Francisco Degni, 55 Quitandinha, Araraquara – SP CEP 14800-900 Telefone: (11) 94042-8611
Currículo Lattes	https://wwws.cnpq.br/cvlattesweb/PKG_MENU.menu?f_cod=0926E5B3EF7D4F1904CB9BCA1399DE5F#
ORCID	
outro identificador	
FORMAÇÃO ACADÊMICA	
67051	Engenharia Ambiental concedendo o título de engenheiro ambiental na UNESP
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	
RIBEIRO, Gabriel Silva. Avaliação de pré-tratamentos em resíduos agroindustriais visando à geração de biogás em reatores anaeróbios em batelada. Trabalho de Formatura (Curso de Graduação em Engenharia Ambiental) - Rio Claro (SP), 2022. Orientadora: Prof(a). Dr(a). Sandra Imaculada Maintinguer	
PARTICIPAÇÃO EM BANCAS E ORIENTAÇÕES	
Bancas de trabalhos de conclusão	
Orientações	

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- a. “Aplicação de pré-tratamentos em resíduos agroindustriais de goiaba: efeitos na produção de biometano” por Gabriel Silva Ribeiro, Ivan Mangini Sandra Imaculada Maintinguer e;
- b. “Avaliação de pré-tratamentos térmico com adições de ácido acético em resíduos agroindustriais do processamento de goiaba para geração de biogás” por Isadora Caroline Barbosa, Gabriel Silva Ribeiro, Laura Gabriele de Souza e Sandra Imaculada Maintinguer, III workshop de Fruto-Refinaria, P&D na Unesp/IPBEN, junho de 2023.
- c. “Avaliação de pré-tratamentos térmico com adições de ácido acético em resíduos agroindustriais do processamento de goiaba para geração de biogás” por Isadora Caroline Barbosa, Gabriel Silva Ribeiro, Laura Gabriele de Souza e Sandra Imaculada Maintinguer - XXXV Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Câmpus de Rio Claro, 10 e 11 de outubro de 2023.
- d. “Effect of pretreatments applied in agro-industrial guava residues to methane generation” por Ribeiro Gabriel Silva, Mangini Ivan, Maintinguer Sandra Imaculada e;
- e. “Sustainable biohydrogen production from banana processing wastewater” por Freire Cintia Cristina da Costa, Marin Danieli Fernanda Canaver, Ribeiro Gabriel Silva, Maintinguer Sandra Imaculada. XIV Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion. Queretaro, Mexico, 23 a 27 de outubro de 2023.
- f. “Application of Thermal and Acid Pretreatments in Guava Agro-Industrial Waste to Methane Generation in Anaerobic Batch Reactors” por Gabriel Silva Ribeiro e Sandra Imaculada Maintinguer e;
- g. “Application of Pre-Treatments with Acetic Acid in Agro-Industrial residues to biomethane production” por Isadora Caroline Barbosa, Sandra Imaculada Maintinguer, Gabriel Silva Ribeiro e Laura Gabriele de Souza VIII SIGERA – International Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management. Caxias do Sul, 06 a 10 de novembro de 2023.
- h. “Effect of pretreatments applied in agro-industrial guava residues to Methane generation” por Gabriel Silva Ribeiro e Sandra Imaculada Maintinguer, VII Workshop of Bioenergy, PhD na Unesp/IPBEN, 12 de dezembro de 2023.
- i. “Performance of autochthonous and allochthonous inocula for hydrogen production from banana waste” por Gabriel Silva Ribeiro e Sandra Imaculada Maintinguer, 18th IWA World Conference on Anaerobic Digestion (IWA AD18), Istambul, Turquia, 02 a 06 de junho de 2024.
- j. “Valorização de resíduos da banana na obtenção de biogás por digestão anaeróbia” por Isabella Cristina Abelar, Gabriel Silva Ribeiro e Sandra Imaculada Maintinguer e;
- k. “Avaliação de resíduos agroindustriais da banana pré-tratados com adições de ácidos nas gerações de hidrogênio e metano” por Isadora Caroline Barbosa, Gabriel Silva Ribeiro, Luiz Scaliante Bezerra e Sandra Imaculada Maintinguer - XXXVI Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Câmpus de Rio Claro, 19 e 20 de setembro de 2024.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, processo número: 88887.834057/2023-00.

RESUMO

A fruticultura é um setor econômico importante, e o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas. A produção de banana se destaca no agronegócio, mas a geração de resíduos preocupa ambiental e economicamente. Uma solução é o aproveitamento desses resíduos para biogás via processos anaeróbios. Este estudo testou resíduos sólidos de banana (casca+polpa) e água residuária do processamento do doce de banana em reatores anaeróbios batelada para otimizar a produção de biogás. As etapas incluíram: 1) caracterização dos substratos e inóculo; 2) planejamento experimental com variações de temperatura, pH inicial e relação Substrato/Inóculo para produção de hidrogênio; 3) testes em reatores acidogênicos; 4) testes em reatores metanogênicos e metano direto; 5) avaliação com água residuária e análises metagenômicas. Na caracterização, verificou-se alta concentração de carboidratos. A modelagem matemática indicou condições ótimas de 41,8°C, pH 4,88 e S/I 2,48 ($R^2=99,75$). Nos reatores acidogênicos, obteve-se 2359 mL H_2 /L, com 91,52% de consumo de carboidratos e formação de ácidos graxos e etanol. Nos metanogênicos (37°C, pH 7, S/I 2,48), geraram-se 1903 mL CH_4 /Lr, com 96,31% de consumo de matéria orgânica. O tempo 80 foi de 9,75h para hidrogênio e 79,5h para metano. O rendimento energético foi de 4181,32 KJ Mol^{-1} para metano direto e 4334,44 KJ Mol^{-1} para biossistema integrado. Com água residuária, o consumo de carboidratos foi de 95%, com produção de 981,33 mL H_2 /Lr e metabólitos como etanol, ácido acético e butírico. O efluente removeu 86,87% da DQO inicial e gerou metano. A metagenômica revelou *Clostridium sensu stricto* 1 (hidrogênio) e *Methanosaeta* (metano via rota acetoclástica). As condições testadas otimizaram a produção de biogás e demonstraram alta eficiência no tratamento de matéria orgânica.

Palavras-chave: hidrogênio; metano; digestão anaeróbia; otimização matemática; banana.

ABSTRACT

Fruit farming is an important economic sector, with Brazil ranking as the third-largest fruit producer worldwide. Banana production stands out in agribusiness, but waste generation raises environmental and economic concerns. One solution is utilizing these residues for biogas production through anaerobic processes. This study tested solid banana waste (peel + pulp) and wastewater from banana sweet processing in batch anaerobic reactors to optimize biogas production. The stages included: 1) characterization of substrates and inoculum; 2) experimental planning with variations in temperature, initial pH, and Substrate/Inoculum ratio for hydrogen production; 3) tests in acidogenic reactors; 4) tests in methanogenic reactors and direct methane production; 5) evaluation with wastewater and metagenomic analyses. Characterization revealed a high carbohydrate concentration. Mathematical modeling indicated optimal conditions of 41.8°C, pH 4.88, and S/I 2.48 ($R^2 = 99.75$). In acidogenic reactors, 2359 mL H_2 /L was obtained, with 91.52% carbohydrate consumption and the formation of volatile fatty acids and ethanol. In methanogenic reactors (37°C, pH 7, S/I 2.48), 1903 mL CH_4 /Lr was produced, with 96.31% organic matter consumption. The T_{80} time was 9.75h for hydrogen and 79.5h for methane. The energy yield was 4181.32 KJ Mol^{-1} for direct methane and 4334.44 KJ Mol^{-1} for the integrated biosystem. With wastewater, carbohydrate consumption reached 95%, producing 981.33 mL H_2 /Lr and metabolites such as ethanol, acetic acid, and butyric acid. The effluent removed 86.87% of the initial COD and generated methane. Metagenomic analysis revealed *Clostridium sensu stricto* 1 (hydrogen production) and *Methanosaeta* (methane via the acetoclastic pathway). The tested conditions optimized biogas production and demonstrated high efficiency in organic matter treatment.

Keywords: hydrogen; methane; anaerobic digestion; mathematical optimization; banana.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Quantidade produzida de banana (Toneladas x Mês).....	20
Figura 2 –	Processos de digestão anaeróbia.....	22
Figura 3 –	Fluxograma experimental das atividades realizadas.....	29
Figura 4 –	Ensaio de otimização da produção de hidrogênio.....	34
Figura 5 –	Digestão anaeróbia em dois estágios.....	39
Figura 6 –	Diagrama de pareto.....	47
Figura 7 –	Superfície de resposta dos efeitos com pH inicial fixado em 5,37.....	50
Figura 8 –	Superfície de resposta dos efeitos com S/I fixada em 1,925.....	50
Figura 9 –	Superfície de resposta dos efeitos com temperatura fixada em 33,5°C.....	51
Figura 10 –	Remoção de Carboidratos totais (em %) para as condições testadas (1 a 15) no ensaio realizado.....	52
Figura 11 –	Concentrações de metabólitos gerados durante operação dos reatores com resíduo sólido de banana.....	58
Figura 12 –	Concentração de Carboidrato Total durante a operação dos reatores.....	59
Figura 13 –	Ajuste sigmoidal da função de Gompertz modificada para geração de hidrogênio em reatores anaeróbios operados com resíduo sólido de Banana.....	60
Figura 14 –	Proporções de metabólitos gerados durante operação de reator otimizado com resíduo sólido de Banana.....	67
Figura 15 –	Proporções de metabólitos gerados durante operação de reator maior observado com resíduo sólido de Banana.....	67
Figura 16 –	Proporções de metabólitos gerados durante operação de reator ponto central com resíduo sólido de Banana.....	68
Figura 17 –	Proporções de metabólitos gerados durante operação de reator menor observado com resíduo sólido de Banana.....	68
Figura 18 –	Remoção de DQO Total durante a operação dos reatores.....	69
Figura 19 –	Volume acumulado temporal metano em reator de segundo estágio e metano direto.....	70
Figura 20 –	Remoção de Carboidrato Total durante a operação dos reatores....	71

Figura 21 –	Remoção de DQO Total e Carboidratos (em %) para produção de H_2	72
Figura 22 –	Ajuste sigmoidal da função de Gompertz modificada para geração de hidrogênio em reatores anaeróbios operados com água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana.....	73
Figura 23 –	Proporções de metabólitos gerados durante operação água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana.....	77
Figura 24 –	Remoção de DQO Total durante a operação dos reatores.....	77
Figura 25 –	Remoção de DQO Total e Carboidratos (em %) para produção de CH_4	78
Figura 26 –	Volume acumulado temporal de biogás (Metano).....	79
Figura 27 –	Abundância relativa de gêneros para Bacteria e Archaea em reatores acidogênicos no início e fim da operação.....	83
Figura 28 –	Ideograma circular “Circos” na variação das abundancias relativas dos principais gêneros de bactérias e archaeas no início e final do ensaio da fase acidogênica.....	84
Figura 29 –	Abundância relativa de gêneros para Bacteria e Archaea em reatores metanogênicos no início e fim da operação.....	87
Figura 30 –	Ideograma circular “Circos” na variação das abundancias relativas dos principais gêneros de bactérias e archaeas no início e final do ensaio na fase metanogênica.....	88
Figura 31 –	Estimativa energética para reatores em biossistema integrado (hidrogênio + metano) e metano direto.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Volumes de solução de KHP usados na preparação de curva analítica.....	30
Tabela 2 –	Composição do esgoto doméstico sintético.....	31
Tabela 3 –	Composição do meio Del Nery com vitamina B12.....	33
Tabela 4 –	Montagem de reatores de acordo com a relação S/I.....	34
Tabela 5 –	Valores reais das variáveis e seus níveis codificados utilizadas no BBD.....	35
Tabela 6 –	Matriz de delineamento experimental das três variáveis investigadas e variáveis resposta.....	36
Tabela 7 –	Condições dos ensaios.....	39
Tabela 8 –	Caracterização do substrato e inóculo.....	44
Tabela 9 –	Matriz de delineamento experimental das três variáveis investigadas e variáveis resposta.....	47
Tabela 10 –	Análise de regressão.....	47
Tabela 11 –	ANOVA realizada para os dados obtidos para a produção de Hidrogênio.....	49
Tabela 12 –	Variação de metabólitos gerados durante a produção de biogás para as condições 1 (pH inicial 4,25; temperatura 22; S/I de 1,92), 2 (pH inicial 4,25; temperatura 45; S/I de 1,92) 3 (pH inicial 6,5; temperatura 22; S/I de 1,92) e 4 (pH inicial 6,5; temperatura 45; S/I de 1,92).....	53
Tabela 13 –	Variação de metabólitos gerados durante a produção de biogás para as condições 5 (pH inicial 5,37; temperatura 22; S/I de 0,65), 6 (pH inicial 5,37; temperatura 45; S/I de 0,65) 7 (pH inicial 5,37; temperatura 22; S/I de 3,2) e 8 (pH inicial 5,37; temperatura 45; S/I de 3,2).....	54
Tabela 14 –	Variação de metabólitos gerados durante a produção de biogás para as condições 9 (pH inicial 4,25; temperatura 33,5; S/I de 0,65), 10 (pH inicial 6,5; temperatura 33,5; S/I de 0,65) 11 (pH inicial 4,25;	

	temperatura 33,5; S/I de 3,2) e 12 (pH inicial 6,5; temperatura 33,5; S/I de 3,2).....	55
Tabela 15 –	Variação de metabólitos gerados durante a produção de biogás para as condições 13 (pH inicial 5,37; temperatura 33,5; S/I de 1,92), 14 (pH inicial 5,37; temperatura 33,5; S/I de 1,92) e 15 (pH inicial 5,37; temperatura 33,5; S/I de 1,92).....	56
Tabela 16 –	Produção acumulada, estabilidade dos reatores, potencial de produção e taxa máxima de produção para Hidrogênio em reatores com resíduo sólido de Banana.....	60
Tabela 17 –	Variação temporal de metabólitos gerados durante operação de reatores de condição otimizada operados com resíduo sólido da Banana durante produção de Hidrogênio.....	62
Tabela 18 –	Variação temporal de metabólitos gerados durante operação de reatores de condição maior observado operado com resíduo sólido da Banana durante produção de Hidrogênio.....	63
Tabela 19 –	Variação temporal de metabólitos gerados durante operação de reatores de condição ponto central operado com resíduo sólido da Banana durante produção de Hidrogênio.....	64
Tabela 20 –	Variação temporal de metabólitos gerados durante operação de reatores de condição menor observado operado com resíduo sólido da Banana durante produção de Hidrogênio.....	65
Tabela 21 –	Produção acumulada, estabilidade dos reatores, potencial de produção e taxa máxima de produção para Metano.....	70
Tabela 22 –	Produção acumulada, estabilidade dos reatores, potencial de produção e taxa máxima de produção para Hidrogênio em reatores com água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana....	73
Tabela 23 –	Variação temporal de metabólitos gerados durante operação de reatores operados com água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana durante produção de Hidrogênio.....	75
Tabela 24 –	Produção acumulada, estabilidade dos reatores, potencial de produção e taxa máxima de produção para Metano.....	79

Tabela 25 –	Abundâncias relativas (%) do Dominio Bacteria para taxonomias de Filo e de Gênero para as amostras no início e no final da operação dos reatores acidogênicos com resíduos sólidos da banana.....	82
Tabela 26 –	Abundâncias relativas (%) das taxonomias de Filo e de Gênero para o Dominio Archaea em amostras no início e no final da operação dos reatores metanogênicos operados com efluente dos reatores acidogênicos.....	86
Tabela 27 –	Cálculo do T80 para os reatores de Hidrogênio e Metano.....	89
Tabela 28 –	Comparação entre resíduos sólidos e água residuária.....	91

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Parâmetros, métodos e referências utilizadas.....	40
-------------------	---	----

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 –	Função Gompertz Modificada.....	41
Equação 2 –	Perspectivas de Reuso Energético Hidrogênio.....	42
Equação 3 –	Perspectivas de Reuso Energético Metano.....	42
Equação 4 –	Modelo Polinomial Quadrático.....	48
Equação 5 –	Fermentação do tipo acetato.....	57
Equação 6 –	Rota metabólica de n-butanol.....	66
Equação 7 –	Fermentação etanólica.....	67
Equação 8 –	Fermentação do tipo butirato.....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS.....	189
3	REVISÃO BIBLIOGRAFIA.....	20
3.1	Resíduos agroindustriais de frutas	20
3.2	Digestão anaeróbia	21
3.3	Bactérias fermentativas	23
3.4	Archaeas metanogências	24
3.5	Lodo granular	25
3.6	Codigestão	26
3.7	Esgoto sanitário	26
3.8	Justificativa do presente estudo	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	Etapa preliminar	29
4.2	Etapa 1 – Caracterização dos substratos e inóculo	30
4.3	Etapa 2 – Testes de Otimização da produção de hidrogênio em reatores operados com resíduos sólidos da banana	33
4.4	Etapa 3 – Testes para a confirmação da condição otimizada obtida nas gerações de hidrogênio em Biossistemas Integrados para produção de hidrogênio	36
4.5	Etapa 4 – Teste para a condição otimizada em Biossistemas Integrados para produção de metano e em Biossistema único para produção de metano	37
4.6	Etapa 5 – Ensaio da melhor condição obtida em reatores operados com água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana em Biossistemas integrados para produção de hidrogênio e de metano	38
5	RESULTADOS.....	44
5.1	Etapa 1 – Caracterização dos substratos e inóculo	44
5.2	Etapa 2 – Testes de Otimização da produção de hidrogênio em reatores operados com resíduos sólidos da banana	45

5.3	Etapa 3 – Testes para a condição otimizada obtida nas gerações de hidrogênio em Biossistemas Integrados para produção de hidrogênio e de metano	58
5.4	Etapa 4 – Teste para a condição otimizada em Biossistema único para produção de metano	68
5.5	Etapa 5 – Ensaio da melhor condição obtida em reatores operados com água residuária da lavagem de tachos do doce de Banana em Biossistemas integrados para produção de hidrogênio e de metano	71
6	CONCLUSÃO	92
	REFERÊNCIAS.....	94

1 INTRODUÇÃO

O descarte inadequado de resíduos sólidos orgânicos causa uma série de impactos ambientais. Uma quantidade significativa de resíduos sólidos orgânicos, provenientes de materiais de origem vegetal, são rejeitados, descartados ou dispostos de forma inadequada, principalmente os advindos do processamento industriais de frutas como a banana e seus derivados como purês, sucos, licores, farinhas e balas (PEREIRA NETO et al., 2007).

A banana é um dos mais importantes produtos subtropicais comercializados com produção anual global superior 120 milhões de toneladas (Manhongo, 2022). Embora geralmente seja consumido in natura, diversos derivados da banana, como balas, salgadinhos, frutos secos, compotas e vinhos de banana, entre outros, ganharam espaço no mercado, o que demonstra a grande versatilidade e valorização desta fruta e seus derivados processados (Aurore, 2009).

A constituição dos resíduos gerados a partir do processamento industrial da banana são ricos em celulose e lignina, proveniente das cascas, que podem reter a liberação de açúcares como glicose e frutose e assim serem facilmente degradáveis por processos biológicos anaeróbios, com consequente geração de metano.

O biogás surge como uma fonte energética alternativa por ser energia reciclável, renovável e limpa que pode ser utilizada diretamente como combustível. O uso de biogás está em desenvolvimento no mundo como um todo porque apresenta vantagens únicas, como conversão de energia, redução da emissão de gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global, além de questões sociais. Entretanto, o biogás pode ser obtido de diversas fontes. Os resíduos orgânicos facilmente degradáveis como os da agroindústria, principalmente do processamento de frutas, podem ser utilizados na digestão anaeróbia para obtenção de biogás (GAO et al., 2019).

Esgoto sanitário também pode ser utilizado em codigestão pois permite um equilíbrio de nutrientes que reduz a possibilidade de inibição, além de apresentar alcalinidade que faz com que seja suportado substratos com alta quantidade de matéria orgânica facilmente degradável (MATA-ALVAREZ et al., 2014).

Estudos de superfície de resposta podem ser utilizados para avaliar a influência das condições operacionais e demais fatores na digestão anaeróbia, a partir de resíduos do processamento industrial da banana e assim obter a condição ideal ótima para gerações elevadas de biogás.

6 CONCLUSÃO

A caracterização dos resíduos da banana foi semelhante a outras frutas para a sua DQO, enquanto suas quantidades de carboidratos foram elevadas.

No ensaio de otimização da produção de Hidrogênio com o resíduo sólido da banana a melhor resposta prevista pelo modelo foi obtida na temperatura 40°C, pH inicial de 5 e S/I de 2 com produção de 480 ml/L de reator de biogás. Além disso, as análises de interação mostraram que X_1 (temperatura 22° - 45°) e X_3 (relação S/I 0,65 – 3,2) foram os parâmetros operacionais com maior influência na produção de Hidrogênio.

As remoções de carboidratos foram elevadas em todas as condições testadas e variaram de 82,66 a 92,44% das suas concentrações no início da operação dos reatores.

Gerações elevadas de álcoois e ácidos graxos voláteis como o Etanol e Ácido Acético foram verificadas no final da operação evidenciando a rota metabólica acética para as gerações de hidrogênio com resíduos sólidos da banana.

No biossistema integrado para os reatores acidogênicos foram verificadas eficiências elevadas na remoção de carboidratos totais, com reduções significativas nos valores iniciais. O consumo variou de 91,52% no reator otimizado a 97,83% no reator de menor observação, indicando que as condições operacionais otimizadas melhoraram tais consumos com eficiências elevadas. A redução de DQO total foi baixa ao longo da operação, com valores iniciais e finais variando entre os reatores, de 323,7 mg/L a 239,8 mg/L no reator otimizado e de 279,3 mg/L a 249,6 mg/L no menor observado. Tal fato confirmou a fermentação dos resíduos sólidos da banana a ácidos orgânicos e álcoois. A temperatura foi o fator mais influente para a produção de H_2 , com maior produção no reator operado a 45°C e menor geração a 22°C. Todos os reatores apresentaram fase de início de produção de H_2 . Assim, o reator operado a 22°C apresentou maior tempo de início de geração de H_2 e que foi de 11,60 horas, demonstrando que a temperatura foi um fator determinante para a produção de H_2 . Nos reatores otimizados, maior observado e ponto central, a produção de metabólitos estabilizou após 5,75 horas, com elevação nas gerações de hidrogênio. O reator de menor observado teve produção simultânea de metabólitos e hidrogênio, resultando em gerações de biogás mais reduzidas.

Nos reatores metanogênicos houve remoções de 96,31% da DQO no segundo estágio e 91,07% no reator direto. O consumo de carboidratos foi de 95,70% no reator

de metano direto e 73,98% no segundo estágio, com concentrações finais de 160 mg/L e 170 mg/L, respectivamente. As produções estabilizaram após 4 dias, e a adaptação dos microrganismos ocorreu em 2,88 horas no segundo estágio e 6,48 horas no metano direto

Para as condições otimizadas com água residuária dos tachos do doce de banana foi observado consumo superior a 95% dos carboidratos na produção de 981,33 mL H₂/Lr e metabólitos de valor agregado como o Etanol (762,03 mg/L), Ácido Acético (171,99 mg/L) e Ácido Butírico (227,46 mg/L), presentes no efluente dos reatores acidogênicos. Além disso, o efluente dos reatores acidogênicos foram importantes para produção de metano com o consumo de DQO (86,87% das quantidades iniciais), demonstrando eficiência na remoção de matéria orgânica por digestão anaeróbia.

Através da análise metagenômica foi possível justificar a produção de Hidrogênio devido à presença predominante de bactérias do gênero *Clostridium_sensu_stricto_1* pertencentes ao filo *Firmicutes*, conhecidas por suportarem o pré-tratamento de choque térmico ao qual o inóculo foi submetido. Em relação a produção de metano, foi observado a predominância do gênero *Methanosaeta* que pertence ao filo *Halobacterota*, indicando a rota acetoclástica como maior abundância durante a produção de Metano.

Em comparação entre as otimizações utilizando resíduo sólido da banana e água residuária do processamento da fruta, nos reatores acidogênico, o consumo de carboidratos foi semelhante, porém com maiores consumos de DQO e maior eficiência na conversão de carboidratos em hidrogênio com resíduo sólido (0,35 ml/H₂/g carboidrato), além de maior produção de Etanol (692,93 mg/L), enquanto a otimização com água residuária teve as maiores produções de Ácido Acético (125,47 mg/L) e n-Butanol (153,26 mg/L). Para os reatores metanogênicos, em ambas as otimizações, tivemos o consumo de carboidratos explicado pela baixa concentração inicial. A otimização com o resíduo sólido ainda apresentou maiores consumos de DQO (96,31%), maior eficiência na transformação de DQO em metano (0,32 ml/CH₄/g DQO) e maior velocidade de produção (584,14 mL CH₄/Lr/H).

Resíduos da banana, que são ricos em açúcares como glicose, foram ideais para produzir biocombustíveis como etanol e hidrogênio na fermentação por culturas mistas de bactérias anaeróbias.

REFERÊNCIAS

- ¹ Pereira Neto, J.T. Manual de compostagem: processo de baixo custo. Viçosa-MG: Editora UFV, 81p. 2007.
- ² Manhongo, T.T., Chimphango, A.F.A., Thornley, P., Röder, M.: Current status and opportunities for fruit processing waste biorefineries. *Renew. Sustain. Energy Rev.* (2022). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111823>
- ³ Aurore, G., Parfait, B., Fahrasmane, L.: Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends Food Sci. Technol.* 20, 78–91 (2009). <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2008.10.003>
- ⁴ GAO, M. et al. Opportunities and Challenges for Biogas Development: a Review in 2013– 2018. *Current Pollution Reports*, n. March, 2019.
- ⁵ S. Astals, D.J. Batstone, J. Mata-Alvarez, P.D. Jensen, Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes, *Bioresource Technology*, Volume 169, 2014, Pages 421-427, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.024>.
- ⁶ CORTEZ, L. A.B.; HONORIO, S. L.; MORETTI, C. L. Resfriamento de frutas e hortaliças. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
- ⁷ Carvalho Júnior, R. P. D. (2022). Aplicação de resíduo do processamento industrial da goiaba em reatores anaeróbios para produção de bioprodutos de valor agregado.
- ⁸ DEPPENMEIER, U. The unique biochemistry of methanogenesis. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, v. 71, p. 223–283, 2002. Disponível em:<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079660302710453>>.
- ⁹ AUGUSTOS DE LEMOS CHERNICHARO, Carlos; VON SPERLING, Marcos. Biological wastewater treatment in warm climate regions. IWA publishing, 2005.
- ¹⁰ Suárez, J.L.R, 2014. Producción de biogás a partir de biomasa de microalgas *Scenedesmus* sp. procedente de diferentes procesos. Tese doutoral. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España.
- ¹¹ KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. do (Ed.). Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2019. p. 13-26. DOI: DOI - https://dx.doi.org/10.21452/978-85-93823-01-5.2019.01_1.

- ¹² MICELI, J. F.; TORRES, C. I.; KRAJMALNIK-BROWN, R. Shifting the balance of fermentation products between hydrogen and volatile fatty acids: microbial community structure and function. *FEMS microbiology ecology*, v. 92, 2016, p. 1–8, 2016. Disponível em: <<http://femsec.oxfordjournals.org/content/91/4/fiv011.abstract>>.
- ¹³ DAS, D.; VEZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 26, n. 1, p. 13–28, 2001.
- ¹⁴ SIVAGURUNATHAN, P. et al. Fermentative hydrogen production using lignocellulose biomass: An overview of pre-treatment method, inhibitor effects and detoxification experiences. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 77, n. March 2016, p. 28–42, 2017.
- ¹⁵ DE CLERCQ, D.; WEN, Z.; GOTTFRIED, O.; SCHMIDT, F.; FEI, F. A review of global strategies promoting the conversion of food waste to bioenergy via anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 79, n. May, p. 204–221, 2017.
- ¹⁶ MAINTINGUER, S. I. et al. Hydrogen bioproduction with *Enterobacter* sp. isolated from brewery wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 42, n. 1, p. 152–160, 2017.
- ¹⁷ RABELO, C. A. B. S. et al. Optimization of hydrogen and organic acids productions with autochthonous and allochthonous bacteria from sugarcane bagasse in batch reactors. *Journal of Environmental Management*, v. 223, n. July, p. 952–963, 2018a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.015>>.
- ¹⁸ MAZARELI, R. C. da S. Otimização da produção de hidrogênio a partir de resíduos de banana: avaliação da diversidade de bactérias autóctones e distribuição funcional. 2019. Universidade de São Paulo, 2019.
- ¹⁹ RODRIGUES, C. V. et al. Bioconversion of crude glycerol from waste cooking oils into hydrogen by sub-tropical mixed and pure cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 4, p. 144–154, 2019.
- ²⁰ WALTER, A. et al. Biomethane potential of industrial paper wastes and investigation of the methanogenic communities involved. *Biotechnology for Biofuels*, v. 9, p. 1–21, 2016.
- ²¹ ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 42, n. 1, p. 35–53, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>>.
- ²² CHAPLEUR, O. et al. Asymmetrical response of anaerobic digestion microbiota to temperature changes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 100, n. 3, p. 1445–1457, 2016.

- ²³ SOLLI, L. et al. A metagenomic study of the microbial communities in four parallel biogas reactors. *Biotechnology for biofuels*, v. 7, n. 1, p. 146, 2014. Disponível em: <<http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/7/1/146>>.
- ²⁴ MERLIN CHRISTY, P.; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 34, p. 167–173, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010>>.
- ²⁵ CREMONEZ, Paulo André et al. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, v. 281, p. 111854, 2021.
- ²⁶ LIM, Seung Joo; KIM, Tak-Hyun. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. *Biomass and bioenergy*, v. 60, p. 189-202, 2014.
- ²⁷ CANAVER MARIN, DANIELI FERNANDA; RODRIGUES, CAROLINE VARELLA; MAINTINGUER, SANDRA IMACULADA. Maximizing biogas production from expired dairy products: A two-stage anaerobic digestion approach. *INTERNATIONAL JOURNAL OF HYDROGEN ENERGY*. v.100, p.173 - 183, 2025.
- ²⁸ RODRIGUES, CAROLINE VARELLA; CAMARGO, FRANCIELE PEREIRA; LOURENÇO, VITOR ALVES; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; MAINTINGUER, SANDRA IMACULADA; SILVA, EDSON LUIZ; AMÂNCIO VARESCHE, MARIA BERNADETE. Towards a circular bioeconomy to produce methane by co-digestion of coffee and brewery waste using a mixture of anaerobic granular sludge and cattle manure as inoculum. *CHEMOSPHERE*. v.357, p.142062 - 14073, 2024.
- ²⁹ Silva D C; RODRIGUES, C. V.; MAINTINGUER, SANDRA IMACULADA; CANAVER MARIN, DANIELI FERNANDA; LAZARO, C. Z.; JACOBUS, ANA PAULA; Pires, L.O. Performance of clostridium species and autochthonous bacteria from citrus wastewater under different carbon sources to produce biofuels. *INTERNATIONAL JOURNAL OF HYDROGEN ENERGY*. v.1, p.77 - 181, 2023.
- ³⁰ ADAMES, LUAN VIEIRA; JACOBUS, ANA PAULA; SAKAMOTO, ISABEL KIMIKO; LAZARO, CAROLINA ZAMPOL; PIRES, LORENA OLIVEIRA; MAINTINGUER, SANDRA IMACULADA. Bioenergy Recovery from Anaerobic Co-Digestion of Crude Glycerol and Domestic Sewage In-Series Reactor: Microbial Characterization and System Performance. *BioEnergy Research*. v.1, p.32 - 43, 2022.
- ³¹ MARAGKAKI, A. E. et al. Pilot-scale anaerobic co-digestion of sewage sludge with agro-industrial by-products for increased biogas production of existing digesters at wastewater treatment plants. *Waste management*, v. 59, p. 362-370, 2017.
- ³² SILVA, F. M. S. et al. Hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion system by co-digestion of food waste, sewage sludge and glycerol. *Waste Management*, v. 76, p. 339–349, 2018.

- ³³ RODRIGUES, C. V.; Santana, K O; Nespeca M G; DE OLIVEIRA J. E.; MAINTINGUER, SANDRA IMACULADA. Crude glycerol by transesterification process from used cooking oils: Characterization and potentialities on hydrogen bioproduction. *International Journal of Hydrogen Energy*. v.41, p.14641 - 14651, 2016.
- ³⁴ KANCHANASUTA, S.; SILLAPARASSAMEE, O. Enhancement of hydrogen and methane production from co-digestion of palm oil decanter cake and crude glycerol using two stage thermophilic and mesophilic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 42, n. 5, p. 3440–3446, 2017.
- ³⁵ APHA; AWWA; WEF. *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater*. 21st. ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association, 2005.
- ³⁶ ADORNO, M.; HIRASAWA, J.; VARESCHE, M. Development and validation of two methods to quantify volatile acids. *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 5, n. May, p. 406–414, 2014.
- ³⁷ MARTÍN, M. A.; SILES, J. A.; CHICA, A.F.; MARTÍN, A. Biomethanization of orange peel waste. *Bioresource Technology*, Essex, v. 101, p. 8993–8999, 2010
- ³⁸ Torquato, L. D. M. et al. Potential of biohydrogen production from effluents of citrus processing industry using anaerobic bacteria from sewage sludge. *Waste Management*, v. 59, p. 181–193, 2017.
- ³⁹ MAINTINGUER, S. I. et al. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 33, n. 16, p. 4309–4317, 2008.
- ⁴⁰ Del Nery V (1987). *Utilização do lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo da partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo*. São Carlos. Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos., Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo.
- ⁴¹ Widdel F, Pfennig N (1984) Dissimilatory sulfate- or sulfur-reducing bacteria. In: Krieg NR, Holt JG (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*; vol I. Williams & Wilkins, Baltimore London, pp 663- 679
- ⁴² ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops : a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*— WST, p. 927–934, 2009.
- ⁴³ MAIESKI, Luciano Missel. *Os principais microorganismos patogênicos que afetam a qualidade do leite*. 2011.

- ⁴⁴ Gang Wang, Yang Mu, Han-Qing Yu, Response surface analysis to evaluate the influence of pH, temperature and substrate concentration on the acidogenesis of sucrose-rich wastewater, *Biochemical Engineering Journal*, Volume 23, Issue 2, 2005, Pages 175-184
- ⁴⁵ NEVES, L.; OLIVEIRA, R.; ALVES, M. M. Influence of inoculum activity on the biomethanization of a kitchen waste under different waste/ inoculum ratios. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 12, p. 2019-2024, 2004.
- ⁴⁶ WHEELAN, C. Estatística: o que é, para que serve, como funciona. Editora Schwarcz-Companhia das Letras, 2016.
- ⁴⁷ Freire, C.C., Marin, D.F.C., da Silva Mazareli, R.C. et al. Unravelling the Biohydrogen Production Potential from a Co-Digestion Process of Banana Processing Wastewater and Synthetic Sewage by Anaerobic Fermentation: Performance Evaluation and Microbial Community Analysis. *Waste Biomass Valor* (2023). <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02258-6>
- ⁴⁸ DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- ⁴⁹ AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.
- ⁵⁰ LAY, J.-J.; LI, Y.-Y.; NOIKE, T. Developments of Bacterial Population and Methanogenic Activity in a Laboratory-Scale Landfill Bioreactor. *Water Research*, v. 32, n. 12, p. 3673– 3679, 1998.
- ⁵¹ Zhang, R. et al. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 4, p. 929–935, 2007.
- ⁵² CAMARENA-MARTÍNEZ, Maria Eugenia; et al. Performance Evaluation of Anaerobic Digestion of Agricultural Waste for Biogas Production: The Influence of Temperature and Organic Loading Rate. *Renewable Energy*, v. 145, p. 1517-1526, 2020.
- ⁵³ RODRIGUES, C. V. et al. Biohydrogen production in an integrated biosystem using crude glycerol from waste cooking oils. *Renewable Energy*, v. 162, p. 701–711, 2020b.
- ⁵⁴ GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 4th. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. v. 1
- ⁵⁵ Julie Haendiges, Ruth Timme, Padmini Ramachandran, Maria Balkey 2020. DNA Quantification using the Qubit Fluorometer. [protocols.io](https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bi8dkhs6) <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bi8dkhs6>

- ⁵⁶ Schaefer, Rejane. Técnicas em biologia molecular. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006. 24p.; 29cm. –(Documentos / Embrapa Suínos e Aves, ISSN 0101-6245; 116)
- ⁵⁷ Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- ⁵⁸ PERIMENIS, Anastasios et al. Comparison of the acidogenic and methanogenic potential of agroindustrial residues. *Waste Management*, v. 72, p. 178-185, 2018.
- ⁵⁹ RODRIGUES, Maria Isabel; IEMMA, Antonio Francisco. Experimental design and process optimization. Crc Press, 2014.
- ⁶⁰ M.M. Gomes, I.K. Sakamoto, C.A.B. Silva Rabelo, E.L. Silva, M.B.A. Varesche, Statistical optimization of methane production from brewery spent grain: Interaction effects of temperature and substrate concentration, *J. Environ. Manag.* 288 (2021), <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112363>.
- ⁶¹ Reungsang, A., Pattr, S., Sittijunda, S., 2012. Optimization of key factors affecting methane production from acidic effluent coming from the sugarcane juice hydrogen fermentation process. *Energies* 5, 4746–4757. <https://doi.org/10.3390/en5114746>.
- ⁶² Kainthola, J., Kalamdhad, A.S., Goud, V.V., 2019. Optimization of methane production during anaerobic co-digestion of rice straw and hydrilla verticillata using response surface methodology. *Fuel* 235, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.07.094>.
- ⁶³ Burkert, J.F.M., Maugeri, F., Rodrigues, M.I., 2004. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial design. *Bioresour. Technol.* 91, 77–84. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00152-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00152-4).
- ⁶⁴ Mari, A. G. et al. Biohydrogen and biomethane production from cassava wastewater in a two-stage anaerobic sequencing batch biofilm reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 45, n. 8, p. 5165–5174, 2020.
- ⁶⁵ Jeong-Hoon Park, Sang-Hoon Lee, Jeong-Jun Yoon, Sang-Hyoun Kim, Hee-Deung Park, Predominance of cluster I *Clostridium* in hydrogen fermentation of galactose seeded with various heat-treated anaerobic sludges, *Bioresource Technology*, Volume 157, 2014, Pages 98-106, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.081>.
- ⁶⁶ VALDEZ-VAZQUEZ, Idania; POGGI-VARALDO, Hector M. Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 13, n. 5, p. 1000-1013, 2009.

- ⁶⁷ ELSHARNOUBY, Omneya et al. A critical literature review on biohydrogen production by pure cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, n. 12, p. 4945-4966, 2013.
- ⁶⁸ 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, 2008a.
- ⁶⁹ Wang XJ, Ren NQ, Xiang WS, Guo WQ. ()2007Influence of gaseous end-products inhibition and nutrient limitations on the growth and hydrogen production by hydrogenproducing fermentative bacterial B49. *Int J Hydrogen Energy*, n. 32, p. 748–54.
- ⁷⁰ BARROS, Aruana Rocha; SILVA, Edson Luiz. Hydrogen and ethanol production in anaerobic fluidized bed reactors: Performance evaluation for three support materials under different operating conditions. *Biochemical Engineering Journal*, v. 61, p. 59-65, 2012.
- ⁷¹ CHERNICHARO, C. A. de L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. Belo Horizonte: Segrac, 1997, v. 5. 245 p.
- ⁷² Hala El-Kamah, Ahmed Tawfik, Mohamed Mahmoud, Hisham Abdel-Halim, Treatment of high strength wastewater from fruit juice industry using integrated anaerobic/aerobic system, *Desalination*, Volume 253, Issues 1–3, 2010, Pages 158-163, ISSN 0011-9164, <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.11.013>.
- ⁷³ SIVAGURUNATHAN, P.; KUPPAM, C.; MUDHOO, A.; SARATALE, G. D.; KADIER, A.; ZHEN, G.; CHATELLARD, L.; TRABLY, E.; KUMAR, G. A comprehensive review on two-stage integrative schemes for the valorization of dark fermentative effluents. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 38, p. 868-882, 2018. doi: 10.1080/07388551.2017.1416578.
- ⁷⁴ DÜRRE, Peter. New insights and novel developments in clostridial acetone/butanol/isopropanol fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 49, p. 639-648, 1998.
- ⁷⁵ EZEJI, Thaddeus; QURESHI, Nasib; BLASCHEK, Hans P. Butanol production from agricultural residues: impact of degradation products on *Clostridium beijerinckii* growth and butanol fermentation. *Biotechnology and bioengineering*, v. 97, n. 6, p. 1460-1469, 2007.
- ⁷⁶ GRESES, Silvia; TOMÁS-PEJÓ, Elia; GÓNZALEZ-FERNÁNDEZ, Cristina. Agroindustrial waste as a resource for volatile fatty acids production via anaerobic fermentation. *Bioresource technology*, v. 297, p. 122486, 2020.
- ⁷⁷ Setlow P. 2006. Spores of *Bacillus subtilis*: Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *J Appl Microbiol* 101(3):514– 525

- ⁷⁸ Thomas, P.; Swarna, G.K.; Roy, P.K.; Patil, P. Identification of culturable and originally non-culturable endophytic bacteria isolated from shoot tip cultures of banana cv. Grand Naine. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2008, 93, 55–63.
- ⁷⁹ Cabanás, G.-L.C.; Fernández-González, A.J.; Cardoni, M.; Valverde-Corredor, A.; López-Cepero, J.; Fernández-López, M.; Mercado-Blanco, J. The Banana root endophytome: Differences between mother plants and suckers and evaluation of selected bacteria to control *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *J. Fungi* 2021, 7, 194.
- ⁸⁰ Thomas, P.; Sekhar, A.C. Cultivation Versus Molecular Analysis of Banana (*Musa* sp.) Shoot-Tip tissue reveals enormous diversity of normally uncultivable endophytic bacteria. *Microb. Ecol.* 2017, 73, 885–899.
- ⁸¹ Navarro-Díaz M, Valdez-Vazquez I, Escalante AE. Ecological perspectives of hydrogen fermentation by microbial consortia: What we have learned and the way forward. *Int J Hydrog Energy* 2016;41(39):17297–308.
- ⁸² Yang G, Wang J. Biohydrogen production from waste activated sludge pretreated by combining sodium citrate with ultrasonic: Energy conversion and microbial community. *Energy Convers Manage* 2020;225:113436. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113436>.
- ⁸³ Castello ´ E, Nunes Ferraz-Junior AD, Andreani C, Anzola-Rojas MDP, Borzacconi L, Buitron ´ G, et al. Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: possible causes and solutions. *Renew Sust Energy Rev* 2020;119: 109602. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109602>.
- ⁸⁴ Chen Y, Yin Y, Wang J. Influence of butyrate on fermentative hydrogen production and microbial community analysis. *Int J Hydrogen Energy* 2021;46(53):26825–33
- ⁸⁵ XU, X. et al. Bioelectrochemical system for the enhancement of methane production by anaerobic digestion of alkaline pretreated sludge. *Bioresource Technology*, v. 304, p. 123000, 2020.
- ⁸⁶ Guo J, Peng Y, Ni BJ, et al. Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing. *Microb Cell Fact.* 2015;14(1):33.
- ⁸⁷ RABELO, Camila Abreu B. Silva et al. Isolation of *Paraclostridium* CR4 from sugarcane bagasse and its evaluation in the bioconversion of lignocellulosic feedstock into hydrogen by monitoring cellulase gene expression. *Science of the Total Environment*, v. 715, p. 136868, 2020.
- ⁸⁸ ELSEVIER. Renewable Energy: Sources and Methods. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/book/9780128172107/renewable-energy>>. Acesso em: 12 nov. 2024.