

# REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:  
Investigación, desarrollo y práctica.

## PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO A PARTIR DE CASCAS DE BANANA EM REATOR ANAERÓBIO EM BATELADA

José Diego Magalhães Soares<sup>1</sup>

Mariany Fernandes Barros<sup>1</sup>

Fernanda Santana Peiter<sup>1</sup>

\* Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim<sup>1</sup>

1

## HYDROGEN PRODUCTION FROM BANANA PEEL IN ANAEROBIC BATCH REACTOR

Recibido el 12 de septiembre de 2019; Aceptado el 13 de enero de 2021

### Abstract

*The global energy matrix largely gears towards the use of fossil fuels that cause significant environmental impacts. Alternative sources of energy, including biohydrogen, appear as a substitute for these non-renewable fuels. For hydrogen production, anaerobic digestion stands out for the degradation of organic matter without the need for light and for being able to be conducted at low temperatures. Thus, this study aimed to evaluate the efficiency of an anaerobic reactor to produce hydrogen using banana peel as a substrate. The tests were carried out in batch with controlled temperature ( $35 \pm 1$  °C) and with agitation at 120 rpm, using the sludge from an effluent treatment plant as inoculum. The amounts of inoculum (0.139 g and 0.209 g of volatile solids (SV) per batch) and substrate (0.695 g and 2.78 g SV per batch) were varied, as were the initial pH values (5.5 and 6). In addition, the effect of substrate pretreatment for all reaction conditions was evaluated. The best results for carbohydrate consumption and hydrogen production occurred in reactors with the alkaline treatment of the substrate. Reactor R3 (with 209 g of SV per batch of inoculum, initial pH 6 and 0.695 g of SV per substrate batch) presented the best result for the specific rate of hydrogen production, reaching 309.82 mL.g-1SV when subjected to the pretreatment of the substrate.*

**Keywords:** *alkaline treatment, biohydrogen, fermentative process, experimental planning, agro-industrial waste.*

<sup>1</sup> Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Brasil.

\* *Autor correspondente:* Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas. Av. Lourival Melo Mota, s/n – Cidade Universitária, Maceió, Alagoas. CEP 57072-900. Brasil. Telefone: +55 82 32141860. Email: [eduardo.lucena@ctec.ufal.br](mailto:eduardo.lucena@ctec.ufal.br)

## Resumo

A matriz energética mundial é, em grande parte, voltada para o uso de combustíveis fósseis e isso provoca grandes impactos ambientais. As fontes alternativas de energia, dentre as quais o biohidrogênio, surgem como uma possibilidade de substituição destes combustíveis não renováveis. Para a produção do hidrogênio, tem-se a biodigestão anaeróbia, que se destaca pela degradação da matéria orgânica sem a necessidade de luz e por poder ser conduzida a baixas temperaturas. Desse modo, este estudo tem como objetivo avaliar a eficiência de um reator anaeróbio em relação à produção de hidrogênio a partir de cascas de banana como substrato. Os ensaios foram realizados em batelada com temperatura controlada ( $35 \pm 1$  °C) e agitação em 120 rpm, utilizando como inóculo lodo de estação de tratamento de efluentes. Foram variadas as quantidades de inóculo (0.139 g e 0.209 g de sólidos voláteis (SV) por batelada) e substrato (0.695 g e 2.78 g de SV por batelada), assim como o pH inicial (5.5 e 6). Além disso, foi avaliado o efeito do pré-tratamento alcalino do substrato para as condições reacionais. Os melhores resultados para consumo de carboidratos e produção de hidrogênio foram obtidos nos reatores com tratamento alcalino do substrato. O reator R3 (com 209 g de SV por batelada de inóculo, pH inicial 6 e 0.695 g de SV por batelada de substrato) apresentou melhores resultados para a taxa específica de produção de hidrogênio, atingindo o valor de  $309.82 \text{ mL.g}^{-1}\text{SV}$  quando submetido a tratamento prévio do substrato.

**Palavras chave:** bio-hidrogênio, processo fermentativo, pré-tratamento alcalino, planejamento experimental, resíduos agroindustriais.

## Introdução

A utilização de energias não renováveis baseadas em combustíveis fósseis provocou a expansão industrial, que culminou no atual cenário tecnológico e de desenvolvimento mundial. Contudo, o seu uso e dependência gradualmente irá ocasionar o esgotamento de recursos naturais e aumento da produção de gases causadores do efeito estufa (Noblecourt *et al.*, 2018). Com a crescente preocupação acerca dos impactos ambientais, diversas pesquisas vêm investigando processos inovadores para produção de fontes energia alternativa, tais como as apresentadas por Reverberi *et al.* (2016), que avaliaram os processos de geração de hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) levando em consideração as técnicas mais recentes e sua aplicabilidade.

Neste contexto, ressalta-se o problema do consumo energético e de geração de resíduos advindos do processo e beneficiamento das matérias-primas do setor agroindustrial, que em muitos dos casos não são tratados ou dispostos de forma adequada. Além disso, o desperdício de produtos alimentícios é crescente, chegando a um terço do total produzido (Reynolds *et al.*, 2019).

Dentre os subprodutos agroindustriais, podem-se destacar os do processo produtivo da banana por serem baratos e, em sua maioria, apresentarem carboidratos essenciais para a produção de hidrogênio. São produzidas grandes quantidades de resíduos e ao se colher uma tonelada de banana, 100 kg de fruta e 4 toneladas de resíduos lignocelulósicos (3 toneladas de pseudocaule, 160 kg de engaço, 480 kg de folhas e 440 kg de cascas) são rejeitados (Fernandes *et al.*, 2013).

Através da literatura, observa-se que a digestão anaeróbia se apresenta como uma alternativa promissora para o tratamento de resíduos agroindustriais. Este processo é uma transformação natural em que microrganismos consomem as estruturas da matéria orgânica para produzir compostos como hidrogênio, acetato, dióxido de carbono e água residual (Avaci *et al.*, 2013). O subproduto do processo anaeróbio pode ser aproveitado como combustível, o que possibilita a diminuição de custos energéticos e do uso de combustíveis fósseis.

Entretanto, resíduos como palha de trigo, talo de milho, bagaço de cana, palha de arroz e cascas de banana possuem celulose, hemicelulose e lignina em sua composição. A heterogeneidade e cristalinidade desses componentes dificultam a utilização direta da biomassa pelos microrganismos da digestão anaeróbia. Deste modo, recorre-se à aplicação de pré-tratamentos voltados à conversão da fração lignocelulósica em açúcares solúveis, facilitando sua assimilação pela microbiota do processo de fermentação. Seja físico, químico ou biológico, ou uma combinação destes, o pré-tratamento do substrato tem se mostrado útil para aumentar os rendimentos de hidrogênio (Cui and Shen, 2012; Reginatto and Antônio, 2015).

Pré-tratamentos do tipo alcalino apresentam-se eficazes para a quebra da biomassa lignocelulósica. Estes métodos usam substâncias como KOH ou NaOH para ajudar a separar a hemicelulose e a lignina da celulose. A estrutura cristalina e amorfa da celulose é, então, modificada e quebrada devido à hidrólise alcalina. A densidade da celulose é diminuída e a estabilidade termodinâmica melhorada. A lignina é dissolvida por meio de um processo semelhante à polpação e recombinação. Em geral, o pré-tratamento alcalino é um método competitivo e mais eficiente (> 80%) que pré-tratamentos ácidos, especialmente para alguns materiais rígidos em que o ácido não consegue solubilizar (Sołowski *et al.*, 2020).

O pré-tratamento dos materiais lignocelulósicos é fundamental para o aproveitamento dos diversos tipos de biomassa por fermentação anaeróbia. Contudo, o funcionamento adequado deste processo depende também do controle de parâmetros como o pH e a relação alimento/microrganismo (A/M). Em um estudo usando digestores anaeróbios para tratar a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos, Lavagnolo *et al.* (2018) mostraram que tanto o pH inicial quanto a razão A/M tiveram um impacto no rendimento de hidrogênio, na taxa de produção de hidrogênio e na duração da fase lag. Segundo Yuan *et al.* (2019), razões A/M muito altas levam à diminuição do pH devido ao acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) resultante do desequilíbrio que ocorre entre as fases de hidrólise/acidogenesis e metanogênese. Lavagnolo *et al.* (2018) alcançou maior rendimento de hidrogênio (29.8 mL.g<sup>-1</sup>SV) à razão A/M = 6 e pH = 5.5. Porém, a maior taxa de produção de hidrogênio (65 mL.g<sup>-1</sup>.d) ocorreu a uma razão A/M = 6 e pH = 9. Nasr *et al.* (2013) obteve maior rendimento de hidrogênio (1.87 mol-H<sub>2</sub>.mol<sup>-1</sup>-glicose) com A/M = 1.4 e faixa de pH entre 5.5 e 6.5. Yuan *et al.* (2019) associou o maior rendimento de H<sub>2</sub> à razão A/M igual a 64:1.

Diante disto, este estudo apresenta uma forma alternativa de se produzir bio-hidrogênio a partir de resíduos oriundos do processo de produção da banana. O objetivo é analisar os efeitos do pré-tratamento alcalino do substrato lignocelulósico e dos diferentes parâmetros operacionais na produção de H<sub>2</sub> em reator anaeróbio em batelada.

## Metodologia

### Planejamento experimental

O planejamento da sequência de atividades experimentais permite a avaliação simultânea do efeito de muitas variáveis, partindo de um número reduzido de ensaios. O método utilizado neste trabalho foi o fatorial, que é representado por b<sup>k</sup>. Onde, o valor de b = 2 corresponde ao número de níveis escolhidos e k = 3 é equivalente ao número de fatores (massa de inóculo, substrato e pH) conforme descrição na Tabela 1 e com valores próximos de resultados ótimos em estudo anterior (Nathoa *et al.*, 2014). A variável resposta para cada ensaio foi a produção de H<sub>2</sub>.

**Tabela 1.** Reatores anaeróbios em batelada com farinha de casca de banana como substrato.

Reatores	Inóculo (g de SV por batelada)	pH	Substrato (g de SV por batelada)	Relação A/M (Alimento/Microrganismo) (g de SV de substrato/g de SV de inóculo)
R1	0.209	5.5	0.695	3.33
R2	0.139	5.5	0.695	5
R3	0.209	6	0.695	3.33
R4	0.139	6	0.695	5
R5	0.209	5.5	2.78	13.3
R6	0.139	5.5	2.78	20
R7	0.209	6	2.78	13.3
R8	0.139	6	2.78	20

\*SV – Sólidos

### Inóculo: lodo de ETE (Estação de Tratamento de Efluentes)

O inóculo utilizado foi o lodo de um reator Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) pertencente a uma ETE localizada em Maceió, AL. Este lodo foi tratado termicamente para impedir o desenvolvimento de microrganismos metanogênicos através de seu pré-aquecimento durante 15 minutos a 90 °C seguido de resfriamento até que atingisse 25 °C (Maintinguer *et al.*, 2009).

### Substrato: Cascas de banana prata

O substrato utilizado foi casca de banana prata seca em estufa a 50 °C durante um período de 24h. Em seguida, as cascas secas foram trituradas em liquidificador industrial. Para a realização dos ensaios em batelada, a farinha da casca da banana foi diluída em água destilada de acordo com as quantidades mencionadas na Tabela 1 do planejamento experimental.

Foram realizados ensaios sem (A) e com (B) hidrólise alcalina da biomassa, que teve como intuito a desnaturação das moléculas lignocelulósicas e o favorecimento do ataque enzimático (Guerrero *et al.*, 2017). Esse tratamento ocorreu através da mistura da biomassa com solução 0.1M de NaOH até pH 7 e fervura por 30 min (Cui e Shen, 2012).

#### Ensaio em batelada

Os experimentos foram realizados em batelada durante 185 h, em frascos de capacidade de 110mL e volume reacional de 55 mL. O pH inicial dos sistemas reacionais foi corrigido utilizando solução 0.1M de HCl conforme o planejamento experimental. Nitrogênio gasoso foi injetado para estabelecer a anaerobiose do processo. Os frascos foram vedados com uma rolha de borracha butílica e lacre metálico e operados em condições mesofílicas ( $35 \pm 1$  °C) em câmara incubadora refrigerada com agitação orbital, modelo MA380, com 120 rpm de agitação.

#### Métodos Analíticos

Sólidos totais e voláteis, pH e temperatura seguiram os procedimentos de APHA *et al.* (2005). Carboidratos totais foram mensurados a partir de Dubois *et al.* (1956). O biogás foi quantificado diariamente através de 100µL de amostra em fase gasosa, utilizando seringa de vidro e injeção manual em cromatógrafo gasoso, Shimadzu GC-2010-Plus®, equipado com detector de condutividade térmica, conforme descrito por Maintinguer *et al.* (2009). A coluna utilizada foi a Supelco Carboxen 1010 Plot. Argônio foi utilizado como gás de arraste. As temperaturas do forno e da coluna foram 30 °C e 200 °C; respectivamente, e a temperatura do detector foi 230 °C.

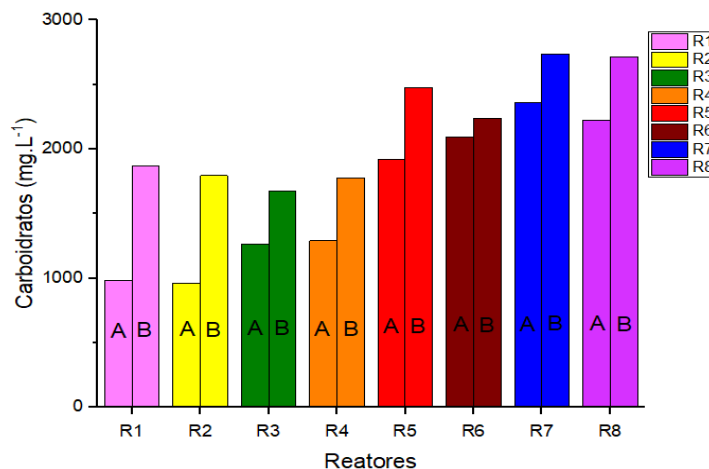
Após os experimentos, foram realizadas tabulações dos dados, e através do programa OriginPro Trial 2019®, foram construídas curvas de ajustes utilizando a função sigmoideal Gompertz, com o intuito de descrever a produção cumulativa de H<sub>2</sub> da atividade anaeróbia no reator.

### **Resultados e discussão**

#### Efeito do pré-tratamento alcalino na sacarificação do substrato e consumo de carboidratos

A hidrólise alcalina do substrato resultou em incremento da concentração inicial de carboidratos totais quantificada para todas as misturas reacionais utilizadas (Figura 1), devido a uma maior biodegradabilidade da biomassa através da transformação em estruturas mais simples.

Os reatores R1 e R2 apresentaram maiores elevações nas concentrações de carboidratos iniciais (90.1 e 86.8%, respectivamente) em comparação com a mistura reacional sem o pré-tratamento alcalino. Entretanto, esse aumento se encontra abaixo do observado por Cui e Shen (2012), que obtiveram um incremento de até 5.84 vezes em ART (Açúcares Redutores Totais) ao utilizarem grama como substrato.



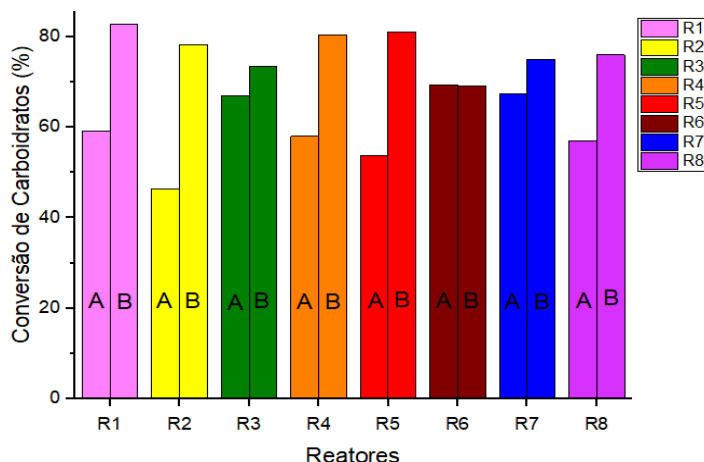
**Figura 1.** Concentrações iniciais de carboidratos dos reatores sem (A) e com (B) hidrólise alcalina do substrato.

O pré-tratamento alcali possibilita uma maior biodegradabilidade da biomassa lignocelulósica devido à sua transformação em estruturas mais simples (Zhang et al., 2013). Cui e Shen (2012) também obtiveram bons resultados com a sacarificação (transformação em compostos monoméricos, principalmente monossacarídeos) de biomassa lignocelulósica através de pré-tratamento alcalino e indicaram que este processo foi essencial para o aumento de ART (Açúcares Redutores Totais) e da produção de H<sub>2</sub>.

Para Gabhane *et al.* (2014), as características do material lignocelulósico podem interferir em sua sacarificação. Tal afirmação foi constatada a partir de processos de pré-tratamento alcalino de resíduos da banicultura (pseudocaule, medula e folha) aliados ao uso de micro-ondas, ultrassom e autoclave com variações de 14.6 a 47.33 % de rendimento de açúcares redutores.

Em geral, o pré-tratamento do substrato favoreceu o consumo de carboidratos na produção de H<sub>2</sub>. Com exceção de R6, os reatores obtiveram maior conversão de carboidratos quando o pré-tratamento alcalino foi aplicado (Figura 2), alcançando conversões máximas de 82.7% em R1 e 81.0% em R5. Já para os casos sem pré-tratamento, a máxima conversão atingida foi de 69.2% em R6 e 67% em R7.

Pesquisas prévias apresentaram valores próximos aos encontrados neste trabalho. Lazaro *et al.* (2014) obtiveram porcentagens de remoção de carboidratos solúveis totais entre 79.4 ± 2.4 e 86.7 ± 0.7% à temperatura de 37 °C ao utilizar vinhaça para produção de H<sub>2</sub> em batelada. E Cheng *et al.* (2012) alcançaram valores de remoção entre 64 ± 10 e 82 ± 2 % à temperatura de 35°C, empregando resíduos da produção de bioetanol da casca do arroz como substrato.



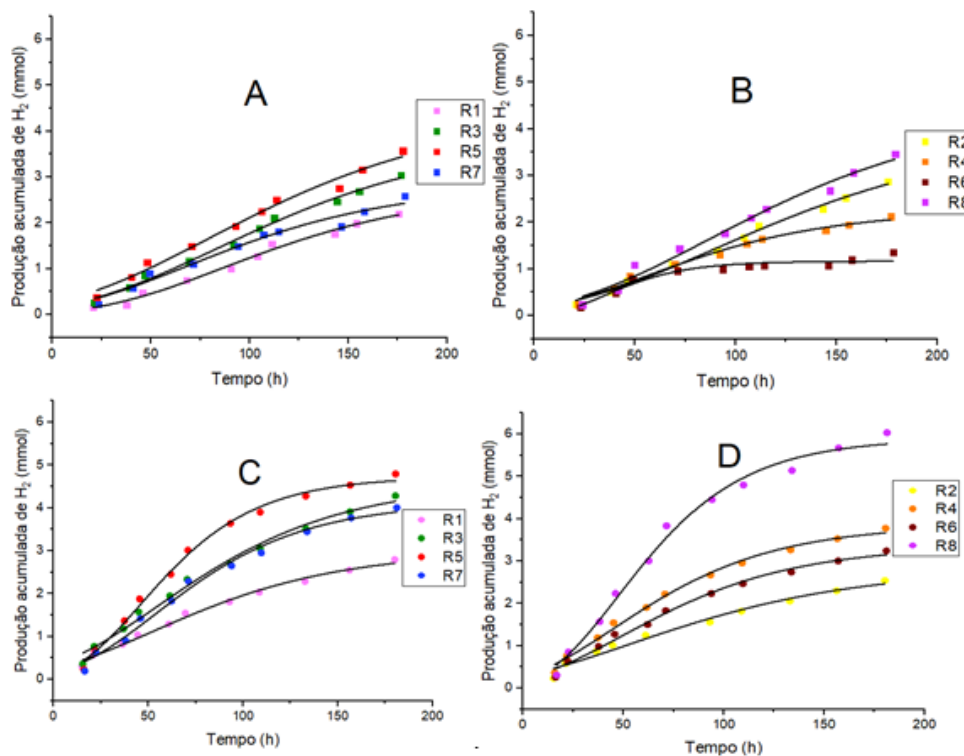
**Figura 2.** Consumo de carboidratos nos reatores sem (A) e com (B) hidrólise alcalina do substrato.

### Produção de hidrogênio

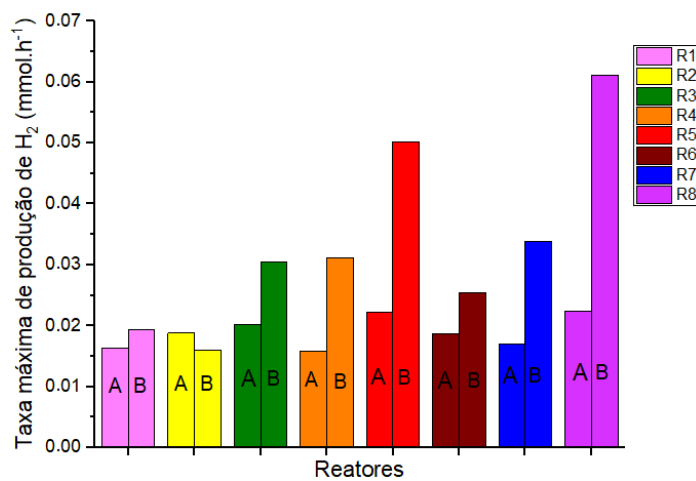
A produção de H<sub>2</sub> foi acompanhada até a estabilidade ser atingida. Não se observou a presença de metano nos reatores, o que deve estar relacionado à manutenção das condições acidogênicas do pH, de forma a inibir a atividade metanogênica e o consumo de H<sub>2</sub> (Sivagurunathan *et al.*, 2017). A hidrólise do substrato favoreceu o aumento da produção acumulada de H<sub>2</sub> em sete das configurações de reatores. Para os reatores sem hidrólise do substrato, os valores da produção acumulada de H<sub>2</sub> variaram entre 1.35 mmol (R6) e 3.57 mmol (R5). Em relação aos demais reatores, esta variação foi entre 2.54 mmol (R2) e 6.03 mmol (R8).

A produção acumulada de hidrogênio ajustada ao modelo de Gompertz é mostrada na Figura 3 de forma agrupada por quantidade de inóculo e realização ou não do pré-tratamento do substrato. Não se faz perceptível visualmente a fase lag, o que se pode deduzir é que ocorreu uma rápida adaptação da comunidade microbiana durante o início da produção de hidrogênio (Cabrol *et al.*, 2017). Além disso, pode ser visualizada uma melhor estabilização da produção acumulada de H<sub>2</sub> nos reatores que contém o substrato que sofreu hidrólise básica (partes C e D da Figura 3). Em relação às taxas máximas de produção de H<sub>2</sub> (R<sub>m</sub>), observa-se que esta foi favorecida pelo pré-tratamento do substrato. Dentre todos os reatores, R8 (0.062 mmol.h<sup>-1</sup>) e R5 (0.05 mmol.h<sup>-1</sup>) foram os que obtiveram as maiores taxas com e sem o pré-tratamento do substrato (Figura 4).

Nathoa *et al.* (2014) obtiveram R<sub>m</sub> igual a 5.040 ± 1.3 mL.h<sup>-1</sup> para a condição de melhor resultado em seus estudos (A/M = 5), o que corresponde a aproximadamente 0.225 mmol.h<sup>-1</sup>. A grande diferença entre a taxa observada pelos pesquisadores supracitados e as taxas deste estudo está ligada ao fato do volume reacional utilizado por eles ser 9.1 superior ao deste experimento.



**Figura 3.** Producción temporal acumulada de  $H_2$ , ajustada al modelo de Gompertz para los reactores en batelada. Nota: (Parte A) reactores sem pré-tratamento do substrato e com 0.209g de SV de inóculo; (Parte B) reactores com 0.139 de SV de inóculo e sem pré-tratamento do substrato; (Parte C) reactores com pré-tratamento do substrato e com 0.209g de SV de inóculo; (Parte D) reactores com pré-tratamento do substrato e com 0.139 de SV de inóculo.

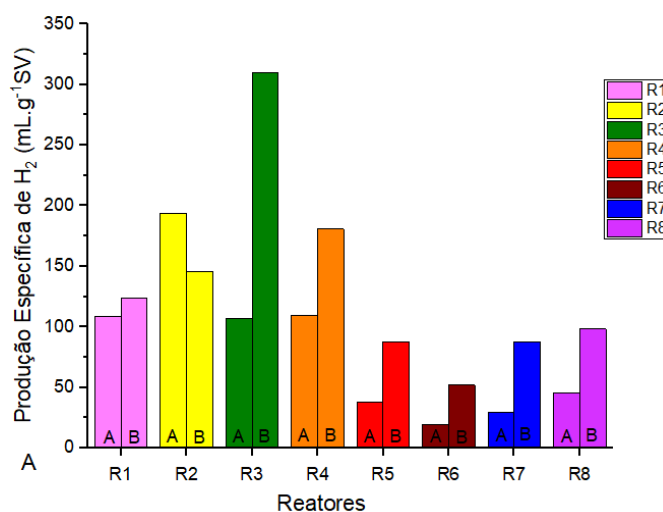


**Figura 4.** Taxa máxima de produção de  $H_2$  sem (A) e com (B) hidrólise do substrato.



### Relação A/M

A produção específica de  $H_2$ , referente ao consumo de substrato, também foi beneficiada pela hidrólise prévia do substrato (Figura 5). De maneira geral, os reatores com relações A/M iguais a 3.3 (R1 e R3) e 5 (R2 e R4) foram os que obtiveram os melhores resultados. Dentre estes, destaca-se o R3 com pré-tratamento do substrato, que atingiu uma produção específica de hidrogênio igual a  $309.82 \text{ mL.g}^{-1}\text{SV}$ . Os resultados obtidos para a produção específica de hidrogênio se assemelham aos encontrados por Nathoa *et al.* (2014), que conseguiram as maiores produções específicas ( $251.3 \pm 10 \text{ mL.g}^{-1}\text{SV}$ ) para relações A/M mais próximas de 5.



**Figura 5.** Produção específica de hidrogênio sem (A) e com (B) hidrólise do substrato

Nathoa *et al.* (2014) obtiveram  $93.5 \pm 19 \text{ mL}$  como maior produção acumulada de  $H_2$ , que equivalente a  $3.68 \text{ mmol}$  com relação A/M igual a 5. Este resultado se aproxima dos encontrados neste trabalho para os reatores com substrato hidrolisado (R3 =  $4.28 \text{ mmol}$ , com relação A/M igual a 3.33) e (R4 =  $3.77 \text{ mmol}$ , com relação A/M igual a 5). No entanto, os reatores com relação A/M iguais a 20 (R8) e 13.3 (R5), com pré-tratamento do substrato, foram os que atingiram as maiores produções de hidrogênio, com valores  $6.08$  e  $4.79 \text{ mmol}$ , respectivamente.

Evidencia-se que para ambos os tipos de processo (com e sem prévio tratamento do substrato) houve uma queda na produção específica de hidrogênio com o aumento da relação A/M para valores iguais a 13.3 e 20.

### pH

A redução no pH dos reatores (valores finais entre 4.86 e 5.56), para os casos com e sem pré-tratamento, se enquadrou na variação encontrada na literatura, em relação à produção de H<sub>2</sub> a partir de substratos lignocelulósicos. Para Ghimire *et al.* (2016), os valores finais de pH foram na faixa de 4.7 a 5.3 para pH inicial entre 4.5 e 6 na mistura. Já Rafieenia *et al.* (2017) obtiveram valores finais de pH entre 4.56 e 5.51. Os resultados de Nathoa *et al.* (2014), em sua produção de H<sub>2</sub> com pH inicial 6, mostraram uma estabilização em 5.4 e sugerem que esta pode estar ligada à capacidade tamponante da casca da banana.

### **Conclusões**

Este trabalho analisou a viabilidade da casca de banana prata como fonte de carboidratos para a produção de H<sub>2</sub>, obtendo, inclusive, melhores resultados para a produção específica de hidrogênio quando comparado a outros estudos envolvendo resíduos da bananicultura.

Verificou-se também, os efeitos do pré-tratamento alcalino na produção de hidrogênio a partir da utilização da casca de banana prata em condições mesofílicas de temperatura e conclui-se que a utilização deste processo, aumentou a eficiência do consumo de carboidratos e produção de hidrogênio em relação à biodigestão sem o tratamento prévio da biomassa.

A maior taxa de produção de hidrogênio (0.061 mmol.h<sup>-1</sup>) ocorreu no reator R8, com etapa de pré-tratamento. O reator R3 apresentou a maior produção específica de H<sub>2</sub> de 309.82 mL.g<sup>-1</sup>SV. Além disso, identificou-se que a produção de hidrogênio foi diretamente influenciada pela variação nos valores iniciais da relação A/M dos reatores anaeróbios. Destaca-se que os melhores resultados para produção específica de H<sub>2</sub> foram observados para as menores relações A/M (3.3 e 5). Portanto, presume-se que o aumento da concentração de substrato para as maiores relações A/M (13.3 e 20) inibiu o processo de produção específico de H<sub>2</sub>.

### **Referências bibliográficas**

- Avaci, A. B., Souza, S. N. M., Chaves, L. I., Nogueira, C. E. C., Niedzialkoski, R. K., Secco, D. (2013) Avaliação econômico-financeira da microgeração de energia elétrica proveniente de biogás da suinicultura. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, **17**(4), 456-462. doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013000400015>
- APHA, American Public Health Association, AWWA, American Water Works Association, WEF, Water Environment Federation (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21a ed., American Public Health Association. Washington, DC.
- Cabrol, L., Marone, A., Tapia-Venegas, E., Steyer, J-P., Ruiz-Filippi, G., Trably, E. (2017) Microbial ecology of fermentative hydrogen producing bioprocesses: useful insights for driving the ecosystem function. *FEMS Microbiology Reviews*, **41**(2), 158-181. doi: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw043>

- Cheng, H.-H., Whang, L.-M., Wu, C.-W., Chung, M.-C. (2012) A two-stage bioprocess for hydrogen and methane production from rice straw bioethanol residues, *Bioresource Technology*, **113**, 23-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.103>
- Cui, M., Shen, J. (2012) Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation, *International Journal of Hydrogen Energy*, **37**(1), 1120-1124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.078>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, **28**(3), 350-356. doi: <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Fernandes, E. R. K., Marangoni, C., Souza, O., Sellin, N. (2013) Thermochemical characterization of banana leaves as a potential energy source, *Energy Conversion and Management*, **75**, 603-608. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.08.008>
- Gabhane, J., Prince William, S. P. M., Gadhe, A., Rath, R., Vaidya, A. N., Wate, S., 2014. Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production: Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication. *Waste Manag.* **34**, 498-503. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.013>
- Ghimire, A., Sposito, F., Frunzo, L., Trably, E., Escudí, R., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., Esposito, G. (2016) Effects of operational parameters on dark fermentative hydrogen production from biodegradable complex waste biomass, *Waste Management*, **50**, 55-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.044>
- Guerrero, A. B., Ballesteros, I., Ballesteros, M. (2017) Optimal conditions of acid-catalysed steamexplosion pretreatment of banana lignocellulosic biomass for fermentable sugar production, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **92**(9), 2351-2359. doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.5239>
- Lazaro, C. Z., Perna, V., Etchebehere, C., Varesche, M.B.A. (2014) Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: The effects of temperature and substrate concentration, *International Journal of Hydrogen Energy*, **39**(12), 6407-6418. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.02.058>
- Lavagnolo, M. C., Girotto, F., Rafieenia, R., Danieli, L., Alibardi, L., 2018. Two-stage anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste - Effects of process conditions during batch tests. *Renew. Energy* **126**, 14-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.039>
- Maintinguer, S. I. (2009) *Obtenção e caracterização filogenética de consórcio bacteriano utilizado em reator anaeróbico em batelada aplicado à produção de hidrogênio*, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia (Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 167 pp.
- Nasr, M., Tawfik, A., Ookawara, S., Suzuki, M., 2013. Biological hydrogen production from starch wastewater using a novel up-flow anaerobic staged reactor. *BioResources* **8**, 4951-4968. <https://doi.org/10.15376/biores.8.4.4951-4968>
- Nathoa, C., Sirisukpoca, U., Pisutpaisal, N. (2014) Production of hydrogen and methane from banana peel by two phase anaerobic fermentation, *Energy Procedia*, **50**, 702-710. doi: [10.1016/j.egypro.2014.06.086](https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.06.086)
- Noblecourt, A., Christophe, G., Larroche, C., Fontanille, P. (2018) Hydrogen production by dark fermentation from pre-fermented depackaging food wastes, *Bioresource Technology*, **247**, 864-870. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.199>
- Rafieenia, R., Girotto, F., Peng, W., Cossu, R., Pivato, A., Raga, R., Lavagnolo, M. C. (2017) Effect of aerobic pretreatment on hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion process using food waste with different compositions, *Waste Management*, **59**, 194-199.
- Reginatto, V., Antônio, R. V., 2015. Fermentative hydrogen production from agroindustrial lignocellulosic substrates. *Brazilian J. Microbiol.* **46**, 323-335. doi: <https://doi.org/10.1590/S1517-838246220140111>

- Reverberi, A. P., Klemes, J. J., Varbanov, P. S., Fabiano, B. (2016) A review on hydrogen production from hydrogen sulphide by chemical and photochemical methods, *Journal of Cleaner Production*, **136**, parte B, 72-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.139>
- Reynolds, C., Goucher, L., Queded, T., Bromley, S., Gillick, S., Wells, V. K., Evans, D., Koh, L., Kanyama, A.C., Katzeff, C., Svenfelt, Å., Jackson, P. (2019) Review: Consumption-stage food waste reduction interventions - What works and how to design better interventions, *Food Policy*, **83**, 7-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2019.01.009>
- Sivagurunathan, P., Kumar, G., Mudhoo, A., Rene, E. R., Saratale, G. D.; Kobayashi, T.; Xu, K., Kim, S-H.; Kim, D-H. (2017) Fermentative hydrogen production using lignocellulose biomass: An overview of pre-treatment methods, inhibitor effects and detoxification experiences, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **77**, 28-42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.091>
- Sołowski, G., Konkol, I., Cenian, A., (2020) Production of hydrogen and methane from lignocellulose waste by fermentation. A review of chemical pretreatment for enhancing the efficiency of the digestion process. *J. Clean. Prod.* 267. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121721>
- Yuan, T., Bian, S., Ko, J. H., Wu, H., Xu, Q., 2019. Enhancement of hydrogen production using untreated inoculum in two-stage food waste digestion. *Bioresour. Technol.* **282**, 189-196. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.020>
- Zhang, B., He, P. J., Ye, N. F., Shao, L. M., (2008) Enhanced isomer purity of lactic acid from the non-sterile fermentation of kitchen wastes. *Bioresource Technology*, **99**, 855-862. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.010>