



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ADRIANO SEIDI DEMARCHI MIKAMI

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUO DE FRUTAS E  
VEGETAIS COM ADIÇÃO DE FRUTOSE, CASEÍNA E  
ÁCIDO PALMÍTICO:  
APLICAÇÃO EM BANCADA E EM REATORES PILOTOS**

---

Londrina  
2024

ADRIANO SEIDI DEMARCHI MIKAMI

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUO DE FRUTAS E  
VEGETAIS COM ADIÇÃO DE FRUTOSE, CASEÍNA E  
ÁCIDO PALMÍTICO:  
APLICAÇÃO EM BANCADA E EM REATORES PILOTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fernandes.

Londrina  
2024

ADRIANO SEIDI DEMARCHI MIKAMI

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUO DE FRUTAS E  
VEGETAIS COM ADIÇÃO DE FRUTOSE, CASEÍNA E  
ÁCIDO PALMÍTICO:  
APLICAÇÃO EM BANCADA E EM REATORES PILOTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fernandes  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Mônica Sarolli Silva de Mendonça  
Costa  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná –  
UNIOESTE

---

Prof. Dr. Thiago Edwiges  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -  
UTFPR

Londrina, 25 de abril de 2024.

*Dedico à minha mãe Diana, ao meu pai Hiroshi,  
à minha irmã Patrícia, ao meu irmão Vinícius e  
aos meus sobrinhos Joaquim e Miguel, que são  
a alegria da minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer à toda minha família, em especial minha avó Dirce, minhas tias Zilda, Vilma e Cleusa e ao meu cunhado Ariston;

Gostaria de agradecer aos meus amigos Jonas Marques e Mariana Fraiz, que fazem com que eu deseje ser uma pessoa melhor a cada dia;

Gostaria de agradecer aos meus amigos LABtares, Fernanda Diniz Avila e Josemarque;

Gostaria de agradecer meus amigos RECICLERS, que também são meus parceiros de pesquisa, Maurício Bortoloti e Isabela Sicchieri. Obrigado por ensinar o passo a passo da digestão anaeróbia! Meu agradecimento se estende aos nossos queridos ICs, Viviana, Tuda, Léo 1, Léo 2 e Luis Felipe;

Gostaria de agradecer ao meu mentor do IAT, Eliton Bembem, por acreditar em mim. Ao meu amiggor Higgor Goes por ser minha dupla e ao Johvanny com quem dividia minha mesa, assim como à Ana Júlia;

Gostaria de agradecer ao Professor Fernando Fernandes pela orientação e à professora Emília Kuroda por toda a estrutura e suporte. Estendo meus agradecimentos ao Wander Luiz, nosso técnico de laboratório, e ao seu Carlos da maquetaria, por sempre estar disposto a nos ajudar;

Por fim agradeço a UEL e a CAPES pelo fomento à minha pesquisa.

この道がつづくのは続けと願ったから  
(地球儀 - 米津玄師)

*Porque eu desejei, essa jornada pôde continuar  
(Spinning Globe, Yonezu Kenshi)*

## RESUMO

MIKAMI, Adriano Seidi Demarchi. **Codigestão anaeróbia de resíduo de frutas e vegetais com adição de frutose, caseína e ácido palmítico**: aplicação em bancada e em reatores piloto. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

A legislação ambiental no Brasil determina que a parcela orgânica dos resíduos deve receber destinação ambientalmente adequada, através de processos de reciclagem biológica como a digestão anaeróbia – DA. A DA tem como metabólito o gás metano, que pode atuar na diversificação da matriz energética devido seu alto poder calorífico. No cenário nacional o resíduo de frutas e vegetais - RFV é disposto quase integralmente em aterro, contrariando as diretrizes do poder público. Cerca de 40% da produção é perdida entre a colheita e o consumidor final, o que resultou em aproximadas 11 milhões de toneladas de RFV sendo aterradas em 2021. Por ser altamente biodegradável o RFV é apto à DA, entretanto seu teor de açúcares tende a desestabilizar a reação. Intervenções são necessárias para melhorar a eficiência operacional e otimizar a produção de metano, sendo uma delas a codigestão anaeróbia - coDA. Um co-substrato pode oferecer açúcares, pois 40% dos carboidratos do RFV são estruturais; pode oferecer proteínas, visto baixa alcalinidade e desequilíbrio da relação C/N do RFV; pode também oferecer lipídios, tendendo a aumentar o metano no biogás. As biomoléculas podem simular co-substratos, e a frutose, caseína e ácido palmítico foram adotados para este fim. Em escala de bancada observou-se que a adição de  $2,5\text{g.L}^{-1}$  de frutose,  $10\text{g.L}^{-1}$  de caseína e  $5\text{g.L}^{-1}$  de ácido palmítico em codigestão com  $20\text{g.L}^{-1}$  de RFV, em função dos sólidos totais voláteis – STVs, resultaram no aumento da produção de metano em 24,05, 29,57 e 53,97% respectivamente sem comprometer a estabilidade do processo. Essas concentrações foram testadas em reatores CSTR, e observou-se que em COV 0,5  $\text{gSTV L}^{-1}\text{d}^{-1}$  a produção específica de metano - PEM foi de 324, 307, 300 e  $341\text{L.kgSTV}^{-1}$  para os reatores monodigestão de RFV (REATOR TEST), coDA de frutose+RFV (REATOR FRU), coDA de caseína+RFV (REATOR CAS), e coDA de ácido palmítico+RFV (REATOR A.P.), respectivamente, sem perda de estabilidade. No segundo TDH de COV  $1,0\text{ gSTV L}^{-1}\text{d}^{-1}$  os resultados foram de 518, 578 e  $613\text{kgSTV}^{-1}$  para os reatores TEST, FRU e CAS, com processos estáveis e conversões satisfatórias. O reator A.P. colapsou na segunda semana de operação, indicando que a COV 0,5 é o limite suportado no delineamento desta pesquisa. Conclui-se que a DA de RFV em COV 0,5 e 1,0 pode receber acréscimo de carboidratos sem risco de acidificação em excesso; deve receber proteínas, que balanceia a relação C/N e fornece alcalinidade, e pode receber ácido palmítico, apenas em COV 0,5, diluindo as gorduras e aumentando o teor de metano no biogás.

**Palavras-chave:** Resíduo de frutas e vegetais; Codigestão anaeróbia; Biomoléculas.

## ABSTRACT

MIKAMI, Adriano Seidi Demarchi. **Anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste with the addition of fructose, casein, and palmitic acid:** application in bench-scale and pilot-scale reactors. 146 p. Dissertation (Master's in Civil Engineering) – State University of Londrina, Londrina, 2024.

The environmental legislation in Brazil determines that the organic portion of waste must receive environmentally appropriate disposal, through biological recycling processes such as anaerobic digestion - AD. AD produces methane gas as a metabolite, which can contribute to diversifying the energy matrix due to its high calorific value. However, the fruits and vegetables waste - FVW is almost entirely disposed of in landfills, contrary to government guidelines. About 40% of production is lost between harvest and final consumer, resulting in approximately 11 million tons of FVW being landfilled in 2021. As FVW is highly biodegradable, it is suitable for anaerobic digestion, although its sugar content tends to destabilize the reaction. Interventions are necessary to improve operational efficiency and optimize methane production, and one of them is anaerobic co-digestion - coDA. A co-substrate can provide sugars, as 40% of the carbohydrates in FVW are structural; it can provide proteins, given the low alkalinity and imbalance of the C/N ratio of FVW; it can also provide lipids, increasing methane content in biogas. Biomolecules can mimic co-substrates, and fructose, casein, and palmitic acid were adopted for this purpose. At the bench scale, it was observed that the addition of  $2.5\text{g.L}^{-1}$  of fructose,  $10\text{g.L}^{-1}$  of casein, and  $5\text{g.L}^{-1}$  of palmitic acid in co-digestion with  $20\text{g.L}^{-1}$  of FVW, based on total volatile solids - TVS, resulted in increased methane production by 24.05, 29.57, and 53.97%, respectively, without taking process stability. These concentrations were tested in Continuous Stirred Tank Reactors - CSTR, and it was observed that at an organic loading rate - OLR of  $0.5\text{ gSTV L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , the specific methane yield - SMY was 324, 307, 300, and  $341\text{ L.kgSTV}^{-1}$  for the monodigestion reactors of FVW (TEST REACTOR), coDA of fructose+FVW (FRU REACTOR), coDA of casein+FVW (CAS REACTOR), and coDA of palmitic acid+FVW (A.P. REACTOR), respectively, without losses in stability. In the second OLR of  $1.0\text{ gSTV L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , the SMY were 518, 578, and  $613\text{ kgSTV}^{-1}$  for the TEST, FRU, and CAS reactors, respectively, with stable processes and satisfactory conversions. The A.P. reactor collapsed in the second week of operation, indicating that the 0.5 OLR is the supported limit in the design of this research. It is concluded that the AD of FVW in OLR of 0.5 and 1.0 can receive the addition of carbohydrates without the risk of excessive acidification; it must receive proteins, which balance the C/N ratio and provide alkalinity, and it can receive palmitic acid, only in OLR of 0.5, diluting fats and increasing the methane content in biogas.

**Key-words:** Fruit and vegetables waste; Anaerobic codigestion; Biomolecules.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fases da Digestão Anaeróbia tradicional.....	34
<b>Figura 2</b> - Influência da temperatura no desenvolvimento dos microrganismos metanogênicos.....	37
<b>Figura 3</b> - Reator anaeróbio de dejetos de suinocultura.....	43
<b>Figura 4</b> - Container de descarte na CEASA (I) e RFV segregado após coleta (II). ....	44
<b>Figura 5</b> - Embalagem comercial da frutose (I), caseína e ácido palmítico, e sua consistência (II). ....	45
<b>Figura 6</b> - Fluxograma exemplificando a ETAPA I do experimento.....	46
<b>Figura 7</b> - Fluxograma exemplificando a ETAPA II do experimento.....	47
<b>Figura 8</b> - Reator de batelada para ensaio de BMP: A) Manômetro; B) Tampa de nylon tecnil; C) Frasco de borossilicato e D) Registro agulha (I). Mesa agitadora para incubação (II).....	50
<b>Figura 9</b> - Medidor portátil (I) fazendo mensuração do biogás produzido no frasco de BMP (II). ....	53
<b>Figura 10</b> - Reatores CSTR para etapa II do experimento. ....	56
<b>Figura 11</b> - Aparato experimental da etapa II, constituído de reatores CSTR e gasômetros. ....	56
<b>Figura 12</b> - Gasômetros deslocados após produção de biogás (I) e aparelho portátil OPTIMA 7 fazendo medição qualitativa (II). ....	58
<b>Figura 13</b> - Produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições controle durante o experimento.....	72
<b>Figura 14</b> - Produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com frutose durante o experimento. ....	78
<b>Figura 15</b> - Produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com caseína durante o experimento.....	82
<b>Figura 16</b> - Produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com ácido palmítico durante o experimento. ....	87
<b>Figura 17</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator piloto no decorrer do experimento. ....	91

<b>Figura 18</b> - Produção de biogás do reator testemunha durante o período do experimento, por TDH. ....	95
<b>Figura 19</b> - Abundância relativa de gêneros de bactérias no inóculo e reator testemunha. ....	99
<b>Figura 20</b> - Abundância relativa de gêneros de arqueas no inóculo e reator testemunha. ....	101
<b>Figura 21</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator frutose durante o experimento. ....	103
<b>Figura 22</b> - Produção de biogás do reator frutose durante o período do experimento, por TDH. ....	107
<b>Figura 23</b> - Abundância relativa de gêneros de bactérias no reator frutose. ....	110
<b>Figura 24</b> - Abundância relativa de gênero de arqueas no reator frutose.....	111
<b>Figura 25</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator caseína durante o experimento.....	113
<b>Figura 26</b> - Produção de biogás do reator caseína durante o período do experimento, por TDH. ....	117
<b>Figura 27</b> - Abundância relativa de gêneros de bactérias no reator caseína.....	119
<b>Figura 28</b> - Abundância relativa de gênero de arqueas no reator caseína. ....	121
<b>Figura 29</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator ácido palmítico durante o experimento. ....	122
<b>Figura 30</b> - Produção de biogás do reator ácido palmítico durante o período do experimento, por TDH. ....	126
<b>Figura 31</b> - Abundância relativa de gêneros de bactérias no reator ácido palmítico.....	129
<b>Figura 32</b> - Abundância relativa de gênero de arqueas no reator ácido palmítico.....	130

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> -	Desperdício anual de frutas e vegetais, por ordem de geração, em diferentes países e na União Europeia .....	29
<b>Tabela 2</b> -	Geração de RFV nas maiores centrais de distribuição do Brasil .....	30
<b>Tabela 3</b> -	Plantas de biogás no Brasil no ano de 2022, por região .....	42
<b>Tabela 4</b> -	Especificação das condições e dosagens para o experimento em batelada. ....	55
<b>Tabela 5</b> -	Concentrações de sólidos totais voláteis adicionados, de acordo com o reator. ....	61
<b>Tabela 6</b> -	Resultados de diferentes parâmetros de dejetos suíno digeridos reportados na literatura. ....	64
<b>Tabela 7</b> -	Diferentes propriedades de RFV reportadas na literatura. ....	66
<b>Tabela 8</b> -	Parâmetros operacionais de estabilidade nas condições controle e monodigestões. ....	68
<b>Tabela 9</b> -	Parâmetros operacionais de conversão nas condições controle e monodigestões. ....	70
<b>Tabela 10</b> -	Produções específicas de biogás e de metano nas condições controle. ....	71
<b>Tabela 11</b> -	Parâmetros de estabilidade nas condições com adição de frutose .....	75
<b>Tabela 12</b> -	Parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de frutose.....	76
<b>Tabela 13</b> -	Produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com frutose. ....	77
<b>Tabela 14</b> -	Parâmetros de estabilidade nas condições com adição de caseína.....	80
<b>Tabela 15</b> -	Parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de caseína .....	81
<b>Tabela 16</b> -	Produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com caseína.....	82
<b>Tabela 17</b> -	Parâmetros de estabilidade nas condições com adição de ácido palmítico.....	84

<b>Tabela 18</b> - Parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de ácido palmítico.....	85
<b>Tabela 19</b> - Produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com ácido palmítico. ....	86
<b>Tabela 20</b> - Melhores condições suplementadas com frutose, caseína e ácido palmítico, em comparação com a testemunha. ....	88
<b>Tabela 21</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator testemunha. ....	89
<b>Tabela 22</b> - Monitoramento dos parâmetros de conversão no reator testemunha. ....	93
<b>Tabela 23</b> - Monitoramento da produção de biogás no reator testemunha. ....	95
<b>Tabela 24</b> - Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator testemunha. ....	97
<b>Tabela 25</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator frutose. ....	102
<b>Tabela 26</b> - Monitoramento dos parâmetros de conversão no reator frutose.....	105
<b>Tabela 27</b> - Monitoramento da produção de biogás no reator frutose.....	106
<b>Tabela 28</b> - Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator frutose. ....	108
<b>Tabela 29</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator caseína.....	112
<b>Tabela 30</b> - Monitoramento dos parâmetros de conversão no reator caseína ....	115
<b>Tabela 31</b> - Monitoramento da produção de biogás no reator caseína. ....	116
<b>Tabela 32</b> - Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator caseína.....	118
<b>Tabela 33</b> - Monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator ácido palmítico.....	121
<b>Tabela 34</b> - Monitoramento nos parâmetros de conversão no reator A.P .....	124
<b>Tabela 35</b> - Monitoramento da produção de biogás no reator ácido palmítico .....	125
<b>Tabela 36</b> - Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator ácido palmítico.....	127
<b>Tabela 37</b> - Compilado dos resultados dos experimentos da etapa II.....	131

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Geração estimada de efluentes por agroindústrias em nível global.....	27
<b>Quadro 2</b> - Parâmetros monitorados durante as etapas experimentais. ....	48
<b>Quadro 3</b> - Caracterização físico-química do inóculo, substrato e biomoléculas. ....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>AGV</b>	Ácido graxo volátil
<b>AI</b>	Alcalinidade intermediária
<b>AP</b>	Alcalinidade parcial
<b>A.P.</b>	Ácido Palmítico
<b>AT</b>	Alcalinidade total
<b>AV</b>	Acidez volátil
<b>BMP</b>	<i>Biochemical Methane Potential</i> (potencial bioquímico de metano)
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	Carbonato de Cálcio
<b>CAS</b>	Caseína
<b>CEASA</b>	Central de Abastecimento
<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	Ácido Acético
<b>CH<sub>4</sub></b>	Gás metano
<b>C/N</b>	Relação C/N
<b>CO</b>	Monóxido de Carbono
<b>Co</b>	Cobalto
<b>CO<sub>2</sub></b>	Gás Carbônico
<b>CoDA</b>	Codigestão anaeróbia
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional de Meio Ambiente
<b>Conc.</b>	Concentração
<b>COV</b>	Carga orgânica volumétrica
<b>CSTR</b>	<i>Continuously Stirred Tank Reactor</i> (Tanque de Agitação Contínua)
<b>CTU</b>	Centro de Tecnologia e Urbanismo
<b>Cu</b>	Cobre
<b>Cv</b>	Coefficiente de variação (%)
<b>DA</b>	Digestão anaeróbia
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DQO</b>	Demanda química de oxigênio
<b>DN</b>	Diâmetro nominal
<b>ETE</b>	Estação de tratamento de esgoto
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América

<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
<b>FRU</b>	Frutose
<b>GEE</b>	Gases de Efeito Estufa
<b>GLP</b>	Gás Liquefeito de Petróleo
<b>H<sub>2</sub></b>	Gás Hidrogênio
<b>HAc</b>	Ácido acético
<b>Hib</b>	Ácido isobutírico
<b>Hiv</b>	Ácido isovalérico
<b>HPr</b>	Ácido propiônico
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Gás Sulfídrico
<b>HV</b>	Ácido valérico
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>I:S</b>	Inóculo:Substrato
<b>K</b>	Potássio
<b>kcal.kg<sup>-1</sup></b>	quilocaloria por quilograma
<b>kHz</b>	kilohertz
<b>kgf.cm<sup>-2</sup></b>	quilograma força por centímetro quadrado
<b>LABTAR</b>	Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos
<b>MA</b>	Material Aditivo
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>MDL</b>	Mecanismo de Desenvolvimento Limpo
<b>MJ.m<sup>-3</sup></b>	Megajoule por metro cúbico
<b>MO</b>	Matéria Orgânica
<b>Mo</b>	Molibdênio
<b>MW</b>	Megawatt
<b>NaCl</b>	Cloreto de Sódio
<b>NAT</b>	Nitrogênio Amoniacal Total
<b>NBR</b>	Norma Brasileira
<b>Ni</b>	Níquel
<b>NKT</b>	Nitrogênio Total Kjeldahl
<b>Nm<sup>3</sup></b>	Metro cúbico normal
<b>ND</b>	Não Detectado
<b>O<sub>2</sub></b>	Gás Oxigênio

<b>ONU</b>	Organização da Nações Unidas
<b>ONS</b>	Operador Nacional do Sistema Elétrico
<b>P</b>	Fósforo
<b>PCR</b>	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia Polimerase)
<b>PE<sub>biogás</sub></b>	Produção Específica de Biogás
<b>PECH<sub>4</sub></b>	Produção Específica de Metano
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>PLANARES</b>	Plano Nacional de Resíduos Sólidos
<b>PM<sub>biogás</sub></b>	Produção Média de Biogás
<b>PM<sub>biogásD</sub></b>	Produção Média de Biogás por Dia
<b>PNRS</b>	Política Nacional de Resíduos Sólidos
<b>PROSAB</b>	Programa de Pesquisas em Saneamento Básico
<b>PVC</b>	Policloreto de Vinila
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>Q</b>	Vazão
<b>RAgro</b>	Resíduo Agroindustrial
<b>RFV</b>	Resíduo de Frutas e Vegetais
<b>RGS</b>	Resíduo da Granja de Suínos
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>rpm</b>	Rotações por Minuto
<b>RSO</b>	Resíduos Sólidos Orgânicos
<b>RSU</b>	Resíduos Sólidos Urbanos
<b>Se</b>	Selênio
<b>SNIS</b>	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
<b>spp.</b>	espécies
<b>ST</b>	Sólidos Totais
<b>STF</b>	Sólidos Totais Fixos
<b>STV</b>	Sólidos Totais Voláteis
<b>TDH</b>	Tempo de Detenção Hidráulica
<b>ton.mês<sup>-1</sup></b>	Toneladas por mês
<b>TR</b>	Taxa de Remoção
<b>TW</b>	Terawatt

<b>UASB</b>	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> (Reator de Manta de Lodo Anaeróbico de Fluxo Ascendente)
<b>UE</b>	União Européia
<b>UEL</b>	Universidade Estadual de Londrina
<b>V</b>	Volume
<b>VA<sub>biogás</sub></b>	Volume Acumulado de Biogás
<b>WtE</b>	<i>Waste to Energy</i> (Resíduo para Energia)
<b>Zn</b>	Zinco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>24</b>
<b>3.1</b>	<b>Resíduos sólidos</b> .....	<b>24</b>
3.1.1	Resíduos sólidos urbanos - RSU .....	24
3.1.2	Resíduos agroindustriais - RAgro .....	26
3.1.3	Resíduos de frutas e vegetais – RFV.....	27
<b>3.2</b>	<b>Digestão anaeróbia - DA</b> .....	<b>30</b>
3.2.1	Fases da digestão anaeróbia .....	31
3.2.1.1	Hidrólise .....	32
3.2.1.2	Acidogênese .....	32
3.2.1.3	Acetogênese .....	33
3.2.1.4	Metanogênese: .....	33
3.2.2	Interferentes na digestão anaeróbia.....	34
3.2.2.1	pH, alcalinidade e AGV .....	35
3.2.2.2	Teor de sólidos, COV e TDH .....	36
3.2.2.3	Temperatura e agitação.....	37
3.2.2.4	Relação C/N, macro e micronutrientes.....	38
3.2.2.5	Biomoléculas.....	38
<b>3.3</b>	<b>Cenário energético brasileiro</b> .....	<b>41</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	<b>43</b>
4.1.1	Inóculo: lodo de suinocultura.....	43
4.1.2	Substrato: resíduo de frutas e vegetais - RFV .....	43
4.1.3	Biomoléculas: frutose, caseína e ácido palmítico.....	45
4.1.4	Etapa I: escala de bancada .....	45
4.1.5	Etapa II: escala piloto .....	46
<b>4.2</b>	<b>Análises físico-químicas e parâmetros operacionais</b> .....	<b>47</b>

4.2.1	Adaptações analíticas .....	49
<b>4.3</b>	<b>Aparato experimental</b> .....	<b>50</b>
4.3.1	Etapa I: ensaios em escala de bancada.....	50
4.3.1.1	Monitoramento quantitativo de biogás.....	51
4.3.1.2	Monitoramento qualitativo do biogás.....	53
4.3.1.3	Monitoramento de parâmetros operacionais .....	54
4.3.1.4	Condições experimentais .....	54
4.3.2	Etapa II: ensaios em escala piloto.....	55
4.3.2.1	Monitoramento quantitativo de biogás.....	57
4.3.2.2	Monitoramento qualitativo de biogás.....	57
4.3.2.3	Monitoramento de parâmetros operacionais .....	58
4.3.2.4	Condições experimentais .....	59
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>62</b>
<b>5.1</b>	<b>Etapa I: experimento em escala de bancada</b> .....	<b>62</b>
5.1.1	Caracterização do inóculo.....	63
5.1.2	Caracterização do substrato .....	65
5.1.3	Caracterização das biomoléculas .....	67
5.1.4	Monitoramento de desempenho: condições de controle (TC1-TC5).....	67
5.1.4.1	Parâmetros operacionais de estabilidade .....	67
5.1.4.2	Parâmetros operacionais de conversão .....	69
5.1.4.3	Produção de biogás .....	71
5.1.5	Monitoramento de desempenho: coDA com frutose (T1 – T5).....	75
5.1.5.1	Parâmetros operacionais de estabilidade .....	75
5.1.5.2	Parâmetros operacionais de conversão .....	76
5.1.5.3	Produção de biogás .....	77
5.1.6	Monitoramento de desempenho: coDA com caseína (T6 – T10) .....	79
5.1.6.1	Parâmetros operacionais de estabilidade .....	79
5.1.6.2	Parâmetros operacionais de conversão .....	81
5.1.6.3	Produção de biogás .....	82
5.1.7	Monitoramento de desempenho: coDA com ácido palmítico (T11 – T15).....	83
5.1.7.1	Parâmetros operacionais de estabilidade .....	84

5.1.7.2	Parâmetros operacionais de conversão .....	85
5.1.7.3	Produção de biogás .....	86
5.1.8	Comparação entre as condições.....	88
<b>5.2</b>	<b>Etapa II: experimento em escala piloto .....</b>	<b>89</b>
5.2.1	Reator TEST: monodigestão de RFV .....	89
5.2.1.1	Parâmetros operacionais de estabilidade: reator testemunha .....	89
5.2.1.2	Parâmetros operacionais de conversão: reator testemunha .....	93
5.2.1.3	Produção de biogás: reator testemunha .....	94
5.2.1.4	Ácidos graxos voláteis: reator testemunha.....	97
5.2.1.5	Análise de microbiologia molecular: reator testemunha .....	98
5.2.2	Reator FRU: codigestão de RFV e frutose .....	102
5.2.2.1	Parâmetros operacionais de estabilidade: reator frutose .....	102
5.2.2.2	Parâmetros operacionais de conversão: reator frutose .....	105
5.2.2.3	Produção de biogás: reator frutose .....	106
5.2.2.4	Ácidos graxos voláteis: reator frutose .....	108
5.2.2.5	Análise de microbiologia molecular: reator frutose.....	109
5.2.3	Reator CAS: codigestão de RFV e caseína .....	112
5.2.3.1	Parâmetros operacionais de estabilidade: reator caseína.....	112
5.2.3.2	Parâmetros operacionais de conversão: reator caseína .....	115
5.2.3.3	Produção de biogás: reator caseína.....	116
5.2.3.4	Ácidos graxos voláteis: reator caseína.....	118
5.2.3.5	Análise de microbiologia molecular: reator caseína. ....	119
5.2.4	Reator A.P.: codigestão de RFV e ácido palmítico. ....	121
5.2.4.1	Parâmetros operacionais de estabilidade: reator ácido palmítico: .....	121
5.2.4.2	Parâmetros operacionais de conversão: reator ácido palmítico .....	124
5.2.4.3	Produção de biogás: reator ácido palmítico .....	125
5.2.4.4	Ácidos graxos voláteis: reator ácido palmítico .....	127
5.2.4.5	Análise de microbiologia molecular: reator A.P. ....	129
5.2.5	Comparação entre os reatores.....	131
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>132</b>
<b>6.1</b>	<b>Etapa I: escala de bancada.....</b>	<b>132</b>
<b>6.2</b>	<b>Etapa II: escala piloto.....</b>	<b>133</b>

<b>6.3</b>	<b>Recomendações.....</b>	<b>135</b>
------------	---------------------------	------------

	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>136</b>
--	----------------------------------------	------------

## 1. INTRODUÇÃO

Foram estabelecidos em 2015 pela “Agenda 2030”, os 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável – ODS pela Organização das Nações Unidas - ONU, concebidos como diretrizes para as nações na busca de um planeta resiliente às mudanças climáticas e menos desigual. A geração e consumo sustentáveis de energia elétrica estão entre estes objetivos (CASA ONU BRASIL, 2022).

No Brasil, segundo dados divulgados pelo Operador Nacional do Sistema Elétrico - ONS, o ano de 2023 teve recordes na demanda diária de energia elétrica, ultrapassando pela primeira vez na história a marca de 100.000MW, impulsionados principalmente pelas ondas de calor que afetaram o país. O relatório do órgão aponta que mais de 61% dessa demanda foi suprida pela geração hidrelétrica (ONS, 2023).

Levando em conta as instabilidades no ciclo hidrológico e o aumento no consumo de energia, torna-se imperativo investigar rotas para descentralização de matrizes energéticas (GETIRANA *et al.*, 2021). Políticas relacionadas ao aproveitamento de resíduos para geração de energia, conhecidas como “*waste to energy*” - WtE, têm ganhado destaque. Essas iniciativas visam garantir a destinação adequada dos resíduos, ao mesmo tempo em que desencorajam a dependência de combustíveis fósseis (FELLNER & SCHWARZBÖCK, 2021).

A digestão anaeróbia – DA é uma prática WtE para reciclar resíduos sólidos orgânicos – RSO, interessante devido à formação de biogás rico em gás metano, de um efluente apto para fertilização agrícola e relativa facilidade operacional, até em países em desenvolvimento (KHALIL *et al.*, 2019). A reciclagem de RSO contribui para uma economia circular e está de acordo com as metas dos ODS da ONU (ALAM *et al.*, 2022). Atualmente 9% da energia elétrica do planeta vem de biomassa, sendo que 35% deste montante é produzido por usinas de biogás (RASAPOOR *et al.*, 2020).

No cenário atual o Brasil apresenta uma rede de aproximadamente 936 plantas de biogás, alcançando uma produção anual de 2,8 bilhões de Nm<sup>3</sup> equivalente a 18,2 TWh em termos energéticos, conforme dados do Centro Internacional de Energias Renováveis – CIBiogás. Segundo a entidade, a maior geração de biogás vem das empresas de saneamento, e embora o setor de agroindústria concentre cerca de 80% das plantas, contribui apenas com 10% da produção anual (CIBIOGÁS, 2023).

Os resíduos de processos agroindustriais são aptos à DA e poderiam contribuir na representatividade do biogás. Efluente da indústria sucroalcooleira – a vinhaça - (ZANON *et al.*, 2020), resíduos da indústria leiteira (DAREIOTI *et al.*, 2021), efluentes de abatedouros (KOUAKOU *et al.*, 2020), dejetos bovinos (ELIASSON *et al.*, 2023), além das palhas de variados grãos (KOVACIC *et al.*, 2017; DENG *et al.*, 2018; KAMUSOKO *et al.*, 2022) foram comprovados como substratos viáveis.

Não só no beneficiamento dos insumos existe geração de resíduos agroindustriais. Nas Centrais de Abastecimento – CEASA, por exemplo, há grande geração de resíduos de frutas e vegetais – RFV. Cerca de 23% da produção de frutas e vegetais do mundo se perde entre a colheita e a distribuição (FAO, 2019). Em 2019 no Brasil, cerca de 11 milhões de toneladas de RFV foram geradas e destinadas, em sua maioria, a aterros sanitários (DE MORAES *et al.*, 2022).

Sabendo da disponibilidade e necessidade de manejo adequado de RFV, sua DA vem sendo investigada. É um reportado que em monodigestão - MonoDA há tendência de acidificação devido ao alto teor de açúcares. Além disso, propostas para aumentar a taxa de CH<sub>4</sub> no biogás são instigadas (EDWIGES *et al.*, 2018; ESPARZA *et al.*, 2020 DE QUADROS *et al.*, 2022a). Ambos os gargalos podem ser supridos ao incorporar um co-substrato (DE QUADROS *et al.*, 2022b).

Para avaliação da interação do RFV com outros substratos, optou-se por utilizar biomoléculas representativas, diminuindo assim influências da heterogeneidade de um efluente real. O RFV não é saturado de açúcares, portando pode ser suplementado com carboidratos sem comprometer o equilíbrio nutricional da digestão (SONG *et al.*, 2021); a alcalinidade necessária para DA de RFV pode ser suprida por proteínas (DE QUADROS *et al.*, 2022b), e a adição de lipídios tem potencial de aumentar o teor de metano no biogás (ABOMOHRRA *et al.*, 2022). Estes compostos podem representar efluentes agroindustriais, que têm concentrações elevadas de biomoléculas básicas para a DA (SONG *et al.*, 2021).

Dessa forma, esse estudo visa analisar o comportamento da DA de RFV com a incorporação de frutose (carboidratos), caseína (proteínas) e ácido palmítico (lipídios). Os resultados mais promissores poderão orientar a seleção de futuros co-substratos provenientes de processos agroindustriais, promovendo a reciclagem biológica desses efluentes e, conseqüentemente, ampliando a produção de biogás e energia elétrica por meio da DA.

## 2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da adição de frutose, caseína e ácido palmítico na estabilidade, conversão e produção de biogás da DA de RFV.

### 2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a variação na produção de biogás na MonoDA de RFV após os experimentos de *biochemical methane potential* - BMP com a incorporação de diferentes dosagens de biomoléculas;
- Analisar a variação de parâmetros operacionais de estabilidade (pH, acidez volátil - AV, alcalinidade total - AT, nitrogênio amoniacal total - NAT) para as diferentes condições;
- Analisar a variação de parâmetros operacionais de eficiência (conversão de demanda química de oxigênio - DQO e sólidos totais voláteis - STV) para as diferentes condições;
- Selecionar as melhores condições e operar reator de escala piloto, observando se a produção de biogás e os parâmetros operacionais se mantêm;
- Determinar o perfil de geração de ácidos graxos voláteis – AGV nas condições de melhor produção de biogás e nas condições em que houver colapso dos reatores;
- Investigar a variação microbiológica nas condições de melhor produção de biogás.

### **3. REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1. RESÍDUOS SÓLIDOS**

A Política Nacional de Resíduos Sólidos – PNRS define resíduo sólido como material resultante da atividade humana, em estado sólido ou semissólido, para o qual é obrigatório a destinação ambientalmente adequada. Tal prática se faz necessária para proteger a saúde pública e ao meio ambiente (BRASIL, 2010). Efluentes também são considerados resíduos, em fase líquida, cuja destinação são corpos hídricos após a atenuação de carga (CONAMA, 2011). Nesta revisão serão abordados os resíduos sólidos urbanos - RSU, resíduos sólidos orgânicos - RSO, resíduos agroindustriais – RAgro com foco nos resíduos de frutas e vegetais – RFV, bem como a aplicação de reciclagem biológica visando a produção de gás metano.

##### **3.1.1. Resíduos Sólidos Urbanos - RSU**

O processo de urbanização, o crescimento populacional, a expansão da produção industrial e aumento do poder de compra da população são fatores chave no crescimento da geração de resíduos sólidos no Brasil (BARROS; TIAGO FILHO; DA SILVA, 2014).

Conforme dados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS de 2022, estima-se que cada brasileiro produza cerca de 0,99 kg de resíduos por dia. A soma atinge aproximadamente 70 milhões de toneladas de RSU anuais, com taxas de coleta superiores a 98%. Cerca de 73% dos RSU são encaminhados para aterros sanitários, e aproximadamente 27% recebem destinação inadequada, como aterros controlados e lixões. (SNIS, 2022).

O instrumento jurídico que regulamenta a destinação de resíduos sólidos no Brasil é a PNRS. Este marco legal preconiza uma hierarquia de ações, com ênfase na não geração, redução, reutilização, reaproveitamento energético, reciclagem e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos, isto é, materiais para os quais não existe tecnologia viável de reaproveitamento. Desde sua promulgação, ficou determinada a criação do Plano Nacional de Resíduos – PLANARES para diagnosticar, retratar o cenário para propor metas e diretrizes quanto ao manejo de resíduos sólidos (PNRS, 2010).

Com base na da ordem de prioridade de manejo de resíduos da PNRS, o PLANARES reportou, de forma coerente ao SNIS, que havia muitas municipalidades em desacordo com a Lei. As taxas de reciclagem de resíduos secos não ultrapassaram 6% em nenhuma capital brasileira, enquanto o índice de reciclagem da fração orgânica atingiu apenas 0,35% do total gerado, sendo que apenas 1,5% dos municípios relataram possuir pátio de compostagem. Esses dados evidenciam que a maior parte dos resíduos domiciliares brasileiros está sendo destinada quase integralmente para aterros (PLANARES, 2022).

A composição gravimétrica dos RSU brasileiros é, em média, de 33,6% de recicláveis secos (plásticos, papel e papelão, vidros, metais e embalagens multicamadas), 21,1% (resíduos têxteis, couros, borrachas e rejeitos) e 45,3% de resíduos sólidos orgânicos – RSO. Por definição do PLANARES, os RSO são de restos de alimentos, de capinagem, de limpeza urbana, de indústrias agrícolas e lodos de estações de tratamento de esgoto. (PLANARES, 2022). Cada família brasileira desperdiça, em média, 128kg de alimentos anualmente (PORPINO; ANTONIOLI, 2020). A geração é de aproximadamente 37 milhões de toneladas por ano no país sendo destinada quase integralmente para aterros (SNIS, 2022).

Apesar do aterramento de RSU ter diversos impactos negativos, a prática ainda é muito utilizada devido ao melhor preço e simplicidade operacional em comparação com outras técnicas (VAVERKOVÁ, 2019). A adição dos RSO, que são quase metade dos RSU, colabora para o aumento da umidade dos maciços e com a instabilidade pelo acréscimo de poropressões (GAO; YIN; LI, 2021); têm-se maior geração de lixiviado, um líquido com alta carga orgânica recalcitrante, de tratamento difícil e oneroso (COSTA *et al.*, 2019).

As camadas de cobertura convencionais e os dutos de drenagem mal dimensionados resultam em emissões passivas do biogás, um subproduto da decomposição da matéria orgânica em anaerobiose. Mesmo com uma operação adequada, ainda há parcela de emissões fugitivas que liberam biogás bruto à atmosfera, também contribuindo para instabilidade do maciço (MØNSTER *et al.*, 2019). Por fim, estudos recentes indicam aterros sanitários como uma fonte de microplásticos, poluentes emergentes que foram extensivamente detectados em ambientes marinhos e terrestres (HE *et al.*, 2019; SU *et al.*, 2019). A investigação de rotas de tratamento de RSO é primordial para diminuir a massa disposta em aterros sanitários, reduzindo o impacto negativo desta atividade.

### 3.1.2. Resíduos agroindustriais - RAgro

O setor agroindustrial representa por volta de 32% do Produto Interno Bruto – PIB mundial, produzindo e/ou processando alimentos, rações e matéria-prima para outras indústrias. A nível nacional, a agronegócio representou 16% da produção industrial e 21,4% do PIB nacional em 2019 (MENEZES LIMA *et al.*, 2020). O Brasil é um grande produtor no ramo e por consequência tem uma grande geração de resíduos. Destacou-se como o 4º maior gerador de efluente de abate de aves, com 10% da produção mundial; a indústria sucroalcooleira brasileira é a 2ª maior geradora de efluentes, com 30% do montante mundial; na indústria de laticínios, o país é o terceiro na geração de efluentes (MARTINEZ-BURGOS *et al.*, 2021).

A suinocultura teve produção de 3.731 mil toneladas em 2016, fazendo com que o Brasil se tornasse o quarto maior produtor mundial de carne de porco. Desde então, a cultura não parou de crescer e o país se manteve nesse patamar. (LEITE *et al.*, 2019). Em 2019, foi estimado a criação de mais de 40 milhões de porcos, com geração média de 2,5kg de dejetos por animal. Em número de cabeças, foi a terceira maior cultura, havendo aproximadamente 1,5 bilhões de aves e 215 milhões de cabeças de gado no país naquele ano (DE ARAUJO & DE OLIVEIRA, 2023).

O maior rebanho de gado do mundo em 2019 foi brasileiro, com aproximadamente 213,7 milhões de cabeças. Atualmente o pódio é dividido com Estados Unidos, que ocupa o primeiro lugar, e Índia, que ocupa o terceiro. O rebanho dos três países soma aproximadamente 1,3 bilhões de cabeças, com perspectiva de que a produção dobre até 2050 para atingir a demanda global de carne. (HASELROTH *et al.*, 2021).

Estes efluentes apresentam dificuldade de tratamento devido ao grande volume produzido, à alta carga orgânica, à concentração de compostos difíceis de degradar – como gorduras e lignocelulose – e à alta turbidez, demandando pré-tratamentos, reatores de mais de uma etapa e/ou uma combinação entre tratamento físico-químico e biológico, representando um significativo custo para o empreendedor. Atualmente, a digestão anaeróbia é um método de tratamento comumente utilizado (PELLERA *et al.*, 2017).

Apesar das dificuldades operacionais da digestão dos RAgro, eles se apresentam como interessantes substratos para DA. A digestão da vinhaça, por exemplo, tem potencial para suprir 0,45% da demanda energética do Estado de São

Paulo (ZANON *et al.*, 2020). A geração de efluentes de matrizes agroindustriais podem ser observadas no Quadro 1.

**Quadro 1:** geração estimada de efluentes por agroindústrias em nível global.

Material bruto processado	Posição brasileira no ranking global de geração	Efluente	Taxa de geração de efluente	Total de efluente gerado no mundo (bilhões de litros)
110 milhões de metros cúbicos de etanol em 2019	2º maior gerador	Vinhaça	15 litros de vinhaça por litro de etanol	1650
720 milhões de toneladas de leite processado em 2018	3º maior gerador	Efluente de processamento de leite	0,2 L de efluente por litro de leite processado	143
98,4 milhões de toneladas de carcaça de aves	4º maior gerador	Efluente de abatedouro	10m <sup>3</sup> por tonelada de carcaça	984
108,5 milhões de toneladas de carcaça suína em 2019	4º maior gerador	Efluente de abatedouro	8,3m <sup>3</sup> por tonelada de carcaça	900
62,6 milhões de toneladas de carcaça bovina em 2019	2º maior gerador	Efluente de abatedouro	9m <sup>3</sup> por tonelada de carcaça	564

**Fonte:** Adaptado de Martínez-Burgo *et al.* (2021)

Há uma vastidão da disponibilidade de resíduos dentro do setor, mas a operação do processo de digestão não é igual. Isto ocorre porque a variação da composição no substrato tem impacto direto na microbiota que fará a degradação. Desta forma, apesar de compartilharem a característica comum de serem biodegradáveis, cada resíduo tem sua particularidade de parâmetros operacionais (DA MOTTA *et al.*, 2022). Por este motivo, apesar de alguns parâmetros operacionais da DA de RFV sejam conhecidos, faz-se necessário investigação minuciosa para que o processo seja mais eficiente.

### 3.1.3. Resíduos de Frutas e Vegetais – RFV

Segundo o projeto *FUSIONS (Food Use for Social Innovation by Optimizing Waste Prevention Strategies)* fundado pela União Europeia em 2012, os RFV podem ser definidos como “qualquer parte comestível ou não comestível de frutas e vegetais

que é removida da cadeia de abastecimento alimentar, para ser reciclada ou descartada” (FUSIONS, 2016).

Embora ainda sejam resíduos agroindustriais, se distinguem pela grande heterogeneidade de composição - que varia de acordo com a época do ano – e pelo fato de não terem sido processados. Podem ser considerados por alguns autores como resíduos alimentares, entretanto, a falta de cozimento e a não adição de conservantes e temperos são fatores importantes para sua rápida degradabilidade, que norteia suas rotas de valorização (ESPARZA *et al.*, 2020).

Os RFV são gerados em sua grande maioria pelo manejo inadequado, com perspectiva de 1/5 de perda de frutas e vegetais entre a colheita e distribuição no mundo (FAO, 2019). Por volta de 54% são perdidos na produção, pós-colheita e armazenamento, enquanto 46% se perdem no processamento, distribuição e consumo. Globalmente o prejuízo anual com RFV é de 750 bilhões de dólares americanos (SANTOS *et al.*, 2020).

A China, por exemplo, tem uma geração anual de RFV de aproximadamente 240 milhões de toneladas, que representa cerca de 30% da produção de vegetais no país (WANG *et al.*, 2022). Nos Estados Unidos, em 2016, cerca de 22% da produção de frutas e vegetais foi descartada em aterro sanitário (TRUONG *et al.*, 2019); em 2019 o país teve um desperdício médio de 45 milhões de toneladas de frutas e vegetais frescos. A Índia registrou por volta de 56 milhões de toneladas de RFV gerados no mesmo ano (ESPARZA *et al.*, 2020), e a União Europeia desperdiçou 59,4 milhões de toneladas de frutas e vegetais em 2011 (CALDEIRA *et al.*, 2019).

No cenário brasileiro, mesmo antes da pandemia de COVID19, 26 milhões de toneladas de alimentos foram perdidas em 2019. Desse montante, aproximadamente 10,9 milhões de toneladas eram RFV. Cerca de 40% das perdas destes produtos se deram na distribuição. O desperdício de frutas e vegetais representou um prejuízo médio de 5,25% da receita bruta de supermercados em 2020 (DE MORAES *et al.*, 2022). A geração de RFV, usando as três maiores populações globais (Índia, China e Estados Unidos), a U.E. e o Brasil como exemplo é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1:** desperdício anual de frutas e vegetais, por ordem de geração, em diferentes países e na União Europeia.

Origem	Geração de RFV (milhões de toneladas)	Ano de referência
China	240	2022
União Europeia	59,4	2011
Índia	56	2019
E.U.A	45	2019
Brasil	10,9	2019

**Fonte:** adaptado de Caldeira *et al.* (2019), Esparza *et al.* (2020), Moraes *et al.* (2022) e Wang *et al.* (2022)

Os responsáveis pela distribuição de frutas e vegetais de forma atacadista no Brasil são as CEASA. Trata-se de empresas de capital privado ou misto, criadas pelo Governo Federal em 1960 para aprimorar a fornecimento hortifrutigranjeiros, sob responsabilidade de monitoramento do poder público estadual. As centrais comercializam frutas, hortaliças, ovos, pescados e plantas ornamentais. Atualmente as maiores unidades ficam em São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Pernambuco (CEASA/RJ, 2021).

Nessas centrais a perda de produtos expressiva. Em São Paulo - SP, por exemplo, a CEAGESP – que é o maior centro de distribuição da América Latina e o terceiro maior do mundo – teve uma geração de quase 3.100ton.mês<sup>-1</sup> de RFV em 2018, dispostos quase integralmente em Aterro Sanitário (SULIS *et al.*, 2021). Em Contagem – MG, o CEASAMinas reportou geração de 810ton.mês<sup>-1</sup> em 2021, com destinação integral em Aterro Sanitário (CEASAMINAS, 2021). Em Irajá – RJ, estima-se geração de 2.700ton.mês<sup>-1</sup> também em 2021 (CEASA/RJ, 2021), e em Recife – PE, a média gerada foi de 990ton.mês<sup>-1</sup> em 2017 (FILHO *et al.*, 2020), com produção de 45 toneladas mensais de composto orgânico (CEASA-PE, 2017).

Apesar de não estar entre as maiores distribuidoras do país, a maior unidade do CEASA-PR localizada em Curitiba – PR teve uma geração de 1.050 toneladas mensais de RFV em 2021, das quais aproximadamente 50% foram destinadas para compostagem e 50% dispostas em aterro sanitário. Além disso, a empresa informa ter firmado convênio para geração de biogás a partir de seus RSO. O município de Londrina, localizado no norte paranaense tem geração média de 270ton.mês<sup>-1</sup> (CEASA-PR, 2021).

Os dados de geração de RFV nos centros de distribuição podem ser

observados na Tabela 2.

**Tabela 2:** geração de RFV nas maiores centrais de distribuição do Brasil

Unidade	Município com a maior unidade	Geração de RFV na unidade (ton.mês <sup>-1</sup> )	Destinação	Ano de referência
CEAGESP	São Paulo – SP	3100	Aterro Sanitário	2018
CEASAMinas	Contagem – MG	810	Aterro Sanitário	2021
CEASA/RJ	Irajá – RJ	2700	-	2021
CEASA-PE	Recife – PE	990	Aterro Sanitário e Compostagem	2021
CEASA-PR	Curitiba – PR	1050	Aterro Sanitário, Compostagem e Biodigestão	2021

**Fonte:** adaptado de CEASA-PE (2017), Filho *et al.* (2020), Sulis *et al.* (2021), CEASAMinas (2021), CEASA/RJ (2021), e CEASA-PR (2021)

A disposição de RFV em aterro sanitário pelas maiores unidades de CEASA no Brasil é motivo de alerta. A prática, em desacordo com a PNRS, mostra-se preocupante pois as características dos RFV como alta umidade, teor de sólidos geralmente menor que 10% dos quais quase 85% são voláteis conferem uma alta biodegradabilidade, colaborando com a geração de lixiviado e reduzindo a vida útil do aterro receptor. Por outro lado, essas mesmas características tornam os RFV aptos a processos biológicos de reciclagem com geração de energia, como a digestão anaeróbia (EDWIGES *et al.*, 2018).

### 3.2. DIGESTÃO ANAERÓBIA - DA

A DA é um processo biológico de atenuação de carga orgânica que ocorre em ausência de oxigênio. É citada pelo PLANARES como uma forma de reciclagem biológica de resíduos para produção de energia (PLANARES, 2022), e está alinhada com a PNRS, transformando resíduos em insumos em alinhamento com conceito de economia circular (BRASIL, 2010).

Num cenário global, a DA é incentivada pelos ODS como “Energia acessível e limpa” (ODS 7), “Cidades e construções sustentáveis” (ODS 11), “Consumo e produção responsável” (ODS 12) e “Combate às mudanças climáticas” (ODS 13) (ALAM *et al.*, 2022). Os ODS extrapolam fronteiras nacionais, sendo um tratado

coordenado pela Organização das Nações Unidas – ONU para que se atinja a Agenda 2030, um plano global de erradicação de fome, pobreza e combate às mudanças climáticas (ONU BRASIL, 2022).

A DA tem como principal vantagem a geração de biogás, rico em gás metano –  $\text{CH}_4$  que representa, em média, 60% do volume gerado e dióxido de carbono -  $\text{CO}_2$ , que representa até 40% do volume. Gases traço como sulfeto de hidrogênio –  $\text{H}_2\text{S}$ , gás amoníaco –  $\text{NH}_3$ , oxigênio –  $\text{O}_2$  e vapor d'água –  $\text{H}_2\text{O}$  não costumam somar mais que 1% da composição em processos equilibrados. A proporção entre gases depende do substrato a ser digerido e da estabilidade do processo (KHALIL *et al.*, 2019).

O efluente de biodigestor, chamado digestato, pode ser usado como fertilizante agrícola. Atualmente tem potencial para substituir em até 7% o uso de adubos inorgânicos de macronutrientes no mundo, reduzindo a dependência em recursos finitos como o fósforo (WEIMERS *et al.*, 2022) e potássio, ambos minerais com previsão de esgotamento de jazidas. Caso haja pós-tratamento desse efluente, os minerais são transformados em forma biodisponíveis melhorando o potencial como condimento de solo (CÂNDIDO *et al.*, 2022).

O processo de DA ocorre pela ação de microrganismos com crescimento favorecido pelas fases do processo, que são sequenciais. Estão envolvidas bactérias fermentativas anaeróbias estritas ou facultativas, bactérias acetogênicas, homoacetogênicas e arqueas acetoclásticas ou hidrogenotróficas (CHERNICHARO, 2007). Esses microrganismos podem vir do dejetos suíno, por exemplo, que possui microbiota rica em bactérias e arqueas metanogênicas mesmo após a digestão, tornando-o um interessante inóculo para outros reatores (TÁPPARO *et al.*, 2021). O uso de lodo de suinocultura como fonte de microrganismos é amplamente citado na literatura (KOUGIAS *et al.*, 2013; NAVARRO *et al.*, 2022; DE QUADROS *et al.*, 2022a). O dejetos suíno é um efluente rico em amônia, portanto a microbiota responsável pela sua degradação torna-se resistente ao acúmulo deste parâmetro. (KOUGIAS *et al.*, 2013).

### 3.2.1. Fases da Digestão Anaeróbia

A DA é composta por etapas complementares que se distinguem pelo estado de atuação dos microrganismos e degradação da matéria orgânica. A DA ocorre em quatro fases, sendo estas a **hidrólise**, **acidogênese**, **acetogênese** e **metanogênese**.

Caso haja fonte significativa de enxofre, ocorrerá sulfetogênese em prejuízo da metanogênese devido competição. Nesta fase bactérias anaeróbias estritas sulforedutoras reduzem compostos sulfurados, competindo com arqueas pelo acetato e hidrogênio e conseqüentemente reduzindo a produção de CH<sub>4</sub> (CHERNICHARO, 2007).

#### 3.2.1.1. Hidrólise

É a etapa onde macromoléculas insolúveis como os carboidratos de alto peso molecular, proteínas e gorduras são reduzidas a monômeros por enzimas de bactérias anaeróbias facultativas e/ou obrigatórias (ANGELIDAKI *et al.*, 2009). A hidrólise de carboidratos ocorre em questão de horas, a de proteínas em questão de dias e a de lipídios, a depender da biodisponibilidade da gordura, também ocorre em dias ou semanas, sendo mais demorada em substratos menos emulsificados. A lignocelulose e lignina são degradadas de forma devagar e incompleta. (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011).

A hidrólise pode ser uma etapa limitante para metanogênese. Em resíduos ricos em carboidratos, como os RFV, é rápida. O acúmulo de AGV formado pela degradação dos açúcares tende a baixar o pH do reator, tornando-o tóxico para as arqueas metanogênicas (MORALES-POLO *et al.*, 2019).

#### 3.2.1.2. Acidogênese

Ocorre de forma simultânea à hidrólise, onde os monômeros solúveis formados são assimilados, digeridos e excretados pelas bactérias acidogênicas. Têm-se a formação de ácidos orgânicos como o ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico, além de álcoois, hidrogênio e CO<sub>2</sub> (CHERNICHARO, 2007).

A acidogênese é performada por um amplo grupo de bactérias fermentativas, com representatividade do gênero *Clostridium*, que tem táticas de sobrevivência em meios agressivos, assim como o gênero *Bacteroidaceaea* encontrado no trato gastrointestinal onde participa da degradação de açúcares e aminoácidos (CHERNICHARO, 2007).

Na acidogênese do resíduo de frutas e vegetais os principais AGVs formados são o ácido acético e propiônico. O acúmulo de ácido propiônico, entretanto, pode representar desequilíbrio (MAGAMA *et al.*, 2022; LIU *et al.*, 2023).

### 3.2.1.3. Acetogênese

Fase em que ocorre a produção de acetato, principal substrato para as arqueas metanogênicas acetoclásticas. A geração pode ocorrer pela degradação de ácidos orgânicos pelas bactérias acetogênicas, formando acetato,  $H_2$  e  $CO_2$  ou pelo consumo de  $H_2 + CO_2$  por bactérias homoacetogênicas, gerando acetato (NIE *et al.*, 2007).

Na acidogênese a formação de ácido acético e propiônico resultam numa grande geração de hidrogênio, que faz o pH do meio diminuir. O hidrogênio disponível pode ser consumido por arqueas hidrogenotróficas ou pode ser utilizado na produção de novos ácidos orgânicos. Dentre todos os produtos metabolizados pela biota acidogênica, apenas o acetato e o  $H_2$  podem ser diretamente metabolizados pelas metanogênicas (CHERNICHARO, 2007).

### 3.2.1.4. Metanogênese:

Com uso de  $CO_2$  e  $H_2$ , de acetato ou compostos de metil, metabólitos das fases anteriores, microrganismos estritamente anaeróbios produzem  $CH_4$ . Concentrações mínimas de oxigênio podem ser tóxicas e pH fora da faixa de 6,5 a 7,2 reduz significativamente a taxa de crescimento da biota metanogênica. Por consequência há prejuízos na produção de biogás e de metano. O pH abaixo de 5,5 é nocivo para esse grupo de microrganismos (BRAGUGLIA *et al.*, 2018), assim como pH acima de 8,5 (AHRING, 2002).

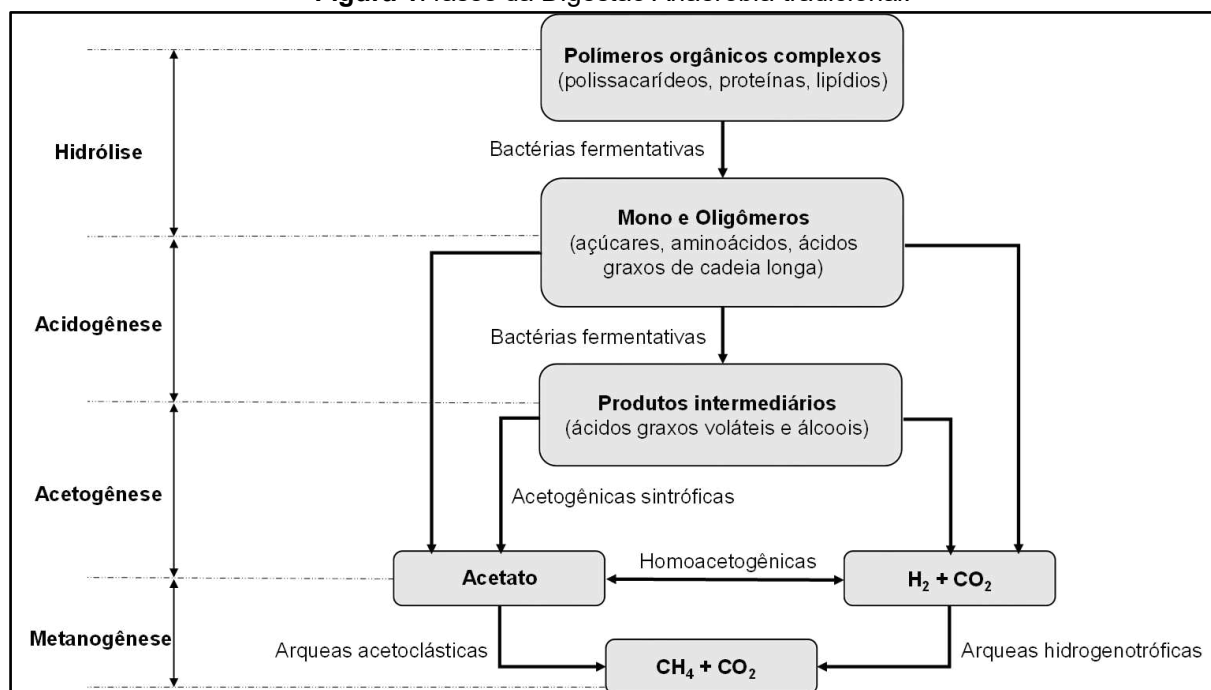
Nesta etapa dois principais grupos se destacam: as arqueas metanogênicas acetoclásticas que reduzem o acetato a  $CH_4 + CO_2$  e as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas, que consomem  $H_2 + CO_2$  para produzir  $CH_4$ . Um terceiro grupo, inferior em representatividade, degradam compostos de metila para produção de gás metano (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Como exemplo, têm-se as arqueas do gênero e *Methanomassiliicoccales* e *Candidatus 'Methanofastidiosa'* (VANWONTERGHEM *et al.*, 2016).

Apesar de poucos gêneros de arqueas conseguirem sintetizar metano do acetato, elas são maioria num reator e responsáveis por volta de 70% da produção. Os gêneros mais abundantes são *Methanosarcina*, quando há maior disponibilidade de acetato, e *Methanosaeta*, quando a disponibilidade do metabólito é menor (CHERNICHARO, 2007). Por outro lado, a rota hidrogenotrófica é representada por

um número maior de gêneros. Diferente das arqueas acetoclásticas, é esperado que todas as arqueas consigam produzir metano de dióxido de carbono e hidrogênio. Os gêneros mais encontrados em reatores anaeróbios são *Methanobacterium*, *Methanospirillum* e *Methanobrevibacter* (CHERNICHARO, 2007).

A interação entre as etapas da DA - hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese - estão organizadas no diagrama da Figura 1.

**Figura 1:** fases da Digestão Anaeróbia tradicional.



Fonte: adaptado de Ahring (2002) e Chernicharo (2007)

### 3.2.2. Interferentes na digestão anaeróbia

A DA ocorre por processos bioquímicos realizados por microrganismos que fazem degradação dos metabólitos da fase anterior. Conforme as fases avançam, a biomassa sintetizadora diminui e a vulnerabilidade aumenta. Através de análises metagenômicas, pode ser observado que para a hidrólise e acidogênese há um grupo maior de bactérias disponíveis; esta disponibilidade é reduzida na acetogênese e menor na metanogênese, que é fase mais sensível do processo (DA MOTTA *et al.*, 2022).

Por ser um processo que é sequencial e realizado por microrganismos, a DA é afetada por alterações bruscas, tendo faixas ótimas dentro de alguns parâmetros para

o melhor funcionamento. Os principais parâmetros operacionais são pH, alcalinidade, AGV, teor de sólidos, carga orgânica volumétrica - COV, tempo de detenção hidráulica – TDH, temperatura, agitação, relação C/N – carbono/nitrogênio e macro e micronutrientes (AHRING, 2003).

### 3.2.2.1. pH, alcalinidade e AGV

O pH inicial do processo será resultado da interação do pH do inóculo, dos substratos e dos aditivos. Alguns resíduos como o RFV possuem um valor de pH naturalmente mais ácido que pode ser balanceado por um pH mais básico do inóculo, como 4,20 e 7,5 (EDWIGES *et al.*, 2018), 4,96 e 7,46 (MORALES-POLO *et al.*, 2019), 5,90 e 7,59 (LIU & LIAO, 2019) e 4,3 e 7,5 (DE QUADROS *et al.*, 2022a).

Um pH inicial ácido, entre 5,2 e 6,3 não afeta a biota envolvida na hidrólise. Deve ser observado, entretanto, que conforme o processo avança, a geração dos ácidos orgânicos acidifica ainda mais o meio, podendo comprometer a metanogênese, cuja faixa ideal de pH está entre 6,7 e 7,5. Faz-se necessário uma fonte de alcalinidade para tamponar as variações de pH e manter a estabilidade do reator (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011).

A alcalinidade diz respeito à capacidade do meio de resistir à acidificação. O valor de alcalinidade é expresso em gramas de carbonato de cálcio por litro (g de  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) e a faixa de alcalinidade ideal de um reator pode estar entre 1 a 5, a depender da necessidade de tamponamento do sistema (METCALF & EDDY, 2013). Para Holliger *et al.* (2016), a AT idealmente deve ser maior que 3 g de  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  para garantir a estabilidade do pH.

Durante o processo de digestão, parte da alcalinidade proveniente de bicarbonatos (alcalinidade intermediária – AI) pode ser convertida em alcalinidade proveniente de ácidos orgânicos (Alcalinidade Parcial – AP), podendo mascarar o real valor de alcalinidade total. Por esse motivo é adequado monitorar a proporção entre ambas (AI/AP), que idealmente deve ser de 0,3. Valores maiores indicam acúmulo de AGV e instabilidade no sistema. (CHERNICHARO, 2007).

Os AGVs e a AV também podem ser quantificados ( $\text{g.L}^{-1}$  e g. de  $\text{CH}_3\text{COOH L}^{-1}$ ) e relacionados com outros parâmetros. Para alguns autores, a concentração de ácidos orgânicos acima de 4,5 indica acúmulo, embora cada processo tenha suas particularidades (AHRING, 2002). Holliger *et al.* (2016) sugerem que AV com

concentrações maiores de 1g de  $\text{CH}_3\text{COOH L}^{-1}$  podem ocasionar instabilidade ao processo. Uma forma de refinar a influência dos ácidos orgânicos como parâmetro operacional é relacioná-los com a Alcalinidade Total – AT, onde  $\text{AGV/AT} \leq 0,4$  indica estabilidade,  $0,4 \leq \text{AGV/AT} \leq 0,8$  indica início de instabilidade e  $\text{AGV/AT} \geq 0,8$  indica colapso (CALLAGHAN *et al.*, 2002).

### 3.2.2.2. Teor de sólidos, COV e TDH

O teor de sólidos totais distingue a DA entre úmida ( $\text{TS} < 15\%$ ) e seca ( $15\% < \text{TS} < 40\%$ ). A digestão úmida é adequada para efluentes ou resíduos pastosos/semissólidos, necessitando redução das partículas do substrato para promover maior contato com os microrganismos, de forma que a liberação de enzimas seja uniforme e o processo mais eficiente. Quanto mais próximo o teor de sólidos se torna do valor limite teórico, mais dispendioso torna-se o processo por essa rota (CHEN *et al.*, 2023).

Compondo os sólidos totais, existem os sólidos totais voláteis – STV, que podem ser convertidos em biogás. A porcentagem de STV pode indicar a aptidão de um resíduo à biodigestão. Um valor adequado é de  $\text{STV} > 80\%$  (HOLLIGER *et al.*, 2016). O RFV, por exemplo, tem teor de STV acima de 90% (EDWIGES *et al.*, 2018; DE QUADROS *et al.*, 2022).

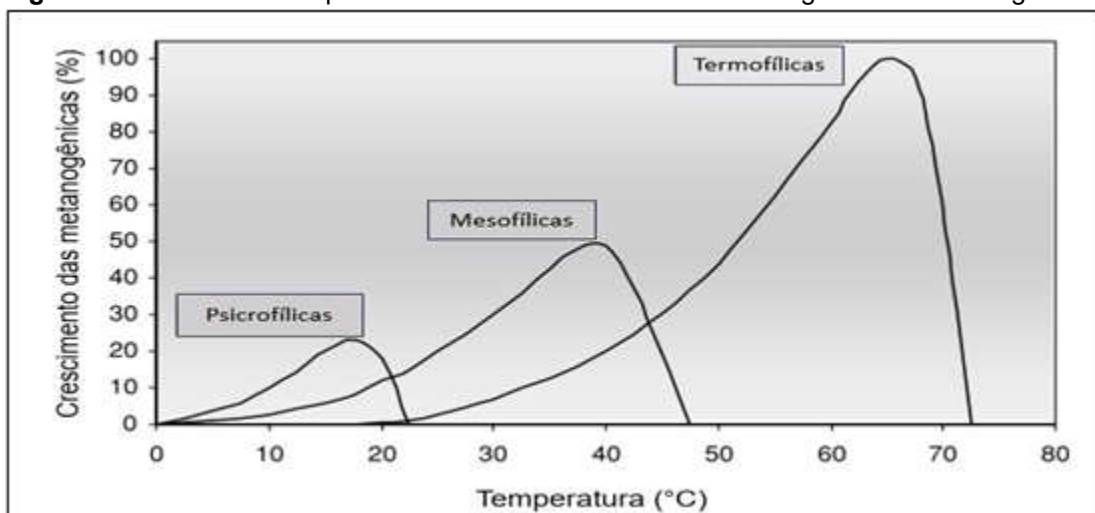
Os STVs são usados como base para calcular a carga orgânica volumétrica. Este parâmetro representa a massa de sólidos totais voláteis totais inseridos no volume do reator no período de um dia ( $\text{kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ). Valores altos de COV podem induzir ao desequilíbrio do sistema, embora possam reduzir o volume necessário do reator. As cargas adotadas não precisam ser fixas, mas devem ser acrescidas gradualmente, permitindo a adaptação da microbiota. Uma COV de 0,15 a 0,5 apresenta efluentes adequados em reatores anaeróbios (CHERNICHARO, 2007). Geralmente a COV é ajustada ao fim do tempo de detenção hidráulica. O TDH é o tempo médio – geralmente em dias – que o substrato fica inserido no reator. Caso o TDH adotado seja muito curto, os microrganismos não conseguirão se reproduzir tampouco degradar de forma satisfatória o substrato. Caso seja adotado um TDH muito longo, haverá escassez de alimentos e mortandade da microbiota, além de inviabilidade operacional (CHERNICHARO, 2007).

Em reatores anaeróbios de resíduos agroindustriais, o TDH geralmente é próximo a um mês (SHEN *et al.*, 2013). Produções específicas de metano superiores podem ser alcançadas em TDH menores no mesmo reator, entretanto percebe-se sinais de instabilidade como acúmulo de AGV e baixa conversão de STV no efluente. (CHEN *et al.*, 2023) .

### 3.2.2.3. Temperatura e Agitação

A DA pode ocorrer em diferentes faixas de temperatura. A faixa psicrófila não dista da média de 20°C, a mesófila de 40°C e a termófila 60°C. A maioria dos reatores são projetados para fase mesófila e poderiam operar em fase termófila, embora não exista consenso sobre o saldo dessa substituição. Há maior produção de biogás, uma vez que a temperatura estimula o crescimento da biota metanogênica, mas existe maior custo operacional para manter os reatores aquecidos, uma pior qualidade do sobrenadante e mais instabilidades durante o processo (CHERNICHARO, 2007). O efeito da temperatura na taxa de crescimento dos microrganismos metanogênicos pode ser observado na Figura 2.

**Figura 2:** influência da temperatura no desenvolvimento dos microrganismos metanogênicos.



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007)

O acréscimo da temperatura influencia o crescimento da biomassa e as dimensões do substrato impactam na capacidade de degradação da matéria orgânica. Para garantir uma degradação mais homogênea deve-se proporcionar o contato da microbiota com o substrato através da agitação (CHERNICHARO, 2007).

A intensidade da mistura deve ser balanceada, de forma a incorporar o substrato novo ao antigo, promovendo inoculação de microbiota ativa, para remover o biogás dissolvido no efluente e para assegurar a sintrofia da biota. Uma agitação muito intensa pode destruir a estrutura das colônias da biomassa e estimular a produção de espuma, que afeta a comunicação dos microrganismos. (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011).

Existem modelos de reatores com pouca ou nenhuma agitação, como as lagoas “canadenses”, comumente aplicadas para resíduos agroindustriais. Trata-se de valas escavadas e impermeabilizadas com material sintético, coberta com lona flexível permitindo o armazenamento de biogás. Têm maiores dimensões em comparação a um reator agitado, devido ao maior TDH necessário para degradação da matéria orgânica. Apesar da menor geração de biogás, tem um custo operacional inferior (KUNZ *et al.*, 2019). Em 2023, aproximadamente 80% das plantas de biogás no Brasil estão vinculadas aos processos agroindustriais, mas elas contribuem com apenas 10% da produção nacional. O uso intensivo de lagoas não agitadas pode ser uma das explicações do baixo desempenho (CIBIÓGÁS, 2023).

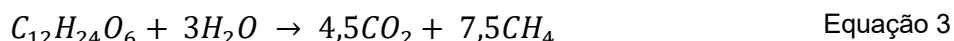
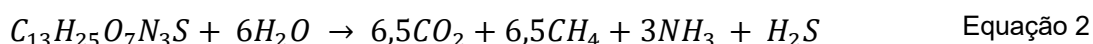
#### 3.2.2.4. Relação C/N, macro e micronutrientes

A relação C/N indicada varia de 16:1 a 25:1. O teor de N é baixo uma vez que em processos anaeróbios, não há formação expressiva de biomassa em comparação a processos aeróbios. (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Caso a proporção C/N decaia muito, o nitrogênio não utilizado para formação da biomassa representará um risco ao processo, pois poderá haver formação de amônia que é inibitória em altas concentrações. Por outro lado, o excesso de carbono resultará na deficiência da formação das células microbianas (AHRING, 2002).

Outros nutrientes são importantes no processo, como os macronutrientes minerais Fósforo – P, o Enxofre – S, o Potássio – K, que são utilizados na produção energética e os micronutrientes como Cobre – Cu, Níquel – Ni, Cobalto – Co e Zinco – Zn, que atuam nas reações químicas (CHERNICHARO, 2007). Os macronutrientes não são escassos nos resíduos alimentares, mas micronutrientes como o cálcio, magnésio, cobalto e níquel são essenciais e podem ser aditivados, promovendo um aumento de até 40% de produção em comparação à digestão não suplementada. (MENON *et al.*, 2023).

### 3.2.2.5. Biomoléculas

O processo bioquímico de produção de metano através da digestão de biomassa envolve a conversão de carboidratos (Equação 1), proteínas (Equação 2) e lipídios (Equação 3) (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Estequiometricamente, a reação ocorre de acordo com as equações:



Onde:

$C_6H_{12}O_6$ : carboidrato;

$CO_2$ : dióxido de carbono;

$CH_4$ : gás metano;

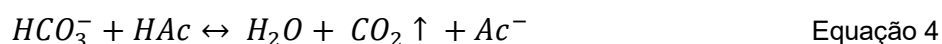
$C_{13}H_{25}O_7N_3S$ : proteína;

$NH_3$ : amônia;

$H_2S$ : sulfeto de hidrogênio;

$C_{12}H_{24}O_6$ : lipídio.

Observa-se que a degradação de um mohl de açúcar resulta na mesma quantidade de mohl de dióxido de carbono e metano. Existe problemática no alto teor de  $CO_2$  no biogás da DA de carboidratos, devido seu menor poder calorífico e valor agregado (KHALIL *et al.*, 2019); este resultado é observado na MonoDA de RFV, um resíduo rico em açúcares (DE QUADROS *et al.*, 2022b). Outro fator que estimula a produção de  $CO_2$  é o acúmulo de ácidos orgânicos, através do consumo de alcalinidade de bicarbonatos, conforme ilustra a Equação 4, proposta por Khanal (2009). Há de se observar, entretanto, que carboidratos facilmente assimiláveis promovem o crescimento da biomassa, principalmente no início do processo de DA (SONG *et al.*, 2021).



Onde:

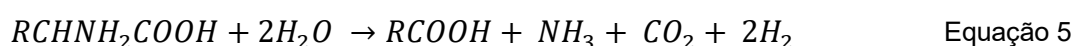
$HCO_3^-$ : bicarbonato;

HAc: ácido acético;

CO<sub>2</sub>: gás carbônico;

Ac: acetato.

Sobre as proteínas, apesar da equação estequiométrica resultar em quantidades iguais de metano e dióxido de carbono, ocorre adsorção de enxofre no lodo do biodigestor e a formação de bicarbonato de amônio a partir da combinação de parte do CO<sub>2</sub> com NH<sub>4</sub>, atuando como agente tamponador. A proporção esperada entre metano e dióxido de carbono é de 70:30% (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Ao digerir resíduos proteicos, há precaução quanto ao risco de formação de NH<sub>3</sub> em excesso, que apresenta toxicidade à microbiota em concentrações maiores que 2,5g.L<sup>-1</sup>; este íon tem maior abundância em pH muito alcalino, inadequado para DA (HOLLIGER *et al.*, 2016). A formação do bicarbonato de amônio, que fornece alcalinidade ao meio, é ilustrado na Equação 5 e Equação 6, de Khanal (2009):



Onde:

RCHNH<sub>2</sub>COOH: alfa aminoácidos;

RCOOH: ácido carboxílico;

NH<sub>3</sub>: amônia;

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amônio;

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: bicarbonato.

O uso de proteínas na codigestão de resíduos ricos em carboidratos pode ser benéfico para o balanço de nutrientes no reator. Haverá tendência de equilíbrio na relação C/N, onde os carboidratos fornecem carbono e as proteínas fornecem nitrogênio. Além disso os açúcares proporcionarão energia para biomassa, enquanto o nitrogênio é usado na síntese celular (DE QUADROS *et al.*, 2022a).

Por fim, apesar dos lipídios apresentarem o maior potencial teórico de produção de biogás, com 1 mohl podendo produzir 7,5 mohl de metano, existe o obstáculo da difícil degradação dessa biomolécula. Comumente adota-se de tratamentos físico-químicos para este tipo de resíduo, o que representa um grande custo (ARGIZ *et al.*, 2022). O tratamento por rotas biológicas tem sua recalcitrância como um gargalo, já que existe dificuldade de assimilação pela microbiota devido sua baixa solubilidade e

densidade. Com a tendência de flotação e a hidrofobia, diminui-se a área de contato com os microrganismos (DIAMANTIS *et al.*, 2021).

A monodigestão de lipídios pode ser inviável (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011), entretanto a produção de biogás pode ser otimizada – ou não prejudicada – em codigestão desde que a dosagem seja adequada (EFTAXIAS *et al.*, 2019). Desta forma, aprimorar o uso de lipídios na DA pode, concomitantemente, reduzir os custos de tratamento e aumentar o teor de metano no biogás.

### 3.3. CENÁRIO ENERGÉTICO BRASILEIRO

Segundo o Operador Nacional do Sistema Elétrico - ONS, por volta de 80% da energia elétrica no Brasil é proveniente de fontes renováveis, dos quais aproximadamente 60% vêm de hidrelétricas e 16,6% da combinação de matrizes eólica e solar (ONS, 2022). Em 2019, a biomassa contribuiu com cerca de 8% da geração elétrica, principalmente através da queima do bagaço de cana-de-açúcar. No entanto, o biogás não teve representatividade como matriz energética nesse ano. (DE SOUZA *et al.*, 2023). Em 2023, durante a primeira vez na história, o consumo diário de energia superou os 100.000MW no Brasil, recorde esse superado duas vezes em novembro de 2023 devido às ondas de calor (ONS, 2023).

Há uma significativa dependência do Brasil em matrizes energéticas hídricas. O avanço das mudanças climáticas também exerce impacto direto no ciclo hidrológico, afetando a disponibilidade de recursos hídricos e, por conseguinte, a geração de energia a partir dessa fonte. Em 2021, a escassez hídrica nacional atingiu um déficit de 267 km<sup>3</sup> em comparação com a média sazonal dos últimos 20 anos. Esse cenário resultou em um aumento médio de quase 130% nas contas de eletricidade, além de levar diversas cidades a implementarem o racionamento de água (GETIRANA *et al.*, 2021).

Diante dessas considerações, torna-se crucial descentralizar a matriz energética. Iniciativas como Waste to Energy - WtE ganham destaque, pois a produção de eletricidade provém de fontes como resíduos e biomassa, complementando os métodos convencionais de geração de energia. Entre os principais combustíveis verdes gerados estão o biogás e o bio-hidrogênio. (KOTHARI *et al.*, 2010).

Uma opção de WtE é a digestão anaeróbia. Apesar de suas particularidades operacionais, não é um processo desconhecido no Brasil para o tratamento de efluentes sanitários, por exemplo. Só no Paraná existem 230 ETEs que fazem uso de reatores anaeróbios (RIETOW *et al.*, 2023). A DA de RAgro e RFV também tem potencial para colaboração na produção de biogás. Atualmente cerca de 80% das plantas nacionais estão vinculadas com o setor agroindustrial. A colaboração de produção, entretanto, é de apenas 10% do total produzido no país. Dessa forma, torna-se plausível investigar a DA de resíduos que já apresentam aptidão e potencial, mas precisam de maiores investimentos técnicos e operacionais para alcançar uma maior produção (CIBIOGÁS, 2023).

As plantas, produção e distribuição geográfica no Brasil podem ser observadas na Tabela 3.

**Tabela 3:** plantas de biogás no Brasil no ano de 2022, por região.

Região	Plantas de biogás		Produção	
	Unidades	%	Nm <sup>3</sup> . ano <sup>-1</sup>	%
Centro Oeste	163	18	156.097.746	5,40
Nordeste	26	3	476.866.317	16,51
Norte	6	1	32.063.439	1,11
Sudeste	366	41	1.740.668.792	60,26
Sul	324	37	480.766.792	16,64
<b>Total</b>	<b>885</b>	<b>100</b>	<b>2.888.462.730</b>	<b>100</b>

**Fonte:** Adaptado de CIBiogás (2023)

Como o poder calorífico médio do biogás é de 21,5MJ. m<sup>-3</sup> (HOSSEINI *et al.*, 2014) gera-se por ano o equivalente a 18TWh de energia elétrica através do biogás por ano, suficiente para abastecer por volta de um milhão de moradias populares.

A longo prazo a produção brasileira tem potencial de alcançar 84,6 bilhões de Nm<sup>3</sup>. ano<sup>-1</sup>, que seriam suficientes para substituir 543 milhões de toneladas de cavaco para queima em caldeiras (CIBIOGÁS, 2023). A maior parte do biogás produzido nacionalmente vem de empreendimentos de saneamento, como os aterros sanitários. Observada as problemáticas desse setor (custos de coleta, transporte, operação) e a inviabilidade de extração de biogás de aterros pequenos (MAMBELI BARROS *et al.*, 2014), focar a pesquisa em resíduos menos heterogêneos, com maior teor de sólidos totais voláteis e grande disponibilidade como os RFV pode ajudar a diversificar a

matriz energética brasileira através da digestão anaeróbia em curto prazo, atendendo a urgência da demanda energética atual.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

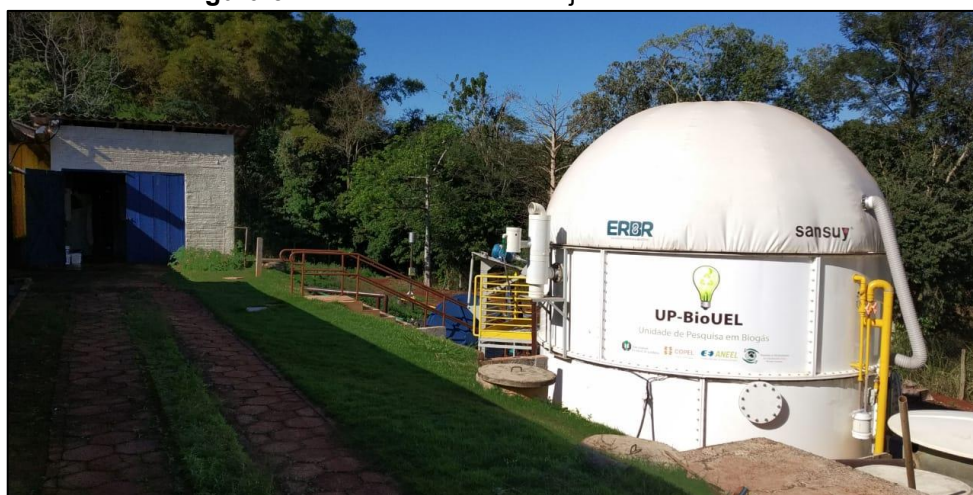
Os experimentos deste trabalho foram realizados no Laboratório de Tratamento de Águas e Resíduos – LABTAR da Universidade Estadual de Londrina – UEL.

### 4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

#### 4.1.1. Inóculo: lodo de suinocultura

O inóculo é a fonte de microrganismos que irão povoar o reator e possibilitar a degradação da matéria orgânica e a formação de biogás. Para este experimento, usou-se o dejetos de suinocultura digerido, proveniente de um reator CSTR em escala real de 60m<sup>3</sup> localizado na Fazenda Escola da UEL. O digestato foi coletado na semana do experimento e armazenado em bombonas de polietileno de 50 litros. O reator de onde houve a coleta do inóculo é ilustrado na Figura 3.

**Figura 3:** reator anaeróbio de dejetos de suinocultura.



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.1.2. Substrato: Resíduo de Frutas e Vegetais - RFV

O substrato utilizado neste estudo provém da CEASA LONDRINA, onde diariamente são gerados por volta de 9 toneladas de RFV (PRORESÍDUOS UEM, 2012). Em 2022, o grupo de trabalho fez uma coleta na unidade que totalizou 350kg. Frutas e vegetais descartados em contêineres para destinação foram segregados

manualmente de outros resíduos, conforme representa a Figura 4. Os RFV foram pesados, e apresentaram a seguinte composição gravimétrica:

- **FRUTAS:** abacate, abacaxi, banana, caqui, laranja, limão, maçã, mamão, maracujá, melancia, melão, pepino, pera, toma e uva, que totalizaram 211kg ou 60,3% da coleta;
- **VEGETAIS:** abóbora, batata-doce, beringela, beterraba, cebola, cenoura, chuchu, inhame, jiló, pimentão, vagem, acelga, agrião, alface, casca de ervilha, coentro, folha de couve, manjeriçã, repolho, que totalizaram 139kg ou 39,7% da coleta.

**Figura 4:** container de descarte na CEASA (I) e RFV segregado após coleta (II).



Fonte: o Autor (2024)

Os RFV foram triturados em moedor modelo ACX 500-Tritury Tweeny, processados em liquidificador e peneirados em malha de abertura média de 5mm, conforme instrução da VDI 4630 que orienta dimensões máximas do substrato de 10mm, para promover maior área de contato com os microrganismos (VDI 4630, 2006). A composição final do mix de RFV foi de aproximadamente 60% de frutas e 40% de vegetais. Para inibir a degradação das amostras e garantir a precisão analítica, os RFV foram armazenados em câmara de resfriamento mantida a  $-10^{\circ}\text{C}$ , conforme orientação de Holliger *et al.* (2016).

#### 4.1.3. Biomoléculas: frutose, caseína e ácido palmítico

Os co-substratos foram adquiridos na empresa ACS Científica. Neste experimento adotou-se a frutose representando uma fonte de carboidrato, que é comercializada em frascos de 1kg com 99% de pureza. A caseína, é a representante das proteínas, e é comercializada em frasco de 1kg com pureza maior que 90%. Por fim, o ácido palmítico, representa uma fonte de lipídios, é comercializado em embalagens de 100g com pureza mínima de 98%. Essas informações estão presentes na Ficha de Segurança de Produtos Químicos – FISPQ de cada reagente

Foram escolhidos com base no evidenciado por Song *et al.* (2021), que ao delinear a concentração ideal de cada biomolécula na DA, utilizaram amido para representar os carboidratos, albumina sérica bovina para as proteínas e ácido palmítico como fonte de lipídios. Ao propor adequações para o ensaio de DQO de efluentes concentrados em biomoléculas, de Aquino *et al.* (2006) usaram glicose, caseína e óleo de soja. As embalagens dos produtos bem como sua aparência podem ser visualizados na Figura 5.

**Figura 5:** embalagem comercial da frutose (I), caseína e ácido palmítico, e sua consistência (II).



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.1.4. Etapa I: escala de bancada

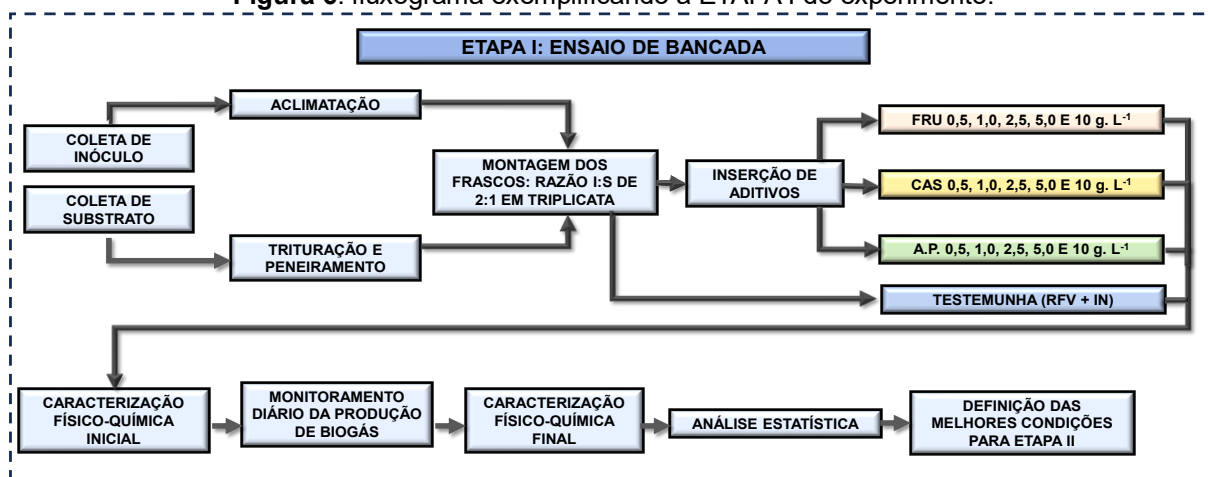
O desenvolvimento deste trabalho se deu em duas principais etapas. Na etapa I, em escala de bancada, visando selecionar as melhores condições experimentais ,

conduziu-se o ensaio de potencial bioquímico de metano – BMP (*Biochemical Methane Potencial*) conforme as orientações da norma VDI 4630 (*Fermentation of organic materials - Characterization of the substrate, sampling, collection of material data and fermentation tests*) 4630 (VDI 4630, 2006).

Para ambas as etapas, realizou-se a coleta de substrato em uma unidade da CEASA localizado em Londrina – PR. Previamente a montagem da batelada, o substrato foi descongelado e diluído em concentração de  $20\text{g.L}^{-1}$  (STV) de acordo com a recomendação de Holliger *et al.* (2016). Foram adquiridos os aditivos a serem utilizados, a frutose, caseína e ácido palmítico, e houve a coleta de inóculo, o dejetto de suinocultura, na Fazenda Escola localizada na UEL. O inóculo foi mantido em repouso em bombonas de polietileno de 50L para aclimação, foi caracterizado e diluído para a concentração de  $20\text{g.L}^{-1}$  em função dos STVs.

Houve teste de estanqueidade antes da montagem dos frascos de BMP, no qual eram pressurizados com ar até que o manômetro indicasse a pressão interna de  $1\text{ kgf cm}^{-2}$ . Passadas 24 horas, os frascos nos quais a pressão se manteve foram considerados aptos para o ensaio. O estudo foi concebido com uma relação I:S de 2:1, com mensuração quantitativa por leitura de pressão (aplicada a fórmulas matemáticas), e qualitativa através de medidores portáteis. Um fluxograma ilustrando a etapa 1 pode ser verificado na Figura 6.

**Figura 6:** fluxograma exemplificando a ETAPA I do experimento.



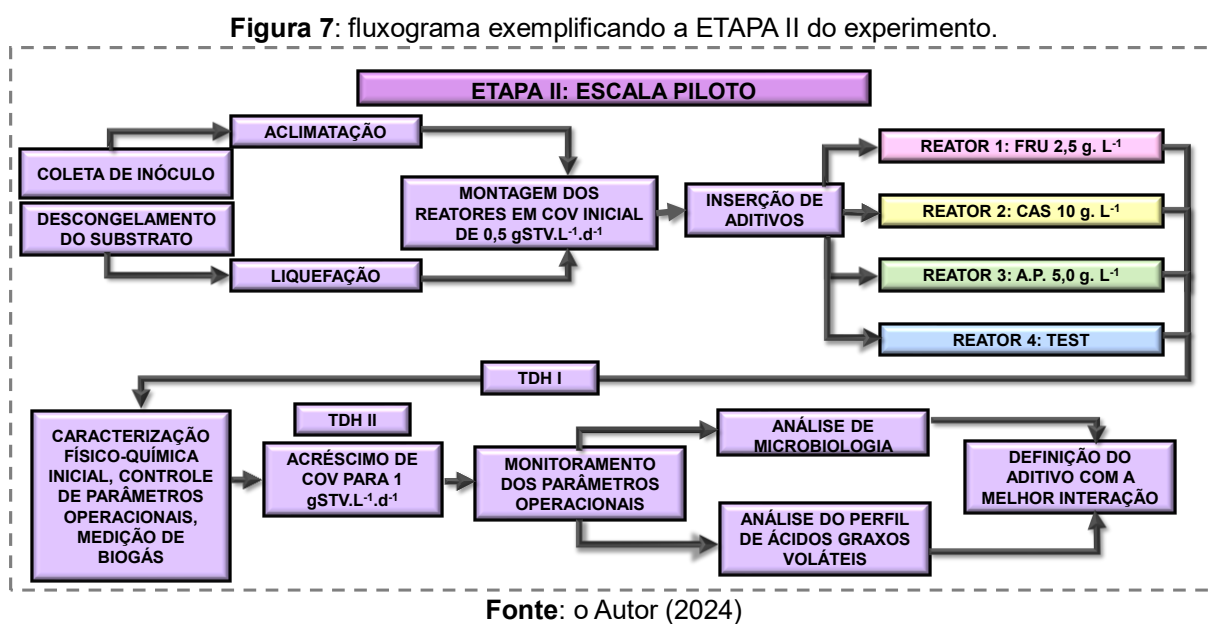
Fonte: o Autor (2024)

#### 4.1.5. Etapa II: escala piloto

A etapa II foi realizada em reatores de tanque de agitação contínua - CSTR (*Continuous Stirred Tank Reactors*) nos quais as condições com melhor produção de

CH<sub>4</sub> na etapa I foram aplicadas. Operou-se quatro reatores de 10L de volume total e 7,5L de volume útil, com alimentação semi-contínua, temperatura mesofílica e aumento da COV durante o processo. A COV inicial foi de 0,5 kgSTV m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> para o primeiro TDH de 30 dias, e de 1 kgSTV m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> para o segundo TDH, que durou 20 dias devido problemas operacionais.

A partida dos reatores se deu com 50% de seu volume útil apenas com inóculo, em concentração coerente com a COV. As alimentações ocorreram três vezes na semana, e iniciou-se a retirada de efluente quando o volume útil do reator foi atingido. A mensuração quantitativa de biogás foi realizada diariamente através da leitura de pressão, aplicada à fórmulas matemáticas, e qualitativa por medidor portátil. Um fluxograma ilustrando a etapa II pode ser verificado na Figura 7. SEQ **Figura 1\*** **ARABIC**



#### 4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E PARÂMETROS OPERACIONAIS

A caracterização físico-química e biológica do inóculo, substrato e aditivos, assim como o monitoramento de parâmetros de desempenho foi realizada de acordo com o Quadro 2. Nela fica especificada o parâmetro, a referência, o método analítico e a frequência das análises.

**Quadro 2:** parâmetros monitorados durante as etapas experimentais.

PARÂMETRO	REFERÊNCIA	MÉTODO	EQUIPAMENTO	FREQUÊNCIA	
				ETAPA 1	ETAPA 2
Temperatura (°C)	2550B (*)	-	Termômetro de sonda acoplado ao pHmetro DIGIMED D22	Início e fim do experimento	2 vezes por semana
pH	4500 H (*)	Potenciométrico	pHmetro DIGIMED D22	Início e fim do experimento	2 vezes por semana
Alcalinidade (g de CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	2320 B (*)	Titulométrico	pHmetro DIGIMED D22, Titulador Dosimat METROHM	Início e fim do experimento	2 vezes por semana
Acidez Volátil – AV (g de CH <sub>3</sub> COOH.L <sup>-1</sup> )	Dilallo e Albertison (1961)	Titulométrico	pHmetro DIGIMED D22, Titulador Dosimat METROHM	Fim do experimento	2 vezes por semana
Série de Sólidos (**) (g.L <sup>-1</sup> )	2540	Gravimétrico	Estufa 90°C Marconi MA 033/288; Mufla 550°C Marconi	Fim do experimento	1 vez por semana
Demanda Química de Oxigênio – DQO (g de O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	5220 C (*) refluxo fechado	Espectrofotométrico	Bloco digestor COD reactor HACH, Espectrofotômetro MN nanocolor VIS	Fim do experimento	1 vez por semana
Nitrogênio Total Kjeldahl – NTK (g.L <sup>-1</sup> )	4500 (*) Destilação Kjeldahl	Titulométrico	Bloco Digestor Buchi; Destilador Buchi	Fim do experimento	1 vez por semana
Nitrogênio Amoniacal Total (g.L <sup>-1</sup> )	4500 C	Titulométrico	Destilador Buchi	Fim do experimento	1 vez por semana
Proteínas (g.L <sup>-1</sup> )	Instituto Adolfo Lutz (2008)	N <sub>org</sub> *6,25	-	Fim do experimento	1 vez por semana
Carboidratos (g.L <sup>-1</sup> )	Instituto Adolfo Lutz (2008)	Diferença entre 100 e a soma de carboidratos, proteínas e cinzas	-	Início do experimento	1 vez por semana
Lipídios (%)	Instituto Adolfo Lutz (2008)	Extração em Soxhlet	Extrator de gorduras e lipídios SL 202 SOLAB	Fim do experimento	1 vez por semana
Açúcares totais (g.L <sup>-1</sup> )	Dubois <i>et al.</i> (1956)	Espectrofotométrico	Espectrofotômetro MN nanocolor VIS	Fim do experimento	1 vez por semana
Carbono Orgânico Total – COT (g.L <sup>-1</sup> )	Jiménez e Garcia (1991)	STV/1,8	-	Início e fim do experimento	1 vez por semana
Gases (CH <sub>4</sub> , CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, O <sub>2</sub> e NO <sub>2</sub> ) (% e ppm)	-	Sensores catalíticos infravermelhos e detectores eletroquímicos	Analizador portátil de gases DRAGER XAM 8000 e OPTIMA 7	diariamente	diariamente
Ácidos Graxos Voláteis – AGV (g.L <sup>-1</sup> )	Rodrigues <i>et al.</i> (2019) (***)	Cromatografia gasosa + espectrometria de massas	Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrometria de Massas – CG-MS (PerkinElmer – Clarus 690 acoplado a Clarus SQ8)	-	quinzenal
Microbiologia molecular	<i>Kittelman et al.</i> (2013) <i>Klindworth et al.</i> (****) (2013)	Sequenciamento genético por PCR	Kit de extração QIAmp Fast DNA Stool Kit, sequenciador MiSeq System – Illumina	-	Fim do experimento

(\*): Método baseado no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA AWWA; WEF, 2017); (\*\*): Método adaptado; (\*\*\*) Método validado por DE QUADROS (2023); (\*\*\*\*) realizado em laboratório externo.

Fonte: o Autor (2024)

#### 4.2.1. Adaptações analíticas

No ensaio de determinação do teor de sólidos, a temperatura de secagem recomendada pelo método convencional é de 105°C (APHA WWA; WEF, 2017). Entretanto, a secagem das amostras foi realizada a 90°C, a fim de minimizar possíveis perdas de matéria orgânica volátil, conforme a proposta de protocolo para ensaios de bateladas elaborado por Angelidaki *et al.* (2009).

Para determinação do teor de proteínas empregou-se o método indireto proposto pelo Instituto Adolf Lutz (2008), no qual realiza-se o ensaio de nitrogênio total Kjeldahl – NTK e o ensaio de nitrogênio amoniacal total – NAT e subtrai-se para obter o valor do nitrogênio orgânico. Multiplica-se o valor encontrado por 6,25 empregado para conversão em proteínas, uma vez que é estimado que o teor de N a partir de proteínas é de 16%.

Devido à natureza pastosa da amostra, foi necessário dissolvê-la para realizar o ensaio de demanda química de oxigênio – DQO. As alíquotas foram dissolvidas em água deionizada e sonicadas no sonicador ultrassônico Unique – UltraCleaner 7000 por 15 minutos, em frequência de 40 kHz e temperatura ambiente, antes da digestão. As diluições eram próximas a 2%, sendo corrigidas para que todas as condições estivessem na faixa ótima da curva de calibração de DQO do LABTAR.

A determinação de carbono orgânico total – COT também se deu de forma indireta. Após definir o teor de sólidos fixos e voláteis pelo método da mufla, considera-se que o valor de COT é de 56% a 58% dos STV da amostra, portanto divide-se o STV pelo valor empírico de 1,8 para encontrar o COT em g.L<sup>-1</sup> (JIMÉNEZ & GARCÍA, 1991).

A proporção entre parâmetros mensuráveis como acidez volátil e alcalinidade total AV/AT (CALLAGHAN *et al.*, 2002) e alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial AI/AP (CHERNICHARO, 2007) foram monitoradas para assegurar a estabilidade em escala piloto.

Por fim, os experimentos de batelada – BMP foram conduzidos com uma alteração quanto ao uso de nitrogênio gasoso para saturar o headspace do frasco, conforme orientação da VDI 4630 (2006). Em testes preliminares realizados pelo grupo de estudo, tal prática não representou diferença significativa nos resultados.

Para eliminar a presença do oxigênio remanescente nos reatores, foi realizada uma purga no primeiro dia do experimento descartando o gás produzido.

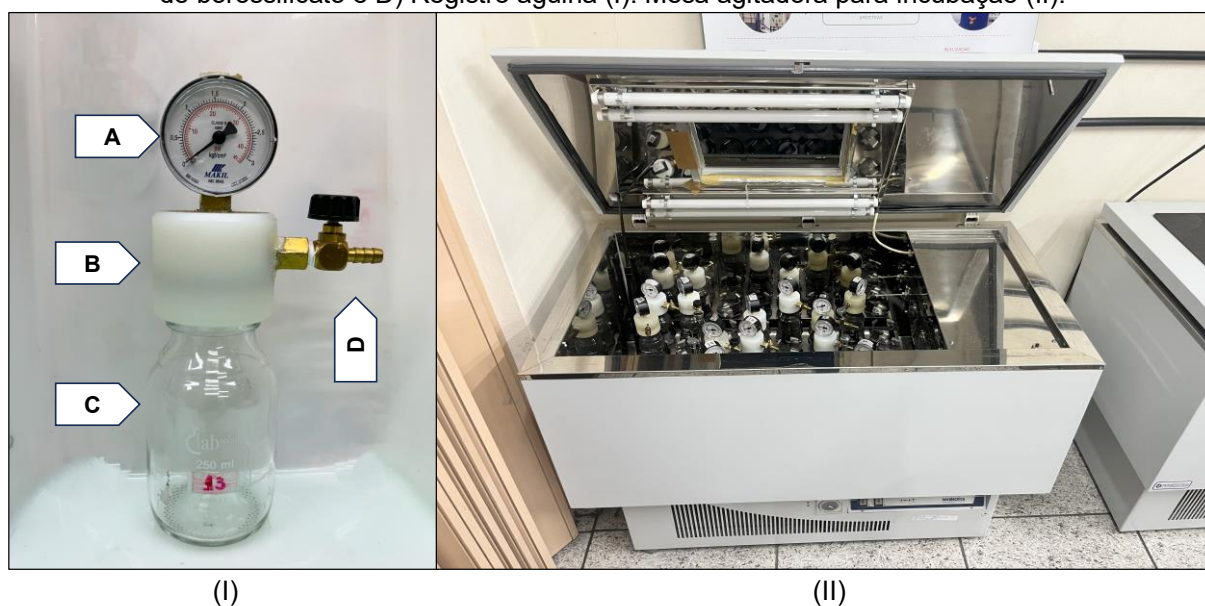
#### 4.3. APARATO EXPERIMENTAL

##### 4.3.1. Etapa I: ensaios em escala de bancada

Os reatores de batelada são compostos por frascos de vidro em borossilicato de 310mL de volume total e 150mL de volume de líquido (160mL de headspace), vedados com tampa de rosca fabricada em nylon tecnil, adaptada com uma saída para um registro agulha em latão para purga e qualificação do biogás, e uma saída para um manômetro para monitorar a pressão e poder calcular o volume de biogás produzidos. A pressão máxima suportada por esse sistema é de  $3\text{kgf cm}^{-2}$ . Todos os reatores passaram por teste de estanqueidade, que consistiu em pressurizá-los até a marcação de  $1\text{kgf cm}^{-2}$  e esperar 24 horas.

Os frascos foram incubados em mesa agitadora da Nova Técnica, modelo NT 714, onde foram mantidos a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , em ausência de luz e agitação constante de 120rpm. Os detalhes do frasco de BMP e a mesa agitadora podem ser visualizados na Figura 8.

**Figura 8:** reator de batelada para ensaio de BMP: A) Manômetro; B) Tampa de nylon tecnil; C) Frasco de borossilicato e D) Registro agulha (I). Mesa agitadora para incubação (II).



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.3.1.1. Monitoramento quantitativo de biogás

A pressão interna de cada reator foi monitorada diariamente pelos manômetros conectados à tampa. Os dados de pressão atmosférica local foram obtidos junto ao Sistema Meteorológico do Paraná – SIMEPAR. Para determinação do volume de biogás produzido no dia, utilizou-se a conversão da pressão interna do dia subtraída da pressão do dia anterior, com base na Lei dos Gases Ideais, proposta por Clapeyron. (MACIEL & JUCÁ, 2011). A Lei de Clapeyron adaptada é apresentada na Equação 7.

$$Vol_{BIOGÁS} = \frac{PF \cdot V_{UF} \cdot C}{R \cdot TF} \cdot 1000 \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

Vol<sub>BIOGÁS</sub>: volume de biogás produzido no dia (mL);

PF: pressão interna do frasco do dia atual, subtraída do dia anterior (mbar);

V<sub>UF</sub>: volume útil do frasco ocupado pelo gás, *headspace* (L);

C: volume molar (22,41L mol<sup>-1</sup>);

R: constante universal dos gases (83,14L mbar mol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>);

TF: temperatura do frasco (K).

Para correção do volume de biogás produzido à Condição Normal de Temperatura e Pressão – CNTP, a 0°C e 1 atm, de acordo com a equação de Clapeyron, foi necessário obter o valor da pressão do vapor d'água por meio da equação de Antoine (Equação 8) citada por Stromberg *et al.* (2014). Esta equação é aplicável em testes de batelada desde que as pressões variem de 0,6 a 1,1bar e temperatura entre 10°C e 40°C. O vapor d'água gerado pode superestimar a produção de biogás nas CNTP em 2% a 8%.

$$P_w = 10^{8,1962 - \frac{1730,63}{T_{gas} - 39,724}} \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

P<sub>w</sub>: pressão de vapor d'água (mbar);

T<sub>gas</sub>: temperatura do gás (K).

O valor obtido para  $P_w$  foi de 62,6mbar, devido à temperatura de 37°C adotada nos experimentos. Para obtenção do volume final de biogás nas CNTP o valor de pressão atmosférica local foi subtraído de  $P_w$ , calculo demonstrado na Equação 9, adaptada de STRÖMBERG *et al.* (2014):

$$V_{BIOGÁS\ CNTP} = Vol_{BIOGÁS} \cdot \frac{P_{atm} - P_w}{P_{CNTP}} \cdot \frac{T_{CNTP}}{TF} \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

$Vol_{BIOGÁS\ CNTP}$ : volume de biogás produzido no dia, corrigido nas CNTP (NmL);

$V_{BIOGÁS}$ : volume de biogás produzido no dia (mL);

$P_{CNTP}$ : pressão atmosférica normal (CNTP = 1013,25mbar);

$P_{ATM}$ : pressão diária local (variável – Londrina, mbar);

$P_w$ : pressão de vapor d'água (62,6mbar);

$T_{CNTP}$ : temperatura normal (CNTP = 273,15K);

TF: temperatura do frasco (K).

Na determinação da produção específica de biogás e de gás metano, os valores de STV iniciais da mistura presentes em casa reator foram considerados, conforme indica a Equação 10 proposta por Angelidaki *et al.* (2009).

$$Vol_{GÁS\ STV} = \frac{Vol_{GÁS\ CNTP}}{mSTV_{ADIC.}} \quad \text{Equação 10}$$

Onde:

$Vol_{GÁS\ STV}$ : produção específica de biogás/CH<sub>4</sub> (NmL gSTV<sup>-1</sup>);

$Vol_{GÁS\ CNTP}$ : produção de biogás/CH<sub>4</sub> nas CNTP (NmL);

$mSTV_{ADIC.}$ : massa de STV adicionados ao início do experimento.

Os experimentos foram continuados por 64 dias, até atingirem o limite orientado pela VDI 4630 (2006), que sugere o encerramento da batelada quando os tratamentos produzissem em um dia menos que 1% do volume de produção total acumulado no período de todo teste. Todas as condições experimentais atingiram esta condição, com exceção da monodigestão de lipídios. Mesmo assim, optou-se por encerrar o experimento devido inviabilidade operacional de continuação. O volume de produção

total acumulado se dá pela soma das produções de todos os dias do experimento. A Equação 11 delinea a taxa de geração de biogás.

$$\text{Taxa de geração de biogás} = \frac{\text{Vol acumulado CNTP}}{N_{\text{dias}}} \quad \text{Equação 11}$$

Onde:

Taxa de geração de biogás: percentual de produção diária (%);

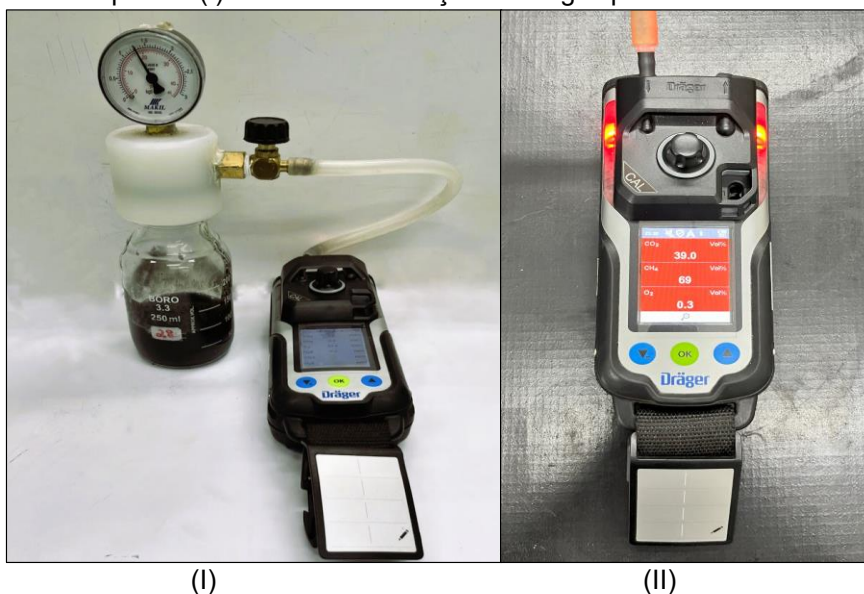
Vol<sub>acumulado</sub> CNTP: volume de biogás produzido no dia nas CNTP (NmL);

N<sub>dias</sub>: número de dias corridos de experimento.

#### 4.3.1.2. Monitoramento qualitativo do biogás

A caracterização do biogás armazenado no *headspace* dos reatores foi realizada por meio de analisador portátil de gases com sensores catalíticos infravermelhos e detectores eletroquímicos, da marca Dräger modelo X-AM 8000. A sensibilidade de detecção do aparelho é de 0 a 100% para CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, de 0 a 25% de O<sub>2</sub> e de 0 a 5000ppm de H<sub>2</sub>S. A purga dos tratamentos foi realizada sempre que a pressão interna dos reatores era de aproximadamente 1 kgf cm<sup>-2</sup>. Nos primeiros dias de ensaio as purgas eram diárias, começando a se espaçar a partir da primeira semana. O funcionamento do aparelho portátil pode ser verificado na Figura 9.

**Figura 9:** medidor portátil (I) fazendo mensuração do biogás produzido no frasco de BMP (II).



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.3.1.3. Monitoramento de parâmetros operacionais

Os parâmetros monitorados no início da etapa I são pH, alcalinidade e AV. Os ensaios de DQO, NTK+NAT e teor de sólidos foram realizados somente no inóculo, substrato e biomoléculas, conferindo um valor teórico inicial. Ao fim do experimento realiza-se os ensaios de pH, alcalinidade, AV, teor de sólidos, DQO e NTK+NAT para todas as amostras. O ensaio de açúcares totais, proteínas e lipídios foi realizado somente nas condições em que houve suplementação de biomoléculas. Todos os ensaios foram realizados de acordo com o Quadro 2, apresentado no item 4.2.

#### 4.3.1.4. Condições experimentais

As condições experimentais foram definidas conforme ilustra a Tabela 4. A condição TC1 é referente ao inóculo, a TC2 é referente à monodigestão de RFV não suplementada e as TC3, TC4 e TC5 correspondem a monodigestão de frutose, caseína e ácido palmítico, respectivamente. Ao início dos experimentos, o pH foi corrigido para 8,0 com uma solução tamponadora de carbonato de sódio a  $120\text{g.L}^{-1}$ , conforme adotado por Sicchieri *et al.* (2022) uma vez que a alcalinidade registrada em MonoDA do RFV foi menor que  $3\text{ g de CaCO}_3\text{.L}^{-1}$  e o pH estava fora da faixa de 7 a 8,5 ideal para uma digestão estável (HOLLIGER *et al.*, 2016).

O inóculo e o RFV foram diluídos com água deionizada para que a concentração de ambos seja de  $20\text{g.L}^{-1}$  STVs, ainda de acordo com Holliger *et al.* (2016) que sugere STVs entre 20 e  $50\text{g.L}^{-1}$  para experimento de bancada. Ressalta-se que todas as concentrações deste estudo são em função dos sólidos totais voláteis. O acréscimo de biomoléculas se deu de forma gradual, com concentração inicial de  $0,5\text{g.L}^{-1}$  até  $10,0\text{g.L}^{-1}$  (STVs). As massas dos suplementos também foram corrigidas de acordo com a pureza, o teor de umidade e o teor de sólidos totais voláteis. A frutose corresponde às condições (T1-T5), a caseína às condições (T6-T10) e o Ácido Palmítico às condições (T11-T15).

A monodigestão de biomoléculas puras, apesar de inviável em escala piloto e real, foi realizada em bancada para entender seu comportamento como substrato, seus possíveis impactos nos parâmetros operacionais da digestão do RFV e sua interação com o inóculo. A monodigestão de RFV é apresentada como testemunha de estabilidade e produção, para posterior comparação com as condições suplementadas. Além disso, a produção específica de biogás e de metano do inóculo

(TC1) foi descontada de todas as condições posteriores, de forma que as produções registradas correspondem somente à conversão do substrato e das biomoléculas.

**Tabela 4:** especificação das condições e dosagens para o experimento em batelada.

CONDIÇÃO	INÓCULO		RFV		BIO	DOSAGEM (g.L <sup>-1*</sup> )
	(g.L <sup>-1*</sup> )	(mL)	(g.L <sup>-1*</sup> )	(mL)		
TC1	20	150	-	-	-	-
TC2	20	100	20	50	-	-
TC3	20	100	-	-	FRU	20,0
TC4	20	100	-	-	CAS	20,0
TC5	20	100	-	-	A.P.	20,0
T1, T2, T3, T4 e T5	20	100	20	50	FRU	0,5, 1,0, 2,5, 5,0 e 10,0
T6, T7, T8, T9 e T10	20	100	20	50	CAS	0,5, 1,0, 2,5, 5,0 e 10,0
T11, T12, T13, T14 e T15	20	100	20	50	A.P.	0,5, 1,0, 2,5, 5,0 e 10,0

TC: triplicata controle; T: triplicata; RFV: resíduo de frutas e vegetais; BIO: biomoléculas; FRU: frutose; CAS: caseína; A.P.: ácido palmítico;

(\*): concentração em função de SVT.

Fonte: o Autor, (2024)

#### 4.3.2. Etapa II: ensaios em escala piloto

Os reatores em escala piloto utilizados são fabricados em PVC, com diâmetro interno de 200 mm e altura total de 320 mm. Possuem dois níveis de retirada de efluentes, sendo localizados na parte inferior e na altura correspondente a 3,5 L (50% do volume útil). Na cúpula dos reatores estão instalados o bocal de alimentação e o dreno de biogás. A tubulação de introdução de afluente é “afogada”, diminuindo a entrada de ar atmosférico no momento de alimentação dos reatores. Na parte interna, o sistema possui um eixo de agitação que funciona de maneira contínua, com duas pás responsáveis por manter a mistura homogênea. Para vedação do eixo, é alocado um rolamento linear com anéis de vedação em borracha nas extremidades.

Para manter a temperatura, o aquecimento é feito em “banho maria”. Em cada compartimento é instalada uma resistência elétrica de 400W, que aquece um volume de água que circunda os reatores até a borda superior. O monitoramento é realizado por termômetros individuais em cada módulo, que coletam informações para os relês de controle, que acionam ou desligam o aquecimento com resistências elétricas, sempre

que a temperatura almejada é atingida, ou quando fica abaixo do programado. A Figura 10 apresenta o sistema citado para esta etapa.

**Figura 10:** reatores CSTR para etapa II do experimento.



Fonte: o Autor (2024)

Para medição do volume de biogás gerado, foram confeccionados gasômetros em tubos PVC 150 mm de diâmetro e 800 mm de altura. Os gasômetros permaneceram afogados em um selo hídrico de solução salina acidificada (NaCl 75% de saturação e pH < 2,0), tingidas com solução indicadora de pH alaranjado de metila a 1%. As condições do selo hídrico diminuem a solubilidade do CO<sub>2</sub>, retendo-o no gasômetro (DE GODOI *et al.*, 2021). A Figura 11 ilustra o sistema composto de reatores e gasômetros.

**Figura 11:** aparato experimental da etapa II, constituído de reatores CSTR e gasômetros.



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.3.2.1. Monitoramento quantitativo de biogás

Para cálculo do volume de biogás gerado, foi realizada a mensuração dos deslocamentos ascendentes dos gasômetros em meio líquido e quantificado com base no volume preenchido, através da Equação 12 onde se calcula o volume de um cilindro. Para correção destes volumes, procedeu-se a aferição da pressão interna dos gasômetros para correção do volume para as CNTP.

$$Vol_{BIOGÁS} = \pi . r^2 . h \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

Vol<sub>BIOGÁS</sub>: volume produzido no dia (mL);

r: raio do gasômetro (7,5cm);

h: altura de deslocamento registrada no dia, entre o nível do selo hídrico e o topo do gasômetro (cm).

A correção de produção com as CNTP foi realizada novamente de acordo com a Lei dos Gases Ideais, demonstrada na Equação 13, de acordo com de Godoi *et al.* (2021). Nos reatores, entretanto, não se faz necessário descontar a produção do dia anterior uma vez que toda produção é referente à alimentação.

$$\frac{P_a \cdot V_a}{T_a + 273,15} = \frac{P_{CNTP} \cdot V_{CNTP}}{T_{CNTP}} \quad \text{Equação 13}$$

Onde:

P<sub>a</sub>: pressão atmosférica à qual o reator é submetido (mmHg);

V<sub>a</sub>: volume de biogás nas condições do ensaio (mL);

T<sub>a</sub>: temperatura à qual o reator é submetido (°C);

P<sub>CNTP</sub>: pressão atmosférica nas CNTP (mm Hg);

V<sub>CNTP</sub>: volume de biogás nas CNTP;

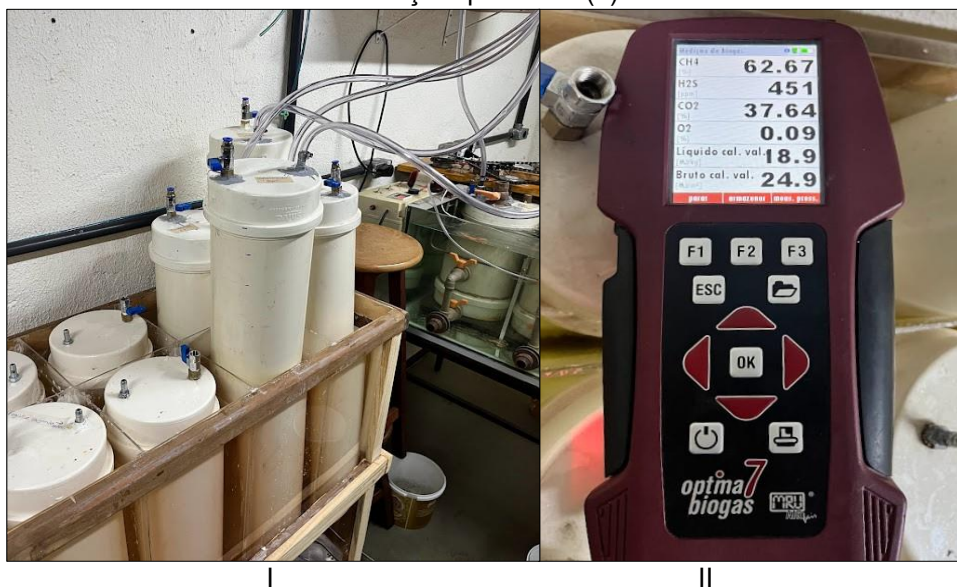
T<sub>CNTP</sub>: temperatura nas CNTP (0°C).

#### 4.3.2.2. Monitoramento qualitativo de biogás

Para qualificação do biogás gerado utilizou-se o analisador portátil OPTIMA 7 Biogas da MRU<sup>®</sup>. A sensibilidade do medidor é de 0 a 100% para CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, 0 a 25% de O<sub>2</sub> e 0 a 5000ppm para H<sub>2</sub>S, assim como o Dräger X-AM 8000, aparelho usado

nos ensaios de batelada. O equipamento tem sensor para mensuração da pressão interna dos gasômetros, informação necessária para correção do volume produzido nas CNTP. O aparato para medição de biogás é ilustrado na Figura 12.

**Figura 12:** gasômetros deslocados após produção de biogás (I) e aparelho portátil OPTIMA 7 fazendo medição qualitativa (II).



Fonte: o Autor (2024)

#### 4.3.2.3. Monitoramento de parâmetros operacionais

Amostras dos afluentes e efluentes dos reatores foram analisadas através dos parâmetros pH, alcalinidade, AV (duas vezes na semana), NTK+NAT e DQO (semanal), teor de sólidos e COT (quinzenal). As metodologias destes parâmetros são apresentadas no Quadro 2 do item 4.2. Também foi monitorado, conforme orientado por Callaghan *et al.* (2002), a proporção a geração de ácidos graxos voláteis sobre a alcalinidade total (AGV/AT), e a relação entre a alcalinidade intermediária que provém de bicarbonatos e a alcalinidade parcial que provém dos ácidos orgânicos (AI/AP) conforme orientação de Chernicharo (2007).

A produção de biogás foi acompanhada diariamente, quantitativamente através da mensuração do deslocamento vertical dos gasômetros, além da leitura de pressões aplicada em fórmulas matemáticas e qualitativamente com uso do medidor portátil MRU Instruments® - Optima 7.

Para caracterização de ácidos orgânicos, a análise foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas – CG-MS. Alíquotas quinzenais do efluente dos reatores foram centrifugadas a 4000rpm por 10 minutos,

recolhendo apenas o sobrenadante. Procedeu-se filtração para remoção de sólidos suspensos em membrana de fluoreto de polivinilideno - PVDF com 0,22  $\mu\text{m}$  de porosidade média.

As amostras foram dissolvidas em Metanol grau HPLC (Honeywell, pureza > 99%) para obter concentrações aproximadas de  $5\text{g.L}^{-1}$ , baseadas nas medições de AV pelo método titulométrico de (DILALLO & ALBERTSON, 1961). Foram armazenadas em vials de 2mL de capacidade volumétrica e armazenadas a  $-10^{\circ}\text{C}$  para posterior quantificação de ácidos orgânicos, como o ácido acético – HAc, propiônico – HPr, isobutírico – Hib, butírico – HB, isovalérico – Hiv e valérico – HV) presentes nas amostras. Este método foi implementado e validado por de Quadros (2023).

O sequenciamento genético e análise de microbiologia foi realizado em laboratório externo (NGS Soluções Genômicas localizado em Piracicaba – SP. A amostra de inóculo foi coletado no início do experimento II e as amostras dos reatores foram coletadas semanalmente, determinando ao fim do experimento a semana de melhor produção e segregando a alíquota para envio. Foram armazenadas em frascos cônicos de 15mL livres de DNases, RNases e pirogênicos, mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e enviadas ao local de análise em embalagem com isolamento térmico.

#### 4.3.2.4. Condições experimentais

Nesta etapa foram operados quatro reatores, que foram nomeados de **REATOR TEST** (inóculo + RFV), **REATOR FRU** (inóculo + RFV + frutose), **REATOR CAS** (inóculo + RFV + caseína) e **REATOR A.P.** (inóculo + RFV + ácido palmítico). Para início da operação, os reatores foram preenchidos com dejetos de suinocultura digerido na concentração de  $15\text{g.L}^{-1}$  até a metade do volume útil (3,75L), permanecendo em agitação constante de 40rpm e temperatura de  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  para que houvesse o consumo da matéria orgânica remanescente e a desgaseificação do meio.

Passado o período de adaptação de uma semana, iniciou-se a alimentação dos reatores com RFV calculado para COV de 0,5 e  $1\text{ gSTV L}^{-1}\text{ d}^{-1}$ , e TDH de 30 dias. Durante aproximadamente 15 dias (tempo necessário para alcançar o volume útil total do reator) não houve retirada de efluente. As alimentações ocorreram três vezes na semana, assim como adotado por de Quadros (2023). O cálculo da concentração de RFV para atingir a COV 0,5 e 1 é exemplificado na Equação 14 e Equação 15:

$$Q = \frac{V}{TDH} \quad \text{Equação 14}$$

$$COV = \frac{\text{conc. STV} \cdot Q}{V} \quad \text{Equação 15}$$

Onde:

Q: vazão diária (L.d<sup>-1</sup>);

V: volume útil do reator (L);

TDH: tempo de detenção hidráulica (dias);

COV: carga orgânica volumétrica (gSTV L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>);

concSTV: concentração de STV adicionados por litro de reator durante o TDH adotado (gSTV L<sup>-1</sup>).

Como as alimentações não foram diárias, houve necessidade de recalculas as vazões afluentes e efluentes para compensar os dias em que o reator não foi alimentado. Para isso, fez-se a adaptação exibida na Equação 16.

$$\text{Conc. STV adaptada} = \frac{Q \cdot 7}{3} \quad \text{Equação 16}$$

Onde:

Conc.STV adaptada: massa de STV corrigida para frequência de alimentação;

Q: vazão diária;

OBS: 7 e 3 equivalem ao total de dias na semana e a frequência de alimentação.

As massas adicionadas aos reatores são esclarecidas na Tabela 5. Para calcular o peso da biomolécula utilizou-se a concentração das melhores produções da Etapa I com a produção de CH<sub>4</sub> como parâmetro (FRU 2,5g.L<sup>-1</sup>, CAS 10g.L<sup>-1</sup> e A.P. 5g.L<sup>-1</sup>). Houve correção nas massas para atender a concentração da COV (em função dos STVs), uma vez que a concentração nos reatores de batelada era de 20g.L<sup>-1</sup>. Além disso, foi necessário corrigir as dosagens de acordo com a pureza das biomoléculas.

**Tabela 5:** concentrações de sólidos totais voláteis adicionados, de acordo com o reator.

Reator	TDH I – COV 0,5	TDH II – COV 1
--------	-----------------	----------------

**Sólidos totais voláteis adicionados g L<sup>-1</sup>**

FRU	15 (RFV) + 1,9 (FRU)	30 (RFV) + 3,75 (FRU)
CAS	15 (RFV) + 7,5 (CAS)	30 (RFV) + 15 (CAS)
A.P.	15 (RFV) + 3,75 (A.P.)	30 (RFV) + 7,5 (A.P.)
TEST.	15 (RFV)	30 (RFV)

RFV: resíduo de fruta e vegetal; FRU: frutose; CAS: caseína; A.P.; ácido palmítico; TEST: testemunha; TDH: tempo de detenção hidráulica; COV: carga orgânica volumétrica (em gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>).

**Fonte:** o Autor (2024)

O efluente dos reatores era recolhido, analisado e filtrado (em filtro de papel para café) e utilizado para dissolver o substrato para alimentação do seu respectivo reator. Quando o clarificado não foi suficiente, completou-se o volume necessário com água deionizada. A adoção de recirculação do clarificado vem dos efeitos positivos nos afluentes como aumento do pH e da alcalinidade, que aumentam a estabilidade da digestão (BORTOLOTTI *et al.*, 2023). Além disso, como o digestato possui um alto teor de umidade, a coleta do clarificado pode facilitar rotas de destinação da fração sólida (SHAO *et al.*, 2023), que no Paraná, por exemplo, é obrigatoriamente em uso agrícola de acordo com a resolução da Secretaria de Desenvolvimento Sustentável e Turismo – SEDEST 08 de 2021 (SEDEST, 2021).

As análises estatísticas foram realizadas em Software R (R CORE TEAM, 2023). Por meio dos testes de Shapiro-Wilk (1965) e Breusch-Pagan (1979) foram avaliados a normalidade de resíduos e homogeneidade de variância, respectivamente. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey e Duncan ao nível de significância de 5%.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ressalta-se que as fases experimentais da etapa I foram realizadas em parceria com o trabalho de doutorado do aluno Maurício Aparecido Bortoloti, vinculado ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil da UEL, sob a mesma orientação, e por este motivo compartilham parcialmente dos mesmos dados.

### 5.1. ETAPA I: EXPERIMENTO EM ESCALA DE BANCADA

Para iniciar os experimentos, caracterizaram-se todos os componentes a serem utilizados nas etapas I e II. O Quadro 3 ilustra com detalhamento as propriedades do inóculo, substrato e biomoléculas.

**Quadro 3:** caracterização físico-química do inóculo, substrato e biomoléculas.

Parâmetro	Unidade	Inóculo	RFV	Biomoléculas		
				FRU	CAS	A.P.
pH	-	7,50	4,45	5,00 (**)	4,30 (**)	5,50 (**)
AT	g CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup>	5,71	-	-	-	-
AV	g CH <sub>3</sub> COOH.L <sup>-1</sup>	0,12	0,40	-	-	-
ST	g.L <sup>-1</sup>	58,45 (***)	88,40	0,642 (*)	0,716 (*)	0,983 (*)
STV	g.L <sup>-1</sup>	34,33 (***)	82,00	0,640 (*)	0,681 (*)	0,981 (*)
STF	g.L <sup>-1</sup>	24,13 (***)	6,40	0,002 (*)	0,034 (*)	0,003 (*)
STV/ST	%	58,7 (***)	93	99,7	95,1	99,8
Umidade	%	94,15	91,16	<2,0 (**)	<10,0 (**)	<0,50 (**)
DQO	g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	30,73	78,94	1 (*)	1,37 (*)	2,35 (*)
NKT	g N-NH <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup>	2,97	0,87	-	0,16 (*)	-
NAT	g N-NH <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup>	1,10	0,41	-	-	-
COT	g.L <sup>-1</sup>	19,07	45,56	0,36 (*)	0,38 (*)	0,55 (*)
C/N	-	6,42	52,41	-	-	-
Carboidratos	% / g.L <sup>-1</sup>	80,43 / 1,30	80,96 / 0,7	>99 (**)	<5,5 (**)	-
Proteínas	% / g.L <sup>-1</sup>	17,48 / 2,66	15,42 / 0,37	-	>90 (**)	-
Lipídios	% / g.L <sup>-1</sup>	1,89 / 0,32	3,22 / 0,66	-	<2 (**)	>98 (**)
Cinzas	%	0,20	0,40	<0,05 (**)	<2,5 (**)	-

AT: alcalinidade total; AV: acidez volátil; ST: sólidos totais; STF: sólidos totais fixos; STV: sólidos totais voláteis; DQO: demanda química de oxigênio; NTK: nitrogênio total Kjeldahl; NAT: nitrogênio amoniacal total; COT: carbono orgânico total; C/N: relação carbono/nitrogênio.

(\*): g/g; (\*\*): informações da FISPQ; (\*\*\*) valores pré-diluição.

**Fonte:** o Autor (2024)

### 5.1.1. Caracterização do inóculo

O inóculo possui características adequadas para DA, pois o pH está entre 7,0 e 8,5, tem alcalinidade superior a 3,0g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ , AV menor que 1,0g de  $\text{CH}_3\text{COOH} \cdot \text{L}^{-1}$  e NAT menor que 2,5g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  (HOLLIGER *et al.*, 2016). O único parâmetro não atingido é o STV > 50%, uma vez que este efluente já foi digerido e grande parte dos STV já foi convertido em biogás. É esperado que por volta de 55 a 60% dos sólidos totais voláteis deste tipo de efluente seja convertido em reatores CSTR (TÁPPARO *et al.*, 2021).

Registrou-se pH próximo a neutralidade para o dejetos de suinocultura digerido, de 7,5. A alcalinidade necessária do processo será suprida pelo inóculo, uma vez que o substrato e biomoléculas não apresentam valores significativos. Neste estudo, a AT registrada é de 5,71g.  $\text{L}^{-1}$ . Ao usar o mesmo inóculo, autores reportam pH semelhantes, como 7,5 (KOUGIAS *et al.*, 2013), 7,6 (LIU & LIAO, 2019) e 7,3 (NAVARRO *et al.*, 2022). Os valores de alcalinidade também são conformes ao encontrado, como 5,8  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (DE QUADROS *et al.*, 2022a) e 4,0  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (NAVARRO *et al.*, 2022). Estes resultados de pH e alcalinidade ratificam o uso de dejetos de suinocultura como um bom inóculo, fornecendo a microbiota metanogênica e capacidade de tamponamento ao sistema (METCALF & EDDY, 2013).

O teor de sólidos do digestato bruto foi de 58,45  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  dos quais 34,33  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  são voláteis. A proporção STV/ST de 59% representaria uma dificuldade operacional caso o dejetos suíno ainda fosse substrato (TÁPPARO *et al.*, 2021). Entretanto, como inóculo, este maior teor de sólidos fixos pode colaborar com a alcalinidade do processo (MENG *et al.*, 2018). Resultados semelhantes para o efluente bruto são encontrados na bibliografia, como STV/TS = 63% (LENDORMI *et al.*, 2022). Contudo, para os experimentos, o inóculo foi diluído para que a concentração de sólidos totais voláteis fosse de 20  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , mantendo a proporção de 2:1 entre inóculo e substrato.

O valor de Nitrogênio Total Kjeldahl é de 2,97g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ , dos quais 1,94g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  são NAT. Estes resultados não apresentam potencial inibidor para biodigestão, que se inicia por volta de NAT > 2,5g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ , e colaboram para o tamponamento do meio (MENG *et al.*, 2018). É esperado que o lodo de suinocultura tenha um significativo teor de nitrogênio, como o NAT de 1,23g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  quando o STV é de 10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (CÂNDIDO *et al.*, 2022).

A concentração do digestato tem influência no nitrogênio do meio. Quando o efluente é dissolvido com teor de sólidos totais voláteis de  $7\text{g.L}^{-1}$  o NTK foi de  $1,61\text{g}$  de  $\text{N-NH}_3\text{.L}^{-1}$  e NAT de  $0,61\text{g.L}^{-1}$ , conforme reportado por Wang *et al.* (2019). Por outro lado, ao usar digestato com teor de sólidos totais voláteis de  $53\text{g.L}^{-1}$ , o valor de NAT reportado por Lendormi *et al.* (2022) foi maior que  $7\text{g}$  de  $\text{N-NH}_3\text{.L}^{-1}$ .

Sobre a composição de biomoléculas, a menor composição registrada é a de lipídeos (1,89%), seguida de proteínas (17,48%). Estes teores estão de acordo com o esperado, uma vez que o dejetos suíno tem uma composição representativa de proteínas devido a alimentação dos animais e a DA não remove de forma satisfatória nutrientes como nitrogênio e fósforo (CÂNDIDO *et al.*, 2022).

Por outro lado, o teor de carboidratos maior que 80% que é semelhante ao do RFV, sugere que o inóculo tem características de biodegradabilidade similares ao do substrato. Este valor, entretanto, é superestimado pelo método que agrupa açúcares facilmente disponíveis, fibras solúveis, hemicelulose e lignocelulose na mesma categoria (DE GODOI *et al.*, 2021). O alto teor de fibras e lignocelulose no dejetos suíno vem da alimentação dos animais (TRABUE *et al.*, 2022). Uma comparação entre os valores de parâmetros para o dejetos suíno digerido encontrados neste estudo e na bibliografia é apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6:** resultados de diferentes parâmetros de dejetos suíno digerido reportados na literatura.

pH	AT g.L <sup>-1</sup> (*)	ST g.L <sup>-1</sup>	STV g.L <sup>-1</sup>	STV/ST %	NTK g.L <sup>-1</sup> (**)	NAT g.L <sup>-1</sup> (**)	Autor
7,5	-	13,36	7,57	56,6	-	-	(KOUGIAS <i>et al.</i> , 2013)
7,49	-	15,06	7,07	46,9	1,6	0,61	(WANG <i>et al.</i> , 2019)
7,46	-	28,0	18	64,3	3,6	-	(TÁPPARO <i>et al.</i> , 2021)
-	-	5,63	3,21	56,8	1,8	1,23	(CÂNDIDO <i>et al.</i> , 2022)
7,27	4,0	22,21	14,77	66,2	-	-	(NAVARRO <i>et al.</i> , 2022)
7,50	-	83,0	53,0	63,4	-	7,96	(LENDORMI <i>et al.</i> , 2022)
7,5	5,8	24,9	13,2	53	1,2	-	(DE QUADROS <i>et al.</i> , 2022a)
7,5	5,71	-	20 (***)	-	2,97	1,10	Este estudo, 2024.

AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; STV: sólidos totais voláteis; NTK: nitrogênio total Kjeldahl; NAT: nitrogênio amoniacal total.

(\*): g.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>; (\*\*): g.L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>3</sub>; (\*\*\*) inóculo diluído.

Fonte: o Autor (2024)

### 5.1.2. Caracterização do substrato

Ao novamente aplicar os critérios propostos por Holliger *et al.* (2016), percebe-se gargalos na aptidão do RFV para uma DA estável. O pH é menor do que a faixa proposta e a alcalinidade total é inexpressiva. Por outro lado, o alto teor de sólidos totais voláteis (>90%) e de carboidratos (>80%) são características que justificam seu uso como substrato.

Assim como reportado na literatura, o RFV deste estudo tem um pH ácido. Esta acidez está associada ao teor de açúcares que rapidamente é degradado em ácidos orgânicos. Por este mesmo motivo, a alcalinidade no substrato é reduzida. Neste experimento, o pH inicial observado foi de 4,45. A literatura reporta valores próximos, como 4,2 (CALLAGHAN *et al.*, 2002), 4,2 (EDWIGES *et al.*, 2018), 4,96 (MORALES-POLO *et al.*, 2019) e 4,30 (DE QUADROS *et al.*, 2022b).

Por outro lado, devido a conservação da amostra (armazenadas a  $-10^{\circ}\text{C}$ ) e menor concentração de microbiota acidogênica, não existe acúmulo de acidez volátil, que foi de  $0,4\text{g CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ . Pavi *et al.* (2017) reportam  $0,216\text{g CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ , com amostras refrigeradas a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Os sólidos totais voláteis são maioria na composição de sólidos do RFV. A relação de STV/ST é de 93%, ratificando sua alta biodegradabilidade. Este teor de sólidos totais voláteis também indica uma grande parcela de matéria orgânica que pode ser convertida em biogás (NAVARRO *et al.*, 2022). Ao trabalhar com RFV, outros autores reportam uma alta relação STV/ST, como 86% (MORALES-POLO *et al.*, 2019), de 77% (SANTOS FILHO *et al.*, 2020), de 90% (ISHA *et al.*, 2021) e 93% (DE QUADROS *et al.*, 2022a).

Os valores de nitrogênio não foram expressivos para o substrato deste estudo. O NTK registrado é de  $0,87\text{g de N-NH}_3\text{.L}^{-1}$  dos quais  $0,41\text{ g de N-NH}_3\text{.L}^{-1}$  são NAT. Estes resultados indicam que os resíduos utilizados tinham poucas proteínas, que compunham 15,42% do RFV. O baixo valor de NAT é coerente com a alcalinidade do meio. Edwiges *et al.* (2018) compilaram as características de RFV mensalmente por doze meses, e obtiveram a composição média 16% de proteínas. A média de pH foi de 4,2, reafirmando que este teor de proteínas não pôde oferecer alcalinidade suficiente ao meio pela formação de bicarbonato de amônio.

Sobre as outras biomoléculas do RFV, são aproximadamente 81% de carboidratos e 4,22% de lipídeos. Os valores de carboidratos são os mais relevantes

quando se analisa RFV e costumam representar de 70 a 90% na composição (MAGAMA *et al.*, 2022). Mesmo com sazonalidades e uso de espécies distintas de frutas e vegetais, o teor de carboidratos no substrato se mantém próximo nos estudos de diferentes pesquisadores. 73% (EDWIGES *et al.*, 2018), 84,4% (DE QUADROS *et al.*, 2022a) e 81,3% (SICCHIERI *et al.*, 2022) foram reportados na literatura.

A relação C/N identificada foi de 52,41, acima da faixa de 16 a 25 indicada por Dieublein & Steinhauser (2011). Essa composição aponta excesso de carbono disponível e pouco nitrogênio para formação da biota e de bicarbonato de amônio para tamponar do meio. Por este motivo, a adoção de um co-substrato que forneça nitrogênio e balanceie este parâmetro é indicada (DE QUADROS *et al.*, 2022a). Outros fatores C/N reportados na literatura são 39 (PAVI *et al.*, 2017), de 26,3 (LIU & LIAO, 2019) e de 30 (JIANG *et al.*, 2023), evidenciando os impactos da heterogeneidade do RFV sobre este parâmetro. Os valores de caracterização de RFV encontrados na bibliografia são expressos na Tabela 7.

**Tabela 7:** diferentes propriedades de RFV reportadas na literatura.

pH	STV (*)	NTK (**)	NAT (**)	C/N	Autor
4,66	88	0,904	0,007	39	(PAVI <i>et al.</i> , 2017)
4,2	92	-	-	-	(EDWIGES <i>et al.</i> , 2018)
5,90	90,68			26,3	(LIU & LIAO, 2019)
4,96	90,16	2,46	0,03	20,43	(MORALES-POLO <i>et al.</i> , 2019)
5, 5~7, 5~8	90,67	-	-	21,5	(ISHA <i>et al.</i> , 2021)
4,3	93	0,8	-	28,01	(DE QUADROS <i>et al.</i> , 2022a)
3,85	91,45	0,9	0,3	20	(SICCHIERI <i>et al.</i> , 2022)
6,4	73,51		0,04	30	(JIANG <i>et al.</i> , 2023)
4,45	92,76	0,869	0,410	52,41	Este estudo, 2023.

STV: sólidos totais voláteis; NTK: nitrogênio total Kjeldahl; NAT: nitrogênio amoniacal total; C/N: relação carbono/nitrogênio.

\*: em % dos ST; \*\*: em g.L<sup>-1</sup> de N-NH<sub>3</sub>.

**Fonte:** o Autor (2024)

### 5.1.3. Caracterização das biomoléculas

A maioria das informações das biomoléculas foram extraídas de suas respectivas FISPQ. De modo geral, frutose, caseína e ácido palmítico possuem um pH ácido (5,00, 4,30 e 5,50, respectivamente). Por este motivo, no início dos experimentos, somente o inóculo contribui de forma expressiva para neutralidade de pH e alcalinidade do meio.

Realizou-se em laboratório o ensaio de teor de sólidos. Foi constatado que a frutose e a caseína possuem umidade de 35,8 e 28,4%, valor maior que o registrado no FISPQ de 2 e 10% respectivamente. Observou-se também que as biomoléculas são compostas quase integralmente de sólidos totais voláteis, com STV/ST mínima de 95%. As massas a serem adicionadas nos frascos foram corrigidas em função desse desvio de umidade e dos sólidos totais voláteis.

No ensaio de DQO, obteve-se valores de consumo de 1g de  $O_2.g^{-1}$  de frutose, 1,37g de  $O_2.g^{-1}$  de caseína e 2,35g de  $O_2.g^{-1}$  de ácido palmítico. Estes valores foram utilizados para calcular a DQO inicial na etapa 1, e são coerentes com os valores reportados por de Aquino *et al.* (2006) ao analisar glicose, caseína e óleo de soja.

### 5.1.4. Monitoramento de desempenho: condições de controle (TC1-TC5)

Inicia-se a apresentação de dados da incubação das triplicatas controle, a TC1 (inóculo), TC2 (inóculo + RFV), TC3 (inóculo + frutose), TC4 (inóculo + caseína) e TC5 (inóculo + ácido palmítico). Ressalta-se que o período do experimento foi de 64 dias.

#### 5.1.4.1. Parâmetros operacionais de estabilidade

Os dados de estabilidade das condições TC1 a TC5, nas quais houve adição de RFV (TC2), frutose (TC3), caseína (TC4) e de ácido palmítico (TC5) ao inóculo (TC1), todos em concentração de  $20,0g.L^{-1}$  em função dos STVs são apresentados na Tabela 8. O pH inicial ( $pH_i$ ) foi aferido, entretanto para maior segurança do experimento todas as amostras tiveram pH ajustado para 8,0 com solução tampão de carbonato de sódio ( $120g.L^{-1}$ ) com volume adaptado de acordo com a triplicata.

**Tabela 8:** parâmetros operacionais de estabilidade nas condições controle e monodigestões.

Condição	pH <sub>i</sub> (*)	pH <sub>f</sub>	AT <sub>i</sub> (**)	AT <sub>f</sub>	AV <sub>i</sub> (***)	AV <sub>f</sub>	NAT <sub>i</sub> (****)	NAT <sub>f</sub>
TC1 – IN	7,50	7,31	5,74	5,80	0,12	0,20	0,17	0,55
TC2 – IN+RFV	5,91	7,01	1,21	3,44	1,09	0,46	0,14	0,38
TC3 – FRU 20,0g. L <sup>-1</sup>	7,80	6,70	1,54	2,48	0,29	0,41	0,14	0,38
TC4 – CAS 20,0g. L <sup>-1</sup>	6,71	6,79	1,52	2,74	0,57	0,46	0,14	0,83
TC5 – A.P. 20,0g. L <sup>-1</sup>	7,74	7,33	1,38	3,27	0,19	0,21	0,14	0,35

TC: triplicata controle; IN: inóculo; RFV: resíduo de frutas e vegetais; FRU: frutose; CAS: caseína; A.P.: ácido palmítico; AT<sub>i</sub>: alcalinidade total inicial; AT<sub>f</sub>: alcalinidade total final; AV<sub>i</sub>: acidez volátil inicial; AV<sub>f</sub>: acidez volátil final; NAT<sub>i</sub>: nitrogênio amoniacal total inicial; NAT<sub>f</sub>: nitrogênio amoniacal total final.

(\*) o pH inicial de todas as condições foi corrigido para 8,0; (\*\*) em g. de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*) em g. de CH<sub>3</sub>COOH.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*\*) em g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>

**Fonte:** o Autor (2024)

O inóculo, TC1, teve comportamento coerente com o indicado na literatura (CÂNDIDO *et al.*, 2022). Não houve mudanças significativas entre o início e o fim da incubação, uma vez que o dejetos de suinocultura já estava digerido.

O pH inicial da monodigestão de RFV (TC2) é ácido, o que justifica o uso da solução tamponadora para uma incubação estável. A AT final e o NAT final estão nas faixas de estabilidade indicadas na literatura (METCALF & EDDY, 2013; HOLLIGER *et al.*, 2016). Estes resultados demonstram que a DA do RFV é estável, desde que haja uma fonte de alcalinidade (SAGAR *et al.*, 2018). Todavia, além dos custos adicionais, o emprego de tamponadores químicos pode oferecer risco de inibição à DA. O carbonato de sódio, por exemplo, quando usado em excesso pode causar acúmulo de sais no reator (CHAKRABORTY *et al.*, 2022). Idealmente, um co-substrato deve fornecer alcalinidade à digestão (DE QUADROS *et al.*, 2022a).

Ao digerir frutose com o inóculo (TC3), dentro dos parâmetros de estabilidade analisados (pH, AT, AV e NAT) o único abaixo do indicado pela literatura foi o pH. Esse resultado pode ter ocorrido pelo acúmulo de ácidos orgânicos decorrente da rápida hidrólise do suplemento, que é comum em substratos ricos em açúcares de alta biodisponibilidade (LIU *et al.*, 2020). Com o passar do tempo, possivelmente grupos menos sensíveis à abundância de ácidos se adaptou, ao mesmo tempo que bicarbonatos foram consumidos para tamponar a solução. Arqueas do gênero *Methanosarcina*, por exemplo, são menos sensíveis ao acúmulo de acetato (ROS *et*

*al.*, 2017). Meng *et al.* (2018) reportam abundância deste gênero de arqueas mesmo após estresse no reator.

Na monodigestão de caseína, condição TC4, a maior parte dos parâmetros finais estavam dentro da faixa estipulado pela literatura como estável. O pH final foi o único que estava abaixo do orientado, com valor de 6,79. Contudo, ao observar o NAT, percebe-se valor levemente destacado das outras condições. Com isso, pode-se inferir que a carga de amônia vinda do inóculo e a amônia formada pela digestão da caseína somaram uma concentração que pode ter sido prejudicial à biomassa, provocando mortandade e propiciando acúmulo de AGV (PEDIZZI *et al.*, 2017). O valor de NAT final, entretanto, não está acima do limite inibitório indicado pela literatura, de 2,5g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> (HOLLIGER *et al.*, 2016) representando assim uma leve adversidade ao processo.

Por fim, a condição TC5 na qual houve adição de 20g.L<sup>-1</sup> de ácido palmítico teve todas as características de estabilidade analisadas dentro do intervalo proposto como equilibrado pela literatura. O alto valor de alcalinidade e de pH distam do observado na monodigestão suplementada de RFV. Isso indica que a carga gordura pode não ter causado efeitos adversos à DA, provavelmente pela dificuldade de assimilação pela microbiota. Wu *et al.* (2017) reportam que durante 20 dias de experimento em DA desta biomolécula, não houve produção de biogás tampouco sinais de inibição à metanogênese, resultado da difícil degradação deste composto em fase mesofílica. Inserir co-substratos balanceando a relação C/N, por exemplo, pode auxiliar a digestão de resíduos gordurosos (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011).

#### 5.1.4.2. Parâmetros operacionais de conversão

Os dados de conversão de sólidos totais voláteis, de DQO e de biomoléculas das amostras da TC1 a TC5 são apresentados na Tabela 9.

A triplicata controle 1 na qual houve incubação do inóculo, teve conversões semelhantes de STVs (75,48%) e DQO (66,51%). Apesar de o inóculo já ter passado pela DA previamente, restando apenas sólidos totais voláteis de difícil assimilação pela microbiota (como a lignocelulose e fibras presentes no dejetos suíno devido a alimentação dos animais), as condições globais do ensaio como agitação constante e

temperatura adequada pode ter colaborado para as conversões observadas (HOLLIGER *et al.*, 2016; TÁPPARO *et al.*, 2021).

**Tabela 9:** parâmetros operacionais de conversão nas condições controle e monodigestões.

Condição	STV <sub>i</sub> (g.L <sup>-1</sup> )	STV <sub>f</sub> (g.L <sup>-1</sup> )	conversão (%)	DQO <sub>i</sub> (g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	DQO <sub>f</sub> (g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	conversão (%)	BIO <sub>i</sub> (g STV L <sup>-1</sup> )	BIO <sub>f</sub> (g STV L <sup>-1</sup> )	conversão (%)
TC1 – IN	20	5,42	75,48	62,47	20,92	66,51	-	-	-
TC – IN+RFV	20	4,5	77,50	54,63	19,02	65,18	-	-	-
TC3 – FRU	20	4,70	76,50	86,0	19,70	77,10	21,3	0,31	98,59
TC4 – CAS	20	6,05	69,75	125,1	38,59	69,16	22,1	9,95	55,04
TC5 – A.P.	20	6,83	65,87	203,4	127,9	62,55	20,32	7,70	82,10

TC: triplicata controle; IN: inóculo; RFV: resíduo de frutas e vegetais; FRU: frutose; CAS: caseína; A.P.: ácido palmítico; STV<sub>i</sub>: sólidos totais fixos iniciais; STV<sub>f</sub>: sólidos totais fixos finais; DQO<sub>i</sub>: demanda química de oxigênio inicial; DQO<sub>f</sub>: demanda química de oxigênio final; BIO<sub>i</sub>: concentração de biomolécula inicial; BIO<sub>f</sub>: concentração de biomolécula final.

**Fonte:** o Autor (2024)

A monodigestão de RFV (TC2) apresentou porcentagens de conversão de STVs de 77,50% e de 65,18% de DQO. Ao revisar os dados apresentados na Tabela 8 que demonstram a estabilidade nestas triplicatas, pode-se ratificar o potencial do RFV como substrato em DA, uma vez que a DQO e os STVs são convertidos, dentre outros, em biogás (CHERNICHARO, 2007). Vale ressaltar que nesta incubação, houve adição de agente tamponador, fornecendo alcalinidade para o meio.

A monodigestão de frutose (TC3), assim como as condições anteriores, teve conversões conexas entre STVs (76,50%) e DQO (77,10%), que sugerem uma boa produção de biogás. Ao focar na conversão de carboidratos, existe uma porcentagem próxima de 100%. Este resultado se dá pela facilidade de degradação de açúcares, com hidrólise que ocorre em questão de horas (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Mesmo que o processo tenha sinais de instabilidade, como o pH final menor do que 7 de acordo com a Tabela 8, não há acúmulo de açúcares, já que estes são facilmente convertidos em subprodutos (SÁNCHEZ-CONTRERAS *et al.*, 2021).

Ao analisar os dados da triplicata controle TC4, percebe-se uma conversão de STVs (69,75%) e DQO (69,16%) alinhada com as triplicatas anteriores, indicando uma boa produção de biogás. Evidenciando a conversão de proteínas, contudo, percebe-se o menor valor de extração entre as condições, de aproximadamente 55%. Esta conversão ineficiente de proteínas vem da inaptidão de atenuação de nitrogênio pela

digestão anaeróbia. Não significa obrigatoriamente que há prejuízo na produção de biogás e instabilidade na digestão (CÂNDIDO *et al.*, 2022).

Na condição TC5 onde houve monodigestão de ácido palmítico, os piores índices de conversão de STVs (65,87%) e DQO (62,55%) foram observados. Estes valores podem ser resultado da dificuldade de assimilação pela biomassa dos compostos gordurosos (ABOMOHRA *et al.*, 2022). Pode-se inferir que a concentração de lipídios foi maior que a suportada pelo sistema e que o tempo de incubação deveria ser maior para aumentar a conversão. A dificuldade de degradação pode explicar também a estabilidade da digestão, com comportamento parcialmente inerte do substrato (WU *et al.*, 2017; TAN *et al.*, 2021).

#### 5.1.4.3. Produção de biogás

As produções de biogás das condições controle são apresentadas na Tabela 10 e na **Figura 13**: produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições controle durante o experimento. Figura 13. Não houve representatividade de outros gases em porcentagem na composição do biogás das triplicatas além do CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub>.

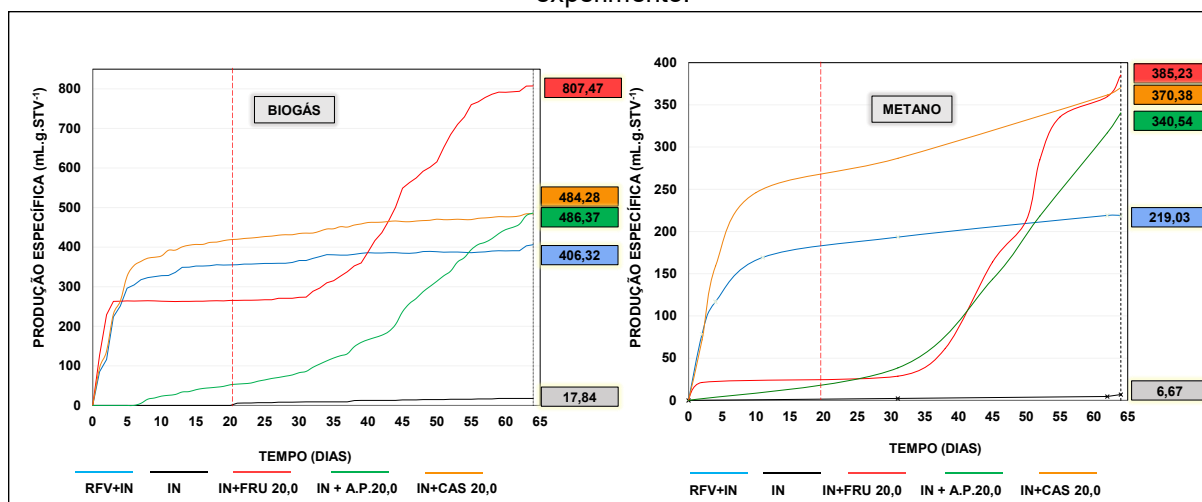
**Tabela 10:** produções específicas de biogás e de metano nas condições controle.

Condição	BIOGÁS (NmL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (mL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
TC1– IN	17,84 (± 3,00)	3,31	6,67 (±1,30)	19,49	37,39	62,61
TC2 – IN+RFV	406,32 (± 17,14)	11,78	219,03 (± 8,78)	3,26	51,47	48,53
TC3 – FRU 20,0g. L <sup>-1</sup>	807,47 (± 5,19)	7,29	385,23 (± 0,36)	0,09	47,71	52,29
TC4 – CAS 20,0g. L <sup>-1</sup>	484,24 (± 85,53)	17,66	370,38 (± 51,77)	13,98	76,48	23,52
TC5– A.P. 20,0g. L <sup>-1</sup>	486,37 (± 37,84)	7,78	340,54 (± 30,95)	9,09	70,02	29,98

TC: triplicata controle; IN: inóculo; RFV: resíduo de frutas e vegetais; FRU: frutose; CAS: caseína; A.P.: ácido palmítico; Cv: coeficiente de variação; CH<sub>4</sub>: gás metano; CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono.

**Fonte:** o Autor (2024)

**Figura 13:** produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições controle durante o experimento.



Fonte: o Autor (2024)

A produção específica média do inóculo (TC1) foi de 17,84 NmL g.STV<sup>-1</sup>. Holliger *et al.* (2016) apontam que é esperado resultado próximo de 50 NmL g.STV<sup>-1</sup>. A discrepância dos valores pode ter se dado pelo seu armazenamento e uso não imediato. Para validar sua aptidão, ainda segundo os autores, é recomendável a execução de um controle positivo, com substrato com produção específica conhecida como a celulose microcristalina (VDI, 2006; HOLLIGER *et al.*, 2016). Neste estudo, a TC3 pode ser usado como indicador, uma vez que a frutose também é um substrato de fácil digestão e produção específica de biogás teórica conhecida, de 750 NmL g.STV<sup>-1</sup> (MORALES-POLO *et al.*, 2019). Como a TC3 teve produção superior, confirma a eficiência do inóculo.

A monodigestão de RFV (TC2) teve produção de biogás média de 406,32 NmL g.STV<sup>-1</sup>, dos quais 51,47% eram CH<sub>4</sub>. Este resultado é próximo ao reportado por Scano *et al.* (2014), de 430 NmL g.STV<sup>-1</sup>. Outros valores da literatura são de 377 NmL g.STV<sup>-1</sup> (EDWIGES *et al.*, 2018), possivelmente inferior ao deste estudo devido a variação da composição dos RFV durante o período de um ano. Tem-se também o resultado de 525 NmL g.STV<sup>-1</sup> (SICCHIERI *et al.*, 2022), provavelmente superior ao deste estudo devido a investigação dos autores sobre a variação na composição do inóculo para otimizar a produção de biogás.

Como há facilidade de assimilação dos sólidos totais voláteis do RFV, o período de incubação não costuma ultrapassar um mês, sendo este o prazo adequado para o estudo com este substrato. Pode variar entre 10 dias (LIU *et al.*, 2023b) a 20 dias (MORALES-POLO *et al.*, 2019), onde se espera que toda produção de biogás tenha

ocorrido. Na condição TC2 nota-se que ao fim dos 20 dias, não houve mudança expressiva na curva de produção de biogás e de metano. Curvas com pico de produção nos primeiros dias e tendência de platô após o pico são características de processos estáveis (KOCH *et al.*, 2019).

A monodigestão de frutose (TC3) teve a maior produção de biogás entre todas as condições experimentais, de 807,47 NmL g.STV<sup>-1</sup>, dos quais 47,71% eram CH<sub>4</sub>. Ao analisar a relação entre as porcentagens de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> e têm-se 0,91, que é um indício de instabilidade severa na batelada (LI *et al.*, 2017). A produção de biogás, entretanto, é próxima do valor teórico reportado na literatura, de 750 NmL g.STV<sup>-1</sup> (MORALES-POLO *et al.*, 2019). Há de se apontar que a produção coerente ao valor teórico só foi possível devido ao prolongamento do experimento.

No primeiro mês, houve estagnação na geração de biogás por volta do quinto dia. A produção de metano neste mesmo período foi de aproximadamente 25 NmL g.STV<sup>-1</sup>, havendo retomada de ascensão por volta dos 40 dias de experimento. Provavelmente houve acúmulo de ácidos orgânicos, que diminuiu o pH do meio e tornou o ambiente hostil para microbiota metanogênica. A retomada de produção no segundo mês, entretanto, sugere uma resiliência da biomassa (LIU *et al.*, 2023b), ao custo de um longo tempo de incubação. Observa-se que a interação da frutose com o inóculo na dosagem adotada não foi positiva, e a adição de tamponador (carbonato de sódio) para correção de pH (pH = 8,0) não foi suficiente para manter o processo estável em tempo de digestão coerente ao do RFV, de aproximadamente um mês (MORALES-POLO *et al.*, 2019).

As amostras de monodigestão de caseína (TC4) tiveram média de 484,24 NmL g.STV<sup>-1</sup> de biogás, com 76,48% de CH<sub>4</sub>. Teoricamente, a produção de biogás ao digerir proteínas é próxima de 800 NmL g.STV<sup>-1</sup> (MORALES-POLO *et al.*, 2019). A problemática deste suplemento provavelmente está vinculada a dosagem de 20g.L<sup>-1</sup> STV adotada no experimento, uma vez que ao também digerir proteínas puras, Kim & Kim (2020) reportam produções médias de 1000 NmL g.STV<sup>-1</sup> numa concentração de 5g.L<sup>-1</sup> de STVs.

A produção de metano de 370,38 NmL g.STV<sup>-1</sup> que foi a terceira maior de todas as condições experimentais, pode ser resultado da familiaridade da microbiota do inóculo com compostos nitrogenados (KOUGIAS *et al.*, 2013). Apesar do crescimento nos primeiros dias, observou-se um segundo pico de geração após o término do primeiro mês. Esse progresso pode ser resultado da atenuação da carga de amônia

formada pela degradação de proteínas no período inicial da batelada (SHI *et al.*, 2022), que prejudicou a metanogênese porém não a inibiu, já que não houve queda na curva de produção. A inclinação acentuada na curva após o primeiro mês pode também representar superdosagem (KOCH *et al.*, 2019)

Como ainda existem gargalos para aproveitamento do CO<sub>2</sub> da DA, a geração de menor volume de biogás com alto teor de metano torna-se positivo para o armazenamento e purificação (ADNAN *et al.*, 2019). Dessa forma pontua-se que apesar da baixa conversão e indícios de instabilidade (pH < 7), a caseína foi a biomolécula de melhor interação com o inóculo, havendo sinais de instabilidade que vieram do provável excesso de carga, com redução de danos pela familiaridade do inóculo com picos de amônia. Além disso, há possibilidade de adequação taxa C/N, uma vez que o inóculo ainda possui carbono residual proveniente dos ácidos orgânicos não digeridos (CHENG; BREWER, 2021) e a caseína é uma fonte de nitrogênio.

Ao analisar a monodigestão de ácido palmítico (TC5), o valor médio registrado é de 486,37 NmL g.STV<sup>-1</sup> dos quais 70,04% eram CH<sub>4</sub>. Para este tipo de biomolécula, a produção teórica é de aproximadamente 1400 NmL g.STV<sup>-1</sup> (MORALES-POLO *et al.*, 2019). O rendimento de 1/3 do valor apresentado pela literatura neste experimento se dá pela característica recalcitrante dos lipídios, havendo formação bastante vagarosa de ácidos orgânicos de cadeia curta, que não consumiram alcalinidade tampouco baixaram o pH do meio (ABOMOHRA *et al.*, 2022).

Observando as curvas de produção, nota-se que a geração expressiva de biogás e metano ocorre apenas no segundo mês. Nos primeiros trinta dias, a maior parte da produção é atribuída ao inóculo (WU *et al.*, 2017), indicando provavelmente uma fase de adaptação da microbiota (XIAO *et al.*, 2019). Isso reforça a necessidade de outras estratégias, como a codigestão, o uso de aditivos ou pré-tratamentos para degradar resíduos gordurosos (TAN *et al.*, 2021). Apesar do longo tempo de detenção hidráulica necessário para digerir lipídios, a produção de biogás é a mais promissora em termos teóricos (MORALES-POLO *et al.*, 2019), devido ao alto teor de metano no biogás.

A familiaridade da biomassa do inóculo com resíduos gordurosos também é um ponto importante para velocidade da degradação (ZIELS; BECK; STENSEL, 2017). Observa-se que o dejetos de suinocultura não teve aptidão para uma rápida

degradação de gordura e uma boa produção de biogás nas condições investigadas nesta pesquisa.

### 5.1.5. Monitoramento de desempenho: coDA com frutose (T1 – T5)

As triplicatas suplementadas de carboidratos, com dosagem crescente de 0,5g.L<sup>-1</sup> a 10g.L<sup>-1</sup> são a T1 (IN+RFV+FRU 0,5g.L<sup>-1</sup>), T2 (IN+RFV+FRU 1,0g.L<sup>-1</sup>), T3 (IN+RFV+FRU 2,5g.L<sup>-1</sup>), T4 (IN+RFV+FRU 5,0g.L<sup>-1</sup>) e T5 (IN+RFV+FRU 10,0g.L<sup>-1</sup>). O inóculo e RFV têm concentração de 20g.L<sup>-1</sup> e proporção I:S de 2:1. Todas as concentrações são expressas em função dos sólidos totais voláteis.

#### 5.1.5.1. Parâmetros operacionais de estabilidade

Os parâmetros de estabilidade das condições T1 a T5, nas quais houve adição de 0,5g. L<sup>-1</sup> a 10g. L<sup>-1</sup> de frutose são apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11:** parâmetros de estabilidade nas condições com adição de frutose

Condição	pH <sub>i</sub> (*)	pH <sub>f</sub>	AT <sub>i</sub> (**)	AT <sub>f</sub>	AV <sub>i</sub> (***)	AV <sub>f</sub>	NAT <sub>i</sub> (****)	NAT <sub>f</sub>
T1 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	7,23	7,16	1,73	3,11	0,82	0,36	0,13	0,42
T2 – 1,0g. L <sup>-1</sup>	7,50	7,02	1,81	3,45	0,93	0,46	0,13	0,42
T3 – 2,5g. L <sup>-1</sup>	7,39	7,05	1,64	3,61	0,98	0,46	0,13	0,39
T4 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	7,52	7,02	1,59	3,64	0,91	0,30	0,13	0,46
T5 – 10,0g. L <sup>-1</sup>	7,32	7,51	1,61	3,80	0,99	0,27	0,13	0,37

T: triplicata; AT<sub>i</sub>: alcalinidade total inicial; AT<sub>f</sub>: alcalinidade total final; AV<sub>i</sub>: acidez volátil inicial; AV<sub>f</sub>: acidez volátil final; NAT<sub>i</sub>: nitrogênio amoniacal total inicial; NAT<sub>f</sub>: nitrogênio amoniacal total final.

(\*) o pH inicial de todas as condições foi corrigido para 8,0; (\*\*) em g. de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*) em g. de CH<sub>3</sub>COOH.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*\*) em g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>

Fonte: o Autor (2023)

O pH das triplicatas permaneceu próximo à neutralidade ao final da digestão, apesar de todos terem diminuído. A T5 foi uma exceção, se destacando também em relação às outras amostras na alcalinidade total final. Isso pode ser resultado de uma produção acentuada de ácidos orgânicos nessa condição, devido à adição de maior massa de frutose, que é rapidamente hidrolisada (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Os ácidos orgânicos gerados consumiram alcalinidade do meio em busca do balanceamento da reação, e o consumo de bicarbonato disponível resultou no pH, AT e AV observados fim do processo.

O valor inicial de NAT presente no sistema vem do inóculo e do substrato, pois a frutose não apresentou valores expressivos deste parâmetro. Por este motivo, todas as condições tiveram valor inicial de NAT igual. Sobre o  $NAT_f$ , devido à mesma razão, não houve uma variação significativa, já que a única diferença entre as condições era a concentração de carboidratos. Em todas as amostras o NAT final foi menor que 2,5g de  $N-NH_3.L^{-1}$ , não apresentando assim indícios de inibição por amônia nestas amostras (HOLLIGER *et al.*, 2016).

Desta forma, ao analisar a estabilidade das condições suplementadas com frutose, a T5 têm suspeitas de desequilíbrio. Apesar disso, de acordo com os resultados da T1 a T4, deduz-se que a monodigestão de RFV pode ser suplementada com carboidratos, sem prejuízo da estabilidade operacional a depender da dose utilizada.

#### 5.1.5.2. Parâmetros operacionais de conversão

Os dados de conversão de sólidos totais voláteis, de DQO e de açúcares totais das amostras da T1 a T5 são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12:** parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de frutose.

Condição	STV <sub>i</sub> (g.L <sup>-1</sup> )	STV <sub>f</sub> (g.L <sup>-1</sup> )	conversão (%)	DQO <sub>i</sub> (g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	DQO <sub>f</sub> (g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	conversão (%)	BIO <sub>i</sub> (g STV L <sup>-1</sup> )	BIO <sub>f</sub> (g STV L <sup>-1</sup> )	conversão (%)
T1 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	20,5	4,45	78,29	50,13	18,88	62,34	2,5	0,37	85,29
T2 – 1,0g. L <sup>-1</sup>	21,0	4,73	77,50	53,47	20,57	61,53	3	0,32	89,33
T3 – 2,5g. L <sup>-1</sup>	22,5	4,18	81,44	63,47	18,41	71,00	4,5	0,27	94,0
T4 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	25,0	4,63	81,50	80,13	21,44	73,24	7	0,34	94,15
T5 – 10,0g. L <sup>-1</sup>	30,0	4,55	84,83	113,4	20,68	81,77	12	0,29	97,58

T: triplicata; STV<sub>i</sub>: sólidos totais fixos iniciais; STV<sub>f</sub>: sólidos totais fixos finais; DQO<sub>i</sub>: demanda química de oxigênio inicial; DQO<sub>f</sub>: demanda química de oxigênio final; BIO<sub>i</sub>: concentração de biomolécula inicial; BIO<sub>f</sub>: concentração de biomolécula final.

**Fonte:** o Autor (2024)

Percebe-se crescente conversão de STV, DQO e açúcares totais de acordo com o aumento da dosagem de carboidratos. Em resíduos ricos em açúcares, o aumento das conversões não representa necessariamente maior produção de gás metano. Outros produtos intermediários como enzimas, ácidos orgânicos, hidrogênio e o acetato podem ser objetivados ao digerir efluentes com disponibilidade carboidratos (SÁNCHEZ-CONTRERAS *et al.*, 2021). O acúmulo destes metabólitos, entretanto, pode ser tóxico para biomassa metanogênica (SAGAR *et al.*, 2018).

Ao analisar a T1, por exemplo, nota-se menor taxa de conversão de parâmetros entre as amostras. Esta é a condição com menor sólidos totais voláteis adicionados, portanto as conversões correspondem quase exclusivamente ao RFV (20g.L<sup>-1</sup> RFV + 0,5g.L<sup>-1</sup> FRU). Ressalta-se que os carboidratos do RFV não são inteiramente de fácil conversão (ESPARZA *et al.*, 2020). Edwiges *et al.* (2018) reportam que por volta de 40% dos carboidratos do RFV são estruturais, como a celulose, hemicelulose e lignocelulose. É sabido que a lignina, por exemplo, não tem degradação completa em processos biológicos (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011).

Por outro lado, a T5 teve o melhor índice de conversão de parâmetros entre as condições analisadas. Os açúcares totais tiveram conversão de 97,58%. Provavelmente a diferença entre conversão total (2,42%) vem dos carboidratos estruturais do RFV, que colaborou com 2/3 dos sólidos totais voláteis desta condição. Ao promover substrato tão disponível em açúcares, também existe favorecimento da microbiota especializada na degradação desta biomolécula, promovendo maior conversão dos carboidratos de difícil acesso (ROS *et al.*, 2017).

### 5.1.5.3. Produção de biogás

As produções de biogás das condições suplementadas com frutose são apresentadas na Tabela 13 e na Figura 14.

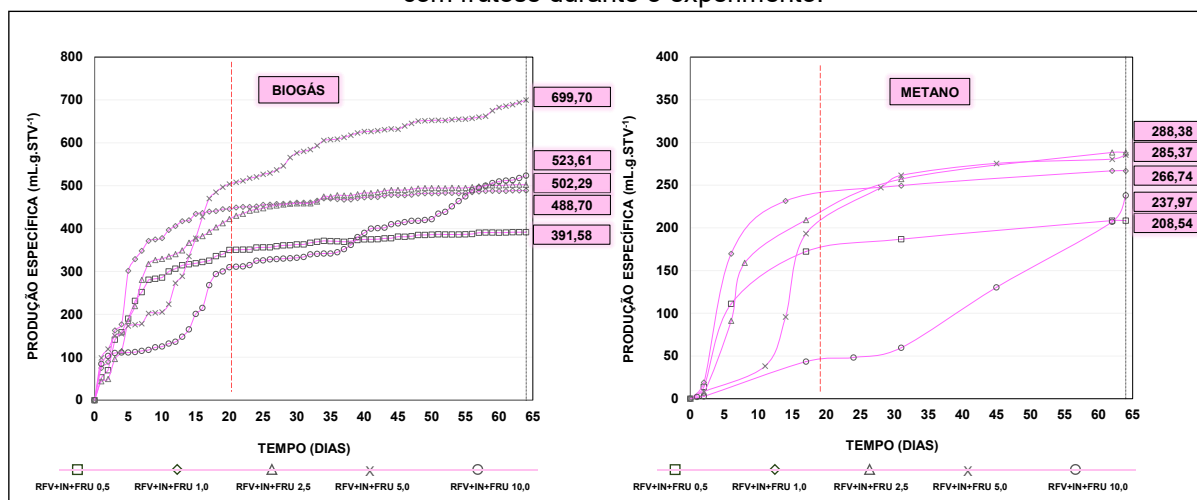
**Tabela 13:** produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com frutose.

Condição	BIOGÁS (NmLg.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	Teste de Tukey	CH <sub>4</sub> (mL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (%)	Teste de Tukey	CO <sub>2</sub> (%)
T1	391,58 (± 23,89)	6,10	b	208,54 (± 39,71)	19,04	53,26	b	46,74
T2	488,70 (± 9,89)	2,02	ab	266,74 (± 3,94)	1,48	54,58	ab	45,42
T3	502,29 (± 87,72)	17,46	ab	288,38 (± 29,74)	10,33	57,41	a	42,59
T4	699,70 (± 88,44)	12,64	a	285,37 (± 56,61)	19,84	40,78	a	59,22
T5	523,61 (± 0,99)	0,33	ab	237,97 (± 7,83)	3,29	45,44	ab	54,56

T: triplicata; Cv: coeficiente de variação; CH<sub>4</sub>: gás metano; CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 14:** produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com frutose durante o experimento.



Fonte: o Autor (2024)

A condição T5 que apresentou melhor estabilidade final ( $\text{pH} = 7,51$ ,  $\text{AT} = 3,80\text{g.L}^{-1}$ ) e maior conversão de parâmetros ( $\text{STVs} = 84,83\%$ ,  $\text{DQO} = 81,77\%$ ) não resultou na maior produção de biogás (T5 –  $523,61 \text{ NmL g.STV}^{-1}$ ). Em termos absolutos, a maior produção específica foi da T4, com  $699,70 \text{ NmL g.STV}^{-1}$ . Há de se observar que estatisticamente, ambas são semelhantes (T5 = ab e T4 = a). Explorando o teor de metano do biogás das melhores produções, a T5 registrou  $45,44\%$  e a T4 atingiu  $40,78\%$ . Novamente as produções são estatisticamente semelhantes (T5 = ab e T4 = a). As proporções entre  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$  são de T5 =  $0,83$  e T4 =  $0,69$ . Ambos valores, abaixo de  $0,9$ , sugerem uma instabilidade severa na DA (LI *et al.*, 2017).

O teor elevado de  $\text{CO}_2$  compondo o biogás é resultado do consumo de alcalinidade para tamponar o meio, devido à alta disponibilidade de açúcares e a rápida hidrólise (KHANAL, 2009). Por este motivo a T5 teve o maior  $\text{pH}$  e  $\text{AT}$  final dentre as amostras suplementadas de carboidratos. O aumento do teor de  $\text{CO}_2$  no biogás, entretanto, é um indício de instabilidade (LI *et al.*, 2017).

A curva de produção de biogás da condição T5 tem picos de produção e estagnação no decorrer do experimento, comportamento cinético resultado da tendência de neutralização do  $\text{pH}$  durante a batelada (KOCH *et al.*, 2019). Sobre a curva de metano, a produção torna-se expressiva apenas após o segundo mês de experimento. Isso indica uma adaptação da microbiota metanogênica (LIU *et al.*, 2023b), ao mesmo tempo que indica inviabilidade operacional.

Comportamento similar é observado na curva de produção específica da condição T4. Nesta triplicata, entretanto, os platôs de estagnação são mais curtos e os picos de produção são mais ristes. Isso indica que a alcalinidade disponível no meio foi suficiente para neutralizar os ácidos produzidos pela dosagem adotada no processo (RASAPOOR *et al.*, 2020). Diferente da T5, a T4 teve produção equilibrada entre os dois meses de experimento, com quase metade do metano acumulado produzido no primeiro mês. O expressivo teor de CO<sub>2</sub> e o tempo de experimento, entretanto, inviabilizam sua aplicação (ADNAN *et al.*, 2019).

Evidenciando a produção de metano, o maior valor absoluto registrado é da condição T3, com 288,38 NmL g.STV<sup>-1</sup>. Embora a produção específica seja estatisticamente semelhante às demais (T3 = a), ao relacionar CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>, tem-se 1,34 que é maior que o limite de instabilidade moderada de 1,2 (LI *et al.*, 2017). Na representação gráfica da produção, há um pico inicial nos primeiros dias e uma tendência de platô em ambos os gases. Este comportamento cinético indica uma digestão estável (KOCH *et al.*, 2019). Desta forma, a condição mais adequada para ser investigada em reatores pilotos é a T3, com adição de 2,5g.L<sup>-1</sup> (STV) de frutose ao RFV.

#### **5.1.6. Monitoramento de desempenho: coDA com caseína (T6 – T10)**

As triplicatas suplementadas de proteínas, com dosagem de 0,5g.L<sup>-1</sup> a 10g.L<sup>-1</sup> são a T6 (IN+RFV+CAS 0,5g.L<sup>-1</sup>), T7 (IN+RFV+CAS 1,0g.L<sup>-1</sup>), T8 (IN+RFV+CAS 2,5g.L<sup>-1</sup>), T9 (IN+RFV+CAS 5,0g.L<sup>-1</sup>) e T10 (IN+RFV+CAS 10,0g.L<sup>-1</sup>). O inóculo e RFV têm concentração de 20g.L<sup>-1</sup> e proporção I:S de 2:1. Todas as concentrações são expressas em função dos sólidos totais voláteis.

##### **5.1.6.1. Parâmetros operacionais de estabilidade**

Os parâmetros das condições T6 a T10, nas quais houve adição de 0,5g. L<sup>-1</sup> a 10g. L<sup>-1</sup> de caseína são apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14:** parâmetros de estabilidade nas condições com adição de caseína.

Condição	pH <sub>i</sub> (*)	pH <sub>f</sub>	AT <sub>i</sub> (**)	AT <sub>f</sub>	AV <sub>i</sub> (***)	AV <sub>f</sub>	NAT <sub>i</sub> (****)	NAT <sub>f</sub>
T6 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	7,39	7,17	1,45	3,55	0,84	0,48	0,13	0,40
T7 – 1,0g. L <sup>-1</sup>	7,36	7,12	1,79	3,67	0,92	0,50	0,13	0,50
T8 – 2,5g. L <sup>-1</sup>	7,37	7,14	1,45	4,01	0,99	0,35	0,13	0,56
T9 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	7,08	7,35	1,64	4,41	1,02	0,28	0,13	0,74
T10 – 10,0g. L <sup>-1</sup>	6,97	7,50	1,68	5,32	1,16	0,19	0,13	1,01

T: triplicata; AT<sub>i</sub>: alcalinidade total inicial; AT<sub>f</sub>: alcalinidade total final; AV<sub>i</sub>: acidez volátil inicial; AV<sub>f</sub>: acidez volátil final; NAT<sub>i</sub>: nitrogênio amoniacal total inicial; NAT<sub>f</sub>: nitrogênio amoniacal total final.

(\*) o pH inicial de todas as condições foi corrigido para 8,0; (\*\*) em g. de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*) em g. de CH<sub>3</sub>COOH. L<sup>-1</sup>; (\*\*\*\*) em g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>

**Fonte:** o Autor, (2024)

Nas condições suplementadas com proteínas, percebeu-se uma maior alcalinidade final, decorrente da formação de bicarbonato de amônio como agente tamponador. O valor de AT na T10 é ligeiramente superior do que a faixa indicada por Metcalf & Eddy (2013), de 1 a 5 g de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>. Entretanto, segundo Holliger *et al.* (2016), a AT ideal para um processo balanceado deve ser maior que 3g de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>, englobando assim a T10.

O processo de formação de bicarbonato de amônio passa pela geração de amônia livre (KHANAL, 2009), que pode representar toxicidade da microbiota metanogênica. Nos substratos ricos em nitrogênio, tecnologias para remover NAT podem ser necessárias (PEDIZZI *et al.*, 2017). Mesmo assim, em nenhuma condição o limite de inibição de 2,5g de N-NH<sub>3</sub> (HOLLIGER *et al.*, 2016) foi ultrapassado. O maior valor registrado foi de 1,01g de N-NH<sub>3</sub>, na condição T10.

Os valores de AV final decrescem com o aumento de proteínas, e este decréscimo também pode ser explicado pelo aumento de AT. Enquanto a condição com menor adição de caseína (T6) registrou 0,48g de CH<sub>3</sub>COOH.L<sup>-1</sup>, a T10, de maior suplementação registrou 0,19g de CH<sub>3</sub>COOH.L<sup>-1</sup>. Apurando a acidez volátil, não houve nenhuma condição acima do limite de inibição apontado por Holliger *et al.* (2016), de 1g de CH<sub>3</sub>COOH. L<sup>-1</sup>.

Desta forma, sobre a estabilidade das condições suplementadas com caseína, apenas a T10 foi investigada pelo valor de AT, ligeiramente superior ao indicado por Metcalf & Eddy (2013). Ao averiguar o NAT que está relacionado a geração desta AT, entretanto, não houve excedência do limite proposto pela literatura. Pode-se deduzir que a monodigestão de RFV deve ser suplementada com proteínas, principalmente

pelo seu potencial de gerar alcalinidade, ratificando o indicado por de Quadros *et al.* (2022a).

#### 5.1.6.2. Parâmetros operacionais de conversão

Os dados de conversão de sólidos totais voláteis, de DQO e de proteínas totais das amostras da T6 a T10 são apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15:** parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de caseína

Condição	STV <sub>i</sub>	STV <sub>f</sub>	conversão	DQO <sub>i</sub>	DQO <sub>f</sub>	conversão	BIO <sub>i</sub>	BIO <sub>f</sub>	conversão
	(g.L <sup>-1</sup> )	(g.L <sup>-1</sup> )	(%)	(g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	(g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	(%)	(g STV L <sup>-1</sup> )	(g STV L <sup>-1</sup> )	(%)
T6 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	20,5	4,9	76,10	51,33	22,23	56,69	3,53	1,9	53,62
T7 - 1,0g. L <sup>-1</sup>	21,0	5,13	75,60	55,93	19,30	65,48	4,3	2,3	53,49
T8 - 2,5g. L <sup>-1</sup>	22,5	4,93	78,11	69,67	19,16	72,50	5,53	3,05	54,69
T9 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	25,0	4,78	80,90	92,47	23,15	74,96	8,3	4,21	49,94
T10 - 10,0g. L <sup>-1</sup>	30,0	5,18	82,75	138,1	34,24	75,21	13,3	7,36	55,37

T: triplicata; STV<sub>i</sub>: sólidos totais fixos iniciais; STV<sub>f</sub>: sólidos totais fixos finais; DQO<sub>i</sub>: demanda química de oxigênio inicial; DQO<sub>f</sub>: demanda química de oxigênio final; BIO<sub>i</sub>: concentração de biomolécula inicial; BIO<sub>f</sub>: concentração de biomolécula final.

**Fonte:** o Autor (2024)

As conversões de STV e DQO progridem de acordo com a dosagem de caseína. A T6 (0,5g.L<sup>-1</sup> STV), por exemplo, apresentou conversão de 76,10% e 56,59%, respectivamente. A T10 (10,0g.L<sup>-1</sup> STV) por outro lado, registrou 82,75% e 75,21% nos mesmos parâmetros. Esses dados apontam que a adição de caseína teve um efeito positivo na conversão de STVs e DQO. Essa melhoria pode ser atribuída a influência do bicarbonato de amônio na AT, um parâmetro essencial na monodigestão de RFV (PEDIZZI *et al.*, 2017).

Ao analisar a remoção de proteínas totais, constatou-se uma conversão semelhante entre todas as condições, de aproximadamente 50%. Este também foi o resultado na monodigestão de caseína, apresentado na Tabela 9. Com essa informação, se cogita que a remoção de nitrogênio não tem impacto negativo na produção de biogás. A baixa conversão ocorre porque a DA não consegue remover nitrogênio de forma eficiente (CHERNICHARO, 2007).

Nesta pesquisa, parte proteínas foram convertidas em alcalinidade e utilizadas na formação de biomassa. O nitrogênio restante não apresentou adversidades ao sistema, uma vez que as amostras com maior suplementação (T10 = 10g.L<sup>-1</sup> STV de

caseína) não tiveram indícios de acúmulo de amônia e apresentaram remoção satisfatória de STVs e DQO, de acordo com a Tabela 15.

### 5.1.6.3. Produção de biogás

As produções de biogás das condições suplementadas com caseína são apresentadas Tabela 16 e na Figura 15.

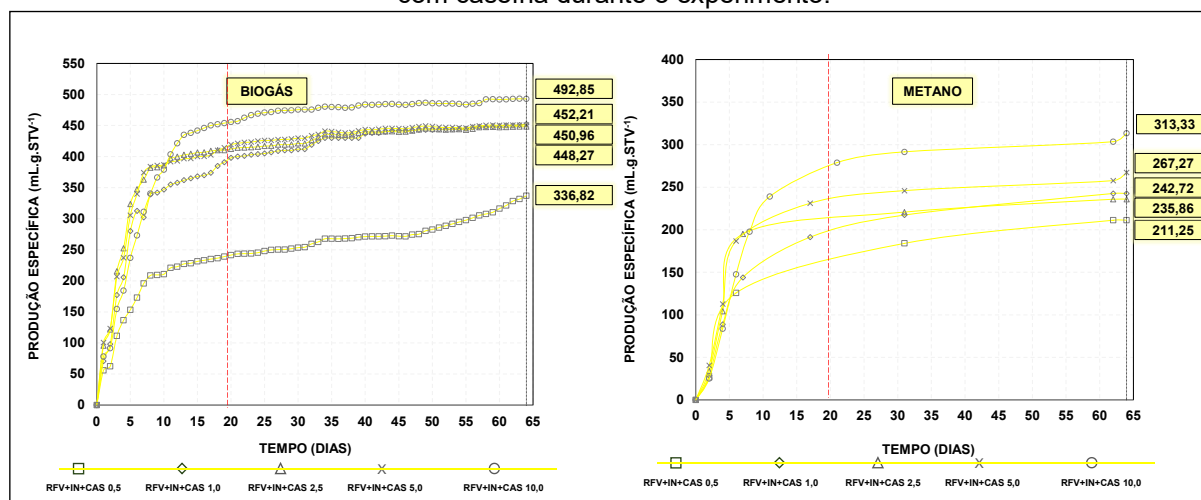
**Tabela 16:** produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com caseína.

Condição	BIOGÁS (NmLg.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	Teste de Tukey	CH <sub>4</sub> (mL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (%)	Teste de Tukey	CO <sub>2</sub> (%)
T6	336,82 (± 6,89)	2,58	c	211,25 (± 8,99)	4,26	52,72	b	47,28
T7	452,21 (± 19,88)	4,21	ab	242,72 (± 8,16)	3,11	55,64	ab	44,36
T8	448,27 (± 16,36)	3,46	ab	253,86 (± 12,81)	5,93	57,47	ab	42,53
T9	450,96 (± 16,43)	3,64	ab	267,27 (± 27,35)	10,23	59,27	ab	40,73
T10	492,85 (± 43,11)	8,75	a	311,33 (± 38,22)	12,20	63,58	a	36,42

T: triplicata; Cv: coeficiente de variação; CH<sub>4</sub>: gás metano; CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 15:** produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com caseína durante o experimento.



Fonte: o Autor (2024)

Houve aumento de produção de biogás proporcional ao uso de proteínas. A condição com melhor produção específica global é a T10, com 492,85 NmL g.STV<sup>-1</sup>, dos quais 63,58% são CH<sub>4</sub>. A condição T6, por outro lado, produziu 336,82 NmL g.STV<sup>-1</sup>, dos quais 52,72% são metano.

Estes dados corroboram o efeito positivo da caseína na digestão de RFV. Na condição com menor uso desta biomolécula (T6), a relação entre  $\text{CH}_4/\text{CO}_2$  é de 1,11, menor que o limite de estabilidade segundo Li *et al.* (2017) de  $\text{CH}_4/\text{CO}_2 < 1,2$ . Na condição seguinte, entretanto, a relação  $\text{CH}_4/\text{CO}_2$  foi de 1,25, indicando digestão equilibrada.

Mesma observação de balanceamento se dá nas curvas de biogás ilustradas na Figura 15; embora todas as amostras tenham um pico de produção inicial nos primeiros dias e tendência linear, a condição T6 tem um segundo pico de produção por volta dos 45 dias. Esta condição (T6) teve menor produção de biogás e de metano. Tal fato pode ser explicado pela subdosagem de aditivo necessário para fornecer a alcalinidade demandada pelo processo. Como as interações (estabilidade, conversão e produção de biogás) melhoraram com a suplementação, justifica-se o uso de resíduos proteicos na codigestão de RFV (ISHA *et al.*, 2021).

Sobre a concentração, notou-se que  $10\text{g.L}^{-1}$  STV de caseína (T10 = a) apresentou a melhor resposta. Apesar de ter semelhança estatística com a T7, T8 e T9 (ab), não teve indício de inconsistência da digestão. Por ser a condição com maior uso de aditivo, espera-se que haja consumo proporcional de resíduo rico em proteínas em codigestão, como o resíduo de galinha de postura (DE QUADROS *et al.*, 2022b), havendo maior atenuação de carga dos co-substratos na mesma batelada. Desta forma, a condição mais adequada para ser investigada em reatores pilotos é a T10, com adição de  $10,0\text{g.L}^{-1}$  (STV) de caseína ao RFV.

#### **5.1.7. Monitoramento de desempenho: coDA com ácido palmítico (T11 – T15)**

As triplicatas suplementadas de ácido palmítico, com dosagem crescente de  $0,5\text{g.L}^{-1}$  a  $10\text{g.L}^{-1}$  são a T11 (IN+RFV+A.P.  $0,5\text{g.L}^{-1}$ ), T12 (IN+RFV+A.P.  $1,0\text{g.L}^{-1}$ ), T13 (IN+RFV+A.P.  $2,5\text{g.L}^{-1}$ ), T14 (IN+RFV+A.P.  $5,0\text{g.L}^{-1}$ ) e T15 (IN+RFV+A.P.  $10,0\text{g.L}^{-1}$ ). O inóculo e RFV mantêm a concentração de  $20\text{g.L}^{-1}$  e proporção I:S de 2:1. Todas as concentrações são expressas em função dos sólidos totais voláteis.

### 5.1.7.1. Parâmetros operacionais de estabilidade

Os parâmetros das condições T11 a T15, nas quais houve adição de 0,5g. L<sup>-1</sup> a 10g. L<sup>-1</sup> de ácido palmítico são apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17:** parâmetros de estabilidade nas condições com adição de ácido palmítico

Condição	pH <sub>i</sub> (* )	pH <sub>f</sub>	AT <sub>i</sub> (**)	AT <sub>f</sub>	AV <sub>i</sub> (***)	AV <sub>f</sub>	NAT <sub>i</sub> (****)	NAT <sub>f</sub>
T11 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	7,40	7,00	1,52	2,96	0,88	0,21	0,13	0,31
T12 – 1,0g. L <sup>-1</sup>	7,25	7,02	1,28	2,87	0,80	0,38	0,13	0,32
T13 – 2,5g. L <sup>-1</sup>	6,31	7,14	1,51	3,26	0,76	0,28	0,13	0,40
T14 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	6,09	7,06	1,27	3,01	0,74	0,27	0,13	0,43
T15 – 10,0g. L <sup>-1</sup>	5,93	6,66	1,35	2,60	0,89	0,26	0,13	0,43

T: triplicata; AT<sub>i</sub>: alcalinidade total inicial; AT<sub>f</sub>: alcalinidade total final; AV<sub>i</sub>: acidez volátil inicial; AV<sub>f</sub>: acidez volátil final; NAT<sub>i</sub>: nitrogênio amoniacal total inicial; NAT<sub>f</sub>: nitrogênio amoniacal total final.

(\*) : o pH inicial de todas as condições foi corrigido para 8,0; (\*\*) em g. de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; (\*\*\*) em g. de CH<sub>3</sub>COOH. L<sup>-1</sup>; (\*\*\*\*) em g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>

**Fonte:** o Autor (2024)

Nas condições T11 a T14, os valores de pH e AT inicial foram os mais baixos dentre os suplementos, decrescendo com o aumento na dosagem. Apesar disso, todas as alcalinidades finais estão na faixa ideal de 1 a 5g de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> proposta por Metcalf & Eddy (2013). Holliger *et al.* (2016) sugerem alcalinidade maior que 3g.L<sup>-1</sup> de carbonato de cálcio, valor não atingido na T11 e T12. De modo geral, a adição de ácido palmítico não colaborou para o tamponamento do meio, e enquanto a frutose e a caseína têm mecanismos bioquímicos de estabilização, não existe reação semelhante na degradação de resíduos gordurosos (KHANAL, 2009).

As triplicatas tiveram comportamento semelhante nos parâmetros AV e NAT finais, que indicaram estabilidade. Os AV estão abaixo do limite de 1g de CH<sub>3</sub>COOH.L<sup>-1</sup> proposto por Holliger *et al.* (2016), assim como a amônia está menor que 2,5g de N-NH<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>. A adição de carbonato de sódio como agente tamponador foi primordial para estabilidade da digestão (HOLLIGER *et al.*, 2016; HELENAS PERIN *et al.*, 2020).

A condição T15 teve o pH final foi ligeiramente baixo, assim como a AT (pH < 7; AT<sub>f</sub> < 3g.L<sup>-1</sup>). Isso pode ser explicado pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa que não puderam ser assimilados em metabólitos mais simples (ABOMOHRÁ *et al.*, 2022), havendo toxicidade para microbiota (XIAO *et al.*, 2019). Mesmo no formato bruto, as gorduras apresentam risco inibitório à DA pela adsorção na parede celular dos microrganismos, dificultando o contato para assimilação de metabólitos da

fase anterior (WU *et al.*, 2017). A dosagem de ácido palmítico na T15 pode ser o limite suportado pelo delineamento desta pesquisa, apesar do uso de tamponador. Desta forma, deduz-se que a monodigestão de RFV pode ser suplementada com ácido palmítico, desde que com dosagem inferior a 10g.L<sup>-1</sup> STV.

#### 5.1.7.2. Parâmetros operacionais de conversão

Os dados de conversão de sólidos totais voláteis, de DQO e de lipídios totais das amostras de T11 a T15 são apresentados na Tabela 18.

**Tabela 18:** parâmetros operacionais de conversão nas condições com adição de ácido palmítico.

Condição	STV <sub>i</sub>	STV <sub>f</sub>	conversão	DQO <sub>i</sub>	DQO <sub>f</sub>	conversão	BIO <sub>i</sub>	BIO <sub>f</sub>	conversão
	(g.L <sup>-1</sup> )	(g.L <sup>-1</sup> )	(%)	(g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	(g O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	(%)	(g STV L <sup>-1</sup> )	(g STV L <sup>-1</sup> )	(%)
T6 – 0,5g. L <sup>-1</sup>	20,5	5,10	75,10	54,63	19,02	65,18	1,48	0,45	69,61
T7 - 1,0g. L <sup>-1</sup>	21,0	5,15	75,48	62,47	20,92	66,51	1,98	0,55	72,42
T8 - 2,5g. L <sup>-1</sup>	22,5	4,55	79,78	86,0	19,70	77,10	3,48	0,77	77,80
T9 - 5,0g. L <sup>-1</sup>	25,0	5,95	76,40	125,1	32,27	74,25	5,98	1,60	73,28
T10- 10,0g. L <sup>-1</sup>	30,0	11,04	62,71	203,4	70,07	65,55	10,98	3,99	63,65

T: triplicata; STV<sub>i</sub>: sólidos totais fixos iniciais; STV<sub>f</sub>: sólidos totais fixos finais; DQO<sub>i</sub>: demanda química de oxigênio inicial; DQO<sub>f</sub>: demanda química de oxigênio final; BIO<sub>i</sub>: concentração de biomolécula inicial; BIO<sub>f</sub>: concentração de biomolécula final.

**Fonte:** o Autor (2024)

Diferente das amostras de frutose e caseína onde a conversão foi proporcional ao uso de aditivo, a suplementação de ácido palmítico teve seu pico na condição T13 (2,5g.L<sup>-1</sup> de A.P. STV), com STV, DQO e lipídios totais de 79,78%, 77,10% e 77,80%. Tal resultado era esperado devido à baixa biodisponibilidade dos lipídios (XIAO *et al.*, 2019). A condição T14 (5,0g.L<sup>-1</sup> de A.P. STV) teve índices ligeiramente inferiores, com 76,40%, 74,25% e 73,28%, respectivamente.

A condição T15 (10,0g.L<sup>-1</sup> de A.P. STV), por outro lado, indica maior discrepância com a T13, apontando que a dosagem não é suportada pelo sistema. Esta observação é consonante com a hipótese levantada ao analisar a estabilidade, assim como por Eftaxias *et al.* (2019), que evidenciaram que o aumento da dosagem de lipídios tende a desestabilizar a digestão.

Entre as amostras das biomoléculas, a condição suplementada com ácido palmítico apresentou a maior DQO final, correspondendo à maior concentração de lipídio. Enquanto a condição suplementada com 10g.L<sup>-1</sup> STV de frutose (T5) teve DQO e 20,68g de O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> (Tabela 12) e a de caseína na mesma concentração (T10)

apresentou DQO de 34,24g de O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> (Tabela 15), para a condição T15 a DQO final foi de 70,07g de O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. O mesmo é observado sobre a remoção de STVS, onde a condição T5 e T10 tiveram proximidade de 5g.L<sup>-1</sup> e a T15 de 11,04g.L<sup>-1</sup>.

A maior DQO inicial era antecipada, visto que a lipídios têm maior consumo de oxigênio para sua degradação, conforme apresentado no Quadro 3. O valor de DQO e STVs finais, entretanto, sugerem que a digestão da T15 foi ineficaz, havendo necessidade de nova digestão do efluente ou outro tratamento antes da destinação do digestato (MA; GU; LIU, 2018). Processos biológicos como a compostagem e físico-químicos como filtração em membrana (AQUINO *et al.*, 2023) ou filtração em leito anaeróbico bioeletroquímico (PARK *et al.*, 2021) são possibilidades para atenuação de carga e recuperação de compostos de valor agregado (BALDI *et al.*, 2018).

### 5.1.7.3. Produção de biogás

As produções de biogás das condições suplementadas com ácido palmítico são apresentadas Tabela 19 e na Figura 16.

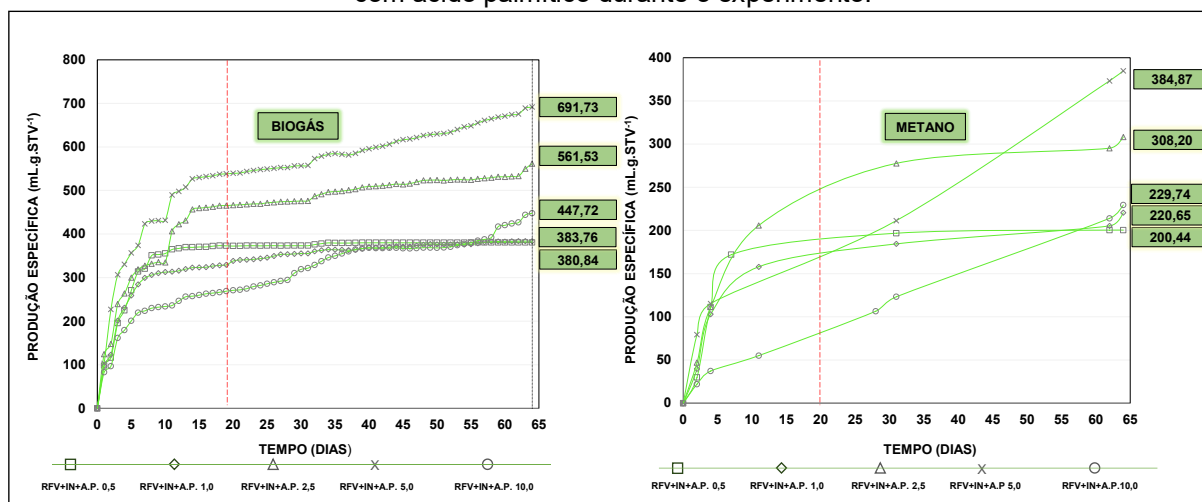
**Tabela 19:** produções específicas de biogás e de metano nas condições suplementadas com ácido palmítico.

Condição	BIOGÁS (NmLg.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	Teste de Tukey	CH <sub>4</sub> (mL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (%)	Teste de Tukey	CO <sub>2</sub> (%)
T11	380,84 (± 44,88)	11,78	c	200,32 (± 26,38)	14,87	52,59	b	47,71
T12	383,76 (± 12,71)	3,31	c	220,65 (± 19,94)	9,04	57,50	b	42,50
T13	561,53 (± 40,91)	7,29	ab	308,29 (± 64,97)	19,07	54,90	ab	45,10
T14	691,73 (± 45,11)	6,52	a	384,87 (± 65,98)	16,88	55,64	a	44,36
T15	447,72 (± 14,84)	3,31	bc	229,74 (± 25,65)	9,34	51,35	b	48,65

T: triplicata; Cv: coeficiente de variação; CH<sub>4</sub>: gás metano; CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono.

**Fonte:** o Autor (2024)

**Figura 16:** produção específica acumulada de biogás e de metano nas condições suplementadas com ácido palmítico durante o experimento.



Fonte: o Autor (2024)

Nas condições T11 (0,5g.L<sup>-1</sup> A.P. STV) e T12 (1,0g.L<sup>-1</sup> A.P. STV) as produções foram estatisticamente iguais (c), de 380,84 e 383,76 NmL g.STV<sup>-1</sup> respectivamente. Estes valores são semelhantes aos reportados por Edwiges *et al.* (2018) na monodigestão de RFV. Submetidos ao Teste de Tukey com a monodigestão de RFV deste estudo (406,32 NmL g.STV<sup>-1</sup>, Tabela 10), novamente se tem igualdade estatística de biogás e metano. Estes dados sugerem que a dosagem de 0,5 e 1,0g.L<sup>-1</sup> de ácido palmítico teve pouca influência na produção de biogás do RFV.

A partir da dosagem de 2,5g.L<sup>-1</sup> (T13) há perceptível impacto dos lipídios na digestão, com produção de 561,53 NmL g.STV<sup>-1</sup> dos quais 52,60% são CH<sub>4</sub>. Na triplicata posterior com dosagem de 5,0g.L<sup>-1</sup> (T14), têm-se a maior produção de biogás das monodigestões de RFV suplementadas, atingindo 691,73 NmL g.STV<sup>-1</sup> dos quais 52,60% são CH<sub>4</sub>. Por fim, na T15 (10,0g.L<sup>-1</sup> A.P. STV), conforme cogitado anteriormente, houve prejuízo da produção de biogás em função da dosagem de lipídios, com 447,72 NmL g.STV<sup>-1</sup> dos quais 51,35 são CH<sub>4</sub>. Estes resultados confirmam que a dosagem adotada foi prejudicial ao experimento. A relação CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> de 1,1 indica digestão com instabilidade (LI *et al.*, 2017).

As curvas de produção de biogás da T11 e T12 apresentam o formato característico de digestão equilibrada, com pico inicial e tendência de platô (KOCH *et al.*, 2019). As condições T13 e T14 apresentam um novo pico no início do segundo mês, indicando adaptação da microbiota (XIAO *et al.*, 2019) mas sinalizando também sobrecarga do sistema devido ao excesso de substrato. Esses sinais de sobrecarga

são evidenciados na produção de metano, onde a curva tem um crescimento íngreme na condição T14 (KOCH *et al.*, 2019). O acúmulo de substrato não parece ter afetado gravemente a metanogênese, visto que esta triplicata teve a maior produção.

A condição T15, por outro lado, teve representação gráfica quase retilínea. O aumento de inclinação da reta no segundo mês vem, provavelmente, do favorecimento de bactérias mais adaptadas para degradação de gordura (XIAO *et al.*, 2019). Apesar de possuir uma produção específica de biogás estatisticamente igual a MonoDA de RFV, as instabilidades e a demora na produção tornam essa dosagem inviável operacionalmente.

Com essas observações, pode-se concluir que a carga de  $10\text{g.L}^{-1}$  ultrapassa o limite para uma codigestão estável com lipídios. Apesar de ter indícios de sobrecarga na curva de caracterização de metano a triplicata T14 com dosagem de  $5\text{g.L}^{-1}$ , apresentou a melhor produção de biogás e de  $\text{CH}_4$  nas digestões aditivas, além de registrar estabilidade e remoção satisfatórias. Esta concentração, portanto, pode ser o limite suportado para digestão de ácido palmítico nas condições globais desta pesquisa. Por este motivo, será investigada em reator de escala piloto.

### 5.1.8. Comparação entre as condições

A compilação das condições suplementadas que nortearam a aplicação em escala piloto é apresentada na Tabela 20. Nota-se que nas codigestões com frutose (T3), caseína (T10) e ácido palmítico (T14) houve aumento na produção de biogás e de metano em comparação com a testemunha (TC2).

**Tabela 20:** melhores condições suplementadas com frutose, caseína e ácido palmítico, em comparação com a testemunha.

Condição	BIOGÁS (mLg.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	Teste de Tukey	CH <sub>4</sub> (mL g.STV <sup>-1</sup> )	Cv (%)	CH <sub>4</sub> (%)	Teste de Tukey	CO <sub>2</sub> (%)
TC2	406,32 (± 17,14)	11,78	c	219,03 (± 8,78)	3,26	51,47	c	48,53
T3	502,29 (± 87,72)	17,46	b	288,38 (± 29,74)	10,33	57,41	b	42,59
T10	492,85 (± 43,11)	8,75	bc	311,33 (± 38,22)	12,20	63,58	ab	36,42
T14	691,73 (± 45,11)	6,52	a	384,87 (± 65,98)	16,88	55,64	a	44,36

RFV: resíduo de frutas e vegetais; TC2: MonoDA de RFV; T3: RFV + 2,5g.L<sup>-1</sup> de frutose; T10: RFV + 10g.L<sup>-1</sup> de caseína; T14: RFV + 5g.L<sup>-1</sup> de ácido palmítico; Cv: coeficiente de variação; CH<sub>4</sub>: gás metano; CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono.

Fonte: o Autor (2024)

## 5.2. ETAPA II: EXPERIMENTO EM ESCALA PILOTO

### 5.2.1. Reator TEST: monodigestão de RFV

O reator testemunha teve adição de RFV em função da COV de 0,5gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> para o primeiro TDH de 30 dias e de 1gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> pro segundo TDH de 20 dias.

#### 5.2.1.1. Parâmetros operacionais de estabilidade: reator testemunha

Os dados de estabilidade do reator de monodigestão são apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator testemunha.

AFLUENTE REATOR TESTEMUNHA						
	pH $\mu$	AT $\mu$ (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	NAT $\mu$ (mg N-NH <sub>3</sub> . L <sup>-1</sup> )	AV $\mu$ (mg CH <sub>3</sub> OOH.L <sup>-1</sup> )	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
<b>START</b>	4,45	0	412,31	397,20	.	.
<b>TDH I</b>	6,46±0,27	835,13±263,51	149,43±16,98	557,71±90,66	0,79±0,48	0,98±0,96
<b>TDH II</b>	6,10±0,41	823,35±189,08	162,38±10,98	922,65±309,64	1,18±0,47	1,58±0,56
EFLUENTE REATOR TESTEMUNHA						
	pH $\mu$	AT $\mu$	NAT $\mu$	AV $\mu$	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
<b>TDH I</b>	6,86±0,10	1.960,33±212,70	234,85±24,14	758,24±311,24	0,38±0,13	0,72±0,20
<b>TDH II</b>	6,96±0,07	1.531,46±72,98	150,91±0,41	366,11±41,54	0,24±0,03	0,37±0,14

$\mu$ : média; AT: alcalinidade total; NAT: nitrogênio amoniacal total; AV: acidez volátil; AI: alcalinidade intermediária; AP: alcalinidade parcial; START: período de alimentação para completar o volume útil; TDH: tempo de detenção hidráulica.

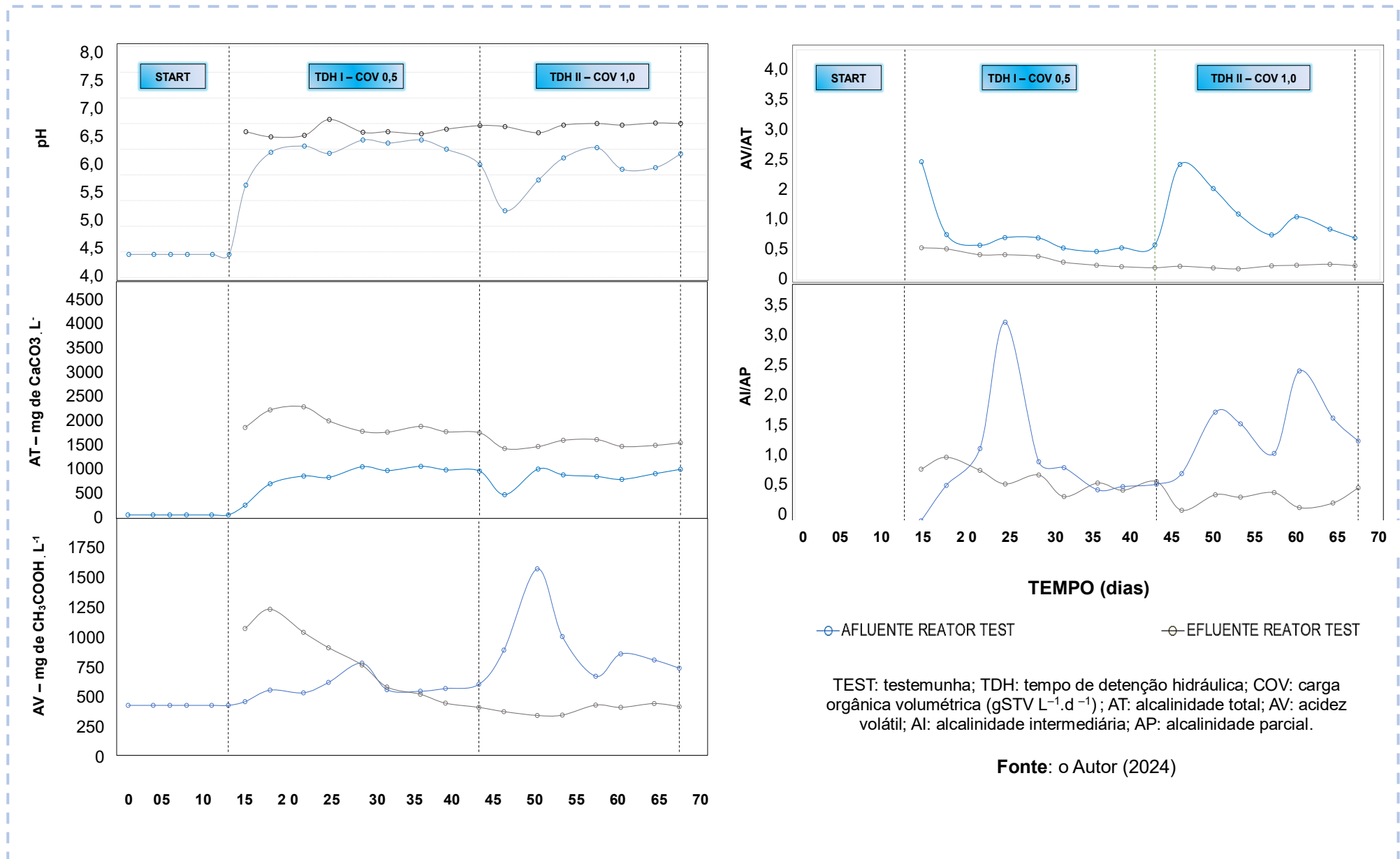
Fonte: o Autor (2024)

No período de aclimação o RFV apresenta um pH ácido e uma alcalinidade inexpressiva, característica desse tipo de substrato (EDWIGES *et al.*, 2018). A acidez volátil é de um substrato apto para biodigestão (HOLLIGER *et al.*, 2016). Ao início do TDH I percebe-se mudança na característica do afluente, com pH mais próximo da neutralidade, aumento da alcalinidade total e da acidez volátil. Isso é resultado da recirculação do sobrenadante filtrado, que fornece alcalinidade ao reator porém ainda tem ácido orgânicos residuais do efluente (BORTOLOTTI *et al.*, 2023)..

Pontua-se que nem toda a alcalinidade proveniente do sobrenadante provém de bicarbonatos - AI. Parte deste valor vem da alcalinidade intermediária ou “falsa

alcalinidade”, resultante dos ácidos orgânicos - AP. Um ponto de mudança de todos os parâmetros é a mudança de carga no TDH II, conforme observado na Figura 17.

**Figura 17:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator piloto no decorrer do experimento.



O pH e a AT do afluente e efluente do reator testemunha têm similaridade durante o TDH I. Existe espaçamento nos parâmetros do afluente na semana seguinte ao aumento da COV, indicando impactos na estabilidade do reator. Na segunda semana do TDH II, entretanto, há retomada de proximidade entre os parâmetros no afluente e no efluente. Essa estabilidade pode estar associada a recirculação de sobrenadante (BORTOLOTTI *et al.*, 2023).

Há de se observar que em ambos TDH a média do pH do efluente - embora bastante próximos - foi menor que 7 assim como a AT foi menor que 3g de  $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$  conforme recomenda Holliger *et al.* (2016). Ao observar os limites de AT de Metcalf & Eddy (2013), percebe-se adequação dos parâmetros sugeridos, onde  $1 < \text{AT} < 5\text{g de CaCO}_3\text{L}^{-1}$ . Isso pode ser um indicativo que a COV de  $1\text{gSTV L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  em monoDA de RFV é estável mesmo sem adição de tamponadores. É registrado na literatura uma COV estável de até  $4\text{gSTV L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  em rota úmida, como a deste estudo (ESPARZA *et al.*, 2020).

Outro parâmetro que poderia contribuir para a alcalinidade do meio é o nitrogênio. O resíduo de frutas e vegetais é pobre em compostos nitrogenados (NTK: 869,23 e NAT: 412,31mg de  $\text{N-NH}_3.\text{L}^{-1}$ ), além de não ter uma alta composição de proteínas conforme apresentado anteriormente no Quadro 3. Desta forma, percebe-se baixa variação no teor de nitrogênio amoniacal total, que se torna potencialmente inibidor em concentrações maiores que  $2,5\text{g. N-NH}_3.\text{L}^{-1}$ ; em nenhum dos reatores este limite foi atingido. O monitoramento é realizado pois o sobrenadante recirculado é rico em microrganismos, que colaboram para o aumento da carga de nitrogênio no reator (MIRMOHAMADSADEGHI *et al.*, 2019). Se por um lado o baixo teor de nitrogênio reduz os riscos de colapso por excesso de amônia, por outro induz o desbalanceamento da relação C/N, que poderia aumentar o teor de metano do biogás (MENG *et al.*, 2022).

Nota-se que a acidez volátil do efluente é maior que a do afluente nas semanas iniciais do TDH I. Isso se deve ao fato de que até então, não houve retirada de digestato dos reatores durante o start. Com o início de retirada de efluente e recirculação do sobrenadante na alimentação dos reatores, o teor de acidez volátil tende a se igualar. No princípio do TDH II, entretanto, há aumento na disparidade, havendo acréscimo da AV do afluente dessa vez. Ambas situações podem ser explicadas pelo acúmulo de ácidos orgânicos residuais no digestato e no sobrenadante (LI *et al.*, 2017). A AV pode ser relacionada também com a alcalinidade

total, onde a relação entre os parâmetros menor que 0,4 é adequada (CALLAGHAN *et al.*, 2002). Para Chatterjee & Mazumder (2020),  $AV/AT > 0,6$  indicam instabilidade. Em ambos os TDH as condições foram cumpridas.

Outro ponto sobre a AV é que ela aumenta a AT sem contribuir de fato com o tamponamento do sistema. Por esse motivo, a relação entre a alcalinidade dos ácidos orgânico (AP) e a alcalinidade de bicarbonatos (AI) deve ser monitorada para garantir o real tamponamento do reator (LI *et al.*, 2017). Para Chernicharo (2007), a relação entre os parâmetros superior a 0,3 indicar distúrbio, mas que existem particularidades de diferentes processos. Perin (2023) aponta que há estabilidade em valores maiores, se  $AI/AP = 0,5$ . Neste estudo, o primeiro TDH teve proporção de 0,7, que foi acentuado na primeira semana devido influência do inóculo e não retirada de efluente. No segundo TDH, entretanto, a relação foi de 0,4, satisfazendo as condições da autora. Como os outros parâmetros operacionais indicam estabilidade, sugere-se que  $AI/AP=0,7$  ainda pode indicar um processo estável, nas mesmas condições globais desta pesquisa.

#### 5.2.1.2. Parâmetros operacionais de conversão: reator testemunha

Os dados de conversão do reator de monodigestão são apresentados na Tabela 22.

**Tabela 22:** monitoramento dos parâmetros de conversão no reator testemunha.

AFLUENTE		TDH I	TDH I	TDH I	TDH I	TDH II	TDH II	TDH II	Cv (%)
		início	meio	fim	$\mu$	início	meio	$\mu$	
AFLUENTE	DQO (g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	14,45	14,45	14,45	<b>14,45</b>	28,80	28,80	<b>28,80</b>	-
	STV (g)	8,40	8,40	8,40	<b>8,40</b>	16,80	16,80	<b>16,80</b>	-
EFLUENTE	DQO (g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	15,45	14,33	14,14	<b>14,64± 0,71</b>	14,63	12,67	<b>13,66± 1,39</b>	10,20
	DQOc (%)	-	0,83	2,13	<b>1,48± 0,92</b>	49,19	56,02	<b>52,60± 4,83</b>	9,18
	STV (g)	11,05	8,40	5,20	<b>8,22± 2,93</b>	5,90	6,0	<b>5,95± 0,07</b>	1,19
	STVc (%)	-	-	41,67	<b>13,89± 24,06</b>	64,88	64,29	<b>64,58± 0,42</b>	0,65

DQO: demanda química de oxigênio; DQOc: DQO convertida; STV: sólidos totais voláteis; STVc: sólidos totais voláteis convertidos; Cv: coeficiente de variação; TDH: tempo de detenção hidráulica; TDH  $\mu$ : média de valores durante o TDH.

**Fonte:** o Autor (2024)

Ainda de acordo com o observado nos parâmetros de estabilidade, o início da retirada de digestato também impactou as conversões. Para os parâmetros DQO e STVs, a carga foi maior no efluente do que no afluente no início do TDH I, que resultou em um alto coeficiente de variação na conversão de ambos os parâmetros. No TDH II, entretanto, desde o início há diferença entre a carga de entrada e de saída, que se mantém em média 52,60% pra DQO e 64,58% para os STVs. De acordo com Angelidaki *et al.* (2009), a DQO bruta é uma forma menos confiável de mensurar a conversão, mas pode servir de parâmetro para confirmar os dados de conversão pelos sólidos totais voláteis.

Ao digerir resíduos semelhantes, outros resultados apresentados na literatura são de 76% de conversão de STVs (SCANO *et al.*, 2014). Essa conversão média pode ter sido maior do que a apresentada no estudo devido ao tempo de experimento, que foi de seis meses, e com a extensão do estudo, espera-se maior aclimatação da microbiota (DA MOTTA *et al.*, 2022). Além disso, a variação do substrato entre os meses pode ter balanceado a relação C/N, por exemplo. Ros *et al.* (2017), por outro lado, reportam remoção máxima de 55% de STVs em digestão de RFV (70%) e dejetos suíno (30%). As conversões inferiores provavelmente decorrem do co-substrato adotado, pois o dejetos suíno tem alto teor de fibras de difícil degradação (TÁPPARO *et al.*, 2021).

Ainda investigando outras pesquisas, têm-se conversão de 61% dos sólidos totais voláteis (MORALES-POLO *et al.*, 2019) e 64,8% (JIANG *et al.*, 2023), valores próximos ao deste estudo. Vale observar que para Jiang *et al.* a monoDA de RFV teve decréscimo na conversão de sólidos voláteis em comparação à codigestão com resíduos alimentares. Outra observação é a de Liu & Lao (2019), que ao adotar reatores em duas etapas atingiram conversões de 70,9% de STVs. Percebe-se viabilidade observando a estabilidade e as conversões da monoDA de RFV, com possibilidade de melhoria ao adicionar co-substratos adequados ou implementação de novas técnicas operacionais.

#### 5.2.1.3. Produção de biogás: reator testemunha

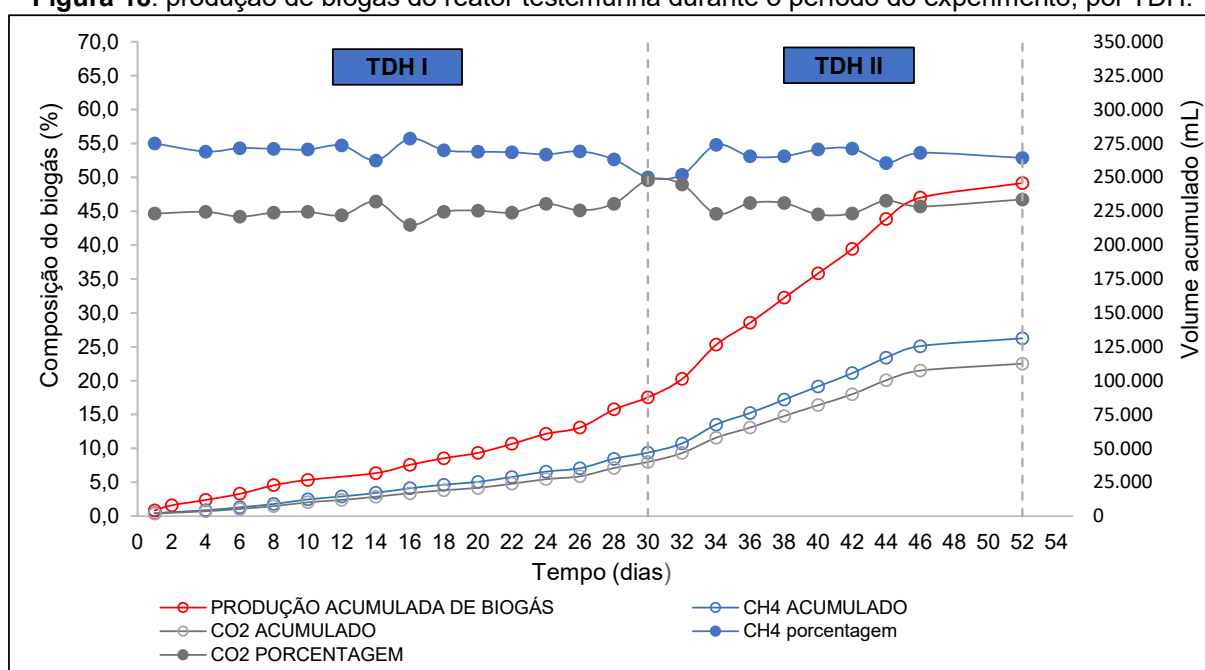
A produção de biogás deste reator pode ser observada na Tabela 23 e a Figura 18. O biogás da etapa *start* do reator foi desprezado.

**Tabela 23:** monitoramento da produção de biogás no reator testemunha.

	COV	BIOGÁS A (L)	PEB (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> A (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> μ (%)	CO <sub>2</sub> A (L)	CO <sub>2</sub> μ (%)	H <sub>2</sub> S A ppm
TDH I	0,5	68,19	624	35,39	324	53,97± 0,85	29,41	44,99± 0,92	218
TDH II	1,0	180,41	976	95,74	518	53,10± 1,35	83,10	46,35± 1,73	4.560
<b>V<sub>TOTAL</sub></b>		<b>245,89</b>		<b>131,13</b>			<b>112,51</b>		<b>4.780</b>

COV: carga orgânica volumétrica, em gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>; BIOGÁS A: volume de biogás acumulado; PEB: produção específica de biogás; CH<sub>4</sub> A: produção acumulada de metano; PEM: produção específica de metano; CH<sub>4</sub> μ: percentagem média de metano no biogás durante o TDH; CO<sub>2</sub> A: produção acumulada de dióxido de carbono; CO<sub>2</sub> μ: percentagem média de dióxido de carbono no biogás; H<sub>2</sub>S A: produção acumulada de sulfeto de hidrogênio; Vtotal: volume total durante o experimento.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 18:** produção de biogás do reator testemunha durante o período do experimento, por TDH.

Fonte: o Autor (2024)

A produção acumulada dos dois TDHs foi de 245,39 litros de biogás. Em média, 53,78% consistem em metano, 46,14% em dióxido de carbono e 0,8% em outros gases, como H<sub>2</sub>S, O<sub>2</sub> e NO<sub>2</sub>. Essa composição de biogás com 50% < CH<sub>4</sub> < 70% indica uma digestão estável (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). A produção específica de metano - PEM variou de 324 a 518 L.kgSTV<sup>-1</sup>, sendo a menor no primeiro TDH. O reator testemunha recebeu apenas 15 gramas de STV por litro, mantendo a COV fixa, enquanto os outros reatores tiveram a concentração de co-substrato corrigida e adicionada a partir de 15g.L<sup>-1</sup> de RFV, resultando em uma maior adição de sólidos voláteis em comparação a este.

Durante o primeiro TDH, o biogás manteve proporções estáveis de cerca de 53,97% de metano e 44,99% de dióxido de carbono, com 218 ppm de gás sulfídrico.

No TDH II, após um aumento de COV, as proporções de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> se igualaram, indicando instabilidade (LI *et al.*, 2017). Este fato foi resultado do aumento da carga, que impactou também o pH, a AT e a AV no efluente. Neste período, houve predominância de atividade acidogênica e acetogênica, adequando-se para degradação do novo volume de substrato adicionado (WANG; PING; LI, 2022). Na semana seguinte, entretanto, houve retomada da normalidade em todos os parâmetros, indicando adaptação da biomassa (DA MOTTA *et al.*, 2022).

Durante o segundo TDH, o teor de gás sulfídrico aumentou. Embora a concentração de H<sub>2</sub>S acima de 3% no biogás possa indicar instabilidade (ARIF; LIAQUAT; ADIL, 2018), a concentração total acumulada foi de apenas 0,47%, sugerindo estabilidade no reator. Possivelmente o aumento do gás sulfídrico está vinculado ao dobro de proteínas inseridas no RFV em comparação ao primeiro TDH, assim como a recirculação de sobrenadante rico em microrganismos. A degradação das proteínas tende a aumentar o teor de H<sub>2</sub>S (RASAPOOR *et al.*, 2020), mas devido ao baixo teor de disponibilidade, não houve proximidade do limite de inibição.

Consultando outros experimentos, Edwiges *et al.* (2018) reportam produção específica de CH<sub>4</sub> variando entre 288 a 516 L. kgSTV<sup>-1</sup>, valores bastantes próximos ao deste experimento. Os autores investigaram o efeito da sazonalidade na composição do RFV, e concluíram que estas variações afetam a qualidade do biogás e o teor de metano. Abordagem semelhante foi feita por Masebinu *et al.* (2018), que otimizou as proporções entre frutas e vegetais do substrato, atingindo uma PEM de 495,9 kgSTV<sup>-1</sup>

Li *et al.* (2019) reportam uma PEM de 340 L. kgSTV<sup>-1</sup>, valor semelhante ao deste experimento no primeiro TDH. Segundo os autores, em experimentos anteriores a produção específica de biogás não ultrapassou 400 L. kgSTV<sup>-1</sup> e COV de 1 gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. A recirculação de sobrenadante foi a alternativa adotada para superar a o limite de carga e superar a COV em 4x, sem auxílio de tamponantes químicos. A mesma estratégia foi adotada neste experimento e mostrou-se oportuna para estabilidade do processo.

Li *et al.* (2020), por outro lado, reportam produção específica de metano de 354 L. kgSTV<sup>-1</sup> em digestão de RFV, sem adição de tamponador e recirculação do sobrenadante, mas com adição de outros resíduos alimentares de semelhante composição, como os restos de cozinha. A mesma estratégia foi adotada por Pavi *et al.* (2017) que reportam produção específica de metano de 396,6 L. kgSTV<sup>-1</sup>. Desta

forma, pode-se concluir que os resultados observados no reator testemunha são coerentes com a literatura.

#### 5.2.1.4. Ácidos graxos voláteis: reator testemunha

Os AGVs analisados por cromatografia gasosa observados no efluente do reator testemunha são apresentados na Tabela 24.

**Tabela 24:** monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do reator testemunha.

REATOR TESTEMUNHA							
	TDH I início	TDH I meio	TDH I fim	% μ	TDH II início	TDH II meio	% μ
Hac	1.694,32	1.512,64	1.458,75	<b>63,27±5,40</b>	1.845,50	1.628,47	<b>57,78± 2,23</b>
Hpr	359,23	326,68	208,08	<b>11,89±1,71</b>	714,37	706,24	<b>23,20±2,19</b>
Hib	231,15	168,66	98,89	<b>6,54±1,75</b>	217,47	106,50	<b>5,30±2,01</b>
Hbu	291,74	186,66	101,09	<b>7,53±2,76</b>	187,99	99,15	<b>4,67±0,74</b>
Hiva	245,70	140,31	77,65	<b>6,00±2,53</b>	167,09	75,67	<b>3,92±1,65</b>
Hva	ND	175,37	154,39	<b>4,78± 4,14</b>	150,83	127,50	<b>4,62±0,04</b>
<b>ΣAGV</b>	<b>2.822,14</b>	<b>2.510,32</b>	<b>2.098,85</b>	-	<b>3.337,25</b>	<b>2.743,53</b>	-

% μ: porcentagem média do ácido em relação a somatória; Hac: ácido acético; Hpr: ácido propiônico; Hib: ácido isobutírico; Hbu: ácido butírico; Hiva: ácido isovalérico; Hva: ácido valérico; ΣAGV: somatória dos AGVs.

Fonte: o Autor (2024)

A quantificação de ácidos orgânicos voláteis por cromatografia gasosa apresenta valores superiores aos de acidez volátil proposta por Dillallo & Albertson (1961). Segundo os autores, o método titulométrico, que mede os AGVs com base no ácido acético, tem cerca de 70% de precisão e vantagens em termos de simplicidade, baixo custo e rapidez, com resultados obtidos em 10 minutos. De Quadros (2023) observou uma discrepância de 35% a 250% entre os métodos, destacando o papel dos avanços tecnológicos e as diferenças nas massas dos compostos. No entanto, a autora ressalta que há linearidade entre a acidez volátil e outros parâmetros, o que sugere que a AV seja adequada para o monitoramento de estabilidade.

Com essa observação, pontua-se a predominância de ácido acético, que é um metabólito direto da degradação de macromoléculas e o substrato mais facilmente degradado em acetato entre os AGVs. O acetato é o substrato principal para as arqueas metanogênicas acetoclásticas, que produzem cerca de 70% do CH<sub>4</sub> de um reator (CHERNICHARO, 2007; MAGAMA; CHIYANZU; MULOPO, 2022). Em ambos TDHs o ácido acético representou por volta de 60% dos ácidos orgânicos. Este mesma =-predominância foi observada por Li *et al.* (2019) e Jiang *et al.* (2023). Liu & Liao

(2019) também reportam concentrações semelhantes ao deste estudo, de em média 1.500mg.L<sup>-1</sup>.

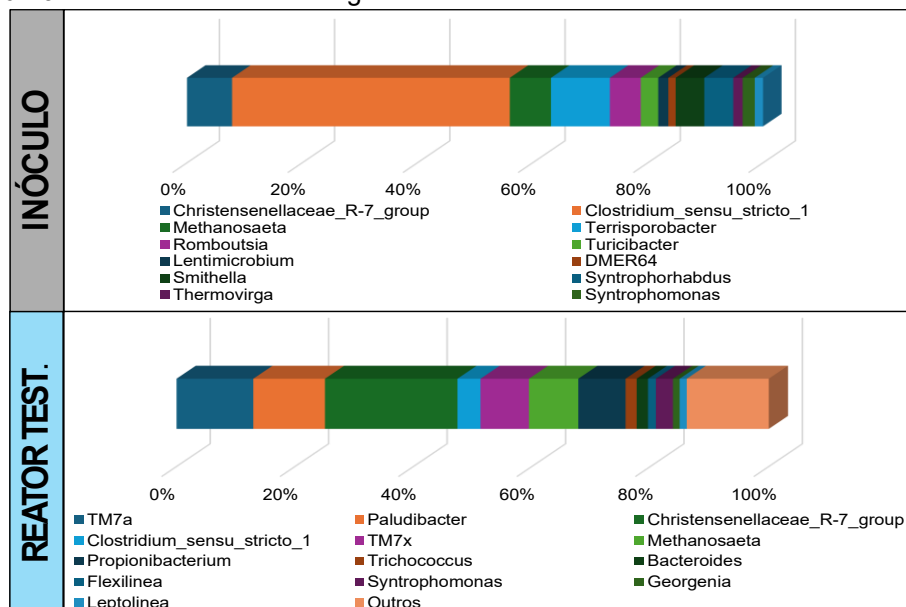
O segundo metabólito mais presente é o ácido propiônico, que compõe 11,89% no TDH I e 23,20% no TDH II dos AGVs. O aumento do teor de ácido propiônico pode indicar instabilidade. Como sua taxa de crescimento é inversamente proporcional ao de biogás, presume-se que neste experimento não houve prejuízo em função do Hpr (LI *et al.*, 2019). A rota de transformação do ácido propiônico em ácido acético é termodinamicamente desfavorável, e seu acúmulo ocorre quando não há consumo de seus metabólitos (JIANG *et al.*, 2020). A degradação de ácido propiônico em acetato, conhecido como fermentação propiônica, é mais complexa que a degradação do ácido acético, por exemplo. Ainda assim, é um processo que ocorre mediante bactérias propiacterianas (JIANG *et al.*, 2020). Em monodigestão de RFV, Jiang *et al.* (2023) reportam porcentagens semelhantes a deste experimento, confirmando assim que os valores são adequados numa digestão estável.

Outro AGV esperado com representatividade é o ácido butírico, que juntamente com o acético e propiônico, são os mais facilmente formados durante a DA (STEIN *et al.*, 2017), e assim como o ácido propiônico, seu acúmulo representa instabilidade (DE QUADROS, 2023). Neste experimento, os ácidos isobutírico, butírico, valérico e isovalérico apresentam concentração máxima de 7%. O acúmulo destes ácidos indica menor atividade metanogênica (LI *et al.*, 2017). A concentração menor do que 10% pode não apresentar prejuízos à DA de RFV (JIANG *et al.*, 2023), mas uma alternativa para diminuição destes AGVs é o uso de aditivos metálicos, que facilitam a comunicação da microbiota e favorecem a degradação destes compostos (LI *et al.*, 2019).

#### 5.2.1.5. Análise de microbiologia molecular: reator testemunha

A abundância relativa dos gêneros de bactérias no inóculo utilizado em todos os reatores, assim como no efluente do reator testemunha é apresentada na Figura 19. As bactérias caracterizadas como “outras” tiveram menos de 1% de abundância relativa.

**Figura 19:** abundância relativa de gêneros de bactérias no inóculo e reator testemunha.



Fonte: o Autor (2024)

O inóculo utilizado no experimento é investigado pois é a fonte de microrganismos que povoaram os reatores. A diferença na microbiota do efluente dos reatores pode nortear a investigação da melhora ou piora de produção de metano entre eles. Neste estudo, o inóculo apresentou predominância do gênero *Clostridium stricto sensu* (39,28%). Este gênero de bactéria é estritamente anaeróbico, embora apresente tolerância a baixos níveis de oxigênio. O *Clostridium* é encontrado no trato intestinal de animais e algumas espécies podem ser patogênicas. Estas bactérias são responsáveis pela degradação da matéria orgânica e podem gerar acetato, propionato e butirato em degradação direta (LI *et al.*, 2023).

A segunda maior representatividade é do gênero *Terrisporobacter* (8,33%), composto por bactérias acetogênicas estritamente anaeróbicas que convertem H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> em acetato. Assim como outras bactérias acetogênicas, a investigação desse gênero é relevante devido sua capacidade de transformar resíduos gasosos industriais em biocommodities de alto valor agregado (BÖER *et al.*, 2023). O terceiro lugar é ocupado pelo gênero *Christensenellaceae\_R-7\_group* (6,38%), que apesar de estritamente anaeróbicas, podem sobreviver por algumas horas em exposição ao oxigênio. Essas bactérias degradam açúcares simples, como a glicose, a xilose e arabinose, produzindo ácido acético e butírico como metabólitos (IGNATYEVA *et al.*, 2023).

O próximo gênero representativo é o *Methanosaetha* (5,83%), que aparece na abundância relativa de bactérias por compartilhar a faixa da região V3-V4 do gene 16S, apesar de ser uma Archea (CHEN; HE, 2015). Por volta de 4% da abundância relativa é ocupada pelo gênero *Romboutsia*, com espécies que produzem enzimas capazes de digerir polissacarídeos (CHANG *et al.*, 2023), *Smithella* que degradam propionato em acetato (XIA *et al.*, 2019) e *Syntrophorhabdus*, que são capazes de degradar compostos aromáticos em acetato e H<sub>2</sub>. A tendência de diminuição de representatividade nos gêneros, está associada a menor presença de substratos específicos disponíveis para degradação (AMIN *et al.*, 2021).

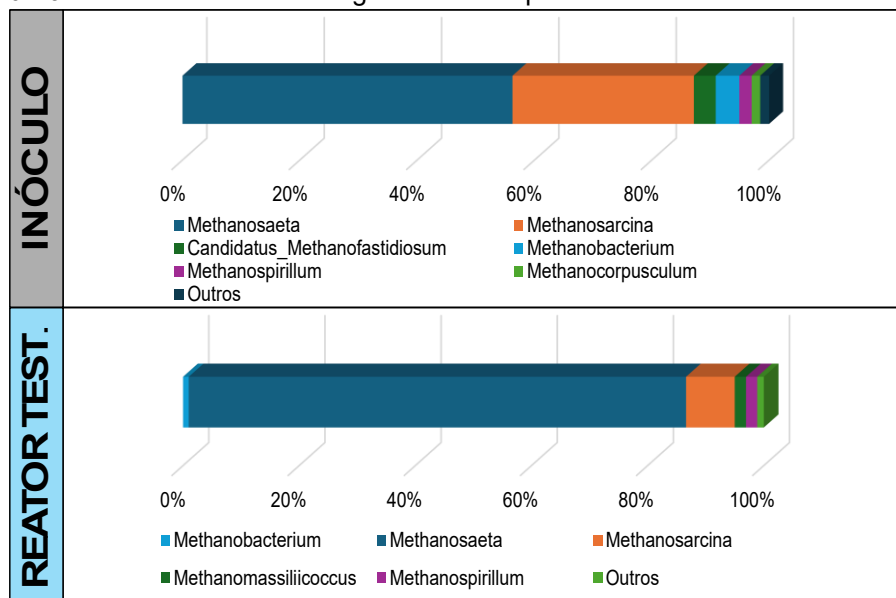
No efluente do reator testemunha, houve um aumento no número de gêneros com abundância relativa expressiva. A maior abundância é observada no gênero *Christensenellaceae\_R-7\_group* (22,37%), que assim como observado por Ignatyeva *et al.* (2023) é responsável pela degradação de açúcares simples para produção de AGVs. O crescimento de representatividade deste gênero está associado a riqueza de carboidratos na composição do RFV.

O gênero *TM7a* ocupado o segundo lugar, com 12,96% de representatividade. Agora conhecido como *Saccharibacteria*, tem representantes que parasitam outras bactérias. O diferencial desse gênero é a possibilidade de degradar carboidratos estruturais, como celulose e hemicelulose (STARR *et al.*, 2018). Outro gênero próximo representado é o *TM7x* (8,18%), e a diferença entre eles é que o *TM7a* é conhecido por povoar solos enquanto o *TM7x* habita em partes animais, como na boca humana, por exemplo (DINIS *et al.*, 2011). O gênero *Paludibacter* que tem 12,10% de representatividade também é capaz de excretar enzimas que degradam compostos lignocelulósicos (VACILOTTO *et al.*, 2022). Com propriedades metabólicas semelhantes, soma-se quase 20% em abundancia relativa de bactérias que degradam carboidratos estruturais, que podem representar 41% dos carboidratos do RFV (EDWIGES *et al.*, 2018).

Outro gênero significativo é o *Propionibacterium* (7,98%), responsável por degradar açúcares simples e ácido láctico em metabólitos como o ácido propiônico. (PIWOWAREK *et al.*, 2018), e embora a DA tradicional não objetive produzir esse metabólito, o RFV e outros resíduos alimentares podem ser utilizados para esse fim, visto a aplicação de uso do ácido propiônico como conservante, por exemplo (ZHENG *et al.*, 2022).

**ARQUEAS:** a abundância relativa de arqueas é apresentada na Figura 20. As arqueas caracterizadas como “outras” tiveram menos de 1% de abundância relativa.

**Figura 20:** abundância relativa de gêneros de arqueas no inóculo e reator testemunha.



Fonte: o Autor (2024)

As arqueas presentes no inóculo são em sua maioria acetoclásticas, havendo abundância do gênero *Methanosaeta* (56,25%) e *Methanosarcina* (30,92%). As arqueas acetoclásticas transformam acetato em metano e são responsáveis por aproximadamente 70% do metano de um reator (LI *et al.*, 2020). O gênero *Methanosaeta* é mais sensível ao acúmulo de inibidores, uma justificativa plausível pela sua menor predominância no inóculo que é rico em nitrogênio, em comparação ao reator testemunha (MENG *et al.*, 2018).

Outra parte da composição é de arqueas hidrogenotróficas, que utilizam H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> resultantes da acidogênese e acetogênese na produção de metano, como o *Methanobacterium* 4,02%, *Methanospirillum* (2,10%) e *Methanocorpusculum* (1,46%). Esta rota é menos eficiente (XIAO; SHI; RUAN, 2019). A última parte é formada pelo gênero *Candidatus Methanofastidiosum*, que realiza a rota metilotrófica, ou seja, da degradação de compostos metílicos na produção de CH<sub>4</sub> (VANWONTERGHEM *et al.*, 2016). Há de se observar que o gênero de metanogênicas acetoclásticas *Methanosarcina* podem performar as três rotas, assim como é esperado que todas as arqueas possam performar a rota hidrogenotrófica, com exceção do gênero *Methanosaeta* (LENDORMI *et al.*, 2022).

No reator testemunha, percebe-se quase totalidade de metanogênicas acetoclásticas, com 85,64% de *Methanosaeta* e 8,38% de *Methanosarcina*. Além da queda no teor de amônia, é esperado predominância do gênero *Methanosaeta* em relação ao *Methanosarcina* quando há menores concentrações de acetato no reator (LENDORMI *et al.*, 2022). Dessa forma, pode-se concluir que a monoDA de RFV teve uma digestão estável e satisfatória após avaliar estabilidade, conversão, produção de biogás e a microbiota envolvida no processo.

### 5.2.2. Reator FRU: codigestão de RFV e frutose

O reator FRU teve adição de RFV e de frutose em função da COV de 0,5gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> para o primeiro TDH que durou 30 dias e de 1gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> pro segundo TDH que durou 20 dias. Deve ser evidenciado que para os reatores em CoDA, as massas de biomoléculas não foram quantificadas na COV. Desta forma, no primeiro TDH têm-se 15g.L<sup>-1</sup> de RFV (que corresponde a COV 0,5, fixada na pesquisa) e 2,5g.L<sup>-1</sup> de frutose, que corresponde a melhor produção observada em batelada. Com isso, a COV real no reator frutose no TDH I é de 0,58gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e no TDH II de 1,165gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Esses valores foram contabilizados no cálculo de produção específica de biogás e de metano.

#### 5.2.2.1. Parâmetros operacionais de estabilidade: reator frutose

Os dados de estabilidade do reator de codigestão de RFV e frutose são apresentados na Tabela 25 e na Figura 21.

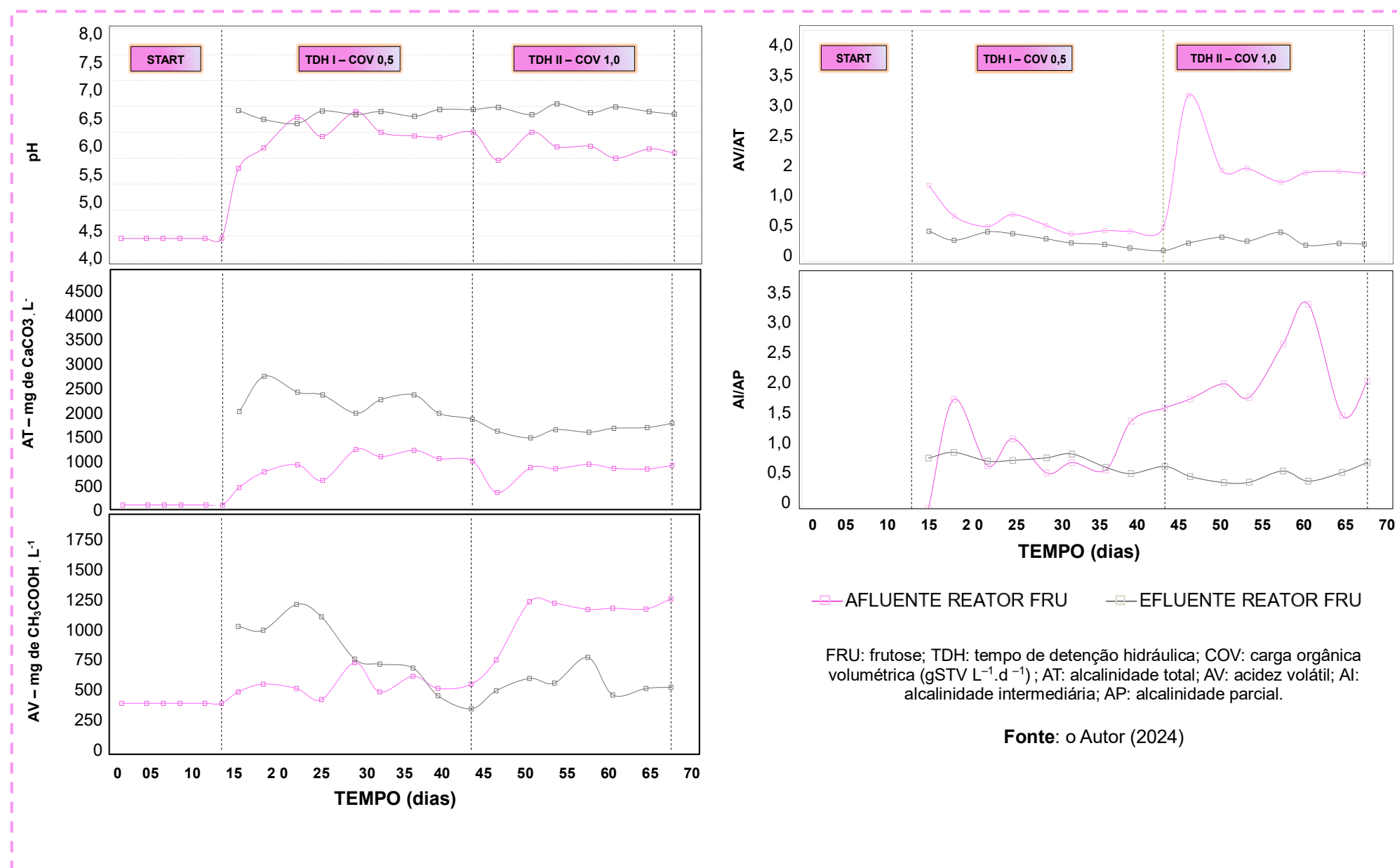
**Tabela 25:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator frutose.

AFLUENTE REATOR FRUTOSE						
	pH $\mu$	AT $\mu$ (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	NAT $\mu$ (mg N-NH <sub>3</sub> . L <sup>-1</sup> )	AV $\mu$ (mg CH <sub>3</sub> OOH.L <sup>-1</sup> )	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
<b>START</b>	4,45	0	412,31	397,20	.	.
<b>TDH I</b>	6,44±0,32	873,07±281,67	106,99±5,56	555,70±92,02	0,70±0,26	0,99±0,60
<b>TDH II</b>	6,17±0,18	737,39±209,85	129,35± 10,85	1180,02±182,29	1,72±0,51	2,25±0,64
EFLUENTE REATOR FRUTOSE						
	pH $\mu$	AT $\mu$	NAT $\mu$	AV $\mu$	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
<b>TDH I</b>	6,85±0,09	2.227,87±295,73	177,14±25,68	837,28±308,50	0,37±0,12	0,79±0,11
<b>TDH II</b>	6,93±0,08	1.617,19±97,93	124,83±13,20	576,29±07,34	0,36±0,08	0,55±0,12

$\mu$ : média; AT: alcalinidade total; NAT: nitrogênio amoniacal total; AV: acidez volátil; AI: alcalinidade intermediária; AP: alcalinidade parcial; START: período de alimentação para completar o volume útil; TDH: tempo de detenção hidráulica.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 21:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator frutose durante o experimento.



Os parâmetros de estabilidade no reator de frutose são comparáveis aos do reator testemunha, mostrado anteriormente na Tabela 21. Há algumas particularidades no comportamento do reator FRU, como a variação entre o pH de entrada e saída, pois em alguns dias durante o primeiro TDH, o pH de entrada foi superior. Enquanto o pH do efluente ainda era afetado pela não retirada de digestato durante o período de start, o pH de afluente se beneficiava da recirculação do sobrenadante filtrado como agente alcalinizante.

A frutose pode se transformar em ácido orgânico em questão de horas, causando sobrecarga no reator (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011), e em resposta há consumo de alcalinidade de bicarbonatos para tentar equilibrar o meio (KHANAL, 2009). A alimentação não é negativamente afetada pela produção de acidez volátil, pois o efluente contém a alcalinidade gerada no sistema, mas com parte dos ácidos orgânicos adsorvidos e sedimentados junto à fração mais densa do digestato (BORTOLOTTI *et al.*, 2023). No segundo TDH, entretanto, sem os efeitos de acúmulo de digestato do start e com a adaptação da microbiota, percebe-se uma distância estável entre o pH da alimentação e do efluente, com ambos sofrendo declínio após a alteração da COV e retomada de normalidade em sequência.

Assim como o reator testemunha, as médias de pH foram abaixo de 7, com 6,95 no TDH I e 6,93 no TDH II. A alcalinidade total também ficou abaixo do recomendado por Holliger *et al.* (2016), mas dentro do indicado por Metcalf & Eddy (2013), de 1 a 5 g de  $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$ . O nitrogênio amoniacal total é inferior ao limite de  $2,5\text{g.L}^{-1}$ . Neste reator a relação C/N se torna mais desbalanceada, visto o aumento de carbono inseridos sem aumento da carga de nitrogênio. Essa disparidade pode causar instabilidade na digestão (CHERNICHARO, 2007).

Ao analisar a alcalinidade total e a acidez volátil, têm-se relação menor que 0,4 no efluente dos dois TDH, estando adequada aos parâmetros de Chatterjee & Mazumder (2020), onde  $\text{AV/AT} < 0,6$ . A relação entre a alcalinidade de ácidos voláteis (AV) e a alcalinidade de bicarbonatos (AT) é de 0,79 no primeiro TDH e 0,55 no segundo TDH. Ambos valores não satisfazem o proposto por Ripley *et al.* (1986),  $\text{AV/AT} < 0,4$ . A menor alcalinidade de bicarbonatos no primeiro TDH (que justificou uma maior relação AV/AT) pode ser justificada pela não retirada de digestato. Deve ser observado que é reportado na literatura relação AV/AT de 0,9 em reatores estáveis, portanto a particularidade de cada processo deve ser considerada (ASSIS; GONÇALVES, 2022).

Em observação de todos os parâmetros de estabilidade, percebe-se pouca diferença entre o reator testemunha e o reator frutose. Embora o reator frutose tenha maior tendência de problemas devido a adição de açúcares e desbalanceamento da relação C/N pela falta de nitrogênio (RASAPOOR *et al.*, 2020), o efeito destes parâmetros pode ter sido minorado pela recirculação de sobrenadante, que trouxe ao reator, mesmo que em pequena escala, alcalinidade e amônia (AQUINO *et al.*, 2023).

#### 5.2.2.2. Parâmetros operacionais de conversão: reator frutose

Os dados de estabilidade do reator de codigestão de RFV e frutose são apresentados na Tabela 26.

**Tabela 26:** monitoramento dos parâmetros de conversão no reator frutose

		TDH I início	TDH I Meio	TDH I fim	TDH I $\mu$	TDH II início	TDH II meio	TDH II $\mu$	Cv (%)
AFLUENTE	DQO (gO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	15,48	15,48	15,48	<b>15,48</b>	30,96	30,96	<b>30,96</b>	-
	STV (g)	9,0	9,0	9,0	<b>9,0</b>	18,0	18,0	<b>18,0</b>	-
	BIO (g.L <sup>-1</sup> )	13,08	13,08	13,08	13,08	26,16	26,16	<b>26,16</b>	-
EFLUENTE	DQO (g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	15,84	14,76	14,18	<b>14,92± 0,84</b>	15,29	13,73	<b>14,51± 1,09</b>	<b>7,51</b>
	DQOc (%)	.	4,66	8,38	<b>4,35± 4,19</b>	50,61	55,64	<b>53,13± 3,55</b>	<b>6,68</b>
	STV (g)	9,05	10,8	8,0	<b>9,28± 1,41</b>	7,2	5,6	<b>6,4± 1,13</b>	<b>15,64</b>
	STVc (%)	-	-	11,16	<b>3,71± 6,44</b>	60,02	68,91	<b>64,46± 6,28</b>	<b>9,74</b>
	BIOc (g.L <sup>-1</sup> )	0,61	0,54	0,62	<b>0,58± 0,04</b>	0,55	0,57	<b>0,561± 0,02</b>	<b>3,57</b>
	BIOc (%)	95,31	95,91	95,27	<b>95,50± 0,29</b>	97,89	97,81	<b>97,85± 0,04</b>	<b>0,04</b>

DQO: demanda química de oxigênio; DQOc: DQO convertida; STV: sólidos totais voláteis; STVc: sólidos totais voláteis convertidos; BIO: biomolécula avaliada, carboidrato; BIOc: conversão de carboidrato; Cv: coeficiente de variação; TDH: tempo de detenção hidráulica; TDH  $\mu$ : média de valores durante o TDH.

**Fonte:** o Autor (2024)

No primeiro TDH, o índice de conversão de DQO e STVs são negativos, com valores superiores no efluente ao afluente, devido a influência do inóculo. A biomolécula frutose, entretanto, tem taxas de conversão mínima de 95% devido sua fácil biodegradação (SONG *et al.*, 2021). No segundo TDH a conversão média é de 53,13% pra DQO e 64,46% pros STVs. Ao digerir cianobactérias ricas em carboidratos, Markou *et al.* (2013) reportam remoção de DQO de aproximadamente

50%, semelhante ao deste experimento. É apresentado pela bibliografia que conversões superiores são podem ser alcançadas ao fazer ajustes operacionais.

Ao utilizar um leite fluidizado no tratamento de uma água residuária artificial saturada de glicose, Yeshanew *et al.* (2016) apontam uma conversão de DQO de 80%. Segundo os autores, a chave para esse resultado foi o uso de material suporte para formação de biofilme. Cavalheira *et al.* (2018) reportam remoções de até 99% ao digerir polpa de maçã, pêra e pêssego em reatores de duas etapas. Por fim, Ampese *et al.* (2022) relatam remoção de por volta de 87% de sólidos voláteis ao digerir polpa de maçã em digestão anaeróbia por rota seca.

Um fato comum entre os autores é a grande geração de metabólitos como ácido propiônico e etanol, indicando que a microbiota não consegue absorver em totalidade o açúcar oferecido em abundância (XU *et al.*, 2020). Embora a DA tradicional tenha o objetivo de majorar a produção de CH<sub>4</sub>, resíduos saturados de açúcares podem gerar outros produtos de alto valor agregado como o acetato, propionato e bio-hidrogênio (ZANON *et al.*, 2020), a partir de poucas alterações operacionais como o decréscimo do pH (3,0<pH<5,5) e a erradicação da microbiota metanogênica no caso de reatores de uma etapa. Em reatores de duas etapas, a produção de CH<sub>4</sub> e H<sub>2</sub> pode ser concomitante no tratamento deste tipo de resíduo (SILLERO; SOLERA; PEREZ, 2023).

### 5.2.2.3. Produção de biogás: reator frutose

A produção de biogás deste reator pode ser observada na Tabela 27 e na Figura 22. O biogás da etapa *start* do reator foi desprezado.

**Tabela 27:** monitoramento da produção de biogás no reator frutose.

	COV RFV	BIOGÁS A (L)	PEB (LkgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> A (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> μ (%)	CO <sub>2</sub> A (L)	CO <sub>2</sub> μ (%)	H <sub>2</sub> S A ppm
TDH I	0,5	67,68	578	35,96	307	53,12± 0,85	31,01	45,85± 0,77	218
TDH II	1,0	222,32	1.122	114,51	578	51,42± 2,65	105,09	47,75± 2,77	4.720
<b>V<sub>TOTAL</sub></b>		<b>290,06</b>		<b>150,47</b>			<b>136,10</b>		<b>4.900</b>

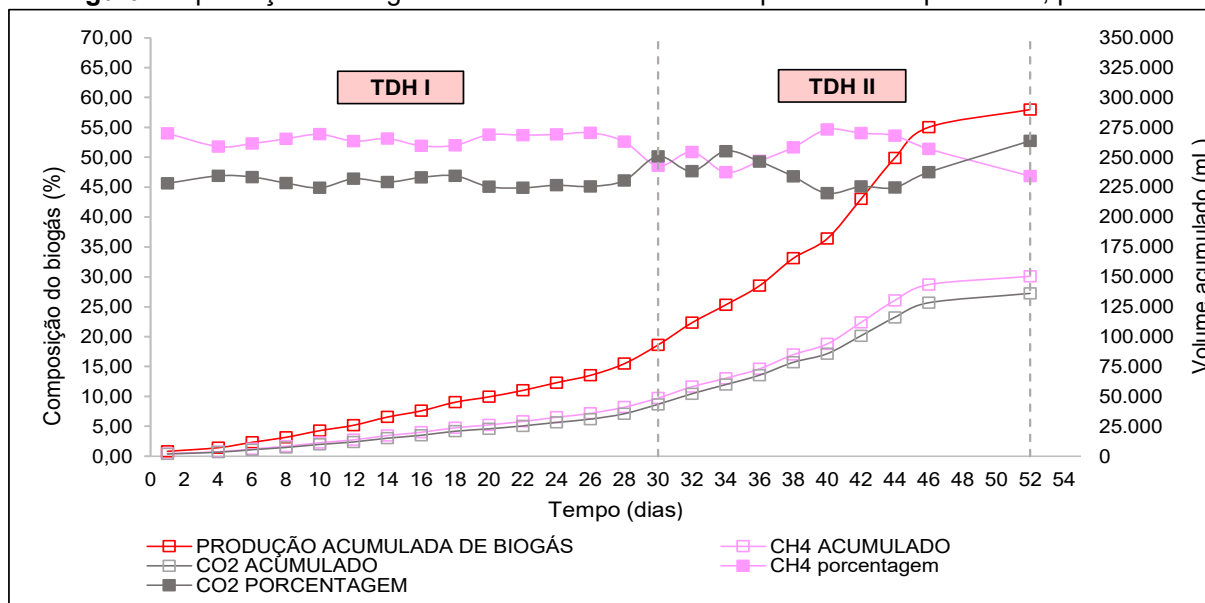
COV: carga orgânica volumétrica, em gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>; BIOGÁS A: volume de biogás acumulado; PEB: produção específica de biogás; CH<sub>4</sub> A: produção acumulada de metano; PEM: produção específica de metano; CH<sub>4</sub> μ: porcentagem média de metano no biogás durante o TDH; CO<sub>2</sub> A: produção acumulada de dióxido de carbono; CO<sub>2</sub> μ: porcentagem média de dióxido de carbono no biogás; H<sub>2</sub>S A: produção acumulada de sulfeto de hidrogênio; Vtotal: volume total durante o experimento.

**Fonte:** o Autor (2024)

A produção acumulada de biogás no reator frutose foi de 290,06 litros formada por 52,48% de CH<sub>4</sub>, 47,46% de CO<sub>2</sub> e 0,6% por outros gases. Em comparação, o reator

testemunha produziu 245,39 litros de biogás dos quais 131,13 litros foram metano e 112,51 de dióxido de carbono, com produções específicas de CH<sub>4</sub> variando de 324 a 518 L kgSTV<sup>-1</sup>. O reator frutose teve produção de 150,47 litros de metano e 136,10 litros de dióxido de carbono, com produções específicas de CH<sub>4</sub> variando entre 307 e 578 kgSTV<sup>-1</sup>.

**Figura 22:** produção de biogás do reator frutose durante o período do experimento, por TDH.



Fonte: o Autor (2024)

Esses resultados mostram que, embora não seja possível afirmar que o reator frutose produziu mais metano (devido aos diferentes balanços de massa entre os reatores), houve um maior volume acumulado de CH<sub>4</sub> produzido no mesmo período. Aumentar a carga de reatores sem comprometer a estabilidade é benéfico, pois há atenuação de mais resíduos no mesmo intervalo de tempo (KUNZ; STEINMETZ; AMARAL, 2019). A adição de frutose e consequente aumento de carga não trouxe prejuízos para estabilidade do processo. Isso porque não houve aumento significativo da produção de CO<sub>2</sub>, que é um dos principais sinais de instabilidade pelo excesso de açúcares (WANG *et al.*, 2022).

Segundo a literatura, a degradação teórica de açúcares puros deve gerar uma produção específica de metano de 350 Lkg.STV<sup>-1</sup> (YESHANEW *et al.*, 2016). Neste experimento o valor teórico foi superado no segundo TDH. Deve ser observado que os açúcares não eram totalidade e existiam, mesmo que em menor escala, proteínas e lipídios para aumentar o teor de metano no biogás. Outro ponto importante é a recirculação do sobrenadante, que é reportado por Li *et al.* (LI *et al.*, 2019) como

principal fator de estabilidade em seu experimento de monoDA de RFV. O autor obteve PEM de 450L. kgSTV<sup>-1</sup> em COV 1,5.

Já Yeshanew *et al.* (2016) tiveram a produção específica de metano máxima de 270 L. kgSTV<sup>-1</sup>, mesmo com a recirculação parcial de efluente. Isto resulta do uso de uma água residuária artificial saturada em glicose, com alcalinidade da recirculação não sendo suficiente para tamponar o sistema. Além destes exemplo, menciona-se a produção específica de metano de 342,9 Lkg.STV<sup>-1</sup> ao digerir arroz cozido (sem sal e sem tempero) (XU *et al.*, 2020), e 354,51 Lkg.STV<sup>-1</sup> ao combinar RFV com outros resíduos alimentares (LI *et al.*, 2020).

A melhora nos teores de metano pode ser alcançada com ajustes operacionais. Tulun & Bilgin (2018) atingiram 897 Lkg.STV<sup>-1</sup> em condições mesofílicas ao digerir polpa de maçã em pré tratamento ultra sônico por 45 minutos, além de usarem tamponadores químicos. Ampese *et al.* (2023) reportam a PEM de aproximadamente 600 Lkg.STV<sup>-1</sup> ao codigerir polpa de maçã com dejetos suíno, valor semelhante ao deste experimento no segundo TDH. Por fim, Nkosi *et al.* (2021) reportam por volta de 1300 Lkg.STV<sup>-1</sup> ao digerir cascas de batatas com dejetos ovino, resultado alcançado pela adição de aditivos metálicos, e pelo balanceamento ideal da relação C/N.

#### 5.2.2.4. Ácidos graxos voláteis: reator frutose

Os AGVs analisados por cromatografia gasosa observados no efluente do reator frutose são apresentados na Tabela 28.

**Tabela 28:** monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator frutose.

	TDH I início	TDH I meio	TDH I fim	% μ	TDH II início	TDH II meio	% μ
Hac	1.799,10	1979,18	2165,34	<b>65,28±4,40</b>	2442,20	2183,41	<b>61,43±0,69</b>
Hpr	212,74	257,03	283,81	<b>8,26± 0,81</b>	660,97	793,43	<b>19,45±3,81</b>
Hib	199,78	254,47	143,42	<b>6,56±1,71</b>	192,49	125,08	<b>4,19± 0,98</b>
Hbu	284,04	266,74	152,88	<b>7,80± 2,66</b>	199,54	148,56	<b>4,60±0,65</b>
Hiva	290,54	196,58	114,93	<b>6,74± 3,40</b>	150,35	122,25	<b>3,61±0,28</b>
Hva	ND	275,37	233,29	<b>5,36±4,66</b>	298,84	210,47	<b>6,73±1,20</b>
<b>ΣAGV</b>	<b>2.786,2</b>	<b>3.229,37</b>	<b>3.093,67</b>	-	<b>3944,39</b>	<b>3.583,2</b>	-

% μ: porcentagem média do ácido em relação a somatória; Hac: ácido acético; Hpr: ácido propiônico; Hib: ácido isobutírico; Hbu: ácido butírico; Hiva: ácido isovalérico; Hva: ácido valérico; ΣAGV: somatória dos AGVs.

Fonte: o Autor (2024)

A digestão da frutose teve o segundo maior volume de AGV no efluente entre os reatores, com valor máximo de quase 4.000mg.L<sup>-1</sup>, menor do que o limite proposto por Shi *et al.* (2022), de 8.000mg.L<sup>-1</sup>. Miramontes-Martínez *et al.* (2021), por outro lado

observam que valores superiores a  $3000\text{mg.L}^{-1}$  já são inibitórios para a metanogênese.

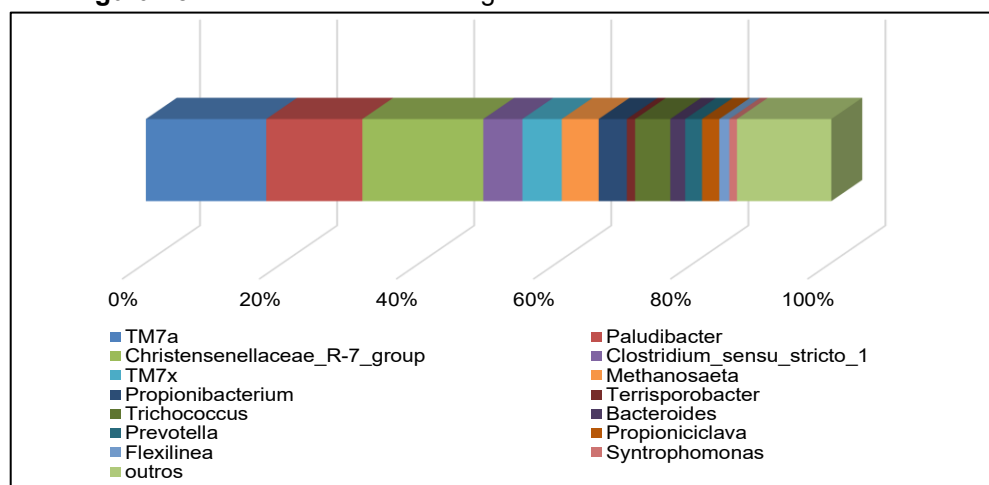
Em ambos TDHs existe predominância de ácido acético, que representa em média 65% no TDH I e 61% no TDH II dos AGVs. Este valor é semelhante ao reportado por Lu *et al.* (2020) de 61,5% ao digerir cascas de batata em pH 7. Os autores informam também o teor de ácido acético médio de 83% quando o pH do experimento foi de 11. Ampese *et al.* (2022) reiteram a influência do pH da formação de ácidos orgânicos. Ao digerir polpa de maçã, houve queda de pH para 5,5 nos primeiros dias, devido alta atividade acidogênica. Neste período a produção de ácido propiônico e butírico superaram o ácido acético, em porcentagem. No meio do TDH com normalização do pH, entretanto, a produção de ácido acético se tornou a mais representante, se mantendo até o final.

O ácido propiônico compôs em média 8,26 e 19,45% dos AGVs, no primeiro e segundo TDH, respectivamente. O aumento no segundo TDH pode estar associado a tendência de acidificação pela maior dosagem de frutose (ZHOU *et al.*, 2018a). Os valores são similares ao reportado por Ampese *et al.* (2022), de em média 20% no período estável de seu reator, assim como para Lu *et al.* (2020) em pH 7. Já o ácido butírico, representa 7,8% e 4,60%. A menor representatividade de ácido butírico em comparação ao propiônico se dá pela formação otimizada de Hbu em pH = 5 (VITAL; HOWE; TIEDJE, 2014). Num pH 6,5 como observado em alguns períodos do reator, a formação de ácido acético, propiônico, butírico e valérico é estimulada em reatores de DA de resíduos alimentares (ZHOU *et al.*, 2018b).

Os ácidos isobutírico, isovalérico e valérico tiveram concentrações máximas de 6,74% no reator. O ácido valérico, em específico, pode ser obtido pela degradação de materiais lignocelulósicos (PERIN, 2023). Estes ácidos são potencialmente limitantes mesmo em concentrações baixas e possuem rota de produção ineficientes em termos energéticos (DIEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011). Caso haja acúmulos, o uso de aditivos pode ser adotado para auxiliar a comunicação da microbiota e priorizar a geração de ácido acético (WANG *et al.*, 2021a).

#### 5.2.2.5. Análise de microbiologia molecular: reator frutose

A abundância relativa dos gêneros de bactérias no efluente do reator frutose é apresentada na Figura 23.

**Figura 23:** abundância relativa de gêneros de bactérias no reator frutose.

Fonte: o Autor (2024)

Assim como os parâmetros anteriores, a abundância relativa de gêneros de bactérias se manteve semelhante entre os reatores frutose e testemunha. O gênero mais representativo com 17,76% foi o *Christensenellaceae\_R-7\_group*. As bactérias desse gênero degradam açúcares simples, são anaeróbias estritas embora possam suportar oxigênio e ao degradar matéria orgânica, produzem um grande volume de hidrogênio (IGNATYEVA *et al.*, 2023). O gênero com segunda maior representatividade foi o *TM7a*, que teve 12,87% no reator testemunha e 17,64% no reator frutose. As bactérias deste gênero são responsáveis por degradar carboidratos estruturais, portanto é antecipado uma parcela considerável em todos os reatores (STARR *et al.*, 2018). Algumas espécies podem degradar algumas proteínas, que podem oferecer alcalinidade ao meio justificando assim o aumento da abundância no reator frutose (TIAN *et al.*, 2022).

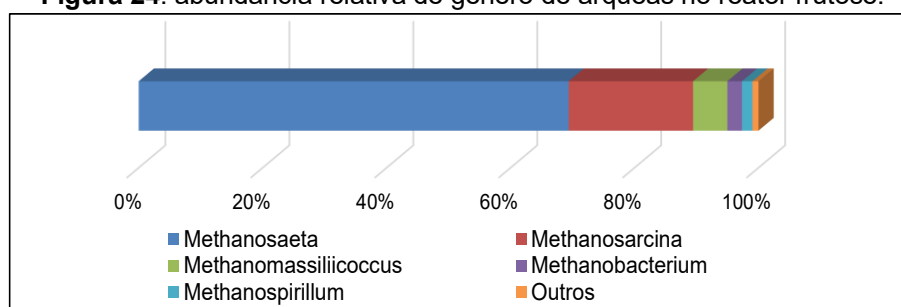
Em terceiro lugar está o gênero *Paludibacter* (14,12%) também responsável por degradar biomassa lignocelulósica. O aumento dos gêneros capazes de degradar açúcares estruturais pode estar associado a vasta disponibilidade de carboidratos, tornando o ambiente apto para crescimento e prosperação de microrganismos mais adaptados (VACILOTTO *et al.*, 2022). Bactérias do gênero *Paludibacter* também são conhecidas pela geração de propionato como metabólito de sua fermentação (EICHHORN *et al.*, 2017). Outro gênero com bactérias que produzem propionato é o *Propionibacterium* (LIU *et al.*, 2023b), que no reator frutose teve 4,17% de abundância relativa. Nota-se então, que assim como o reator testemunha, de fato existe microbiota

vinculada a geração de ácido propiônico conforme evidenciado no tópico de quantificação de AGVs.

O gênero *Clostridium stricto sensu* e o *Trichococcus* aparecem com por volta de 5% de abundância relativa cada. Ambos compostos por bactérias hidrolíticas, que são ativas durante a fase da acidogênese. Os membros do gênero *Clostridium* são conhecidos por sua capacidade de degradar carboidratos e proteínas, e os do *Trichococcus* por gerar metabólitos como o ácido acético e butírico (LIU *et al.*, 2023b). O ácido butírico pode ser degradado pelo gênero *Prevotella*, com algumas espécies degradando também o ácido isovalérico (TRAUTMANN *et al.*, 2020). Este gênero representou 2,47% da abundância relativa de bactérias.

- **ARQUEAS:** a abundância relativa de arqueas é apresentada na Figura 24.

**Figura 24:** abundância relativa de gênero de arqueas no reator frutose.



Fonte: o Autor (2024)

A estabilidade do processo de coDA do reator frutose pode ser validada ao observar a população de arqueas metanogênicas. A predominância de acetoclásticas (89,44%) indica um ambiente adequado para produção de metano, e a predominância de *Methanosaetha* (69,38%) em relação à *Methanosarcina* (20,06%) indica que não há acúmulo de acetato e de amônia (LENDORMI *et al.*, 2022).

As arqueas hidrogenotróficas são representadas pelo gênero *Methanobacterium* (2,35%) e *Methanospirillum* (1,70%). Essas arqueas convertem H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> em metano, numa rota menos eficiente que a acetoclástica (STANTSCHIEFF *et al.*, 2014). A reação é chamada hidrogenotrófica, pois normalmente o hidrogênio atua como doador de elétrons na formação do CH<sub>4</sub>. No entanto, ocasionalmente pode ocorrer com a doação de elétrons pelo formato, e raramente por álcoois secundários, como o etanol, e pelo monóxido de carbono. (SÖLLINGER; URICH, 2019)

Arqueas metilotróficas também foram registradas no efluente do reator frutose. O gênero *Methanomassiliicoccus* teve 5,54% de abundância relativa, sendo maior em comparação às arqueas hidrogenotróficas. As arqueas metilotróficas degradam compostos metílicos e usam hidrogênio como doador de elétrons para formação de gás metano. Estes microrganismos são comumente encontrados em ambientes hostis, sendo responsáveis pela formação de CH<sub>4</sub> no assoalho do oceano, por exemplo (SÖLLINGER; URICH, 2019). As arqueas do gênero *Methanomassiliicoccus* podem usar metanol no seu processo metabólico (WANG *et al.*, 2021b), e sua presença significativa no reator frutose é resultado da formação de álcoois como metanol, etanol, propanol e butanol na degradação de RFV (MAGAMA *et al.*, 2022).

### 5.2.3. Reator CAS: codigestão de RFV e caseína

O reator CAS teve adição de RFV e de caseína. Há 15g.L<sup>-1</sup> de RFV e 10g.L<sup>-1</sup> de caseína, que corresponde a melhor produção observada em batelada. Com isso, a COV real no reator caseína no TDH I é de 0,82gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e no TDH II de 1,67gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Esses valores foram contabilizados no cálculo de produção específica de biogás e de metano.

#### 5.2.3.1. Parâmetros operacionais de estabilidade: reator caseína

Os dados de estabilidade do reator de codigestão de RFV e caseína são apresentados na Tabela 29 e na Figura 25.

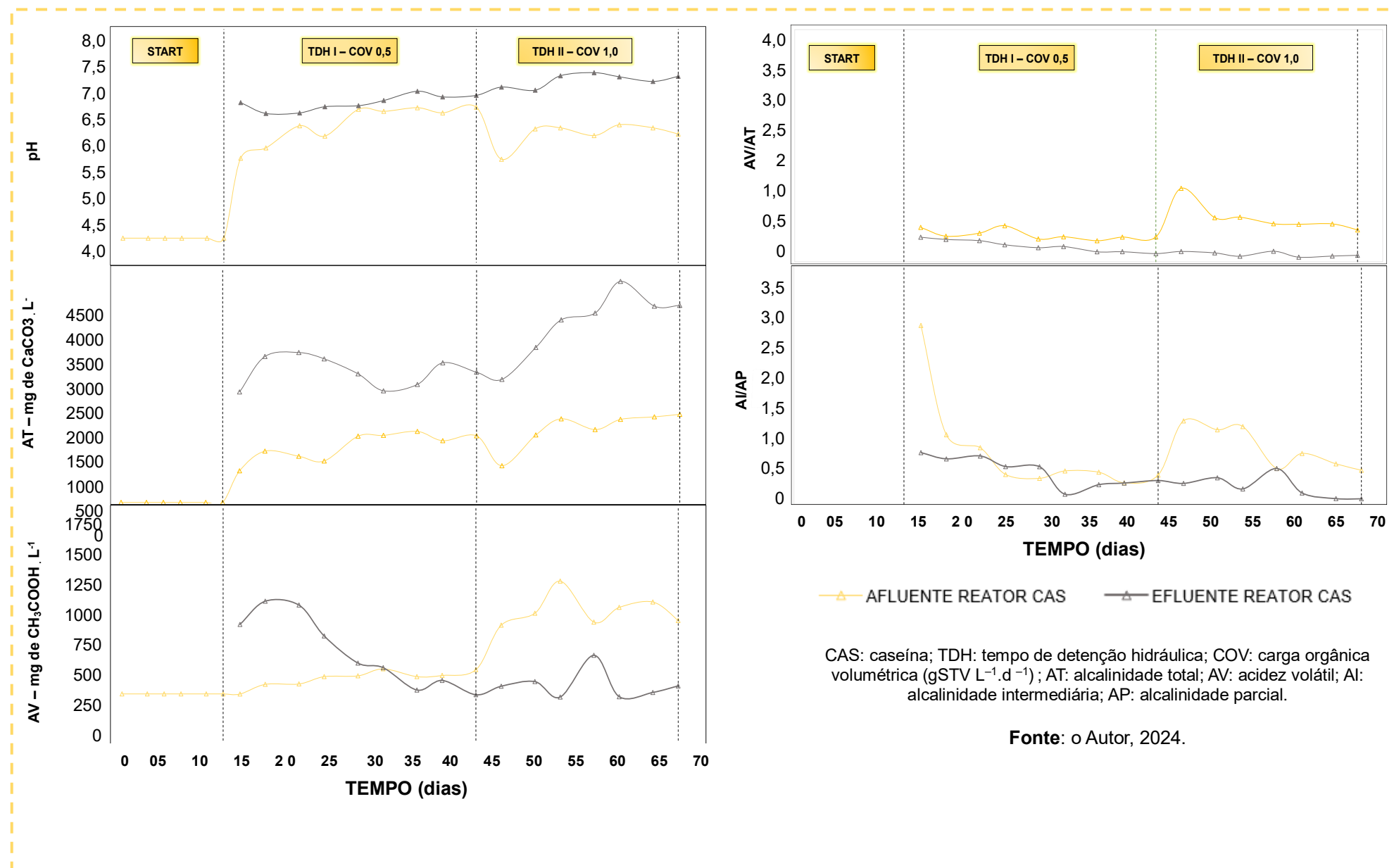
**Tabela 29:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator caseína.

AFLUENTE REATOR CASEÍNA						
	pH $\mu$	AT $\mu$ (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	NAT $\mu$ (mg N-NH <sub>3</sub> . L <sup>-1</sup> )	AV $\mu$ (mg CH <sub>3</sub> OOH.L <sup>-1</sup> )	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
START	4,45	0	412,31	397,20	.	.
TDH I	6,66±0,37	1.192,44±294,64	206,25± 47,55	533,32±67,88	0,46±0,09	0,89±0,83
TDH II	6,47±0,23	1.576,70±384,07	518,50±99,34	1.119,24±131,9	0,76±0,24	0,95±0,36
EFLUENTE REATOR CASEÍNA						
	pH $\mu$	AT $\mu$	NAT $\mu$	AV $\mu$	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
TDH I	7,08±0,05	2.792,04±318,92	426,42±65,77	764,96±307,79	0,27±0,10	0,55±0,24
TDH II	7,52±0,01	3.853,69±685,62	828,06±151,5	475,81±123,22	0,13±0,04	0,29±0,19

$\mu$ : média; AT: alcalinidade total; NAT: nitrogênio amoniacal total; AV: acidez volátil; AI: alcalinidade intermediária; AP: alcalinidade parcial; START: período de alimentação para completar o volume útil; TDH: tempo de detenção hidráulica.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 25:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator caseína durante o experimento.



O pH do efluente do reator caseína foi em média 7,08 no primeiro TDH e 7,56 no segundo TDH, sendo o maior registrado entre as condições analisadas e o único que esteve constantemente acima de sete durante o período experimental. A alcalinidade total, assim como o pH, esteve dentro os parâmetros apresentados como adequados pela literatura, com valores maiores que 3 (HOLLIGER *et al.*, 2016) e entre 1 a 5g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  (METCALF & EDDY, 2013).

Tais valores podem ser explicados pela degradação da caseína, que forma bicarbonato de amônio como agente tamponador (KHANAL, 2009). Dentro deste processo também há formação de amônia, que pode ser inibitória para a metanogênese. A maior taxa de amônia livre tende a se formar em pHs ácidos, contudo (PEDIZZI; LEMA; CARBALLA, 2017). Ao monitorar o nitrogênio amoniacal total do efluente, o maior valor registrado foi 0,8g  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  no segundo TDH. Tal valor é menor que o limite de inibição sugerido pela literatura, de 2,5g  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  (HOLLIGER *et al.*, 2016). Possivelmente não houve acúmulo de  $\text{N-NH}_3$  devido a necessidade de balanceamento da relação C/N para digestão estável do RFV, com parte do nitrogênio sendo assimilado pela biomassa e aumentando a densidade da microbiota (ISHA *et al.*, 2021).

Inversamente proporcional ao pH e a AT, a acidez volátil diminuiu no efluente do segundo TDH, mas foi maior no afluente. Os valores superiores no afluente podem ser explicados pela recirculação de sobrenadante, já que não ocorre degradação completa dos ácidos orgânicos formados no reator, com parte deles sendo solubilizadas no digestato (ZHENG *et al.*, 2020). De toda forma, a AV no efluente foi menor que 1g de  $\text{CH}_3\text{COOH} \cdot \text{L}^{-1}$  em ambos TDH, limite reportado pela literatura (HOLLIGER *et al.*, 2016).

Comparando a acidez e a alcalinidade pela relação AV/AT, têm-se valor menor que 0,4 nos dois TDHs, sendo esse um indicativo de estabilidade (LI *et al.*, 2019). No segundo TDH, o valor foi próximo de 0,1. Para Chatterjee & Mazumder (2019), valores menores de  $\text{AV/AT} < 0,1$  indicam subnutrição do reator devido ausência da formação de ácidos orgânicos. Neste experimento, entretanto, a relação foi próxima de 0,1 pelo aumento da alcalinidade total, que é denominador da proporção. Sobre as outras alcalinidades, o efluente deste reator teve a menor proporção Al/AP em comparação aos outros reatores nesta pesquisa. Al/AP deve ser menor que 0,4 para (CHERNICHARO, 2007), mas há relatos de digestões estáveis com  $\text{Al/AP} < 0,9$

(ASSIS; GONÇALVES, 2022) e AI/AP <0,7 (PERIN, 2023). Neste experimento a AI/AP mais notável foi de 0,55 no segundo TDH.

### 5.2.3.2. Parâmetros operacionais de conversão: reator caseína

Os dados de conversão do reator de codigestão de RFV e caseína são apresentados na Tabela 30.

**Tabela 30:** monitoramento dos parâmetros de conversão no reator caseína

AFLUENTE		TDH I	TDH I	TDH I	TDH I	TDH II	TDH II	TDH II	Cv (%)
		início	Meio	fim	$\mu$	início	meio	$\mu$	
AFLUENTE	DQO (gO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	20,36	20,36	20,36	20,36	40,72	40,72	40,72	-
	STV (g)	12,75	12,75	12,75	12,75	25,50	25,50	25,50	-
	BIO (g.L <sup>-1</sup> )	4,35	4,35	4,35	4,35	8,70	8,70	8,70	-
EFLUENTE	DQO (g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	19,06	17,63	16,53	<b>17,74±1,27</b>	17,23	16,793	<b>17,08±0,21</b>	1,23
	DQOc (%)	6,36	13,39	18,82	<b>12,90±6,24</b>	57,69	58,42	<b>58,04±0,52</b>	0,90
	STV (g)	12,90	10,45	8,55	<b>10,63±2,18</b>	7,5	6,6	<b>7,05±0,64</b>	9,08
	STVc (%)	-	18,00	32,90	<b>25,49±13,11</b>	70,60	74,10	<b>72,35±1,25</b>	1,73
	BIOc (g.L <sup>-1</sup> )	2,88	3,04	3,15	<b>3,02±0,13</b>	4,04	3,90	<b>3,97±0,09</b>	2,27
	BIOc (%)	33,80	30,46	27,41	<b>30,55±3,19</b>	53,59	55,11	<b>54,35±1,07</b>	1,95

DQO: demanda química de oxigênio; DQOc: DQO convertida; STV: sólidos totais voláteis; STVc: sólidos totais voláteis convertidos; BIO: biomolécula avaliada, proteína; BIOc: conversão de proteína; Cv: coeficiente de variação; TDH: tempo de detenção hidráulica; TDH  $\mu$ : média de valores durante o TDH.

**Fonte:** o Autor (2024)

A não remoção de digestato no período de start também teve reflexos na DQO e STV do reator caseína durante o primeiro TDH. Diferente dos outros, entretanto, a conversão de DQO não foi negativa em nenhum momento e a conversão de STVs se iniciou no meio do TDH. Assim como cogitado, o balanceamento da relação C/N pode ter sido decisiva nessas conversões (MORALES-POLO *et al.*, 2019), sendo as maiores registradas entre todos os reatores no fim do segundo TDH. Por outro lado, assim como esperado, a conversão de proteínas não variou de 50%, mesma situação observada nos reatores de batelada. Apesar da conversão satisfatória de sólidos voláteis, pós-tratamentos são recomendáveis em reatores de resíduos proteicos (TÁPPARO *et al.*, 2021).

Os dados de conversão apresentados na literatura são variados. (2021) reporta conversão máxima de 66% de STVs e 55% de DQO ao codigerir RFV com dejetos de aves poedeiras diluídos. Ao trabalhar com o mesmo substrato, de Quadros (DE QUADROS, 2023) teve conversão máxima de 83% de STVs e 70% de DQO. A autora adotou o uso de biocarvão com recirculação do material aditivo pré-carregado com microrganismos para alcançar esses resultados superiores.

Já Isha et al. (2021) reportam remoção máxima de 30% dos sólidos voláteis ao digerir resíduos alimentícios com proteína vegetal. Os autores apontam essa baixa conversão ao alto teor de sólidos fixos do co-substrato. Teores semelhantes de remoção foram observados por Ros et al. (2017) ao digerir polpa de maçã com dejetos suíno. Os dejetos animais são interessantes co-substratos para resíduos ricos em açúcares, devido ao alto teor de nitrogênio e ao balanceamento da relação C/N (MASEBINU et al., 2018). Por possuírem um alto teor de sólidos fixos, as rotas de digestão seca ou semisseca podem ser abordadas para tratamento de resíduos em reatores de menor volume (CHEN et al., 2023).

### 5.2.3.3. Produção de biogás: reator caseína

A produção de biogás deste reator pode ser observada na Tabela 31 e na Figura 26. O biogás da etapa *start* do reator foi desprezado.

**Tabela 31:** monitoramento da produção de biogás no reator caseína.

	COV RFV	BIOGÁS A (L)	PEB (LkgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> A (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> μ (%)	CO <sub>2</sub> A (L)	CO <sub>2</sub> μ (%)	H <sub>2</sub> S A ppm
TDH I	0,5	72,53	514	42,28	300	57,96± 2,61	29,44	40,89± 2,56	847
TDH II	1,0	257,64	1,080	146,23	613	56,70± 1,32	108,41	42,15± 1,23	6810
<b>V<sub>TOTAL</sub></b>		<b>330,17</b>		<b>188,51</b>			<b>137,84</b>		<b>7.600</b>

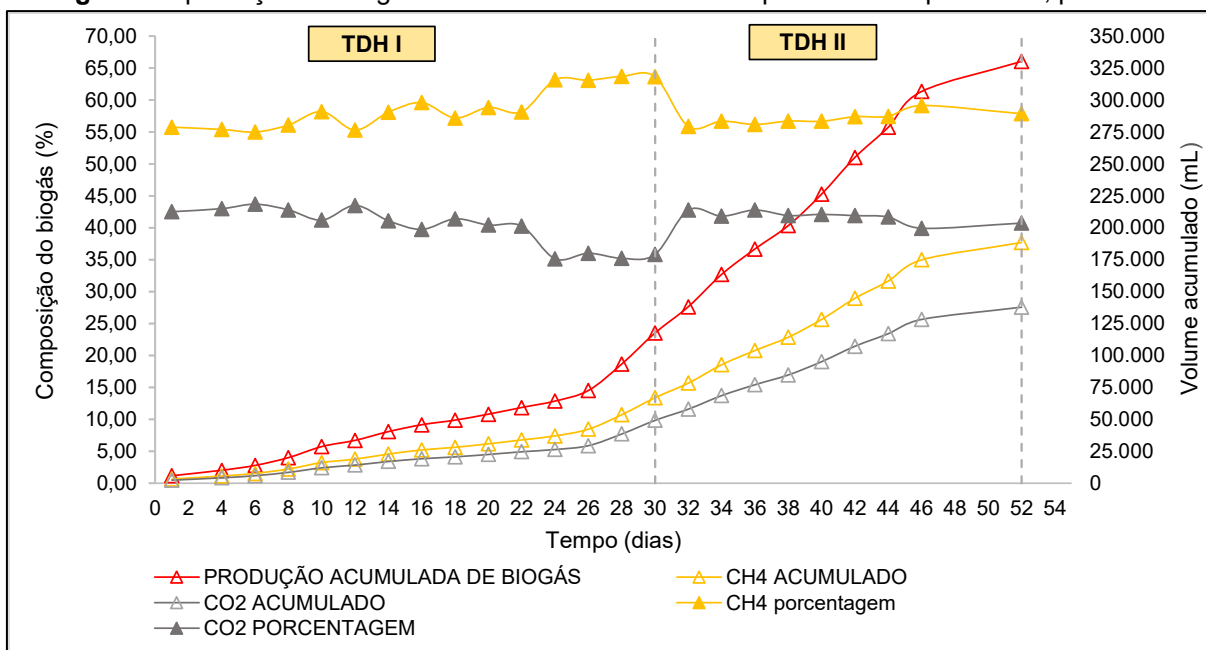
COV: carga orgânica volumétrica, em gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>; BIOGÁS A: volume de biogás acumulado; PEB: produção específica de biogás; CH<sub>4</sub> A: produção acumulada de metano; PEM: produção específica de metano; CH<sub>4</sub> μ: porcentagem média de metano no biogás durante o TDH; CO<sub>2</sub> A: produção acumulada de dióxido de carbono; CO<sub>2</sub> μ: porcentagem média de dióxido de carbono no biogás; H<sub>2</sub>S A: produção acumulada de sulfeto de hidrogênio; Vtotal: volume total durante o experimento.

**Fonte:** o Autor (2024)

A produção acumulada de biogás do reator caseína foi de 330,17 litros, dos quais 57,51% são CH<sub>4</sub>, 42,20% são CO<sub>2</sub> e 0,3% são outros gases, sendo a maior produção acumulada de biogás e de metano entre as condições experimentais. A produção específica de metano foi de 300 L.kgSTV<sup>-1</sup> no TDH I e 613 L.kgSTV<sup>-1</sup> no TDH II. No segundo TDH, tem-se também a maior produção específica de metano entre todas as condições experimentais, apesar de possuir a COV real mais alta entre

os reatores. Essas produções superiores são justificáveis pelo fornecimento de alcalinidade pelo bicarbonato de amônio e balanceamento da relação C/N (DAREIOTI et al., 2021).

**Figura 26:** produção de biogás do reator caseína durante o período do experimento, por TDH.



Fonte: o Autor (2024)

Ros et al. (2017) relataram uma variação na porcentagem de metano, situando-se entre 60% e 70%, durante a codigestão de RFV com dejetos suíno. Segundo os autores, a menor taxa ocorreu quando o NAT total atingiu  $5\text{g.L}^{-1}$ . Embora esse valor seja o dobro do limite proposto por Holliger et al. (2016), a necessidade de nitrogênio para equilibrar a relação C/N do RFV pode justificar o aumento desse limite, que não resultou no colapso do reator. Isha et al. (2021) observaram uma PEM igual a  $151,48\text{ L.kgSTV}^{-1}$  durante a digestão de RFV com um co-substrato proteico de alto teor de sólidos fixos, o que impactou a conversão de sólidos voláteis. Outra produção inferior ao digerir resíduos semelhantes ao dessa pesquisa foi registrado por Quadros et al. (2022a), que obtiveram uma PEM de  $122,5\text{ L.kgSTV}^{-1}$  durante a codigestão de RFV com lixiviado de aterro, que é recalcitrante e apresentava um NAT acima do limite tolerado pelo sistema.

Já Molinuevo-Salces et al. (2020) reportam PEM de  $596\text{ L.kgSTV}^{-1}$ , bastante semelhante a deste experimento no TDH II, ao codigerir polpa de frutas com dejetos suíno. O valor é semelhante ao de Mlaik et al. (2024) que reportam produção específica de  $584\text{ L.kgSTV}^{-1}$  ao codigerir RFV com dejetos de aves e de gado. Por outro

lado, Miramontes-Martínez et al. (2021) registram PEM de 663 L.kgSTV<sup>-1</sup> ao codigerir RFV com dejetos bovinos e de aproximadamente 1300 L.kgSTV<sup>-1</sup> ao codigerir RFV com efluente de abatedouro, que é rico em amônia mas também em lipídios.

#### 5.2.3.4. Ácidos graxos voláteis: reator caseína

Os AGVs analisados por cromatografia gasosa observados no efluente do reator caseína são apresentados na Tabela 32.

**Tabela 32:** monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do reator caseína.

	<b>TDH I</b>	<b>TDH I</b>	<b>TDH I</b>	<b>%</b>	<b>TDH II</b>	<b>TDH II</b>	<b>%</b>
	<b>início</b>	<b>meio</b>	<b>fim</b>	<b>μ</b>	<b>início</b>	<b>meio</b>	<b>μ</b>
<b>Hac</b>	1.218,25	1.012,94	934,97	<b>62,32±4,21</b>	1.426,17	1.315,62	<b>63,72±2,42</b>
<b>Hpr</b>	270,84	198,73	179,55	<b>12,78±2,53</b>	371,64	187,14	<b>13,01±2,06</b>
<b>Hib</b>	101,17	78,29	66,71	<b>4,85±2,14</b>	136,17	95,14	<b>5,36±1,83</b>
<b>Hbu</b>	195,23	162,10	126,93	<b>7,61±1,83</b>	210,14	155,15	<b>8,42±0,24</b>
<b>Hiva</b>	114,87	105,54	82,15	<b>5,96±1,75</b>	104,87	75,54	<b>4,08±0,37</b>
<b>Hva</b>	ND	90,90	86,43	<b>3,49±5,71</b>	131,5	101,77	<b>5,41±1,91</b>
<b>ΣAGV</b>	<b>1.955,27</b>	<b>1.648,5</b>	<b>1.476,74</b>	<b>-</b>	<b>2.375,27</b>	<b>1.927,24</b>	<b>-</b>

% μ: porcentagem média do ácido em relação a somatória; Hac: ácido acético; Hpr: ácido propiônico; Hib: ácido isobutírico; Hbu: ácido butírico; Hiva: ácido isovalérico; Hva: ácido valérico; ΣAGV: somatória dos AGVs.

**Fonte:** o Autor (2024)

O reator caseína teve o menor volume de ácidos no efluente entre as condições experimentais. Os valores totais de ácidos orgânicos são menores que o proposto por Shi et al. (2022) de 8.000mg.L<sup>-1</sup> e Miramontes-Martínez (2021) et al. de 3.000mg.L<sup>-1</sup>. A redução de ácidos orgânicos no efluente sugere uma melhor conversão da matéria orgânica (ELIASSON; SCHNÜRER; SINGH, 2023), o que é coerente com os valores de estabilidade, conversão e produção de biogás.

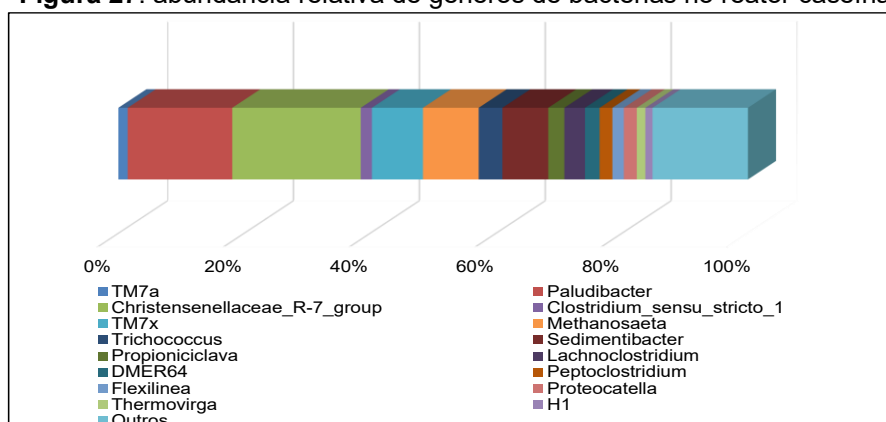
Assim como nos outros reatores, houve predominância do ácido acético correspondendo a aproximadamente 62% dos AGVs nos primeiros TDH e 63% no TDH II. O segundo lugar é ocupado pelo ácido propiônico, com aproximadamente 13% de participação nos dois TDHs. Ao digerir RFV com dejetos de aves de postura, de Quadros (2023) relata que a soma dos dois ácidos representou por volta de 80% da composição de AGVs do seu digestato. Esta também é a proporção reportada por Ampese et al. (2017) ao digerir polpa de maçã com dejetos suínos, também sendo observada neste experimento. Ao digerir resíduos alimentícios com resíduos proteicos, espera-se representatividade no teor de ácido propiônico. Caso haja desbalanço da relação C/N com excesso de nitrogênio, a geração de ácido propiônico pode ser inibida (ZHOU et al., 2018b).

O terceiro ácido mais representativo é o Hbr, com aproximadamente 7% no primeiro TDH e 8% no segundo TDH. Em pH neutro, espera-se maior produção destes três ácidos, que vem da degradação direta do piruvato. O menor teor de ácido propiônico e butírico em relação aos outros reatores indica que as arqueas conseguiram absorver a produção de acetato (LIU et al., 2023). Já para os outros ácidos como o valérico e isovalérico, a produção é mais acentuada em reatores com alto teor de proteínas a serem degradadas (DAREIOTI et al., 2021). A rota de produção se dá pela degradação direta de aminoácidos por microrganismos específicos ou pelo alongamento do ácido propiônico. Como não houve excesso de ácido propiônico devido a estabilidade do reator, possivelmente a geração de Hva foi impactada.

#### 5.2.3.5. Análise de microbiologia molecular: reator caseína.

A abundância relativa dos gêneros de bactérias no efluente do reator caseína é mostrada na Figura 27.

**Figura 27:** abundância relativa de gêneros de bactérias no reator caseína



Fonte: o Autor (2024)

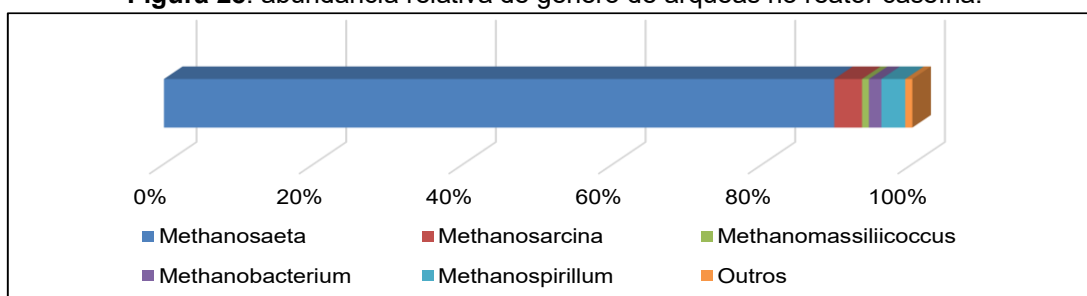
Assim como nos reatores anteriores, houve predominância do gênero *Christensenellaceae\_R-7\_group*, com por volta de 20,40% de abundância relativa no reator caseína. Embora degrade açúcares simples, bactérias deste gênero podem degradar aminoácidos e ácidos carboxílicos complexos, deixando o ácido acético e o butírico como principais metabólitos (CHEN et al., 2020). O segundo maior gênero é o *Paludibacter* com 16,61%. Bactérias deste gênero podem produzir ácido propiônico a partir de açúcares e proteínas (EICHHORN; MARK VAN DER LINDEN, MICHAEL JAREK; FULDE, 2017). Embora não seja a rota mais simples, algumas arqueas podem degradar o propionato em CH<sub>4</sub> (YANG et al., 2018).

O próximo gênero com maior abundância é o *TM7x*, com 8% de representatividade. Este gênero tem representantes capazes de degradar uma vasta gama de substratos, como açúcares simples, carboidratos estruturais, ácido oleico e ácido butírico no seu metabolismo. Para algumas espécies filamentosas, não há consumo de acetato, propionato, piruvato, glicerol e etanol em seu metabolismo (KINDAICHI et al., 2016). Com também aproximadamente 8%, o gênero *Sedimentibacter* foi registrado apenas no reator caseína com uma abundância relevante. Isso porque as bactérias deste gênero tem um papel crucial na degradação de aminoácidos para formação de ácidos orgânicos (AMIN et al., 2021). Curiosamente, o acúmulo de amônia tem correlação negativa na população destes microrganismos (MENG et al., 2018).

Na faixa dos 3% de abundância relativa têm-se os gêneros *Lachnoclostridium*, com uma variedade de possíveis substratos. Neste reator, possivelmente foi o responsável por transformar o ácido láctico formado da degradação da caseína em ácido butírico (HIRMAS et al., 2022). Com 2,34% tem-se o gênero *DMER64*, com bactérias sintróficas na degradação de acetato, em conjunto com as arqueas. O aumento da população da *DMER64* está vinculado ao aumento de NAT (SHI et al., 2022). Por fim, o gênero *Proteotella* representou 2% de abundância relativa, e tem bactérias com comportamento proteolítico, quitinolítico e amilolítico (BARRAGÁN-TRINIDAD et al., 2017). Assim como o gênero *Sedimentibacter*, o *Lachnoclostridium*, *DMER64* e *Proteotella* foram registrados apenas no reator caseína.

- **ARQUEAS:** a abundância relativa de arqueas é apresentada na Figura 28.

Dentre os gêneros de arqueas, novamente há predominância das acetoclásticas *Methanosaeta* (89,56%) e *Methanosarcina* (3,71%). O decréscimo da população de *Methanosarcina* pode estar associado a uma digestão mais estável, visto que arqueas do gênero *Methanosaeta* são especialistas na degradação de acetato (MORI et al., 2012), indicando que não houve acúmulo deste parâmetro tampouco de amônia ou outros ácidos voláteis (LENDORMI et al., 2022).

**Figura 28:** abundância relativa de gênero de arqueas no reator caseína.

Fonte: O autor (2024)

Por este mesmo motivo, a representatividade dos gêneros hidrogenotróficos *Methanospirillum* (3,19%) e *Methanobacterium* (1,67%) foi menor, visto que não havia excedente de hidrogênio e dióxido de carbono no reator, que são metabólitos de ambientes acidificados (CARVALHEIRA et al., 2018). O gênero *Methanomassiliicoccus* (0,92%) que produz CH<sub>4</sub> por rota metilotrófica também foi minorado em função do pH, visto indisponibilidade de hidrogênio como doador de elétrons e menor volume de metanol produzido na degradação de RFV, que ocorre em pH ácido. (SOGODOGO; DRANCOURT; GRINE, 2019).

#### 5.2.4. Reator A.P.: codigestão de RFV e ácido palmítico.

O reator A.P. teve adição de RFV e de ácido palmítico. A COV real no reator A.P. no TDH I é de 0,67gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e no TDH II de 1,33gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, corrigida em função dos melhores resultados em batelada de A.P. de 5g.L<sup>-1</sup> STV.

##### 5.2.4.1. Parâmetros operacionais de estabilidade: reator ácido palmítico:

Os parâmetros operacionais de estabilidade são apresentados na Figura 29 e na Tabela 33.

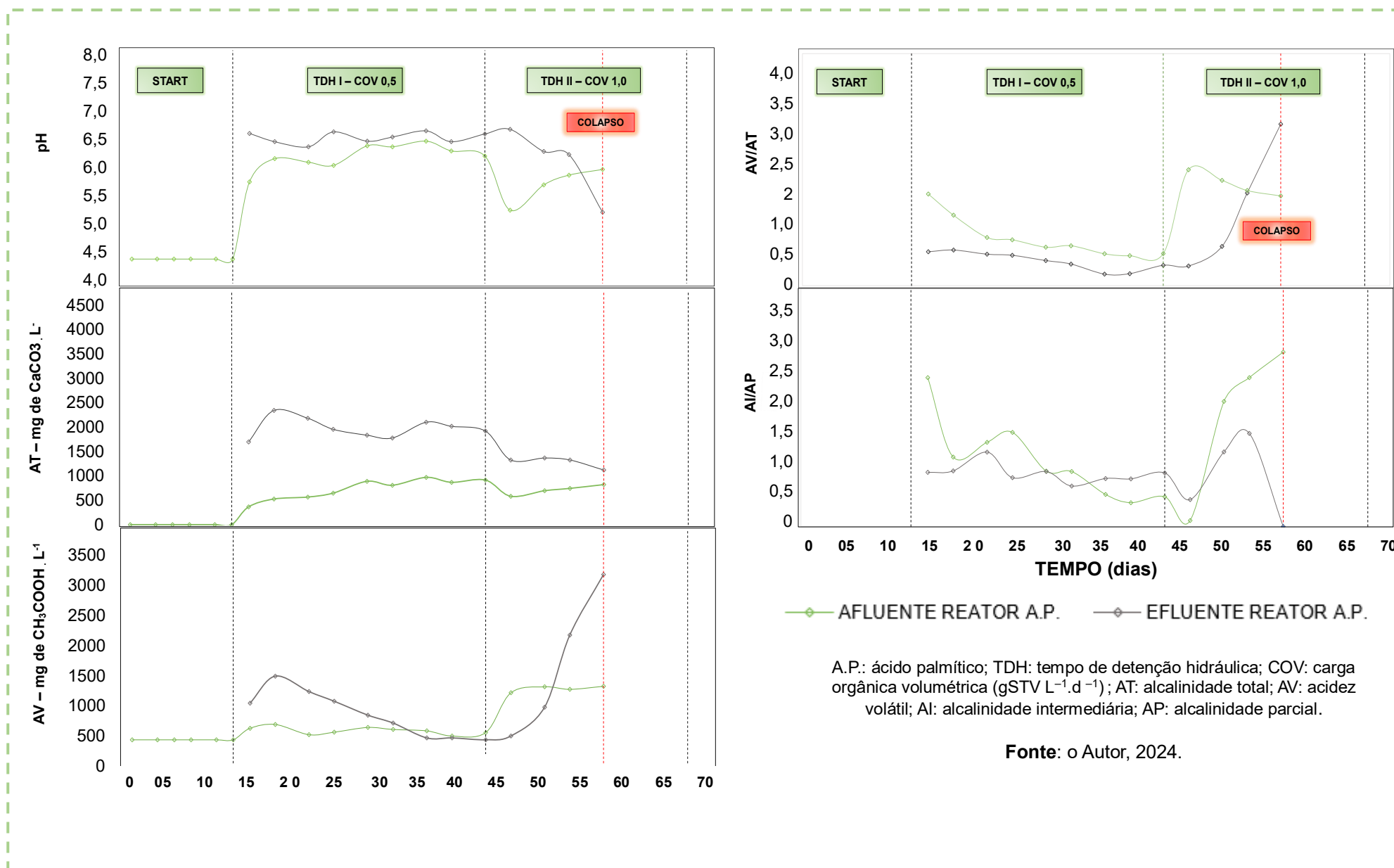
**Tabela 33:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade no reator ácido palmítico.

AFLUENTE REATOR ÁCIDO PALMÍTICO						
	pH $\mu$	AT $\mu$ (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	NAT $\mu$ (mg N-NH <sub>3</sub> . L <sup>-1</sup> )	AV $\mu$ (mg CH <sub>3</sub> OOH.L <sup>-1</sup> )	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
START	4,45	0	412,31	397,20	.	.
TDH I	6,44±0,24	757,90±218,40	137,54±12,55	557,72±62,89	0,82±0,36	1,11±0,66
TDH II	5,89±0,35	739,62±104,17	172,79±16,08	1.278,58±51,07	1,75±0,20	1,91±1,25
EFLUENTE REATOR ÁCIDO PALMÍTICO						
	pH $\mu$	AT $\mu$	NAT $\mu$	AV $\mu$	AV/AT $\mu$	AI/AP $\mu$
TDH I	6,81±0,11	2.062,89±213,15	225,17±13,18	844,06±390,19	0,42±0,15	0,89±0,16
TDH II	6,34±0,69	1.336,96±116,09	163,10±17,81	1.718±1.252	1,35±1,09	0,82±0,72

$\mu$ : média; AT: alcalinidade total; NAT: nitrogênio amoniacal total; AV: acidez volátil; AI: alcalinidade intermediária; AP: alcalinidade parcial; START: período de alimentação para completar o volume útil; TDH: tempo de detenção hidráulica.

Fonte: o Autor (2024)

**Figura 29:** monitoramento dos parâmetros de estabilidade do reator ácido palmítico durante o experimento.



No efluente deste reator, o pH permaneceu consistentemente abaixo de 7, mesmo durante o primeiro TDH, quando a digestão apresentou estabilidade (pH  $\cong$  6,86). No segundo TDH, o valor mínimo registrado foi de 5,20, apesar da média ter sido de 6,84. Curiosamente, nos dias próximos ao colapso, o pH do afluente foi superior ao do efluente, atingindo 6,19. Assim como no reator de frutose, é possível que parte dos AGVS acumulados tenha sido sedimentada e adsorvida no lodo (BORTOLOTTI ET AL., 2023). Outro ponto que pode ter colaborado é a formação de amônia proveniente da microbiota a ser recirculada (ZAMANZADEH et al., 2016). Além disso, devido à natureza sólida do ácido palmítico, as partículas não degradadas foram retidas durante o processo de filtração do sobrenadante.

A alcalinidade total se manteve dentro dos valores adequados para o efluente durante o TDH I e TDH II, não ficando abaixo de 1g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  (METCALF & EDDY, 2013). Apesar disso, a alcalinidade do efluente estava próxima à alcalinidade do afluente no início do segundo TDH. Possivelmente a alcalinidade intermediária proveniente dos ácidos orgânicos influiu o valor de AT (LI et al., 2017). Outro ponto que pode ter interferiu na estabilidade foi o desbalanceamento ainda mais da relação C/N, visto o alto teor de carboidratos e baixa representatividade de nitrogênio, com valores médios de NAT próximos a 0,2g de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ .

A confirmação de um colapso se manifestou na acidez volátil, que teve um crescimento acentuado logo após a mudança de carga. O maior valor registrado para este parâmetro foi de 3,2g de  $\text{CH}_3\text{COOH} \cdot \text{L}^{-1}$ . O aumento abrupto da acidez volátil pode ser explicado pelo processo de degradação de lipídios. O ácido palmítico, um ácido graxo de cadeia longa - LCFA, é degradado por enzimas ou pela  $\beta$  oxidação (LCFA são beta-oxidados por bactérias formadoras de acetato e  $\text{H}_2$ ), sendo que ambos tendem a acidificar o meio (MACKIE; WHITE; BRYANT, 1991). Com o aumento da concentração de acidez volátil e a duplicação da carga de ácido palmítico, ocorreu o colapso do reator.

A relação entre AV/AT se manteve menor que 0,6 no primeiro TDH, indicando adequação aos limites propostos por Chatterjee & Mazumder (2019). No segundo TDH o maior valor registrado foi de 2,4, com crescimento exponencial entre as alimentações. A relação AI/AP foi de 0,89 no primeiro TDH, próximo ao limite relatado por Assis e Gonçalves, de 0,9. Embora a relação AI/AP tenha sido menor no segundo TDH (0,82), observa-se o alto desvio padrão. Para este parâmetro, a relação mais alta

observada no efluente foi de 1,56. Os valores acentuados entre AI/AP confirmam a ação dos ácidos orgânicos no aumento da alcalinidade total.

#### 5.2.4.2. Parâmetros operacionais de conversão: reator ácido palmítico

Os parâmetros de conversão para o reator A.P. são apresentados na Tabela 34.

**Tabela 34:** monitoramento nos parâmetros de conversão no reator A.P.

AFLUENTE		TDH I	TDH I	TDH I	TDH I	TDH II	TDH II	TDH II	Cv (%)
		início	Meio	fim	$\mu$	início	meio	$\mu$	
AFLUENTE	DQO (gO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	19,52	19,52	19,52	<b>19,52</b>	39,06	39,06	<b>39,06</b>	-
	STV (g)	9,6	9,6	9,6	<b>9,6</b>	19,24	19,24	<b>19,24</b>	-
	BIO (g.L <sup>-1</sup> )	2,71	2,71	2,71	<b>2,71</b>	5,41	5,41	<b>5,41</b>	-
EFLUENTE	DQO (g O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	18,79	17,53	13,48	<b>16,60± 2,77</b>	28,27	32,19	<b>30,23± 2,77</b>	<b>9,17</b>
	DQOc (%)	3,73	10,21	30,91	<b>14,95± 14,20</b>	27,60	17,56	<b>22,58± 7,09</b>	<b>31,44</b>
	STV (g)	11,25	9,25	7,10	<b>9,20± 2,08</b>	9,85	11,60	<b>10,73± 1,24</b>	<b>11,54</b>
	STVc (%)	-	3,85	26,20	<b>10,03± 14,15</b>	48,91	39,71	<b>44,31± 6,51</b>	<b>14,68</b>
	BIOc (g.L <sup>-1</sup> )	1,08	1,20	1,0	<b>1,09± 0,1</b>	3,22	3,85	<b>3,54± 0,45</b>	<b>12,60</b>
	BIOc (%)	59,98	55,81	62,87	<b>59,55± 3,55</b>	40,51	28,76	<b>34,64± 8,31</b>	<b>23,99</b>

DQO: demanda química de oxigênio; DQOc: DQO convertida; STV: sólidos totais voláteis; STVc: sólidos totais voláteis convertidos; BIO: biomolécula avaliada, lipídio; BIOc: conversão de lipídios; Cv: coeficiente de variação; TDH: tempo de detenção hidráulica; TDH  $\mu$ : média de valores durante o TDH.

**Fonte:** o Autor (2024)

As maiores taxas de conversão para DQO, STVs e lipídios foram respectivamente 30,91% (fim do TDH I), 48,91% (início do TDH II) e 62,87% (fim do TDH I). Nos outros reatores avaliados, a estabilidade (linearidade, com baixo desvio padrão e  $cv < 10\%$ ) nos valores de conversão foram observados no segundo TDH. Não é possível inferir o mesmo sobre o reator A.P., visto que os indícios de colapso se iniciaram na primeira alimentação da segunda COV.

Devido a característica recalcitrante dos lipídios, a conversão por processos biológicos costuma ser baixa. Codigirir não aumenta a biodegradabilidade das gorduras, com redução de carga ocorrendo principalmente pela diluição (ASTALS et al., 2014). Mesmo quando há conversão dos sólidos voláteis, os lipídios restantes no efluente podem inflar a DQO remanescente (WU et al., 2018), com uma remoção de lipídios esperada de cerca de 50% em reatores anaeróbios (SILVA et al., 2014).

Wu et al. (2018) reporta conversão de DQO de 40% em condições semelhantes ao deste experimento. Já Amha et al. (2017) reportam apenas 34% de conversão de STV ao codigerir resíduos gordurosos com resíduos alimentares em temperatura mesofílica. Além da dificuldade bioquímica, a degradação biológica de lipídios tem uma barreira física. As gorduras tendem a aderir na parede celular dos microrganismos e produzem espuma reduzindo a comunicação entre a biomassa, o que afeta os valores de conversão (ABOMOHRA et al., 2022).

Caso a digestão ocorra em fase termofílica (>55°C) a conversão será mais eficiente, pois haverá menor formação de espuma, maior biodisponibilidade dos lipídios e aumento da solubilidade das gorduras. A melhora, entretanto, não é eficiente o suficiente para justificar os custos de aquecimento, e a microbiota termofílica é mais sensível ao acúmulo de LCFA que a mesofílica (LONG et al., 2012).

Buscando solucionar a dificuldade de conversão, alternativas foram investigadas. Iskander et al. (2021) reportam conversão mínima da 90% ao codigerir resíduos alimentares com lipídios em reatores anaeróbios com separação de membrana. Outras abordagens sugeridas são a de Silva et al. (2014) pela aclimação, ou seja, expondo os microrganismos a cargas graduais de lipídios, de forma que eles se ajustem. Esta abordagem reduziu o *lag phase* da produção de metano em até 15 dias. Outra rota bioquímica é sugerida por Meng et al. (2017), ao usar lipases para tornar os LCFA em ácidos orgânicos menos complexos.

#### 5.2.4.3. Produção de biogás: reator ácido palmítico

A produção de biogás deste reator pode ser observada na Tabela 35 e na Figura 30. O biogás da etapa *start* do reator foi desprezado.

**Tabela 35:** monitoramento da produção de biogás no reator ácido palmítico.

	COV RFV	BIOGÁS A (L)	PEB (LkgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> A (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> μ (%)	CO <sub>2</sub> A (L)	CO <sub>2</sub> μ (%)	H <sub>2</sub> S A ppm
TDH I	0,5	75,93	607	42,76	341	56,39± 1,42	32,37	42,57± 1,33	3.981
TDH II	1,0	45,70	395	20,46	177	43,37± 8,04	24,88	57,41± 8,02	6.626
<b>V<sub>TOTAL</sub></b>		<b>121,64</b>		<b>63,22</b>			<b>57,25</b>		<b>10.600</b>

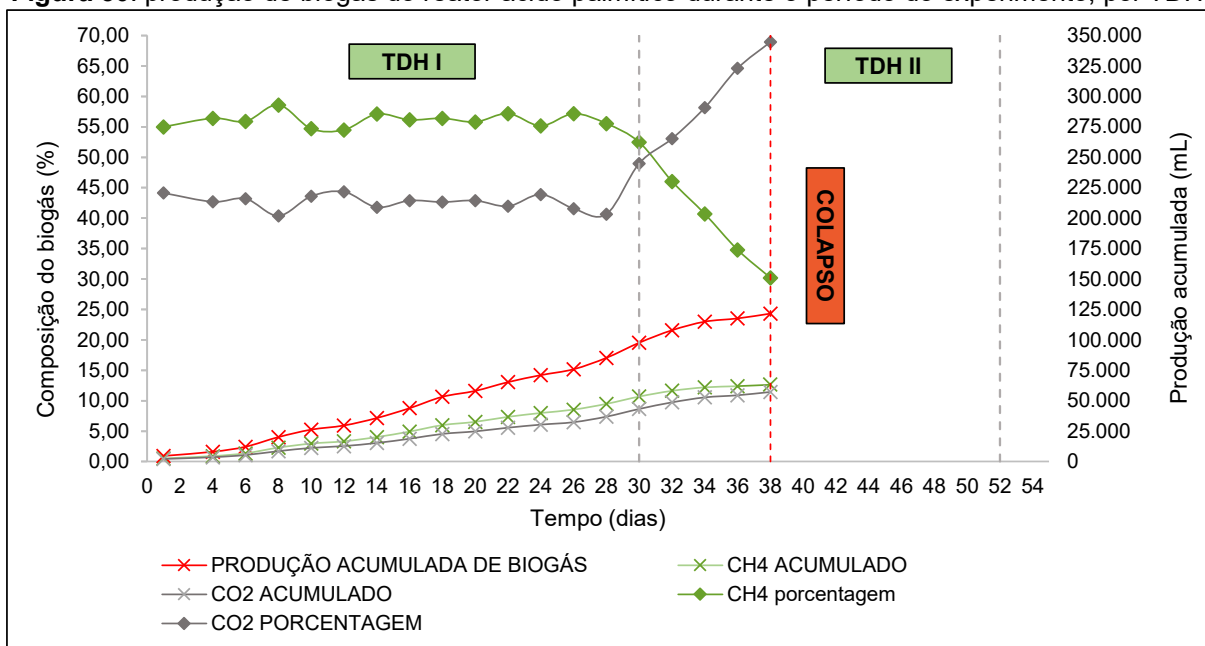
COV: carga orgânica volumétrica, em gSTV L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>; BIOGÁS A: volume de biogás acumulado; PEB: produção específica de biogás; CH<sub>4</sub> A: produção acumulada de metano; PEM: produção específica de metano; CH<sub>4</sub> μ: porcentagem média de metano no biogás durante o TDH; CO<sub>2</sub> A: produção acumulada de dióxido de carbono; CO<sub>2</sub> μ: porcentagem média de dióxido de carbono no biogás; H<sub>2</sub>S A: produção acumulada de sulfeto de hidrogênio; V<sub>total</sub>: volume total durante o experimento.

**Fonte:** o Autor (2024)

Durante o primeiro TDH, o reator apresentou a maior produção específica de metano entre as condições avaliadas, atingindo uma PEM de 341 L.kgSTV<sup>-1</sup>. A produção acumulada foi de 42,76 litros, valor bastante próximo à produção acumulada do reator de caseína. O teor médio de gás metano no primeiro TDH foi de aproximadamente 56%, mantendo-se constante ao longo desse período. Com estes valores e as informações anteriores de estabilidade e conversão, pode-se presumir que a codigestão foi satisfatória na COV 0,5.

Após o aumento da carga no TDH II, observou-se uma queda nas taxas de CH<sub>4</sub> no reator. Este decréscimo foi comum aos reatores, porém, na semana seguinte, houve recuperação na tendência de produção observada no TDH I no reator TEST, FRU e CAS. Contudo, no reator A.P., os teores de metano continuaram a diminuir, conforme ilustra a Figura 30.

**Figura 30:** produção de biogás do reator ácido palmítico durante o período do experimento, por TDH.



Fonte: o Autor (2024)

Apesar dos sinais de instabilidade pela queda do teor de metano, as alimentações continuaram normalmente. O fim do experimento foi declarado quando os teores de CO<sub>2</sub> se mantiveram constantemente superiores, com valor máximo registrado de 68,90%. O uso de tamponantes químicos não foi adotado e o reator foi encerrado. Os outros reatores atingiram sua PEM teórica no segundo TDH, sendo o reator A.P. o único a não alcançar tal marca. Ao digerir lipídios, a PEM teórica é de aproximadamente 1m<sup>3</sup> kg.STV<sup>-1</sup> (ISKANDER et al., 2021).

Têm-se alguns exemplos de produção na literatura, como o de Pagés-Dias et al. (2015), que ao digerir resíduos agrícolas com efluente de abatedouro sem nenhuma estratégia adicional, reportam produção específica de metano de 550 kgSTV<sup>-1</sup>. Wu et al. (2018) relatam a possibilidade de recuperar um reator colapsado com resíduos semelhantes ao diluir o digestato com 3 partes de inóculo fresco (v/v). Após essa estratégia, os autores afirmam que a carga de lipídios em relação ao resíduo alimentar pôde ser aumentada. Após a retomada de estabilidade, é reportado a PEM de 930L. kgSTV<sup>-1</sup>.

Chowdhury et al. (2019) informam PEM de 800L. kgSTV<sup>-1</sup> ao codigerir resíduos alimentares com gorduras, na proporção de 70/30% STVs. Segundo os autores, este resultado foi atingido ao adicionar carvão ativado granular – CAG no reator, que proporcionou melhora na comunicação e troca de elétrons entre a microbiota, que é afetada pela gordura e espuma. Já Li & Shimizu (2021) relatam que ao digerir resíduos alimentares com glicerol (90/10% STVs), aplicando pré tratamento hidrotérmal (autoclave) e adição de diferente tipos de enzima lipase, atingiram a PEM de 1.773 L kgSTV<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam que, além da carga de LCFA ter uma grande relevância para a estabilidade, dificilmente produções elevadas de metano serão alcançadas em curto espaço de tempo sem adaptações operacionais.

#### 5.2.4.4. Ácidos graxos voláteis: reator ácido palmítico

Os AGVs analisados por cromatografia gasosa observados no efluente do reator A.P. são apresentados na Tabela 36.

**Tabela 36:** monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis do to reator ácido palmítico.

	<b>TDH I</b>	<b>TDH I</b>	<b>TDH I</b>	<b>%</b>	<b>TDH II</b>	<b>TDH II</b>	<b>%</b>
	<b>início</b>	<b>meio</b>	<b>fim</b>	<b>μ</b>	<b>início</b>	<b>colapso</b>	<b>μ</b>
<b>Hac</b>	1.586,51	1.960,47	2.044,55	<b>56,59±4,89</b>	2.573,84	2.914,25	<b>42,16±8,16</b>
<b>Hpr</b>	627,01	484,84	573,09	<b>17,17±2,84</b>	1.884,75	2.425,86	<b>37,69±3,40</b>
<b>Hib</b>	191,82	238,22	216,17	<b>6,55±0,51</b>	159,29	540,66	<b>4,86±2,68</b>
<b>Hbu</b>	481,33	299,55	327,82	<b>11,36±3,59</b>	276,44	952,88	<b>8,52±4,77</b>
<b>Hiva</b>	220,79	151,66	80,53	<b>4,67±2,37</b>	174,10	425,07	<b>4,28±1,46</b>
<b>Hva</b>	ND	203,76	165,06	<b>3,65±3,22</b>	301,69	749,39	<b>7,49±2,64</b>
<b>ΣAGV</b>	<b>3.107,46</b>	<b>3.338,5</b>	<b>3.407,22</b>	<b>-</b>	<b>5.370,11</b>	<b>8.808,11</b>	<b>-</b>

% μ: porcentagem média do ácido em relação a somatória; Hac: ácido acético; Hpr: ácido propiônico; Hib: ácido isobutírico; Hbu: ácido butírico; Hiva: ácido isovalérico; Hva: ácido valérico; ΣAGV: somatória dos AGVs.

**Fonte:** o Autor (2024)

Durante o primeiro TDH onde a digestão foi estável, a produção de ácido acético, propiônico e butírico foi de, em média, 56,6/17,1/11,3% (Hac/Hpr/Hbu) dos

AGVs. Este resultado é comparável ao reator caseína, que teve taxas semelhantes. Ao digerir RFV, a somatória de AGVs não deve ser superior que 3g de  $\text{CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$  (MIRAMONTES-MARTÍNEZ et al., 2021). Os reatores TEST, FRU e A.P. superaram esta marca, o que pode ter prejudicado a produção de metano. Já no segundo TDH, o maior valor registrado no reator A.P. foi de  $8.8\text{g.L}^{-1}$ , maior que o limite proposto por Shi et al. (2022) de  $8\text{g.L}^{-1}$ , confrontando também outras das condições dos autores, de  $\text{Hac} < 2,4\text{g CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$  e  $\text{Hpr} < 0,9\text{g.L}^{-1}$ .

Na literatura tem-se reportado taxas aproximadas de 50/25/10% (Hac/Hpr/Hbu) ao codigerir resíduos alimentares com glicerol (95/5 STVs). As taxas de ácido propiônico cresceram em prejuízo ao ácido acético com o aumento no teor de glicerol na composição do substrato, entretanto (LI; SHIMIZU, 2021). Isso ocorreu pelo excesso de acetato no meio, que foi convertido em Hpr, e devido à dificuldade de reverter o ácido propiônico em acetato, houve tendência de acúmulo no reator (AGUILAR; CASAS; LEMA, 1995). O mesmo pôde ser observado no reator A.P. no segundo TDH com 42,1/37,2/8,5.

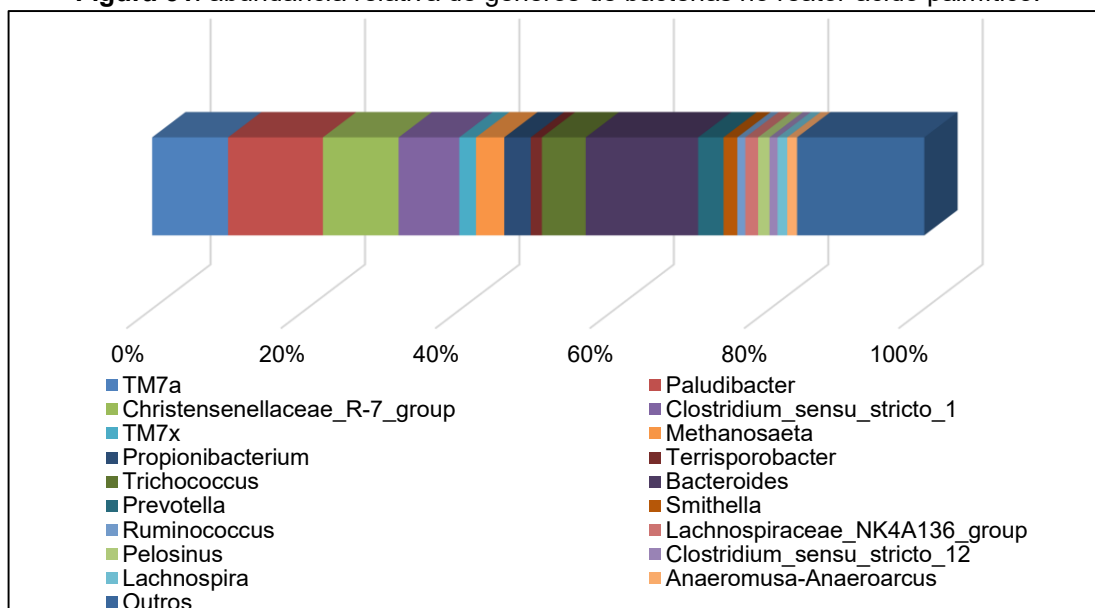
A problemática com o ácido propiônico foi observada por Chowdhury et al. (2019) ao codigerir resíduo alimentar e gordura de flotor (70/30 peso úmido). Segundo os autores, sem nenhuma intervenção a taxa de AGVs foi de 34,4/60,9/4,6 (Hac/Hpr/Hbu). Ao adicionar magnetita, houve resultado de 73,9/10,2/15,9 e ao adicionar carvão ativado granular o resultado foi de 67,8/8,8/23,4. Embora o teor de Hbu foi maior com adição do CAG, a geração de AGV no efluente foi 41% inferior. Além disso, a reversão de ácido butírico para acetato tem rotas metabólicas mais simples em comparação ao do Hpr (AGUILAR; CASAS; LEMA, 1995).

O ácido valérico e isovalérico também tiveram destaque no TDH II deste reator, com cerca de 11% no momento do colapso. Embora haja tendência de formação destes ácidos em reatores de resíduos proteicos (DAREIOTI et al., 2021), o n-Hva pode ser formado a partir do glicerol, um metabólito da degradação de LCFA e também a partir do alongamento do Hpr (VERAS et al., 2020), que esteve em abundância no momento do colapso.

#### 5.2.4.5. Análise de microbiologia molecular: reator A.P.

A abundância relativa dos gêneros de bactérias no efluente do reator A.P. é ilustrada na Figura 31. A amostra analisada corresponde ao melhor dia de produção de biogás durante o TDH I.

**Figura 31:** abundância relativa de gêneros de bactérias no reator ácido palmítico.



Fonte: o Autor (2024)

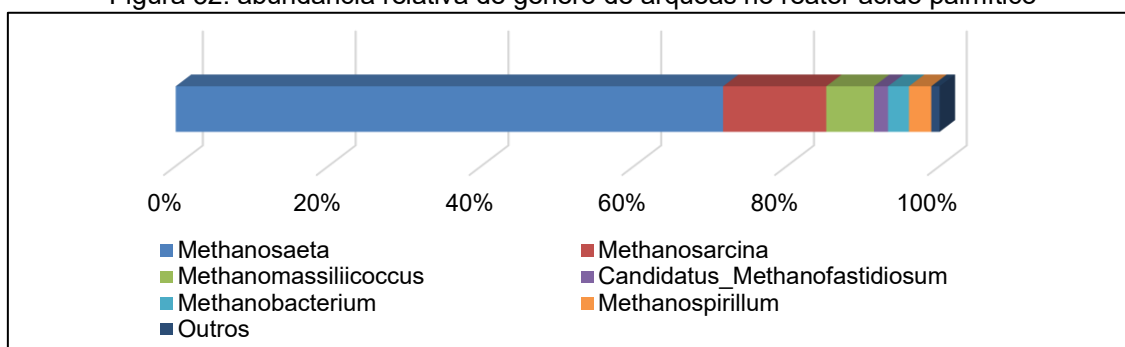
No reator ácido palmítico, o gênero mais representativo foi o *Bacterioides* com 14,56% de abundância relativa, sendo que nas outras condições, a abundância foi de no máximo 2%. Este gênero é composto por uma gama de bactérias capazes de produzir celulases, protease e lipase (PERIN, 2023), gerando como metabólitos o acetato e o propionato (JIANG et al., 2023). Devido sua versatilidade e o aumento de abundância no reator A.P., é possível que tenha sido um dos responsáveis pela hidrólise do ácido palmítico.

Em segundo lugar está o gênero *Paludibacter* com 12,27%. Enquanto algumas espécies deste gênero podem degradar carboidratos estruturais para formação de acetato (VACILOTTO et al., 2022), outras produzem propionato a partir de açúcares mais simples (EICHHORN et al., 2017). O gênero *Christensenellaceae\_R-7\_group* (9,80%), que é responsável pela degradação de açúcares, ácidos carboxílicos e aminoácidos para formação de ácido acético e butírico (CHEN et al., 2020) também é notório, assim como o gênero *TM7a* (9,83%), que metaboliza de açúcares, proteínas e lipídios simples (KINDAICHI et al., 2016).

O gênero *Clostridium stricto sensu* (7,86%) teve a maior representatividade entre os reatores, sendo superado apenas pelo inóculo. As bactérias desse gênero são responsáveis pela hidrólise e acidogênese, portanto sua representatividade sugere uma alta atividade destas fases (MENG et al., 2018). A alta atividade pode estar associada a dificuldade de degradação do ácido palmítico. Por fim, cita-se os gêneros *Propionibacterium* (3,43%), que forma ácido propiônico a partir de acetato e *Prevotella* (3,28%) com integrantes que podem degradar carboidratos estruturais, gerando como principais metabólitos o ácido acético e succínico, com gerações pontuais de ácido isobutírico e isovalérico (LIU et al., 2023b).

- **ARQUEAS:** a abundância relativa de arqueas é apresentada na Figura 32.

Figura 32: abundância relativa de gênero de arqueas no reator ácido palmítico



Fonte: o Autor (2024)

Como a alíquota para análise foi de um período estável, houve no reator dominância das arqueas acetoclásticas, do gênero *Methanosaeta* (71,66%) e *Methanosarcina* (13,51%). O aumento da representatividade do gênero *Methanosarcina* (em comparação ao reator caseína) é resultado de uma maior disponibilidade de agentes inibitórios, assim como observado no reator frutose e testemunha. Deve-se pontuar também que as arqueas do gênero *Methanosarcina* podem operar a rota hidrogenotrófica ou metilotrófica se necessário (CHEN; HE, 2015). Diferente dos outros reatores, o único gênero representante das hidrogenotróficas é o *Methanospirillum* (2,92%).

Outra observação é a relevância de dois gêneros de arqueas metilotróficas, o *Methanomassiliicoccus* (6,24%) e *Candidatus\_Methanofastidiosum* (1,84%). A adaptação de arqueas metilotróficas neste reator se dá pela disposição de metanol e ácido propiônico. O gênero *Methanomassiliicoccus* tem espécies que usam o MeOH e

o hidrogênio na formação de metano (SÖLLINGER et al., 2016), já o gênero *Methanofastidiosum* possui espécies que podem degradar o propionato para formação de metano (JIANG et al., 2023). A ocorrência destes dois gêneros no reator indicam que intervenções devem ser feitas visando otimizar a ação das arqueas acetoclásticas, que produzem metano de forma mais eficiente (ZIELS; BECK; STENSEL, 2017).

### 5.2.5. Comparação entre os reatores

Os principais dados de estabilidade, conversão e produção de biogás dentre os reatores analisados estão compilados na Tabela 37.

**Tabela 37:** compilado dos resultados dos experimentos da etapa II.

EFLUENTE TDH I									
	pH	AT $\mu$ (g.L <sup>-1</sup> )*	STV <sub>c</sub> $\mu$ (%)	BIO <sub>c</sub> $\mu$ (%)	BIOGÁS <sub>A</sub> (L)	PEB (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> <sub>A</sub> (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	$\Sigma$ AGV $\mu$ (g.L <sup>-1</sup> )
<b>TEST</b>	6,86± 0,10	1,96± 0,21	13,89± 24,06	-	68,19	624	35,39	324	2,47± 0,36
<b>FRU</b>	6,85± 0,09	2,27± 0,30	3,71± 6,44	95,50± 0,29	67,68	578	35,96	307	3,04± 0,22
<b>CAS</b>	7,08± 0,15	2,79± 0,32	25,49± 13,11	30,55± 3,19	72,53	514	42,28	300	1,69± 0,24
<b>A.P.</b>	6,81± 0,11	2,06± 0,21	15,03± 15,80	59,52± 3,50	75,93	607	42,76	341	3,26± 0,21
EFLUENTE TDH II									
	pH	AT $\mu$ (g.L <sup>-1</sup> )*	STV <sub>c</sub> $\mu$ (%)	BIO <sub>c</sub> $\mu$ (%)	BIOGÁS <sub>A</sub> (L)	PEB (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	CH <sub>4</sub> <sub>A</sub> (L)	PEM (L.kgSTV <sup>-1</sup> )	$\Sigma$ AGV $\mu$ (g.L <sup>-1</sup> )
<b>TEST</b>	6,96± 0,07	1,53± 0,73	64,58± 0,42	-	180,41	976	95,74	518	3,04± 0,42
<b>FRU</b>	6,93± 0,08	1,62± 0,09	64,46± 6,28	97,85± 0,04	222,32	1.112	114,5	578	3,76± 0,26
<b>CAS</b>	7,52± 0,13	3,85± 0,07	72,35± 1,25	54,35± 1,07	257,64	1.080	146,2	613	2,15± 0,32
<b>A.P.</b>	6,34± 0,69	1,34± 0,11	44,26± 6,43	34,64± 8,31	45,70	395	20,46	177	7,09± 2,43

AT: alcalinidade total, em g de CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; STV<sub>c</sub>  $\mu$ : conversão média de sólidos totais voláteis; BIO<sub>c</sub>  $\mu$ : conversão média da biomolécula adicionada; BIOGÁS<sub>A</sub>: biogás acumulado; PEB: produção específica de biogás; CH<sub>4</sub><sub>A</sub>: metano acumulado; PEM: produção específica de metano;  $\Sigma$ AGV  $\mu$ : média do somatório de ácidos voláteis orgânicos.

Fonte: o Autor (2024)

## 6. CONCLUSÕES

### 6.1. ETAPA I: ESCALA DE BANCADA

- Ao fim da etapa I, afirma-se que a MonoDA de RFV tem um processo estável e eficaz quando existe uma fonte de alcalinidade. O biogás produzido, entretanto, não tem um alto teor de metano;
- A MonoDA de frutose teve a maior produção específica de biogás e de metano dentre as amostras, no entanto o processo foi instável e com períodos de produção diária quase nula. Apesar disso, foi evidenciada a resiliência da microbiota metanogênica, que retomou a produção de CH<sub>4</sub> no segundo mês de incubação. Esta triplicata serviu de controle positivo para o experimento;
- A MonoDA de caseína teve os melhores sinais de estabilidade dentre os aditivos, com o comportamento gráfico próximo de uma DA eficiente. Provavelmente houve pico de amônia na batelada, sugerindo novamente a resiliência dos microrganismos uma vez que não houve queda na curva de produção de metano;
- A MonoDA de ácido palmítico teve os melhores índices finais de estabilidade (pH, AT e AGV) devido à dificuldade de degradação desta gordura. Foi evidenciado baixas produções de biogás e de metano no primeiro mês, período no qual houve adaptação dos microrganismos. A dosagem de 20g.L<sup>-1</sup> pode ter sobrecarregado o sistema;
- Sobre as codigestões, a adição de 2,5g.L<sup>-1</sup> STV de frutose aumentou a produção de biogás (19,11%) e de metano (24,05%) sem comprometer a estabilidade do reator. Ao utilizar doses maiores, houve maior produção de biogás, entretanto maior parte dele era CO<sub>2</sub>;
- A adição de caseína na concentração de 10g.L<sup>-1</sup> STV aumentou a produção de biogás (17,56%), de metano (29,57%) e a AT final. Não houve indícios de acúmulo de NAT, e não houve conversão de mais de 50% de proteínas;
- A adição de ácido palmítico aumentou a produção de biogás (57,75%) e de metano (53,91%) na dosagem de 5g.L<sup>-1</sup> STV. A digestão teve indícios de sobrecarga ao analisar o desempenho cinético da produção de metano, entretanto o processo não teve sinais de instabilidade.

## 6.2. ETAPA II: ESCALA PILOTO

- O uso de sobrenadante filtrado foi reafirmado como prática positiva, devolvendo alcalinidade ao sistema e reduzindo o uso de água para alimentar os reatores. Esta prática também diminui o volume de lodo sedimentado que deverá seguir destinação ambientalmente adequada;
- A relação AI/AP < 0,4 como índice de estabilidade pode não ser aplicável a todos os reatores. A particularidade de cada processo deve ser respeitada, entretanto o índice ainda serve como parâmetro para acompanhamento, pela simplicidade de execução;
- Os parâmetros de estabilidade e conversão foram afetados no início e no meio do primeiro TDH pelo acúmulo de digestato, que não foi retirado até que se atingisse o volume útil do reator durante o período *start*. No segundo TDH, entretanto, pode-se dizer que o equilíbrio foi alcançado, uma vez que o coeficiente de variação nos parâmetros dos reatores TEST, FRU e CAS foi menor que 10%. Para o ácido palmítico, não é possível concluir o valor máximo de conversão num processo estável, visto que o primeiro TDH foi afetado pelo inóculo remanescente e o segundo TDH já iniciou em colapso;
- O reator testemunha apresentou bons índices de estabilidade, embora o pH do digestato tenha ficado menor do que 7 em ambos os TDH. Não houve necessidade de adicionar agentes alcalinizantes, com tamponamento vindo do sobrenadante recirculado. A produção específica de metano (PEM: 518 L.kgSTV<sup>-1</sup>) foi coerente ao valor esperado teórico ao digerir RFV, que é de aproximadamente 400L.kgSTV<sup>-1</sup>. O maior teor de ácido acético como AGV (≈ 60%) e predominância de arqueas acetoclásticas (≈ 90%) reafirmam a estabilidade da reação;
- O reator frutose teve índices muito semelhantes ao do reator testemunha. Esses resultados podem ser explicados pois, ao adotar técnicas operacionais como a recirculação de sobrenadante, a COV 4 pode ser alcançada sem risco de colapso na monoDA de RFV. Contudo, o decréscimo de AT no TDH II foi mais acentuado que o observado no reator TEST, indicando que talvez a codigestão de RFV com frutose não consiga alcançar o mesmo limite de COV do reator testemunha;
- O reator caseína teve o melhor desempenho em codigestão com RFV, devido ao balanceamento da relação C/N, e a recirculação de sobrenadante não apresentou um risco de acúmulo de NAT. A produção específica de metano foi a maior entre as

avaliadas, de 613 L.kgSTV<sup>-1</sup> apesar da maior carga em comparação aos outros reatores. Este valor é bastante próximo do teórico ao digerir proteínas, de 600 L.kgSTV<sup>-1</sup>. Houve o menor valor de AGVs no digestato entre os reatores, predominância de arqueas acetoclásticas das quais aproximadamente 90% eram *Methanosaeta*, gênero conhecido por maior sensibilidade ambiental. Por estes motivos e por não haver sinais de acúmulo de amônia, COVs superiores podem ser investigadas;

- O reator ácido palmítico teve índices de estabilidade durante o primeiro TDH, apesar do pH ser menor do que 7 (6,86). Neste período o teor de metano no biogás foi de 56% e a PEM foi de 341L.kgSTV<sup>-1</sup>, a maior entre as condições neste mesmo período. Apesar disso, a digestão de gordura apresenta uma dificuldade adicional à monoDA de RFV (que pode ter 40% de carboidratos estruturais) além do desbalanceamento acentuado da relação C/N. A soma destes fatores acidificou o meio e estimulou a representatividade de dois gêneros de arqueas metilotróficas, rota menos comum na DA. Apesar disso, a conversão de lipídios no primeiro TDH foi de aproximadamente 63%, um valor promissório. No segundo TDH, houve indícios negativos no início da operação do reator, que colapsou na segunda semana. Neste período houve aumento na geração de ácido propiônico e n-valérico, que são característicos de instabilidade e se formam em ambientes acidificados. Desta forma conclui-se que a COV 0,5 é o limite para codigestão de RFV e ácido palmítico.
- Os ácidos que compunham o efluente dos reatores não variaram de forma expressiva. Em todos os casos, mesmo em momento de colapso, houve predominância de ácido acético e propiônico, e os ácidos butírico, isobutírico, valérico e isovalérico apareceram em menores concentrações. A relação entre Hac e HPr, e nHva contudo, tendia a diminuir em sinais de estresse, como a acidificação provocada pela alteração de COV, ou pelo colapso, no caso de reator A.P;
- A variação nos gêneros de bactéria não foi expressiva, havendo representação do *Chrisentellenensae*, *Clostridium Strictu Senso*, *Saccachibacterium*, *Palludibacter* e *Bacterióides* em todos os reatores, sendo estes gêneros de bactérias hidrolíticas bastante versáteis em relação ao substrato. A abundância relativa apresentou poucas diferenças entre e o reator TEST e FRU, com maiores distinções no REATOR CAS, onde quatro gêneros apareceram de forma exclusiva, e no reator A.P., onde houve ocorrência dos mesmos gêneros observados no reator TEST e FRU, mas com abundâncias diferentes;

- A variação de Arqueas, assim como as bactérias, não foi expressiva. Em todos os casos a maior ocorrência foi de acetoclásticas, que formam metano de forma mais eficiente. Elas representaram no mínimo por volta de 80% das arqueas dos reatores. No reator CAS, a ocorrência de arqueas acetoclásticas foi de 92%. Nos reatores FRU, CAS e A.P., devido a tendência de acidificação estimulou-se desenvolvimento de gêneros metilotróficos, que utilizam metanol e o hidrogênio para formação de CH<sub>4</sub>. No reator A.P., dois gêneros de arqueas metilotróficas representaram 8% de abundância relativa, uma vez que além do metanol formado na degradação de RFV, havia o glicerol formado na degradação de LCFA.

### 6.3. RECOMENDAÇÕES

Observado este estudo, as principais recomendações para estudos futuros são:

- Testar combinações entre as biomoléculas, visando corrigir a relação C/N;
- Verificar o desempenho da codigestão de RFV com ácido palmítico em COV 0,5 até que se obtenha dados estáveis de estabilidade, conversão e produção de biogás. Após isso, subir a COV e investigar mecanismos de recuperação de reatores;
- Substituir a biomolécula (ou o blend de biomoléculas) por um respectivo efluente agroindustrial concentrado, e investigar o desempenho da coDA de RFV com a mistura. Além disso, avaliar o uso de aditivos variados como o biocarvão, aditivos metálicos, mídias, bioaugmentação etc.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOMOHR, A. et al. Recent advances in anaerobic digestion of lipid-rich waste: Challenges and potential of seaweeds to mitigate the inhibitory effect. **Chemical Engineering Journal**, v. 449, n. June, p. 137829, 2022.
- ADNAN, A. I. et al. Technologies for biogas upgrading to biomethane: A review. **Bioengineering**, v. 6, n. 4, p. 1–23, 2019.
- AGUILAR, A.; CASAS, C.; LEMA, J. M. Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: Kinetics and inhibition. **Water Research**, v. 29, n. 2, p. 505–509, 1995.
- AHRING, B. K. **Biomethanation II**. 1. ed. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002.
- AHRING, B. K. **Biomethanation I**. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003. v. 1
- ALAM, S. et al. Selection of Waste to Energy Technologies for Municipal Solid Waste Management — Towards Achieving Sustainable Development Goals. **SUSTAINABILITY**, v. 14, n. 11913, p. 1–17, 2022.
- AMHA, Y. M. et al. Elucidating microbial community adaptation to anaerobic co-digestion of fats, oils, and grease and food waste. **Water Research**, v. 123, p. 277–289, 2017.
- AMIN, F. R. et al. Functions of bacteria and archaea participating in the bioconversion of organic waste for methane production. **Science of the Total Environment**, v. 763, p. 143007, 2021.
- AMPESE, L. C. et al. Valorization of apple pomace for biogas production: a leading anaerobic biorefinery approach for a circular bioeconomy. **Biomass Conversion and Biorefinery**, n. 0123456789, 2022.
- AMPESE, L. C. et al. Apple pomace management by anaerobic digestion and composting: a life cycle assessment. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 17, n. 1, p. 29–45, 2023.
- ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. **Water Science and Technology**, v. 59, n. 5, p. 927–934, 2009.
- APHA, AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, W. E. F. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, v. 23rd Editi, 2017.
- AQUINO, M. et al. Membrane distillation for separation and recovery of valuable compounds from anaerobic digestates. **Separation and Purification Technology**, v. 315, n. March, p. 123687, 2023.
- ARGIZ, L. et al. Valorization of lipid-rich wastewaters: A theoretical analysis to tackle the competition between polyhydroxyalkanoate and triacylglyceride-storing populations. **Science of the Total Environment**, v. 807, 2022.
- ARIF, S.; LIAQUAT, R.; ADIL, M. Applications of materials as additives in anaerobic digestion technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 97, n. August, p. 354–366, 2018.
- ASSIS, T. I.; GONÇALVES, R. F. Valorization of food waste by anaerobic digestion: A bibliometric and systematic review focusing on optimization. **Journal of Environmental Management**, v. 320, n. June, p. 115763, 2022.
- ASTALS, S. et al. Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 421–427, 2014.
- BALDI, M. et al. The valorization of ammonia in manure digestate by means of alternative stripping reactors. **Sustainability (Switzerland)**, v. 10, n. 9, p. 1–14, 2018.

BARRAGÁN-TRINIDAD, M.; CARRILLO-REYES, J.; BUITRÓN, G. Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. **Bioresource Technology**, v. 244, n. May, p. 100–107, 2017.

BARROS, R. M.; TIAGO FILHO, G. L.; DA SILVA, T. R. The electric energy potential of landfill biogas in Brazil. **Energy Policy**, v. 65, p. 150–164, 2014.

BÖER, T. et al. Genome-based metabolic and phylogenomic analysis of three Terrisporobacter species. **PLoS ONE**, v. 18, n. 10 October, p. 1–20, 2023.

BORTOLOTTI, M. A. et al. Challenges of Load Variation on Anaerobic Digestion of Organic Waste on a Full Scale: An Applied Study. **Waste and Biomass Valorization**, n. 0123456789, 2023.

BRAGUGLIA, C. M. et al. Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 37–56, 2018.

BRASIL. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010.** Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm)>.

CALDEIRA, C. et al. Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: a mass flow analysis. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 149, n. June, p. 479–488, 2019.

CALLAGHAN, F. J. et al. Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 22, n. 1, p. 71–77, 2002.

CÂNDIDO, D. et al. Integration of swine manure anaerobic digestion and digestate nutrients removal/recovery under a circular economy concept. **Journal of Environmental Management**, v. 301, n. September 2021, 2022.

CARVALHEIRA, M. et al. Performance of a two-stage anaerobic digestion system treating fruit pulp waste: The impact of substrate shift and operational conditions. **Waste Management**, v. 78, p. 434–445, 2018.

CASA ONU BRASIL. **Documentos Temáticos: Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.** Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS - CEASAMINAS. **Relatório de Sustentabilidade - 2021.** [s.l: s.n.].

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - CEASA/RJ. **Relatório anual de comercialização - A CEASA RJ em números.**

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DO PARANÁ - CEASA-PR. **Relatório integrado de sustentabilidade 2021.** Curitiba - PR: [s.n.].

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DO PERNAMBUCO - CEASA-PE. **CEASA PE homepage.** Disponível em: <<https://www.ceasape.org.br/programas/exibir/adubo-sustentavel>>.

CENTRO INTERNACIONAL DE ENERGIA RENOVÁVEIS. **Panorama do Biogás no Brasil 2022. CIBiogás (Brasil) Relatório Técnico nº 001/2023.** CIBiogás ed. Foz do Iguaçu: [s.n.].

CHAKRABORTY, D. et al. Dual role of grass clippings as buffering agent and biomass during anaerobic co-digestion with food waste. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 24, n. 9, p. 2787–2799, 2022.

CHANG, S. C. et al. The Gram-positive bacterium *Romboutsia ilealis* harbors a polysaccharide synthase that can produce (1,3;1,4)- $\beta$ -d-glucans. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, 2023.

CHATTERJEE, B.; MAZUMDER, D. Role of stage-separation in the ubiquitous development of

Anaerobic Digestion of Organic Fraction of Municipal Solid Waste: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 104, n. February, p. 439–469, 2019.

CHATTERJEE, B.; MAZUMDER, D. New approach of characterizing fruit and vegetable waste (FWW) to ascertain its biological stabilization via two-stage anaerobic digestion (AD). **Biomass and Bioenergy**, v. 139, n. June, p. 105594, 2020.

CHEN, R. et al. Effects of digestate recirculation ratios on biogas production and methane yield of continuous dry anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 316, n. 11, p. 123963, 2020.

CHEN, S.; HE, Q. Persistence of Methanosaeta populations in anaerobic digestion during process instability. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 42, n. 8, p. 1129–1137, 2015.

CHEN, X. et al. Optimization of semi-continuous dry anaerobic digestion process and biogas yield of dry yellow corn straw: Based on “gradient anaerobic digestion reactor”. **Bioresource Technology**, v. 389, n. September, p. 129804, 2023.

CHENG, F.; BREWER, C. E. Conversion of protein-rich lignocellulosic wastes to bio-energy: Review and recommendations for hydrolysis plus fermentation and anaerobic digestion. **RENEWABLE & SUSTAINABLE ENERGY REVIEWS**, v. 146, 2021.

CHERNICHARO, C. A. L. **Biological wastewater treatment series - Volume 4 - Anaerobic Reactors**. 1. ed. London: [s.n.]. v. 4

CHOWDHURY, B. et al. Enhanced biomethane recovery from fat, oil, and grease through co-digestion with food waste and addition of conductive materials. **Chemosphere**, v. 236, p. 124362, 2019.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução CONAMA 430 de 13/05/2011**. COSTA, A. M.; ALFAIA, R. G. DE S. M.; CAMPOS, J. C. Landfill leachate treatment in Brazil – An overview. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 110–116, 15 fev. 2019.

DA MOTTA, I. et al. Population Dynamics of Methanogenic Archea in Co-Digestion Systems Operating Different Industrial Residues for Biogas Production. 2022.

DAREIOTI, M. A. et al. Assessment of Single- vs . Two-Stage Process for the Anaerobic Digestion of Liquid Cow Manure and Cheese Whey. **Energies**, v. 14, n. 5423, 2021.

DE AQUINO, S. F.; DE QUEIROZ SILVA, S.; CHERNICHARO, C. A. L. Practical aspects of the chemical oxygen demand (COD) test applied to the analysis of anaerobic effluents. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 295–304, 2006.

DE GODOI, L. A. G. et al. **Métodos analíticos aplicados ao monitoramento de processos biológicos de tratamento de águas residuárias**. São Paulo: [s.n.].

DE MORAES, C. C. et al. Causes and prevention practices of food waste in fruit and vegetable supply chains: How is Brazil dealing with these issues? **Waste Management**, v. 154, n. April, p. 320–330, 2022.

DE QUADROS, T. C. F. et al. Valorization of Fruit and Vegetable Waste by Anaerobic Digestion: Definiton of Co-substrates and Inoculum. **Waste and Biomass Valorization**, v. 14, p. 407–419, 2022a.

DE QUADROS, T. C. F. et al. Selection of additive materials for anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste and layer chicken manure. **Bioresource Technology**, v. 361, n. May, p. 127659, 2022b.

DE QUADROS, T. C. F. **CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE FRUTAS , E USO DE PRÉ-CARREGAMENTO COM MICRORGANISMOS CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE FRUTAS , E USO DE PRÉ-CARREGAMENTO COM MICRORGANISMOS**. [s.l.] State University of Londrina, 2023.

DENG, Y. et al. Anaerobic Co-digestion of Rice Straw and Soybean Straw to Increase Biogas Production by Pretreatment with *Trichoderma reesei* RUT C30. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 37, n. 3, 2018.

DIAMANTIS, V. et al. Bioenergy in the era of circular economy: Anaerobic digestion technological solutions to produce biogas from lipid-rich wastes. **Renewable Energy**, v. 168, p. 438–447, 2021.

DIEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biomass to Biofuels Nanotechnology for the Energy Challenge Biofuels Catalysis for Renewables Energy Demand and Climate Change**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids By Direct Titration. **Water Pollution Control**, v. 33, n. 4, p. 356–365, 1961.

DINIS, J. M. et al. In search of an uncultured human-associated TM7 bacterium in the environment. **PLoS ONE**, v. 6, n. 6, 2011.

EDWIGES, T. et al. Influence of chemical composition on biochemical methane potential of fruit and vegetable waste. **Waste Management**, v. 71, p. 618–625, 2018.

EFTAXIAS, A. et al. Use of diluted poultry manure as a low-cost emulsifier for anaerobic digestion of used cooking oil. **Water Practice and Technology**, v. 14, n. 4, p. 937–945, 2019.

EICHHORN, I. et al. crossm Draft Genome Sequence of *Paludibacter jiangxiensis* NM7T, a Propionate-Producing Fermentative Bacterium. v. 5, n. 12, p. 1–2, 2017.

EICHHORN, I.; MARK VAN DER LINDEN, MICHAEL JAREK, C.; FULDE, M. crossm Draft Genome Sequence of *Paludibacter jiangxiensis* NM7T, a Propionate-Producing Fermentative Bacterium. v. 5, n. 12, p. 1–2, 2017.

ELIASSON, K. A.; SCHNÜRER, A.; SINGH, A. Co-substrate composition is critical for enrichment of functional key species and for process efficiency during biogas production from cattle manure. **Microbial Biotechnology**, v. 16, n. September 2022, p. 350–371, 2023.

ESPARZA, I. et al. Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 265, n. February, 2020.

FELLNER, J.; SCHWARZBÖCK, T. Performance impairment of Waste to Energy plants during waste delivery times – An analysis of relevant operating parameter. **Waste Management**, v. 124, p. 303–313, 2021.

FERRARESI DE ARAUJO, G. J.; WALTER BORGES DE OLIVEIRA, S. V. Economic, energetic and environmental analysis of the utilization of swine manure in Brazil: Opportunities and challenges. **Energy Strategy Reviews**, v. 47, n. April, p. 101089, 2023.

FILHO, D. A. D. S. et al. Energy sustainability of supply centers from the codigestion of organic waste. **Detritus**, v. 9, n. March, p. 76–82, 2020.

FUSIONS, F. U. FOR S. I. BY O. W. P. S. **EU FUSIONS Website**. Disponível em: <<https://eu-fusions.org/index.php/about-food-waste>>.

GAO, Y.; YIN, Y.; LI, B. Failure process simulation analysis of the Shenzhen “12.20” CDW landfill landslide: a case study. **Arabian Journal of Geosciences**, v. 14, n. 12, 2021.

GETIRANA, A.; LIBONATI, R.; CATALDI, M. Brazil is in water crisis — it needs a drought plan. **Nature**, v. 600, n. 7888, p. 218–220, 2021.

HASELROTH, K. J. et al. Effectiveness of *Aeromonas hydrophila* for the removal of oil and grease from cattle slaughterhouse effluent. **Journal of Cleaner Production**, v. 287, p. 125533, 2021.

HE, P. et al. Municipal solid waste (MSW) landfill: A source of microplastics? -Evidence of microplastics in landfill leachate. **Water Research**, v. 159, p. 38–45, 2019.

HELENAS PERIN, J. K. et al. Optimization of methane production parameters during anaerobic co-digestion of food waste and garden waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 123130, 2020.

HIRMAS, B. et al. Metabolic Modeling and Bidirectional Culturing of Two Gut Microbes Reveal Cross-Feeding Interactions and Protective Effects on Intestinal Cells. **mSystems**, v. 7, n. 5, 2022.

HOLLIGER, C. et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HOSSEINI, S. E.; WAHID, M. A. Development of biogas combustion in combined heat and power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 868–875, 2014.

IGLESIAS JIMÉNEZ, E.; PÉREZ GARCÍA, V. Composting of domestic refuse and sewage sludge. I. Evolution of temperature, pH, C/N ratio and cation-exchange capacity. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 6, n. 1, p. 45–60, 1991.

IGNATYEVA, O. et al. Christensenella minuta, a new candidate next-generation probiotic: current evidence and future trajectories. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, n. January, p. 1–13, 2023.

INC. METCALF & EDDY, GEORGE TCHOBANOGLOUS, H. STENSEL, RYUJIRO TSUCHIHASHI, F. B. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. [s.l.] McGraw-Hill Education, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1ª Edição Digital. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, v. 9, p. 453–460, 2008.

ISHA, A. et al. Stabilization of anaerobic digestion of kitchen wastes using protein-rich additives: Study of process performance, kinetic modelling and energy balance. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 337, 2021.

ISKANDER, S. M. et al. Investigation of Fats, Oils, and Grease Co-digestion With Food Waste in Anaerobic Membrane Bioreactors and the Associated Microbial Community Using MinION Sequencing. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, n. April, p. 1–11, 2021.

JIANG, Q. et al. Effects of citrus peel biochar on anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge and its direct interspecies electron transfer pathway study. **Chemical Engineering Journal**, v. 398, n. May, 2020.

JIANG, S. et al. Enhanced methane production from the anaerobic co-digestion of food waste plus fruit and vegetable waste. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 27, p. 70592–70603, 2023.

KAMUSOKO, R. et al. Characterization of lignocellulosic crop residues for potential biogas production in Zimbabwe. **Biofuels, Bioproducts & Biorefining**, v. 16, p. 1165–1171, 2022.

KHALIL, M. et al. Waste to energy technology: The potential of sustainable biogas production from animal waste in Indonesia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 105, n. February, p. 323–331, 2019.

KHANAL, S. K. Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications. **Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications**, v. 1, p. 1–301, 2009.

KIM, M.-J.; KIM, S.-H. Conditions of lag-phase reduction during anaerobic digestion of protein for high-efficiency biogas production. **BIOMASS & BIOENERGY**, v. 143, 2020.

KINDAICHI, T. et al. Phylogenetic diversity and ecophysiology of Candidate phylum Saccharibacteria in activated sludge. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 6, p. 1–11, 2016.

KOCH, K. et al. Identification of Critical Problems in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests From Methane Production Curves. **Frontiers in Environmental Science**, v. 7, n. November, p. 1–8, 2019.

KOTHARI, R.; TYAGI, V. V.; PATHAK, A. Waste-to-energy: A way from renewable energy sources to sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 9, p. 3164–3170, 2010.

KOUAKOU, E. et al. Anaerobic mono-digestion of wastewater from the main slaughterhouse in Yamoussoukro ( Côte d ' Ivoire ): Evaluation of biogas potential and removal of organic pollution. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 3, p. 103770, 2020.

KOUGIAS, P. G. et al. Zeolite and swine inoculum effect on poultry manure biomethanation. **International Agrophysics**, v. 27, n. 2, p. 169–173, 2013.

KOVACIC, D. et al. Soybean Straw , Corn Stover and Sunflower Stalk as Possible Substrates for Biogas Production in Croatia : A Review. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 31, n. 3, p. 187–198, 2017.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. DO. **Fundamentals of anaerobic digestion, biogas purification, use and treatment of digestate**. 1<sup>a</sup> ed. Concórdia - SC: [s.n.].

LA PICIRELLI DE SOUZA, L. et al. Life cycle assessment of prospective scenarios maximizing renewable resources in the Brazilian electricity matrix. **Renewable Energy Focus**, v. 44, p. 1–18, 2023.

LEITE, L. DE S.; HOFFMANN, M. T.; DANIEL, L. A. Microalgae cultivation for municipal and piggery wastewater treatment in Brazil. **Journal of Water Process Engineering**, v. 31, n. December 2018, p. 1–7, 2019.

LENDORMI, T. et al. Methane production and microbial community acclimation of five manure inocula during psychrophilic anaerobic digestion of swine manure. **Journal of Cleaner Production**, v. 340, n. January, 2022.

LI, C. J. et al. Comparative genomic analysis and proposal of *Clostridium yunnanense* sp. nov., *Clostridium rhizosphaerae* sp. nov., and *Clostridium paridis* sp. nov., three novel *Clostridium* sensu stricto endophytes with diverse capabilities of acetic acid and ethanol produ. **Anaerobe**, v. 79, p. 102686, 2023.

LI, D. et al. Instability mechanisms and early warning indicators for mesophilic anaerobic digestion of vegetable waste. **Bioresource Technology**, v. 245, n. 13, p. 90–97, 2017.

LI, D. et al. Recovery of unstable digestion of vegetable waste by adding trace elements using the bicarbonate alkalinity to total alkalinity ratio as an early warning indicator. **Biodegradation**, v. 30, n. 1, p. 87–100, 2019.

LI, P. et al. Evaluation of Biogas Performance and Process Stability from Food, Kitchen, and Fruit/Vegetable Waste by Mono-, Co-, and Tridigestion. **Energy and Fuels**, v. 34, n. 10, p. 12734–12742, 2020.

LI, X.; SHIMIZU, N. Effects of lipase addition, hydrothermal processing, their combination, and co-digestion with crude glycerol on food waste anaerobic digestion. **Fermentation**, v. 7, n. 4, 2021.

LIU, C. et al. Insight of co-fermentation of carbon monoxide with carbohydrate-rich wastewater for enhanced hydrogen production: Homoacetogenic inhibition and the role of pH. **Journal of Cleaner Production**, v. 267, p. 122027, 2020.

LIU, H. et al. Co-production of lactate and volatile fatty acids through repeated-batch fermentation of fruit and vegetable waste: Effect of cycle time and replacement ratio. **Bioresource Technology**, v. 387, n. 2, 2023a.

LIU, H. et al. Impact of pH, temperature, and hydraulic residence time on the acidogenic fermentation of fruit and vegetable waste and microbial community analysis. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 98, n. 3, p. 819–828, 2023b.

LIU, W. Y.; LIAO, B. Anaerobic Co-Digestion of Vegetable and Fruit Market Waste in LBR + CSTR Two-Stage Process for Waste Reduction and Biogas Production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, n. 1, p. 185–193, 2019.

LONG, J. H. et al. Anaerobic co-digestion of fat, oil, and grease (FOG): A review of gas production and process limitations. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 90, n. 3, p. 231–245, 2012.

LU, Y. et al. Effect of pH on volatile fatty acid production from anaerobic digestion of potato peel waste. **Bioresource Technology**, v. 316, n. July, p. 3–10, 2020.

MA, Y.; GU, J.; LIU, Y. Evaluation of anaerobic digestion of food waste and waste activated sludge: Soluble COD versus its chemical composition. **Science of the Total Environment**, v. 643, p. 21–27, 2018.

MACIEL, F. J.; JUCÁ, J. F. T. Evaluation of landfill gas production and emissions in a MSW large-scale Experimental Cell in Brazil. **Waste Management**, v. 31, n. 5, p. 966–977, 2011.

MAGAMA, P.; CHIYANZU, I.; MULOPO, J. A systematic review of sustainable fruit and vegetable waste recycling alternatives and possibilities for anaerobic biorefinery. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, n. March, p. 101031, 2022.

MARKOU, G.; ANGELIDAKI, I.; GEORGAKAKIS, D. Carbohydrate-enriched cyanobacterial biomass as feedstock for bio-methane production through anaerobic digestion. **Fuel**, v. 111, p. 872–879, 2013.

MARTINEZ-BURGOS, W. J. et al. Agro-industrial wastewater in a circular economy: Characteristics, impacts and applications for bioenergy and biochemicals. **Bioresource Technology**, v. 341, n. July, 2021.

MASEBINU, S. O. et al. Experimental and feasibility assessment of biogas production by anaerobic digestion of fruit and vegetable waste from Joburg Market. **Waste Management**, v. 75, p. 236–250, 2018.

MENEZES LIMA, J. A. et al. Techno-economic and performance evaluation of energy production by anaerobic digestion in Brazil: bovine, swine and poultry slaughterhouse effluents. **Journal of Cleaner Production**, v. 277, 2020.

MENG, Q. et al. Anaerobic digestion and recycling of kitchen waste: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 20, n. 3, p. 1745–1762, 2022.

MENG, X. et al. Biochemical conversion and microbial community in response to ternary pH buffer system during anaerobic digestion of swine manure. **Energies**, v. 11, n. 11, p. 1–17, 2018.

MENG, Y. et al. Enhancing anaerobic digestion performance of crude lipid in food waste by enzymatic pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 48–55, 2017.

MENON, A.; LYNG, J.; GIANNIS, A. Higher bacterial diversity in two-phase thermophilic anaerobic digestion of food waste after micronutrient supplementation. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, n. 6, p. 5187–5195, 2023.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Plano Nacional de Resíduos Sólidos**. Brasília: [s.n.].

MIRAMONTES-MARTÍNEZ, L. R. et al. Anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste: Synergy and process stability analysis. **Journal of the Air and Waste Management Association**, v. 71, n. 5, p. 620–632, 2021.

MIRMOHAMADSADEGHI, S. et al. Biogas production from food wastes: A review on recent

developments and future perspectives. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, n. March, p. 100202, 2019.

MLAIK, N. et al. Optimization of anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste with animal manure feedstocks using mixture design. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 3, p. 4007–4016, 2024.

MOLINUEVO-SALCES, B. et al. Valorization of apple pomaces for biofuel production: A biorefinery approach. **Biomass and Bioenergy**, v. 142, n. September, 2020.

MØNSTER, J.; KJELDSSEN, P.; SCHEUTZ, C. Methodologies for measuring fugitive methane emissions from landfills – A review. **Waste Management**, v. 87, p. 835–859, 2019.

MORALES-POLO, C.; CLEDERA-CASTRO, M. DEL M.; SORIA, B. Y. M. Biogas production from vegetable and fruit markets waste-compositional and batch characterizations. **Sustainability (Switzerland)**, v. 11, n. 23, 2019.

MORI, K. et al. Aceticlastic and NaCl-requiring methanogen “*Methanosaeta pelagica*” sp. Nov., isolated from marine tidal flat sediment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 9, p. 3416–3423, 2012.

NAVARRO, B. L. et al. Methane production potential from anaerobic digestion of plant biomass residues and food waste as substrates. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 24, n. 6, p. 2470–2482, 2022.

NIE, Y. Q. et al. Enhancement of acetate production by a novel coupled syntrophic acetogenesis with homoacetogenesis process. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 599–605, 2007.

NKOSI, S. M. et al. Renewable energy potential of anaerobic mono-and co-digestion of chicken manure, goat manure, potato peels and maize pap in South Africa. **South African Journal of Science**, v. 117, n. 11–12, p. 49–56, 2021.

OPERADOR NACIONAL DO SISTEMA ELÉTRICO - ONS. **Relatório Anual 2022** Relatório Anual de 2022. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2022-compactado.pdf>>.

OPERADOR NACIONAL DO SISTEMA ELÉTRICO - ONS. **Operador Nacional do Sistema Elétrico - ONS: imprensa**. Disponível em: <<https://www.ons.org.br/paginas/noticias/details.aspx?i=9716>>. Acesso em: 17 nov. 2023.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **The State of Food and Agriculture 2019: moving forward on food loss and waste reduction**. The State of the World. Rome: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/ca6030en/ca6030en.pdf>>.

PAGÉS-DÍAZ, J. et al. Semi-continuous co-digestion of solid cattle slaughterhouse wastes with other waste streams: Interactions within the mixtures and methanogenic community structure. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 28–36, 2015.

PARK, J. G. et al. Simultaneously upgrading biogas and treating digestate using bioelectrochemical anaerobic trickling filter bed reactor. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 46, n. March, p. 101218, 2021.

PAVI, S. et al. Biogas production from co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and fruit and vegetable waste. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 362–367, 2017.

PEDIZZI, C.; LEMA, J. M.; CARBALLA, M. Enhancing thermophilic co-digestion of nitrogen-rich substrates by air side-stream stripping. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 397–405, 2017.

PELLERA, F. M.; GIDARAKOS, E. Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 1, p. 352–365, 2017.

PERIN, J. K. H. **INFLUÊNCIA DOS PRÉ-TRATAMENTOS DE RESÍDUOS DE PODAS URBANAS NO DESEMPENHO DA CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ALIMENTARES**. [s.l.] Universidade Estadual de Londrina, 2023.

PIWOWAREK, K. et al. Propionibacterium spp.—source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 2, p. 515–538, 2018.

PORPINO, G.; ANTONIOLI, V. **Sem desperdício: diálogos sobre consumo sustentável**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <[www.sectordialogues.org](http://www.sectordialogues.org)>.

PROGRAMA DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS BIOLÓGICOS QUÍMICOS E RADIOATIVOS - UEM. **Plano de Gestão Integrada de Resíduos da Unidade da CEASA de Londrina**. Maringá - PR: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/PGRS/PGRSCEASALONDRINA2012.pdf>>.

R CORE TEAM. **R Core Team**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.

RASAPOOR, M. et al. Recognizing the challenges of anaerobic digestion: Critical steps toward improving biogas generation. **Fuel**, v. 261, n. September 2019, p. 116497, 2020.

RIETOW, J. C. et al. Consolidation of the technology UASB reactors in the state of Paraná for the treatment of sanitary sewage. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 28, p. 1–12, 2023.

RIPLEY, L. .; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. **Water Pollution Control**, v. 58, n. 2, p. 406–411, 1986.

ROS, M. et al. Mesophilic anaerobic digestion of pig slurry and fruit and vegetable waste: Dissection of the microbial community structure. **Journal of Cleaner Production**, v. 156, p. 757–765, 2017.

SAGAR, N. A. et al. Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 512–531, 2018.

SÁNCHEZ-CONTRERAS, M. I. et al. Recycling industrial wastewater for improved carbohydrate-rich biomass production in a semi-continuous photobioreactor: Effect of hydraulic retention time. **Journal of Environmental Management**, v. 284, n. November 2020, p. 2–10, 2021.

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

SANTOS FILHO, D. A. D. S. et al. Energy sustainability of supply centers from the codigestion of organic waste. **Detritus**, v. 9, n. March, p. 76–82, 2020.

SCANO, E. A. et al. Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. **Energy Conversion and Management**, v. 77, p. 22–30, 2014.

SEDEST. **SEDEST** **08/2021**. Disponível em: <<https://www.legislacao.pr.gov.br/legislacao/listarAtosAno.do?action=exibir&codAto=245464&indice=2&totalRegistros=67&anoSpan=2023&anoSelecionado=2021&mesSelecionado=0&isPaginado=true>>.

SHAO, M. et al. Co-digestion of food waste and hydrothermal liquid digestate: Promotion effect of self-generated hydrochars. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 15, p. 100239, 2023.

SHEN, F. et al. Performances of anaerobic co-digestion of fruit & vegetable waste (FVW) and food waste (FW): Single-phase vs. two-phase. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 80–85, 2013.

SHI, J. et al. Effect of Thermal Hydrolysis Pretreatment on Anaerobic Digestion of Protein-Rich Biowaste: Process Performance and Microbial Community Structures Shift. **FRONTIERS IN**

**ENVIRONMENTAL SCIENCE**, v. 9, jan. 2022.

SICCHIERI, I. M. **Aplicação de materiais aditivos na co-digestão anaeróbia de resíduos de frutas, vegetais e resíduos de galinha de postura visando o aumento da produção de metano.** [s.l.] State University of Londrina, 2021.

SICCHIERI, I. M. et al. Selection, composition, and validation of standard inoculum for anaerobic digestion assays. **Biomass & bioenergy**, v. 164, p. 106558, 2022.

SILLERO, L.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Effect of temperature on biohydrogen and biomethane production using a biochemical potential test with different mixtures of sewage sludge, vinasse and poultry manure. **Journal of Cleaner Production**, v. 382, 2023.

SILVA NETO, J. V.; GALLO, W. L. R. Potential impacts of vinasse biogas replacing fossil oil for power generation, natural gas, and increasing sugarcane energy in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 135, n. January 2020, p. 110281, 2021.

SILVA, S. A. et al. Long-term acclimation of anaerobic sludges for high-rate methanogenesis from LCFA. **Biomass and Bioenergy**, v. 67, p. 297–303, 2014.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO - SNIS. **Diagnóstico Temático Manejo de Resíduos Sólidos Urbanos: visão Geral ano de referência 2021.** Brasília: [s.n.].

SOGODOGO, E.; DRANCOURT, M.; GRINE, G. Methanogens as emerging pathogens in anaerobic abscesses. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 38, n. 5, p. 811–818, 2019.

SÖLLINGER, A. et al. Phylogenetic and genomic analysis of Methanomassiliicoccales in wetlands and animal intestinal tracts reveals clade-specific habitat. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 1, p. 1–12, 2016.

SÖLLINGER, A.; URICH, T. Methylophilic methanogens everywhere — physiology and ecology of novel players in global methane cycling. **Biochemical Society Transactions**, v. 47, n. 6, p. 1895–1907, 2019.

SONG, Y. et al. Application of mixture design to optimize organic composition of carbohydrate, protein, and lipid on dry anaerobic digestion of OFMSW: Aiming stability and efficiency. **Biochemical Engineering Journal**, v. 172, n. April, p. 108037, 2021.

STANTSCHEFF, R. et al. Isolation and differentiation of methanogenic Archaea from mesophilic corn-fed on-farm biogas plants with special emphasis on the genus Methanobacterium. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 12, p. 5719–5735, 2014.

STARR, E. P. et al. Stable isotope informed genome-resolved metagenomics reveals that Saccharibacteria carbon. **Microbiome**, v. 6, n. 122, p. 1–12, 2018.

STEIN, U. H. et al. Maximizing the production of butyric acid from food waste as a precursor for ABE-fermentation. **Science of the Total Environment**, v. 598, n. 2017, p. 993–1000, 2017.

STRÖMBERG, S.; NISTOR, M.; LIU, J. Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. **Waste Management**, v. 34, n. 11, p. 1939–1948, 2014.

SU, Y. et al. Occurrence of microplastics in landfill systems and their fate with landfill age. **Water Research**, v. 164, 2019.

SULIS, F. et al. Recognizing the wealth of non-marketable food in distribution centres: The environmental benefits of donation. **Journal of Cleaner Production**, v. 318, n. July, p. 128482, 2021.

TAN, L. C. et al. Granular activated carbon supplementation enhances anaerobic digestion of lipid-rich

- wastewaters. **Renewable Energy**, v. 171, p. 958–970, 2021.
- TÁPPARO, D. C. et al. Swine manure biogas production improvement using pre-treatment strategies: Lab-scale studies and full-scale application Manure input. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, n. March, 2021.
- TIAN, J. et al. Acquisition of the arginine deiminase system benefits epiparasitic Saccharibacteria and their host bacteria in a mammalian niche environment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 2, 2022.
- TRABUE, S. L. et al. Swine diets: Impact of carbohydrate sources on manure characteristics and gas emissions. **Science of the Total Environment**, v. 825, p. 153911, 2022.
- TRAUTMANN, A. et al. Short-chain fatty acids modulate metabolic pathways and membrane lipids in *Prevotella bryantii* B1 4. **Proteomes**, v. 8, n. 4, p. 1–17, 2020.
- TRUONG, L. et al. Food waste in animal feed with a focus on use for broilers. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 8, n. 4, p. 417–429, 2019.
- TULUN, Ş.; BILGIN, M. Enhanced Soluble Protein and Biochemical Methane Potential of Apple Biowaste by Different Pretreatment. **Earth Systems and Environment**, v. 2, n. 1, p. 85–94, 2018.
- VACILOTTO, M. M. et al. Paludibacter propionigenes GH10 xylanase as a tool for enzymatic xylooligosaccharides production from heteroxylans. **Carbohydrate Polymers**, v. 275, n. July 2021, p. 118684, 2022.
- VANWONTERGHEM, I. et al. Methylophilic methanogenesis discovered in the archaeal phylum Verstraetearchaeota. **Nature Microbiology**, v. 1, n. December, p. 1–9, 2016.
- VAVERKOVÁ, M. D. Landfill impacts on the environment— review. **Geosciences (Switzerland)**, v. 9, n. 10, p. 1–16, 2019.
- VERAS, S. T. S. et al. Anaerobic production of valeric acid from crude glycerol via chain elongation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 1847–1858, 2020.
- VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE. **VDI-Richtlinien 4630**. [s.l.: s.n.].
- VITAL, M.; HOWE, A. C.; TIEDJE, J. M. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. **mBio**, v. 5, n. 2, p. 1–11, 2014.
- WANG, L. et al. Integrated process for anaerobically digested swine manure treatment. **Bioresource Technology**, v. 273, n. September 2018, p. 506–514, 2019.
- WANG, P. et al. Enhancement of enzyme activities and VFA conversion by adding Fe/C in two-phase high-solid digestion of food waste: Performance and microbial community structure. **Bioresource Technology**, v. 331, n. March, p. 125004, 2021a.
- WANG, S.; PING, Q.; LI, Y. Comprehensively understanding metabolic pathways of protein during the anaerobic digestion of waste activated sludge. **CHEMOSPHERE**, v. 297, jun. 2022.
- WANG, Y. et al. A methylophilic origin of methanogenesis and early divergence of anaerobic multicarbon alkane metabolism. **Science advances**, v. 7, n. 27, 2021b.
- WANG, Y. et al. Resource potential and global warming potential of fruit and vegetable waste in China based on different treatment strategies. **Waste Management**, v. 140, n. July 2021, p. 225–232, 2022.
- WEIMERS, K. et al. Liquid Anaerobic Digestate as Sole Nutrient Source in Soilless Horticulture—Or Spiked With Mineral Nutrients for Improved Plant Growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, n. March, p. 1–13, 2022.
- WU, L. J. et al. Determination and abatement of methanogenic inhibition from oleic and palmitic acids.

**International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 123, p. 10–16, 2017.

WU, L. J. et al. High loading anaerobic co-digestion of food waste and grease trap waste: Determination of the limit and lipid/long chain fatty acid conversion. **Chemical Engineering Journal**, v. 338, n. January, p. 422–431, 2018.

XIA, X. et al. Stimulation of *Smithella*-dominating propionate oxidation in a sediment enrichment by magnetite and carbon nanotubes. **Environmental Microbiology Reports**, v. 11, n. 2, p. 236–248, 2019.

XIAO, X.; SHI, W.; RUAN, W. Performance and microbial community structure of anaerobic membrane bioreactor for lipids-rich kitchenwaste slurry treatment: Mesophilic and thermophilic processes. **Processes**, v. 7, n. 12, 2019.

XU, Q. et al. Effects of biochar addition on the anaerobic digestion of carbohydrate-rich, protein-rich, and lipid-rich substrates. **Journal of the Air and Waste Management Association**, v. 70, n. 4, p. 455–467, 2020.

YANG, H. et al. Propionic acid production from soy molasses by *Propionibacterium acidipropionici*: Fermentation kinetics and economic analysis. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 1–9, 2018.

YESHANEW, M. M. et al. Start-up of an anaerobic fluidized bed reactor treating synthetic carbohydrate rich wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 456–464, 2016.

ZAMANZADEH, M. et al. Anaerobic digestion of food waste - Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. **Water Research**, v. 96, p. 246–254, 2016.

ZANON, I. et al. Vinasse biogas energy and economic analysis in the state of São Paulo - Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 260, p. 121018, 2020.

ZHENG, Y. et al. Metagenomics insight into bioaugmentation mechanism of *Propionibacterium acidipropionici* during anaerobic acidification of kitchen waste. **Bioresource Technology**, v. 362, n. July, 2022.

ZHENG, Z. et al. Achieve clean and efficient biomethane production by matching between digestate recirculation and straw-to-manure feeding ratios. **Journal of Cleaner Production**, v. 263, p. 121414, 2020.

ZHOU, M. et al. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 68–78, 2018b.

ZIELS, R. M.; BECK, D. A. C.; STENSEL, H. D. Long-chain fatty acid feeding frequency in anaerobic codigestion impacts syntrophic community structure and biokinetics. **Water Research**, v. 117, p. 218–229, 2017.