



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PRISCILA LIANE BIESDORF BORTH

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO
LIGNOCELULÓSICO NO DESEMPENHO DA DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ALIMENTARES**

Londrina
2021

PRISCILA LIANE BIESDORF BORTH

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO
LIGNOCELULÓSICO NO DESEMPENHO DA DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ALIMENTARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Doutora em Engenharia Civil.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fernandes

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

B739i Borth, Priscila Liane Biesdorf.
Influência da adição de resíduo lignocelulósico no desempenho da digestão anaeróbia de resíduos alimentares/ Priscila Liane Biesdorf Borth. - Londrina, 2021.
148 f. : il.

Orientador: Fernando Fernandes.

Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Tecnologia e Urbanismo, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2021. Inclui bibliografia.

1. Biodigestão - Tese. 2. Resíduo de restaurante - Tese. 3. Resíduo de jardinagem - Tese. 4. Metano - Tese. I. Fernandes, Fernando. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Tecnologia e Urbanismo. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. III. Título.

CDU 62

PRISCILA LIANE BIESDORF BORTH

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO
LIGNOCELULÓSICO NO DESEMPENHO DA DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ALIMENTARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Doutora em Engenharia Civil.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Armando Borges de Castilhos Junior
Universidade Federal de Santa Catarina -
UFSC

Prof. Dra. Deize Dias Lopes
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Miguel Mansur Aisse
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Prof. Dra. Monica Sarolli Silva M. Costa
Universidade Estadual do Oeste do Paraná -
UNIOESTE

Londrina, 22 de julho de 2021.

Ao meu esposo Marcos, e minha filha Isabela,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me abençoar e guiar a minha vida de forma tão incrível.

Ao meu orientador Dr. Fernando Fernandes pela orientação com o trabalho, ensinamentos, paciência e gentileza em todos os momentos.

À Professora Dra. Emília Kiyomi Kuroda, pelos ensinamentos, pela atenção e preocupação em auxiliar no que fosse necessário.

Ao meu esposo, melhor amigo e companheiro, Marcos, por estar sempre ao meu lado, me motivando e tornando meus dias mais felizes.

À minha filha Isabela, que veio ao mundo para deixar a minha vida mais completa.

Aos meus familiares que sempre me acompanham e apoiam.

Aos colegas do grupo de pesquisa Copel-UEL, pelo auxílio e momentos de descontração mesmo em meio aos dias cansativos.

À todos os colegas do LabTar do período de doutorado: Jessica, Maurício, Isabela, Thainara, Adriana, Betina, Renan, José Augusto, Arthur, Mariane, Emily, Sarah, Thaís, Amanda e alunos de IC pela parceria e bons momentos vividos.

Ao técnico do laboratório de Hidráulica e Saneamento Ivan Jorge Alves, pelo auxílio e gentileza em todos os momentos.

Ao técnico do laboratório de Maquetes Carlos Alberto Duarte pelo auxílio na confecção de aparatos experimentais, pela gentileza e simpatia.

Aos professores componentes da banca de defesa, pelas valiosas contribuições.

Aos professores do programa de pós-graduação em Engenharia Civil pelos ensinamentos.

Aos funcionários da Sanepar da cidade de Londrina, pelo excelente atendimento e auxílio nas coletas.

À COPEL e ANEEL pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Fundação Araucária pela concessão da bolsa de doutorado.

À todos que colaboraram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BORTH, Priscila L. B. **Influência da adição de resíduo lignocelulósico no desempenho da digestão anaeróbia de resíduos alimentares**. 2021. 144 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

A digestão anaeróbia é uma das alternativas para o tratamento de resíduos orgânicos, que pode gerar o biogás para fins energéticos e auxiliar na diminuição do volume de resíduos orgânicos encaminhados para aterros sanitários. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência da adição de resíduo de poda de grama – RPG no desempenho da digestão anaeróbia de resíduo alimentar de um restaurante universitário - RRU. O trabalho dividiu-se em duas etapas experimentais. Primeiramente (etapa I), foi realizado um experimento em escala de bancada, por meio do ensaio do potencial bioquímico de metano – BMP, no qual buscou-se determinar as condições ideais para aplicação em escala piloto. Foram variadas as proporções inóculo:substrato – I:S, o teor de sólidos totais voláteis – STV da mistura e o tipo de substrato (RRU; RRU+RPG e RRU+RPGt). Posteriormente (etapa II), foi conduzido um experimento com biodigestores em escala piloto com volume total de 500 L, operados de modo semi-contínuo com foco em análises do efluente e do biogás gerados, o qual foi dividido em 6 fases (II-A, II-B, II-C, II-D, II-E e II-F), de acordo com a carga orgânica volumétrica – COV aplicada. A análise fatorial aplicada aos resultados do experimento de BMP, indicou que as condições com proporção I:S de 1:1 com maior teor de STV e apenas RRU atingiram as maiores produções de metano. Esta combinação resultou em 509 NmL de CH₄ e 159 NmLCH₄ gSTV⁻¹ de produção acumulada e específica, respectivamente. No experimento em escala piloto, obteve-se dificuldade na manutenção de um processo estável, sendo necessária a adição de alcalinizante e aplicação de baixa COV. Na fase II-C, com COV mantida em 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ houve uma remoção média para o Reator A (alimentado com RRU) de 36% de STV e produção de biogás e metano com média de 17 L d⁻¹ e 43% de CH₄. Por sua vez, o Reator B (RRU+RPG) apresentou em média 73% de remoção de STV, produção de 86 L d⁻¹ de biogás e 67% de CH₄. O co-tratamento de RRU e RPG em escala piloto, resultou em melhor desempenho na digestão anaeróbia, contudo mesmo neste caso, houve dificuldades no incremento da COV. As imagens de MEV das partículas de RPG, indicaram que estas serviram como meio suporte aos microrganismos, os quais se fixaram de diferentes formas ao substrato, formando biofilmes. A análise da comunidade microbiana (bactérias e arqueas) presente nos reatores, indicou que nas 3 amostras analisadas (Reator A Fase II-C; Reator B fases II-C e II-F) houve diferença na diversidade e abundância dos microrganismos presentes.

Palavras-chave: biodigestão; resíduo de restaurante; resíduo de jardinagem; metano.

BORTH, Priscila L. B. **Influence of the addition of lignocellulosic residue on the performance of anaerobic digestion of food residues.** 2021. 144 p. Thesis (Doctorate in Civil Engineering) – State University of Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Anaerobic digestion is one of the alternatives for the treatment of organic waste, which can generate biogas for energy purposes and help to reduce the volume of organic waste sent to landfills. In this sense, this work aims to evaluate the influence of the addition of grass pruning waste - GPW on the performance of anaerobic digestion of food waste - FW. The work was divided into two experimental stages. First (step I), an experiment was carried out on a bench scale, through the test of the biochemical methane potential – BMP, in which was sought to determine the ideal conditions for application on a pilot-scale. The inoculum:substrate – I:S ratio, the total volatile solids – TVS of the mixture and the type of substrate (FW; FW+GPW and FW+GPWt) were analyzed. Subsequently (step II), an experiment was conducted with pilot-scale biodigesters with a total volume of 500 L, operated in a semi-continuous mode with a focus on the analysis of the effluent and biogas generated, which was divided into 6 phases (II-A, II-B, II-C, II-D, II-E and II-F), according to the organic loading rate – OLR applied. The factorial analysis applied to the results of the BMP experiment indicated that the conditions with an I:S ratio of 1:1 with the highest TVS content and only FW, reached the highest methane production. This combination resulted in 509 NmL of CH₄ and 159 NmLCH₄ gTVS⁻¹ of a cumulative and specific production, respectively. In the pilot-scale experiment, there was difficulty in maintaining a stable process, requiring the addition of buffer and application of low OLR. In phase II-C, with OLR maintained at 0.24 kgTVS m⁻³d⁻¹ there was an average removal for Reactor A (fed with FW) of 36% TVS and biogas and methane production with an average of 17 L d⁻¹ and 43% CH₄. On the other hand, Reactor B (FW+GPW) showed an average of 73% removal of TVS, production of 86 L d⁻¹ of biogas and 67% of CH₄. The co-treatment of FW and GPW on a pilot-scale resulted in better performance in anaerobic digestion, however, even in this case, there were difficulties in increasing the OLR. The SEM images of the GPW particles indicated that they served as a support medium for microorganisms, which fixed themselves in different ways to the substrate, forming biofilms. The analysis of the microbial community (bacteria and archaea) present in the reactors indicated that in the 3 samples analyzed (Reactor A Phase II-C; Reactor B phases II-C and II-F) there was a difference in the diversity and abundance of the microorganisms present.

Key words: biodigestion; restaurant waste; garden waste; methane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Relação da matriz energética brasileira	19
Figura 2	– Emissões de gases do efeito estufa por resíduos	22
Figura 3	– Fases do processo de digestão anaeróbia.....	23
Figura 4	– Esquema da estrutura de materiais lignocelulósicos.....	40
Figura 5	– Fluxograma do trabalho experimental	47
Figura 6	– Coleta e acondicionamento do inóculo para utilização nos experimentos.....	48
Figura 7	– Procedimentos de coleta e acondicionamento do RRU	49
Figura 8	– RPG antes e após a trituração	50
Figura 9	– Reator em escala de bancada utilizado para o ensaio de BMP	53
Figura 10	– Representação esquemática detalhada dos reatores em escala piloto.....	60
Figura 11	– Vista dos reatores pilotos utilizados neste trabalho	61
Figura 12	– Relação da COV em cada fase experimental	64
Figura 13	– Taxa de geração de biogás ao longo do experimento de BMP	74
Figura 14	– Taxa de geração de biogás até o 10º dia de experimento de BMP	75
Figura 15	– Produção acumulada de biogás ao longo do experimento de BMP	76
Figura 16	– Teor de metano ao longo do experimento de BMP	77
Figura 17	– Valores de pH afluente e efluente durante o monitoramento dos reatores em escala piloto	87
Figura 18	– Valores de AGV e alcalinidade durante o monitoramento dos reatores em escala piloto	88
Figura 19	– Valores de Al/AP durante o monitoramento dos reatores em escala piloto	91
Figura 20	– Aspecto dos efluentes dos Reatores A e B aos 134 dias (a e b) e aos 302 dias de monitoramento do Reator B (c).....	93
Figura 21	– Aspecto das amostras em diferentes fases do experimento em escala piloto	94
Figura 22	– Relação da COV aplicada durante o monitoramento dos reatores	95

Figura 23 – Valores de DQO obtidos durante o monitoramento dos reatores...	96
Figura 24 – Valores de STV obtidos durante o monitoramento dos reatores....	97
Figura 25 – Produção volumétrica de biogás durante o monitoramento dos reatores	100
Figura 26 – Teor de metano presente no biogás durante o monitoramento dos reatores	101
Figura 27 – Imagens de MEV com partículas de grama do efluente do reator B na Fase II-C	105
Figura 28 – Imagens de MEV com a diversidade de microrganismos aderidos na superfície do RPG, do Reator B na Fase II-C.....	106
Figura 29 – Biofilme formado dentro dos orifícios do RPG do efluente do Reator B na fase II-C.....	108
Figura 30 – Imagens de MEV com partículas de grama do efluente do reator B na Fase II-F	109
Figura 31 – Imagens de MEV com a diversidade de microrganismos aderidos na superfície do RPG, do Reator B na Fase II-F	110
Figura 32 – Biofilme formado dentro dos orifícios do RPG do efluente do Reator B na fase II-F	111
Figura 33 – Abundância relativa de filo das bactérias presentes nos reatores em escala piloto	112
Figura 34 – Abundância relativa de classe das bactérias presentes nos reatores em escala piloto	115
Figura 35 – Abundância relativa de ordem das bactérias presentes nos reatores em escala piloto	116
Figura 36 – Abundância relativa de família das bactérias presentes nos reatores em escala piloto	117
Figura 37 – Abundância relativa de gênero das bactérias presentes nos reatores em escala piloto	118
Figura 38 – Abundância relativa de filo das arqueas presentes nos reatores em escala piloto	119
Figura 39 – Abundância relativa de classe das arqueas presentes nos reatores em escala piloto	120
Figura 40 – Abundância relativa de ordem das arqueas presentes nos reatores em escala piloto	121

Figura 41 – Abundância relativa de família das arqueas presentes nos reatores em escala piloto	122
Figura 42 – Abundância relativa de gênero das arqueas presentes nos reatores em escala piloto	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Parâmetros de importância para o tratamento anaeróbio	27
Tabela 2	– Substâncias inorgânicas e concentrações prejudiciais ao processo anaeróbio.....	32
Tabela 3	– Relação de TDH e COV utilizados para diferentes substratos	33
Tabela 4	– Relação dos principais componentes do biogás	37
Tabela 5	– Compilação de estudos sobre co-digestão anaeróbia de resíduo alimentar e lignocelulósico	45
Tabela 6	– Coletas de RRU realizadas e cardápio relacionado	49
Tabela 7	– Parâmetros, métodos de referência e equipamentos utilizados	51
Tabela 8	– Planejamento fatorial 23 com os fatores substrato RPG e RPGt ...	54
Tabela 9	– Planejamento fatorial 23 com os fatores substrato RRU e RPG ...	55
Tabela 10	– Relação da quantidade dos resíduos adicionados aos frascos de BMP	55
Tabela 11	– Condições utilizadas nos reatores em escala piloto.....	60
Tabela 12	– Condições estudadas nos reatores em escala piloto	62
Tabela 13	– Relação da frequência de análise dos parâmetros de monitoramento	64
Tabela 14	– Características físico-químicas dos resíduos utilizados no experimento de BMP.....	68
Tabela 15	– Valores médios de pH e alcalinidade iniciais e finais do experimento de BMP.....	70
Tabela 16	– Valores médios de ST e STV iniciais e finais do experimento de BMP	71
Tabela 17	– Valores médios de DQO iniciais e finais do experimento de BMP ..	72
Tabela 18	– Características da geração de biogás para os Tratamentos B e C.....	72
Tabela 19	– Análise de variância para a produção acumulada de metano das condições B e C.	73
Tabela 20	– Características da geração de biogás para os Tratamentos A e B.....	78
Tabela 21	– Análise de variância para a produção acumulada de metano das condições A e B	79

Tabela 22	– Diferenças estatísticas entre os tratamentos para a relação I:S	80
Tabela 23	– Diferenças estatísticas entre os tratamentos para o teor de STV ..	80
Tabela 24	– Diferenças estatísticas entre os tratamentos para o tipo de substrato	81
Tabela 25	– Características físico-químicas dos resíduos utilizados na etapa experimental II.....	83
Tabela 26	– Caracterização das amostras de RRU coletadas durante o experimento em escala piloto.....	84
Tabela 27	– Comparação das características do RRU com outros trabalhos....	84
Tabela 28	– Valores médios dos parâmetros de controle em cada fase experimental.....	92
Tabela 29	– Valores médios do monitoramento dos parâmetros de desempenho em cada fase experimental.....	99
Tabela 30	– Valores médios de caracterização do biogás no monitoramento dos reatores	102
Tabela 31	– Resultados de nitrogênio e carbono em diferentes fases do monitoramento dos reatores	103
Tabela 32	– Valores de nitrogênio amoniacal nas diferentes fases do monitoramento dos reatores	104
Tabela 33	– Correlação entre a comunidade microbiana e as condições operacionais.....	126
Tabela 34	– Valores de CE5048h e CL5048h (% v v-1) obtidos nos ensaios de ecotoxicidade em D. magna e A. salina	127

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al/AP	Alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial
AWWA	American Water Works Association.
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
BMP	Potencial Bioquímico de Metano
C:N	Relação Carbono:Nitrogênio
COT	Carbono Orgânico Total
COV	Carga Orgânica Volumétrica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DP	Desvio Padrão
I:S	Proporção inóculo:substrato
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
pH	Potencial de Hidrogênio
PNRS	Política Nacional dos Resíduos Sólidos
RA	Resíduo alimentar
RPG	Resíduo de Poda de Grama
RPGt	Resíduo de Poda de Grama pré-tratado
RRU	Resíduo de Restaurante Universitário
STV	Sólidos Totais Voláteis
ST	Sólidos Totais
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVO	18
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1	MATRIZ ENERGÉTICA BRASILEIRA.....	19
3.2	Geração de Resíduos Sólidos no Brasil	20
3.2.1	Geração de Gases do Efeito Estufa	21
3.3	DIGESTÃO ANAERÓBIA	22
3.3.1	Hidrólise.....	24
3.3.2	Acidogênese.....	24
3.3.3	Acetogênese.....	24
3.3.4	Metanogênese.....	25
3.3.5	Digestão Anaeróbia de Resíduos Orgânicos.....	26
3.4	FATORES INTERFERENTES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	27
3.4.1	Temperatura	27
3.4.2	pH, Alcalinidade e Ácidos Graxos Voláteis.....	28
3.4.3	Composição do Substrato	29
3.4.4	Presença de Nutrientes e Relação C:N.....	30
3.4.5	Carga Orgânica Volumétrica Aplicada.....	31
3.4.6	Compostos Tóxicos	31
3.4.7	Tempo de Detenção Hidráulica	33
3.4.8	Inóculo.....	33
3.5	PARTIDA E OPERAÇÃO DE BIODIGESTORES	34
3.6	NÚMERO DE ESTÁGIOS	35
3.7	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE GERAÇÃO DE METANO	36
3.8	GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DO BIOGÁS	37
3.9	PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS ALIMENTARES.....	38
3.9.1	Co-Digestão de Resíduo Alimentar e Compostos Lignocelulósicos	39
3.9.2	Trabalhos Já Realizados Sobre o Tema	42

4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	46
4.2	INÓCULO E SUBSTRATOS UTILIZADOS	47
4.2.1	Coleta e Acondicionamento do Inóculo	47
4.2.2	Coleta e Preparo do Resíduo do Restaurante Universitário - RRU	48
4.2.3	Coleta e Preparo do Resíduo de Poda de Grama – RPG	50
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	51
4.4	ETAPA EXPERIMENTAL I – ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO – BMP	53
4.4.1	Aparato Experimental	53
4.4.2	Descrição do Experimento.....	54
4.4.3	Cálculo do Volume de Biogás Gerado.....	56
4.4.4	Análise Estatística	58
4.5	ETAPA EXPERIMENTAL II – DIGESTÃO ANAERÓBIA EM ESCALA PILOTO	59
4.5.1	Descrição Geral do Sistema	59
4.5.2	Partida dos Reatores	61
4.5.3	Operação e Monitoramento dos Reatores.....	62
4.5.4	Parâmetros de Monitoramento	64
4.5.5	Análise Por Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.....	65
4.5.6	Análise da Comunidade Microbiana Existente	65
4.5.7	Ensaio de Ecotoxicidade Aguda	66
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1	ETAPA EXPERIMENTAL I - ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO – BMP	68
5.1.1	Caracterização Físico-Química do Inóculo, Substrato e Co- Substrato	68
5.1.2	Parâmetros de Controle	69
5.1.3	Parâmetros de Desempenho.....	71
5.1.4	Ensaio Fatorial 2 ³	79
5.1.5	Considerações Sobre o Ensaio do Potencial Bioquímico de Metano...82	
5.2	ETAPA EXPERIMENTAL II – DIGESTÃO ANAERÓBIA EM ESCALA PILOTO	82
5.2.1	Caracterização Físico-Química do Inóculo, Substrato e Co- Substrato	82

5.2.2	Parâmetros de Controle	86
5.2.3	Parâmetros de Desempenho.....	95
5.2.4	Produção de Biogás	100
5.2.5	Análise dos Nutrientes.....	103
5.2.6	Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	105
5.2.7	Análise da Comunidade Microbiana Existente	111
5.2.8	Ensaio de Ecotoxicidade Aguda	127
5.2.9	Considerações Sobre o Experimento em Escala Piloto	128
6	CONCLUSÕES	130
7	RECOMENDAÇÕES	132
	BIBLIOGRAFIA.....	133

1 INTRODUÇÃO

A digestão anaeróbia é uma alternativa que pode ser utilizada no tratamento de diferentes resíduos orgânicos. A conversão da matéria orgânica por microrganismos anaeróbios gera um resíduo mais estabilizado, enquanto produz uma fonte energética, o biogás. O biogás é composto principalmente por metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e outros compostos em menores concentrações. Os teores de cada gás variam de acordo com o tipo de substrato e desempenho do processo. O metano é o gás com maior poder calorífico, e, portanto, deve-se buscar otimizar o processo para que seja produzido em maiores concentrações (DEUBLEIN; STEINHAUSER; 2008).

Entre os resíduos que podem ser tratados por meio desta técnica, os resíduos alimentares têm sido alvo de estudos, devido à elevada quantidade gerada em diversos setores e seu elevado potencial de geração do biogás (ZANDONADI; MAURICIO, 2012). Contudo, algumas adversidades são encontradas no tratamento anaeróbio de resíduo alimentar, principalmente em relação à baixa estabilidade do processo, com elevada geração de ácidos graxos voláteis – AGV (DAVID et al., 2018; YE et al., 2018).

Assim, alguns trabalhos têm sido realizados na busca por melhorar a estabilidade e eficiência da digestão anaeróbia de resíduo alimentar, como por exemplo, a co-digestão com outros resíduos, como resíduos lignocelulósicos. Esta alternativa tem sido investigada visando melhorar a relação C:N e diminuir o acúmulo de AGV no reator (ZAMANZADEH et al., 2016; LI et al., 2017; DAVID et al., 2018; PERIN et al., 2020).

Contudo, questiona-se sobre como os resíduos lignocelulósicos contribuem na digestão de resíduo alimentar, visto que em alguns trabalhos são adicionadas pequenas porcentagens do co-substrato (MALINOWSKY, 2016; MAGALHÃES, 2018), não aumentando significativamente a relação C/N da mistura. A possibilidade do resíduo lignocelulósico servir como meio suporte para os microrganismos, pode indicar outro benefício para melhor desenvolvimento e adaptação da microbiota no meio.

Deste modo, este trabalho possui como objetivo avaliar a influência da adição de resíduo de poda de grama – RPG na digestão anaeróbia de resíduos alimentares, por meio de microscopia eletrônica de varredura e análise da comunidade microbiana

presente, além de parâmetros físico-químicos e análise quali-quantitativa do biogás gerado.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é investigar a influência da adição de resíduo de poda de grama – RPG na digestão anaeróbia de resíduos alimentares, em escalas de bancada e piloto, considerando aspectos quali-quantitativos do biogás e efluentes gerados.

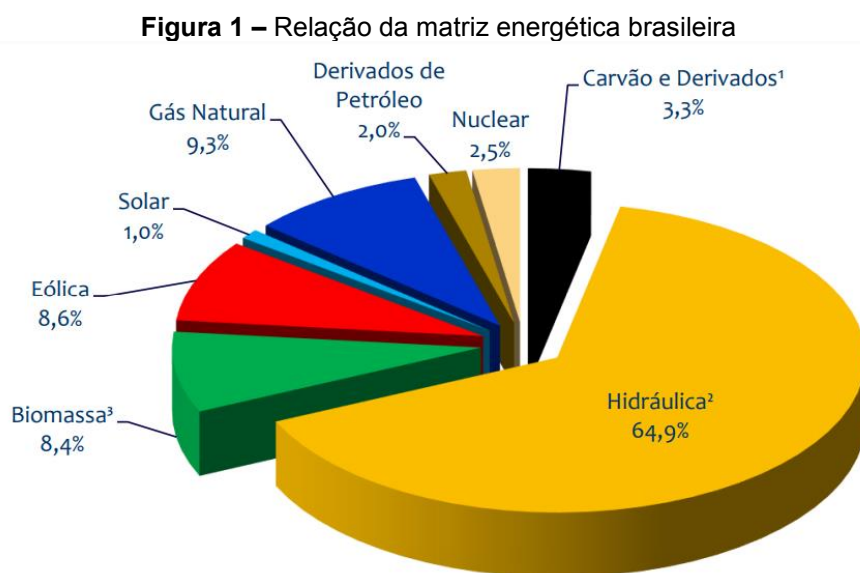
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar o potencial de geração de metano a partir da digestão de resíduo alimentar e da sua co-digestão com resíduo de poda de grama com e sem pré-tratamento (RPG e RPGt), por meio do ensaio do potencial bioquímico de metano – BMP em escala de bancada;
- Avaliar o desempenho da digestão de resíduo alimentar e sua co-digestão com RPG em reatores de escala piloto, com base em análises do biogás e efluente gerados, variando-se a carga orgânica aplicada – COV;
- Analisar a biodegradação do RPG do reator piloto, com base nas análises de microscopia eletrônica de varredura – MEV;
- Identificar e quantificar a comunidade microbiana presente no efluente dos reatores pilotos, por meio de sequenciamento e quantificação de DNA;
- Comparar a toxicidade das amostras dos reatores em escala piloto, por meio de ensaios de ecotoxicidade aguda com os organismos-teste *Daphnia magna* e *Artemia salina*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 MATRIZ ENERGÉTICA BRASILEIRA

A geração de energia no Brasil, tem como principal fonte as usinas hidrelétricas, localizadas em diferentes regiões, correspondendo a aproximadamente 65% da energia utilizada, conforme dados do balanço energético nacional do ano de 2019 (Figura 1). Ressalta-se, que fontes alternativas e renováveis de geração de energia como biomassa, eólica e solar, ainda são pequenas no cenário atual (18% do total utilizado), porém tem ocorrido um aumento no seu uso nos últimos anos (EPE, 2020).



Fonte: EPE, 2020

A biomassa é uma fonte renovável de energia e de modo geral, pode ser composta por qualquer material vegetal, dejetos animais e matéria orgânica proveniente de resíduos industriais e urbanos. Com isso, há grande potencial de sua utilização no Brasil, devido à diversidade e quantidade na geração destes resíduos, que possibilitam, dentro da sua gestão, o aproveitamento energético de diferentes formas (MME, 2018).

As resoluções Normativas nº 482 de 2012 e nº 687 de 2015 instituídas pela ANEEL, juntamente com o PROINFA – Programa de Incentivo às Fontes Renováveis de Energia Elétrica (Decreto nº 5.025 de 2004), foram considerados avanços para possibilitar o fornecimento de energia elétrica por pequenos geradores às redes de

distribuição, pois foi regulamentada a comercialização de energia por mini e microgeração, facilitando o acesso de pequenos produtores.

Sendo assim, muitos geradores de resíduos orgânicos podem empregar o tratamento anaeróbio como fonte de geração de biogás e realizar o seu aproveitamento energético, com a geração de calor, força motriz ou eletricidade. Resíduos animais, resíduos sólidos urbanos e agroindustriais, possuem elevado potencial de geração de biogás, porém ainda há uma parcela pequena deste setor representada na matriz brasileira (MME, 2018).

3.2 GERAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS NO BRASIL

A geração de resíduos sólidos urbanos – RSU aumenta a cada ano no Brasil, tanto em geração total como per capita. Segundo dados do SNIS (Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento), entre 2017 e 2019, a geração de RSU no Brasil registrou considerável incremento, passando para 65,11 milhões de toneladas por ano e geração per capita foi de 0,99 kg/hab/dia em 2019. A cobertura de resíduos coletados também aumentou para 92%. Contudo, apenas 75% do material coletado foi encaminhado para aterros sanitários. O restante, teve como destinação locais inadequados como lixões e aterros controlados (BRASIL, 2020).

Mesmo com o aumento da coleta dos RSU, há uma grande preocupação com o volume destinado aos aterros sanitários, pois, embora seja uma alternativa de destinação adequada, demanda de grandes áreas, possui uma vida útil limitada e dificuldades no tratamento do lixiviado. Em relação à composição dos RSU, a parcela orgânica contida nestes corresponde a aproximadamente 45,3% da composição gravimétrica. Se separados corretamente, os resíduos orgânicos podem ter outras destinações, como tratamento biológico, gerar produtos de valor e aumentar a vida útil dos aterros (ABRELPE, 2020).

A Política Nacional dos Resíduos Sólidos – PNRS, instituída pela Lei Federal nº 12.305 de 2 de agosto de 2010 (BRASIL, 2010) aborda diversos conceitos relacionados ao tema, assim como em seu Art. 3º (BRASIL, 2010) é descrito:

:

VII - destinação final ambientalmente adequada: destinação de resíduos que inclui a reutilização, a reciclagem, a compostagem, a recuperação e o aproveitamento energético ou outras destinações admitidas pelos órgãos

competentes do Sisnama, do SNVS e do Suasa, entre elas a disposição final, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos; [...]

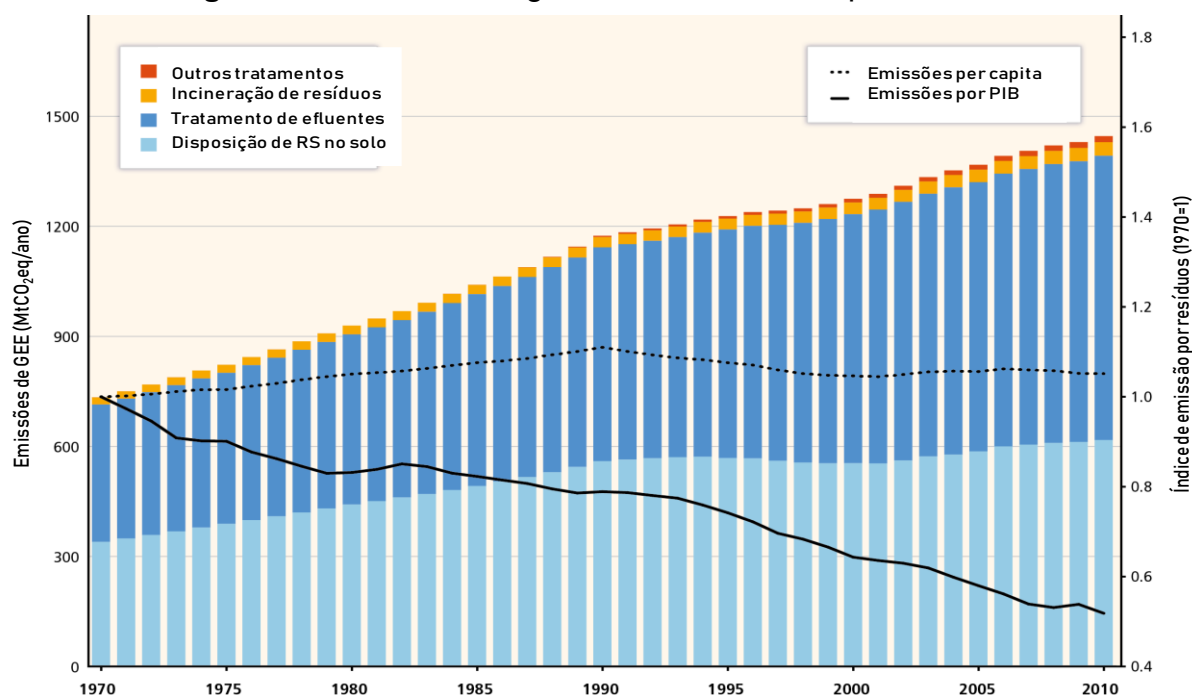
De modo geral, a PNRS visa a redução da geração, tratamento e destinação adequados dos resíduos, propondo um conjunto de instrumentos para incentivo de um melhor gerenciamento, de modo a evitar a simples disposição em aterros/lixões como é realizado no Brasil. Além disso, a política incentiva o aproveitamento energético dos resíduos, que pode ser uma alternativa para obtenção de lucros e minimização dos impactos ambientais.

Contudo, mesmo após anos da elaboração da PNRS, observa-se que as propostas nela contidas, não estão sendo executadas de maneira satisfatória. Com isso, verifica-se a necessidade de medidas governamentais e conscientização da população, para melhorar o cenário atual da geração e gestão dos resíduos sólidos no Brasil.

3.2.1 Geração de Gases do Efeito Estufa

Segundo dados do IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) sobre a emissão de gases do efeito estufa proveniente de resíduos, a partir de 1970 houve aumento da poluição relacionada à disposição no solo e tratamento de efluentes e só houve uma estabilização nos anos 1990, devido à diminuição da emissão na Europa e Estados Unidos (Figura 2). Essa diminuição das emissões na Europa, aconteceu devido às legislações aplicadas, visando diminuir o uso de aterros sanitários e aumentar o aproveitamento energético do tratamento dos resíduos orgânicos (IPCC, 2014).

Figura 2 – Emissões de gases do efeito estufa por resíduos



Fonte: IPCC (2014)

No entanto, em muitos países, como no Brasil, ainda existem muitos lixões a céu aberto e aterros controlados, que não possuem sistema adequado de captação e queima/aproveitamento do biogás gerado. Segundo dados do SNIS, 75,1% dos resíduos foram destinados para aterros sanitários em 2019. A elevada quantidade de resíduos orgânicos destinados à lugares inadequados ocasiona diversos impactos ambientais, como a emissão do biogás para a atmosfera (BRASIL, 2020).

O biogás, caso lançado na atmosfera sem tratamento, pode causar elevado impacto ambiental, devido à presença de gases poluidores e precursores do efeito estufa, como metano, dióxido de carbono, entre outros. Entre as alternativas existentes para minimizar a poluição causada pelo biogás, pode-se citar a sua recuperação e utilização em fins energéticos, como energia elétrica e combustível, por meio da captação do biogás gerado na digestão anaeróbia dos resíduos (MACIEL; JUCÁ, 2011).

3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA

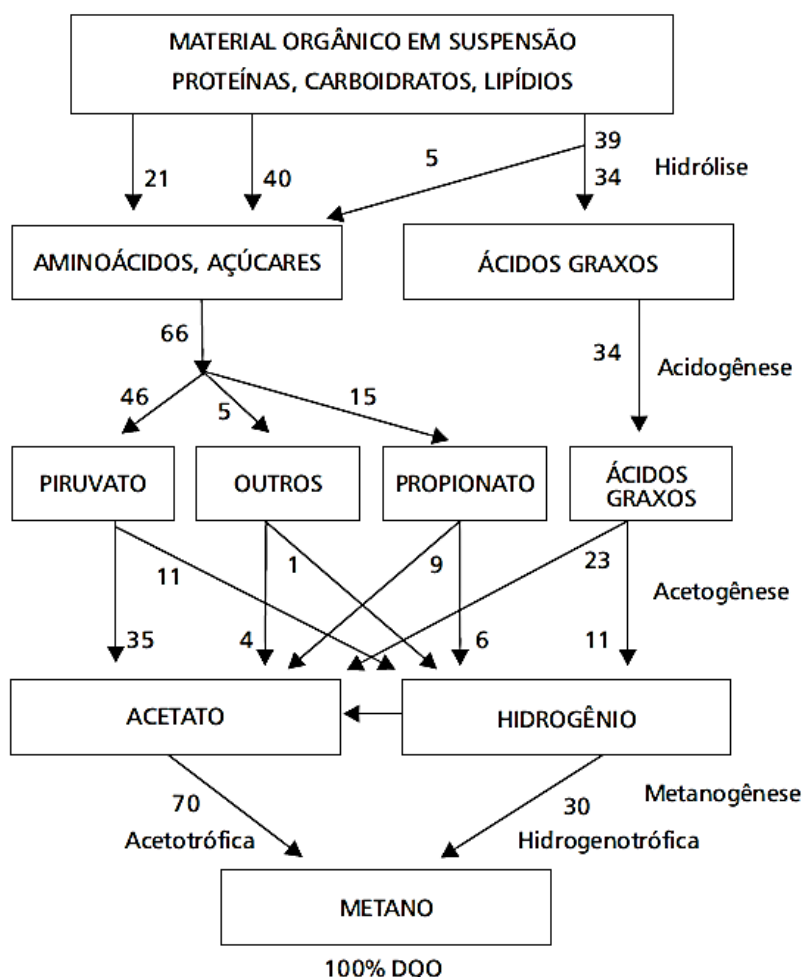
A digestão anaeróbia é considerada uma fonte de energia renovável, que pode ser empregada para diferentes resíduos orgânicos, diminuindo o volume de

resíduos encaminhados para aterros sanitários. Além disso, a energia pode ser gerada próximo ao local de consumo e evitar perdas na distribuição.

Neste processo, diversos microrganismos atuam na conversão da matéria orgânica em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico, amônia e novas células bacterianas. O processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em quatro fases principais (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese) (MATA-ALVAREZ, 2003; STRAZZERA et al., 2018).

Na Figura 3 é apresentada a sequência dos processos metabólicos da digestão anaeróbia.

Figura 3 - Fases do processo de digestão anaeróbia



(Fonte: MATA-ALVAREZ, 2003; CAMPOS, 1999)

3.3.1 Hidrólise

A hidrólise, primeira fase que ocorre na degradação anaeróbia, consiste na conversão de materiais complexos (lipídios, carboidratos, proteínas) em moléculas menores (açúcares, aminoácidos, peptídeos), solúveis e mais simples que podem atravessar as paredes celulares das bactérias fermentativas. Esta conversão é decorrente da ação de exoenzimas excretadas por bactérias fermentativas hidrolíticas (GERARDI, 2003; ZHANG et al., 2014).

A hidrólise pode ser uma etapa limitante na digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos, pois depende primeiramente de enzimas hidrolíticas se adsorverem na superfície do substrato sólido. Alguns fatores podem influenciar na taxa em que o substrato é hidrolisado, como a temperatura, o tempo de residência do substrato no reator, composição do substrato, tamanho das partículas, pH do meio, concentração de ácidos orgânicos voláteis e amônio (ZHANG et al., 2014; REN et al., 2018).

3.3.2 Acidogênese

Posteriormente à hidrólise ocorre a acidogênese, na qual os compostos hidrolisados são metabolizados no interior das células fermentativas e convertidos em compostos mais simples, sendo posteriormente excretados. Os compostos formados são na maioria ácidos orgânicos (ácido acético, propiônico, fórmico, butírico e láctico), álcoois, cetonas, dióxido de carbono, hidrogênio, amônia, sulfeto de hidrogênio e novas células bacterianas (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; ZHANG et al., 2014).

As bactérias fermentativas são as primeiras a atuar, na hidrólise e acidogênese, e são as mais beneficiadas energeticamente. Em função disso, as fermentativas acidogênicas são caracterizadas por possuir elevadas taxas de crescimento (HE et al., 2012; YIN et al., 2016).

3.3.3 Acetogênese

A formação de propionato, butirato e compostos mais reduzidos que o acetato, necessita que microrganismos acetogênicos desempenhem boa atividade, visto que estes são responsáveis por esta conversão. Esta etapa possibilita que os microrganismos metanogênicos façam a transformação do acetato em metano (LIM et al., 2014; INDREN et al., 2020).

Na acetogênese, as bactérias acetogênicas realizam a conversão dos produtos gerados na fase acidogênica em substrato adequado para as arqueas metanogênicas, como hidrogênio, dióxido de carbono e acetato. Em função disso, as bactérias acetogênicas fazem a conexão entre o processo fermentativo (fases iniciais do processo) e formação de metano (fase final) (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

Na formação de acetato, é gerada grande quantidade de H₂, ocasionando a queda no valor do pH do meio. O hidrogênio é consumido principalmente pelas arqueas metanogênicas hidrogenotróficas (utilizam hidrogênio e dióxido de carbono para produção de metano) ou então pode reagir com o dióxido de carbono e ácido acético e produzir outros ácidos, como o propiônico e o butírico (LIM et al., 2014; DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

Elevadas concentrações de hidrogênio podem impedir a conversão dos compostos intermediários da acidogênese, e assim, ocorre o acúmulo de ácidos e inibição da metanogênese. Além disso, a queda do pH causada pelo excesso de hidrogênio, também pode prejudicar diretamente a última fase do processo (LIM et al., 2014; YE et al., 2018).

3.3.4 Metanogênese

Por fim, a etapa final do processo de digestão anaeróbia é denominada metanogênese. As arqueas metanogênicas utilizam principalmente ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono para a formação de biogás. Como os ácidos orgânicos são o principal produto gerado na etapa anterior, a maior parte do metano é produzido pelo consumo do acetato (GERARDI, 2003; ZHANG et al., 2014).

As arqueas metanogênicas envolvidas nesta fase são classificadas basicamente em dois grupos, as acetoclásticas e as hidrogenotróficas. As metanogênicas acetoclásticas realizam a produção de 60 a 70% de metano em relação ao total produzido. Já no caso das metanogênicas hidrogenotróficas, a maioria das espécies produz metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; ZHANG et al., 2014).

As principais arqueas metanogênicas acetoclásticas que realizam a conversão do ácido acético são *Methanosarcina* e *Methanothrix*. Ambas possuem uma taxa de crescimento lenta, com tempo de duplicação de aproximadamente 24 horas. Além disso, ambas são afetadas pela presença de hidrogênio. Portanto, a manutenção do metabolismo de degradação dos compostos orgânicos equilibrado é

de extrema importância. Já as metanogênicas hidrogenotróficas, possuem crescimento mais rápido, com duplicação entre 4-6 horas (GERARDI, 2003; MATA-ALVAREZ, 2003).

Como a multiplicação das arqueas metanogênicas é lenta, caso o tempo de retenção de sólidos ou a renovação do conteúdo do reator forem curtos, a população das formadoras de metano é reduzida. Nestes casos, como os microrganismos são retirados do digestor mais rapidamente que sua reprodução, e conseqüentemente um desempenho ruim ou falha no processo de digestão anaeróbia (GERARDI, 2003).

É importante destacar que neste processo, também pode ocorrer a etapa chamada sulfetogênese, na qual bactérias sulforedutoras, que utilizam uma diversidade de substratos, produzem o sulfeto de hidrogênio. A concentração de sulfato no meio é condicionante para que a produção de metano ocorra, pois, com a presença deste composto, compostos intermediários são utilizados pelas bactérias sulforedutoras que competem com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas (SHEN et al., 2014).

3.3.5 Digestão Anaeróbia de Resíduos Orgânicos

Entre os principais componentes da matéria orgânica biodegradável estão os carboidratos, lipídios e proteínas. Os carboidratos são fácil e rapidamente convertidos por meio da hidrólise, a açúcares simples e conseqüente formação de AGV. Os lipídios são hidrolisados e formam cadeias longas de ácidos graxos, e apenas são oxidados para acetato ou propionato se a pressão parcial de hidrogênio for baixa. As proteínas são hidrolisadas em aminoácidos e estes transformados em AGV, por exemplo, por meio da oxidação ligada à produção de hidrogênio (MATA-ALVAREZ, 2003).

Neste contexto, nota-se a sensibilidade da digestão anaeróbia e a importância de que as etapas ocorram com êxito. Os resíduos sólidos orgânicos são considerados específicos, devido à sua complexa composição e degradabilidade. Assim, a produção de biogás com qualidade depende do bom desempenho da digestão anaeróbia nas diferentes fases. Caso alguma das etapas não ocorra de forma adequada, todo o processo será prejudicado. Algumas condições atuam diretamente no equilíbrio das fases da digestão anaeróbia e por isso, é de extrema importância que estas sejam otimizadas (MATA-ALVAREZ, 2003; ZHANG et al., 2014).

Além disso, as taxas de crescimento de determinadas espécies da comunidade microbiana envolvida na digestão anaeróbia são baixas, e acarretam em

problemas relacionados à estabilidade do processo. Por outro lado, a baixa geração de lodo é uma das vantagens relevantes desta tecnologia (ZAMANZADEH et al., 2016).

3.4 FATORES INTERFERENTES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA

Vários fatores (condições ambientais e operacionais) podem influenciar no desempenho do processo de digestão anaeróbia e na qualidade do biogás gerado. Entre os mais relevantes, pode-se citar: composição do substrato, tamanho da partícula, tempo de detenção hidráulica, temperatura, alcalinidade, pH – potencial hidrogeniônico, presença de compostos tóxicos/inibidores e disponibilidade de nutrientes (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; ZHANG et al., 2014).

Na Tabela 1 são apresentados os principais parâmetros interferentes no tratamento anaeróbio e valores ideais para o bom desempenho do processo.

Tabela 1 – Parâmetros de importância para o tratamento anaeróbio

Parâmetro	Faixa ideal	Unidade	Observações
Temperatura	30 - 70	°C	Valores próximos a 40°C são ideais
pH	6 - 8	-	As arqueas metanogênicas se desenvolvem nesta faixa
Alcalinidade	1.000 a 5.000	mgCaCO ₃ L ⁻¹	Proporciona menor variação nos valores de pH
Ácidos graxos voláteis	até 2.000	mg CH ₃ COOH L ⁻¹	Concentrações acima deste valor podem inibir a metanogênese
AGV/AT	0,1 – 0,5	-	Relacionada a estabilidade do processo
C:N	20 a 30	-	Valores elevados desta relação podem prejudicar a produção de metano
Carga orgânica	Até 7,5	kgSTV m ⁻³ d ⁻¹	Pode haver inibição acima deste valor
TDH	9 a 95	dias	Depende do tipo de substrato, temperatura e sistema de digestão

Fonte: DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; MAO et al., 2015

3.4.1 Temperatura

A temperatura influencia diretamente nas diferentes etapas do processo de digestão anaeróbia, devido à sua interferência principalmente na atividade microbiana. A hidrólise (determinante para que as outras etapas ocorram) e a metanogênese

possuem melhor desempenho em faixas de temperatura mesofílicas (30 a 40 °C) e termofílicas (40 a 70 °C). Em temperaturas psicofílicas (10 a 30 °C) também há o desenvolvimento dos microrganismos anaeróbios, contudo, nestas condições o crescimento é menos da metade em comparação com condições termofílicas (ZHANG et al., 2014; MAO et al., 2015).

3.4.2 pH, Alcalinidade e Ácidos Graxos Voláteis

O pH interfere diretamente no processo anaeróbio, pois influencia na atividade metabólica dos microrganismos, principalmente os metanogênicos. Deste modo, o controle do pH tem como objetivo principal evitar a inibição das arqueas metanogênicas e favorecer a produção de metano (MAO et al., 2015).

A faixa de pH que possibilita a obtenção de um bom desempenho do tratamento anaeróbio, situa-se entre 6 e 8. A presença de compostos como CO₂ e ácidos orgânicos podem ocasionar a queda do pH, enquanto que a alcalinidade formada pelos cátions gerados no processo, como os íons amônio pela degradação da proteína, e o sódio por meio da degradação de sabões, aumentam a alcalinidade e o pH do meio (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; MAO et al., 2015).

A alcalinidade proporciona ao meio a capacidade de evitar mudanças bruscas de pH. Com isso, a importância deste parâmetro está relacionada à necessidade de manter o pH do meio dentro da faixa aceitável para a metanogênese, visto que a digestão do substrato resulta na produção dos ácidos voláteis, que precisam ser tamponados. A faixa de alcalinidade recomendada para o tratamento anaeróbio é de 1.000 a 5.000 mg L⁻¹ (BARCELOS, 2009; METCALF; EDDY, 2016).

Contudo, deve-se tomar cuidado em relação à quantificação da alcalinidade em amostras de reatores anaeróbios. Isto porque os AGV reagem com os bicarbonatos, formando uma alcalinidade relacionada aos ácidos, que não possui capacidade de tamponamento do sistema. Esta alcalinidade, denominada intermediária (AI), é calculada com titulação de pH de 4,3 a 5,75. Sendo assim, deve ser descontada para quantificação real de tamponamento do sistema (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986; CHERNICHARO, 2016).

Nesse sentido, a análise da relação entre alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AP) torna-se importante para avaliar a estabilidade do sistema. A literatura reporta que valores de AI/AP devem estar abaixo de 0,3 em reatores anaeróbios (RIPLEY et al., 1986; CHERNICHARO 2016). Elevados valores de AI/AP

indicam que há grande proporção de AGV em relação à alcalinidade a bicarbonatos e com isso pode ocorrer acidificação do sistema.

Os AGV, são produzidos na etapa acidogênica e transformados em acetato, H₂ e CO₂ na acetogênese. Os ácidos voláteis são compostos intermediários da degradação, e a partir destes a maior parte do metano é produzida, pelas arqueas metanogênicas (CHERNICHARO, 2016). Para que o processo se mantenha em equilíbrio e não ocorra acidificação do meio, a faixa recomendada da relação entre AGV e alcalinidade total – AT (AGV/AT) é de 0,1 a 0,5 (SPEECE, 1996; SÁNCHEZ et al., 2005).

Quando há quantidade suficiente de arqueas metanogênicas e condições ambientais favoráveis, elas utilizam os ácidos intermediários assim que eles são formados. Com isso, não há acúmulo de ácidos além da capacidade neutralizadora da alcalinidade natural, o pH se mantém em uma faixa favorável à metanogênese e o sistema anaeróbio permanece em equilíbrio (MATA-ALVAREZ, 2003; CHERNICHARO, 2016).

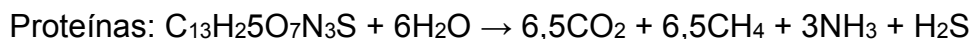
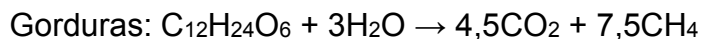
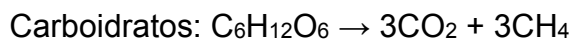
Contudo, se as arqueas metanogênicas não estiverem em quantidade suficiente ou se as condições ambientais não forem favoráveis, não haverá o consumo dos ácidos na mesma proporção em que são produzidos, e se a alcalinidade não for suficiente, pode ocorrer uma queda do pH e inibição das arqueas metanogênicas sensíveis a mudanças ambientais (CHERNICHARO, 2016; RIBAS, MORAES; FORESTI, 2007).

3.4.3 Composição do Substrato

As características quali-quantitativas do biogás estão diretamente associadas com o teor e características químicas da matéria orgânica biodegradável. Os substratos são formados principalmente por carboidratos, proteínas, lipídios, celulose e lignina e seus teores variam de acordo com o material orgânico. A presença de hidrocarbonetos de cadeia longa como substratos ricos em gordura, desde que em concentrações razoáveis para não haver acidificação, potencializa a produção de metano, assim como maiores números de átomos de carbono (DEUBLEIN E STEINHAUSER, 2008; MACIEL; JUCÁ, 2011).

Cada substrato possui características peculiares, as quais podem contribuir ou dificultar o tratamento anaeróbio. Por exemplo, substratos com elevados teores de lignina e celulose, ocasionam maior dificuldade na hidrólise, podendo ser necessário

um pré-tratamento. Além disso, a composição do material influencia no teor de metano e qualidade do biogás. Algumas reações isoladas podem ser destacadas (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008):



3.4.4 Presença de Nutrientes e Relação C:N

O desenvolvimento dos microrganismos anaeróbios está diretamente relacionado à presença de macro e micronutrientes. Os nutrientes fundamentais são o nitrogênio, fósforo e carbono. Além destes, minerais importantes são obtidos pela hidrólise dos carboidratos, lipídios e proteínas, como o enxofre, ferro, potássio, sódio, cálcio e magnésio. Estes compostos influenciam, portanto, no processo anaeróbio e na produção do biogás (PARK, 2012).

Macronutrientes como nitrogênio e fósforo são considerados nutrientes limitantes, visto que são requeridos pelas bactérias para seu desenvolvimento. Esses nutrientes são disponibilizados para bactérias e arqueas formadoras de metano, como nitrogênio amoniacal (NH_4^+) e ortofosfato (HPO_4^-). Sua assimilação pelos microrganismos metanogênicos acontece apenas quando estão solúveis (GERARDI, 2003).

A relação C:N também é importante para o crescimento dos microrganismos e varia de acordo com o tipo de resíduo. Valores entre 20 a 30 desta relação são indicados como ideais para o bom desenvolvimento dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia (ZHANG; BAEYENS; TAN, 2014; MAO et al., 2015). O nitrogênio é fundamental à síntese celular, porém o excesso deste composto pode ocasionar o acúmulo de NH_3 e possível inibição do desenvolvimento das arqueas metanogênicas. Dessa forma, valores de C:N dentro da faixa adequada auxiliam no bom desempenho da biodegradação (HARTMANN; AHRING, 2005; SGORLON et al., 2011).

Apesar dos resíduos alimentares apresentarem elevada biodegradabilidade, a presença de nutrientes e sais minerais, dependendo da composição do resíduo, pode não ser adequada para o desenvolvimento dos microrganismos. Geralmente, o teor de nitrogênio presente neste tipo de substrato é elevado, ocasionando valores da relação C:N abaixo de 20. Com isso, a co-digestão com substratos que podem

proporcionar um melhor equilíbrio das características químicas torna-se interessante (ZHANG et al., 2007; ZHANG; SU; THAN, 2013; ZHANG; BAEYENS; TAN, 2014; BROWNE; MURPHY, 2014).

3.4.5 Carga orgânica Volumétrica Aplicada

Os parâmetros comumente utilizados para quantificar a matéria orgânica presente em uma amostra, são o carbono orgânico dissolvido - COT e sólidos totais voláteis – STV. A análise de STV é mais empregada para monitoramento e análises de rotina, devido principalmente ao menor custo e simplicidade da análise (ZHANG et al., 2014; GRIGATTI; CIAVATTA; GESSA, 2004).

A taxa de carga orgânica aplicada ao reator pode ser representada pela quantidade de sólidos voláteis adicionada por dia em alimentação contínua. A produção de metano tende a aumentar com o aumento da carga orgânica, contudo, o equilíbrio do processo também pode ser perturbado. Com a adição diária de um grande volume de um novo material pode haver mudanças ambientais e possível inibição dos microrganismos. Esta inibição pode ocorrer devido à elevada taxa de hidrólise/acidogênese em relação à metanogênese, com conseqüente incremento na concentração de AGV (valores acima de 2.000 mg L⁻¹ podem ser prejudiciais). Além disso, outra conseqüência do excesso de AGV, é o decréscimo do pH do meio e inibição dos processos, não ocorrendo a conversão à metano (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; MAO et al., 2015).

Portanto, a aplicação de uma taxa de carga orgânica adequada é de extrema importância para o bom desempenho do reator e produção de biogás com qualidade. As cargas orgânicas utilizadas nos trabalhos existentes na literatura são muito variáveis. Esta diferença, se deve, principalmente à composição do resíduo e condições operacionais utilizadas. Neste sentido, torna-se importante o estudo dos valores de carga orgânica adequados a cada situação (RATANATAMSKUL; ONNUM; YAMAMOTO, 2014; MALINOWSKY, 2016).

3.4.6 Compostos Tóxicos

Um elevado número de substâncias orgânicas e inorgânicas podem resultar em inibição ou toxicidade aos microrganismos anaeróbios, principalmente os metanogênicos. Contudo, a concentração na qual um composto se torna tóxico ou

inibitório pode variar (McCARTY, 1964). Na Tabela 2 são apresentadas algumas substâncias inorgânicas tóxicas ou inibidoras e concentrações prejudiciais à metanogênese no tratamento anaeróbio.

Tabela 2 - Substâncias inorgânicas e concentrações prejudiciais ao processo anaeróbio

Substância	Concentração moderadamente inibidora (mg L ⁻¹)	Concentração fortemente inibidora (mg L ⁻¹)
Na ⁺	3.500-5.500	8.000
K ⁺	2.500-4.500	12.000
Ca ⁺	2.500-4.500	8.000
Mg ²⁺	1.000-1.500	3.000
N-NH ₃	1.500-3.000	3.000
Sulfeto, S ²⁻	200	200
Cobre, Cu	-	0,5 (solúvel) 50-70 (total)
Cromo hexavalente, Cr(VI)	-	3,0 (solúvel) 200-250 (total)
Cromo trivalente, Cr(III)	-	180-420 (total) 2,0 (solúvel)
Níquel, Ni	-	30,0 (total)
Zinco (Zn)	-	1,0 (solúvel)

Fonte: Parkin e Owen (1986)

Conforme apresentado na Tabela 2, estes elementos podem ocasionar toxicidade ou inibição, caso estejam em concentrações acima dos valores apresentados. Os resíduos alimentares podem conter elevados teores de sódio, devido ao uso do sal de cozinha no preparo dos alimentos. Elevadas concentrações de sal podem ocasionar aumento na pressão osmótica e consequente morte celular, principalmente das arqueas metanogênicas (GAGLIANO et al., 2017).

Contudo, outros compostos como os AGV e amônia (NH₃) formados durante a digestão anaeróbia, também são considerados tóxicos/inibidores em elevadas concentrações. Valores de AGV acima de 2.000 mg L⁻¹ e de nitrogênio amoniacal acima de 1.500 mg L⁻¹ são consideradas prejudiciais à metanogênese (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

O nitrogênio amoniacal é composto pela amônia livre e o íon amônio, que podem ser convertidos um ao outro. A amônia livre (NH₃) é inibitória em concentrações muito menores do que o íon amônio (NH₄⁺), entre 100 a 250 mg L⁻¹. Desta forma, a concentração total de nitrogênio amoniacal que pode ser tolerada depende da quantidade de amônia livre que causa toxicidade. Esta concentração varia em função do pH e da temperatura, sendo que quando o pH situa-se abaixo de 8, a maior parte

do nitrogênio amoniacal se encontra na forma ionizada (NH_4^+) (McCARTY, 1964; METCALF; EDDY, 2016).

3.4.7 Tempo de Detenção Hidráulica

O tempo de detenção hidráulica – TDH refere-se ao tempo que o resíduo permanece dentro do reator, em contato com os microrganismos que realizam a degradação e conversão em biogás. A utilização deste parâmetro na faixa adequada é de grande importância para dimensionamento do reator e para que ocorra a eficiência desejada. Quanto maior o TDH, maior deverá ser o tamanho do reator, o que pode encarecer a sua implantação. A determinação do TDH varia principalmente de acordo com o tipo de resíduo a ser tratado e com o nível de biodegradabilidade do material, podendo variar de horas a meses (QDAIS et al., 2010; SANTOS, 2017).

Na Tabela 3 são apresentados dados de TDH e COV aplicados ao tratamento anaeróbico de diferentes tipos de resíduos. Pode-se observar, que estes parâmetros variam consideravelmente conforme o tipo de substrato utilizado.

Tabela 3 – Relação de TDH e COV utilizados para diferentes substratos

Autor	Tipo de reator	Substrato	TDH	COV
Haider et al. (2015)	Reator de batelada	Resíduo alimentar e lodo	30 dias	4,16 gSTV L ⁻¹ d ⁻¹
Bi et al. (2019)	Reator anaeróbico de mistura completa	Dejeto de frango	20 dias	1,6 – 2,5 gSTV L ⁻¹ d ⁻¹
Leite et al. (2015)	Digestor anaeróbico	Lodo de esgoto	5 – 15 dias	0,5 – 4,5 gSTV L ⁻¹ d ⁻¹
Silva, Silva e Sarti (2017)	Reator compartimentado	Esgoto	8 a 33 horas	0,06 e 0,61 kgDQO L ⁻¹ d ⁻¹
Aquino, Mello e Costa Júnior (2019)	Reator anaeróbico de mistura completa	Dejeto suíno	20 – 30 dias	1,28 – 2,81 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹

3.4.8 Inóculo

A introdução de um inóculo ao reator é de extrema importância para acelerar o processo de degradação da matéria orgânica com base nas diferentes etapas da digestão anaeróbica. A inoculação consiste em introduzir certa quantidade de um

material que contenha os microrganismos necessários para degradação do resíduo e produção de biogás. A escolha do inóculo ideal é fundamental para o bom desempenho do processo e pode variar conforme o tipo de substrato e modo de operação.

Nesse sentido, destacam-se como bons inóculos: lodo anaeróbio proveniente de estação de tratamento de esgoto – ETE ou de efluentes industriais, rúmen bovino, esterco bovino, suíno e aviário, entre outros. Estes materiais aceleram o processo de biodegradação e estabilização da matéria orgânica (FORSTER-CARNEIRO; PÉREZ; ROMERO, 2008; SILVA, 2014). Além dos microrganismos que o inóculo proporciona, este possui também características físico-químicas benéficas ao processo anaeróbio, como pH e alcalinidade, que auxiliam no bom desempenho da digestão (RAPOSO et al., 2011).

3.5 PARTIDA E OPERAÇÃO DE BIODIGESTORES

A partida de um reator anaeróbio é uma etapa fundamental para que os microrganismos se adaptem às condições operacionais e ambientais determinadas. Como a degradação da matéria orgânica é realizada por diferentes microrganismos que sobrevivem nas condições de operação, é importante que a biomassa inoculada seja adaptada ao substrato e possua elevada atividade metanogênica (FORSTER-CARNEIRO; PÉREZ; ROMERO, 2008).

A literatura possui elevada variação no modo de partida de digestores anaeróbios. Diferentes tipos de inóculo e modo de adição do substrato são empregados. A adição da matéria orgânica com carga escalonada é uma opção, em que o aumento gradativo é realizado para adaptação da microbiota.

A quantidade de inóculo adicionada na partida do reator varia consideravelmente nos trabalhos encontrados na literatura. Amorim (2012) e Forster-Carneiro (2008) observaram boa produção de metano com adição de 30% de inóculo (v/v) para tratamento de resíduos alimentares. Já outros autores, como Magalhães (2018) e Young et al. (2015) utilizaram volumes acima de 50% de inóculo.

Em relação à operação dos reatores anaeróbios, a escolha do modelo a ser implantado é importante para o bom funcionamento do sistema. Dentre os modelos mais conhecidos, pode-se citar modelos simples como o chinês, o indiano e o canadense e alguns modelos industriais modernos caracterizam os mais complexos.

O modelo canadense é o mais utilizado no Brasil, em sua maioria, em propriedades rurais, devido ao baixo custo de implantação e maior simplicidade operacional. A escolha do tipo de reator deve levar em consideração fatores como tipo de resíduo e custo de implantação e operação (FRIGO et al., 2015; SHUBEITA, 2016).

Além das configurações de construção de digestores anaeróbios, o modo de alimentação também pode ser de duas formas, com regime contínuo ou batelada. Em sistemas com alimentação contínua, a adição dos resíduos é constante e acontece simultaneamente à retirada. Uma desvantagem é a possibilidade de parte do resíduo extraído não se encontrar completamente digerido. Já em regime batelada, a adição dos resíduos ocorre em um único momento e estes são retirados após o tempo de detenção determinado (FRIGO et al., 2015; MALINOWSKY, 2016).

3.6 NÚMERO DE ESTÁGIOS

Os sistemas de digestão anaeróbia podem ser classificados de acordo com o número de estágios utilizados. De modo geral, para tratamento de resíduos orgânicos, são empregados sistemas de um estágio, dois estágios ou multiestágios. Em sistemas de um estágio, as etapas de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese ocorrem simultaneamente no mesmo digestor. Este é o modo mais empregado, devido às vantagens relacionadas ao menor investimento e maior facilidade de operação e manutenção (SRISOWMEYA; CHAKRAVARTHY; DEVI, 2020).

Já em sistemas com dois ou mais estágios, as reações ocorrem sequencialmente em digestores separados. Com isso, pode-se obter maior eficiência na degradação da matéria orgânica com menores tempos de retenção. Uma vantagem desta forma, é a possibilidade de evitar a acidificação do meio, facilitando a ocorrência da metanogênese. Os reatores de mais estágios possuem melhor desempenho quando há flutuação da carga orgânica (MATA-ALVAREZ, 2003; MICOLUCCI et al., 2018).

Em sistemas de duplo estágio, a primeira etapa, também chamada de acidificação, é mais eficaz com pH entre 5 e 6 e geralmente é realizada com baixo TDH, uma vez que o processo é rápido. Já a segunda etapa, metanogênica, é operada com TDH mais elevado, entre 20 e 30 dias e pH entre 6 e 8, para facilitar o desenvolvimento das arqueas metanogênicas (SRISOWMEYA; CHAKRAVARTHY; DEVI, 2020).

3.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE GERAÇÃO DE METANO

O ensaio do potencial bioquímico de metano, em inglês *biochemical methane potential* – BMP, é um procedimento amplamente utilizado para determinação da produção de biogás a partir da biodegradação de determinado resíduo, possibilitando o estudo da otimização de condições operacionais para aplicação em maiores escalas. Este sistema é utilizado em escala de bancada e há algumas variações em suas configurações, principalmente em relação ao método de medição do volume do biogás gerado, a qual geralmente é baseada em medições manométricas ou volumétricas (SILVA; MORAIS; ROCHA, 2016; RAPOSO et al., 2011).

De maneira geral, o teste consiste na mensuração diária do volume de biogás gerado por meio da pressão exercida no interior do frasco, até o momento em que a produção se encerre. Além do volume de biogás produzido, pode-se verificar a composição deste por meio de coleta e caracterização. Os resultados podem ser expressos em volume de metano/biogás gerado (nas condições normais de temperatura e pressão - CNTP) em função da quantidade de material orgânico adicionado (OWEN et al., 1979; RAPOSO et al., 2011).

Os principais parâmetros que interferem nos testes BMP e que podem ser avaliados, são temperatura, pH, tipo de substrato, intensidade de agitação e a relação inóculo:substrato – I:S em função do teor de sólidos voláteis. Os reatores em escala de bancada são incubados por um período de 30 a 120 dias, dependendo da biodegradabilidade do material. Os trabalhos já realizados sobre o tema, apresentam grande diversidade em relação à estas condições experimentais, pois o ensaio não é internacionalmente normatizado (ESPOSITO et al., 2012; ALVES, 2016).

A proporção I:S é um fator importante na digestão anaeróbia, principalmente para que haja a introdução de uma população microbiana adequada e equilibrada. A faixa da proporção I:S geralmente utilizada nos estudos varia de 4:1 a 1:2. A diminuição desta relação pode ocasionar acúmulo de ácidos graxos e altas concentrações de amônia, e conseqüentemente, menor produção de metano. Além disso, características peculiares dos resíduos podem requerer proporções de I:S diferentes (HAIDER et al., 2015; PANIGRAHI; SHARMA; DUBEY, 2020).

Há algumas normas e diretrizes que padronizam o teste de BMP, como a norma americana (ASTM E-2170, 2008) e a diretriz alemã (VDI 4630, 2006). Contudo, estas foram elaboradas com base nas condições específicas de seus países e

acabam dificultando a aplicação em muitos casos. Além disso, para fins de pesquisa, estas acabam restringindo condições experimentais, como a proporção I:S em 0,5, que ainda é alvo de estudos.

3.8 GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DO BIOGÁS

O biogás, produto gerado na biodegradação anaeróbia, é composto principalmente por metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂), sulfeto de hidrogênio (H₂S), amônia (NH₃), vapor d'água e outros compostos em menores concentrações, conforme a Tabela 4. Os teores de cada gás variam de acordo com o tipo de substrato e desempenho do processo.

Tabela 4 – Relação dos principais componentes do biogás

Componente	Teor médio	Características
CH ₄	50 – 75 %	Alto poder calorífico Baixo poder calorífico
CO ₂	25 – 50 %	Causa corrosão na presença de vapor d'água (ácido carbônico) Aumenta as propriedades antidetonação;
H ₂ S	0 – 0,5 %	Corrosivo em equipamentos e tubulações
NH ₃	0 – 0,05 %	Combustão gera NO _x Aumenta as propriedades antidetonação;
Vapor d'água	1 – 5 %	Condensados agridem equipamentos e tubulações
N ₂	0 – 5 %	Baixo poder calorífico Aumenta as propriedades antidetonação;
Siloxanos	0 – 50 mg m ⁻³	Ação abrasiva

Fonte: Deublein e Steinhauser (2008).

Com base nas informações contidas na Tabela 4, o poder calorífico do biogás está diretamente relacionado à concentração destes gases, sendo que em uma situação ideal, o teor de metano deve ser elevado e o teor dos outros componentes, baixos. Em média, um biogás com 70% de metano possui cerca de 5588 kcal m⁻³ (6,5kWh m⁻³). Com o tratamento do biogás (remoção do dióxido de carbono e umidade), pode-se obter um maior poder calorífico, de aproximadamente 9000 kcal m⁻³ (10,5kWh m⁻³), correspondente ao gás metano puro (NOGUEIRA, 1992 apud PINTO, 2006; CASSINI, 2003).

A utilização do metano é fundamental, visto que ele é considerado um gás precursor do efeito estufa, pois retém calor na estratosfera 21 vezes mais em comparação com o dióxido de carbono. Neste sentido, a recuperação energética do

biogás contribui para uma maior segurança energética e possui grande importância para o desenvolvimento sustentável (IPCC, 2014).

O biogás pode ser utilizado para diversos fins, por meio da geração de calor, força motriz ou eletricidade, por exemplo (EL-MASHAD; ZHANG, 2010). Contudo, muitas formas de utilização requerem um pré-tratamento do biogás, geralmente visando a remoção de CO₂, H₂S e água. A remoção do CO₂ é realizada para aumentar o poder energético do gás e não é necessária em alguns casos. Já a reação de óxidos de enxofre com umidade forma o ácido sulfuroso que possui elevado poder corrosivo. Com isso, a remoção do H₂S e da água é importante pois aumenta a vida útil dos componentes como tubulações, bombas, motores, etc. (ZANETTE, 2009).

O processo de remoção do H₂S é chamado de dessulfurização e pode ser realizado por diferentes mecanismos, como a utilização de processos biológicos, químicos (lavagem) e físicos (carvão ativado). A remoção da água pode ser executada por meio da condensação, adsorção ou absorção. Para remoção de CO₂, processos de adsorção com carvão ativado ou peneiras moleculares podem ser empregados (ZANETTE, 2009).

3.9 PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS ALIMENTARES

Os resíduos alimentares são gerados em grandes quantidades em estabelecimentos do setor de alimentação, como restaurantes comerciais e coletivos, churrascarias, pizzarias, lanchonetes e bares. A composição deste resíduo varia conforme os hábitos alimentares locais e tipo de estabelecimento (ZANDONADI; MAURICIO, 2012).

Processos biológicos geralmente são empregados em resíduos com elevado teor de matéria orgânica e valores de STV/ST acima de 80% indicam elevada biodegradabilidade do substrato (ANGELIDAKI et al., 2009). De acordo com Tchobanoglous et al. (1993), os resíduos alimentares contêm elevado teor de matéria orgânica, apresentando 70 a 90% de STV/ST. Com isso, sua disposição inadequada pode causar diversos impactos ambientais, devido à biodegradação deste material, que afeta os recursos hídricos, atmosféricos e o próprio solo (YONG et al., 2015; WOON; LO, 2016).

Neste contexto, a digestão anaeróbia é uma das alternativas para o tratamento destes resíduos e minimização dos impactos ambientais. Esta técnica

permite a valoração dos resíduos, devido à produção de biogás que pode ser utilizado para fins energéticos, e do efluente que pode ser aplicado como biofertilizante na agricultura (YONG et al., 2015; WOON; LO, 2016).

Contudo, algumas adversidades são encontradas no tratamento anaeróbio de resíduo alimentar, principalmente em relação à baixa estabilidade do processo (DAVID et al., 2018; YE et al., 2018). A dificuldade no equilíbrio do processo, na digestão anaeróbia de resíduo alimentar, está relacionada à baixa relação C:N, acúmulo de amônia e elevado teor de matéria orgânica rapidamente biodegradável que causa a acidificação devido ao acúmulo de AGV, e consequente inibição da metanogênese (MISI; FORSTER, 2001; BOUALLAGUI et al., 2005; DAVID et al., 2018).

Estudos sobre a biodigestão de resíduos alimentares demonstram a dificuldade de manutenção de um processo estável. Alguns trabalhos têm sido realizados na busca de melhorar a estabilidade e eficiência da digestão anaeróbia de resíduo alimentar, com a utilização de aditivos, aplicação de pré-tratamento, co-digestão com outros resíduos, uso de digestores e condições operacionais diferenciadas (temperatura, tempo de detenção hidráulica – TDH e recirculação) (REIS, 2012; MALINOWSKY, 2016; ZAMANZADEH et al., 2016; LI et al., 2017; MAGALHÃES, 2018).

Neste contexto, benefícios da co-digestão de diferentes resíduos podem ser destacados, como a diluição de potenciais compostos tóxicos, ajuste do teor de umidade e pH, fornecimento de alcalinidade, ampliação da diversidade de microrganismos no processo, entre outros. A co-digestão de resíduo alimentar com outros resíduos, como lodo de estação de tratamento de esgoto, dejetos animais, biomassa agrícola, entre outros, tornou-se alvo de estudos, visando melhorar as proporções de C:N na mistura e diminuir a concentração de compostos inibitórios como os AGV. Com o equilíbrio no processo, a quantidade e qualidade de biogás gerado torna a técnica mais vantajosa (DAVID et al., 2018).

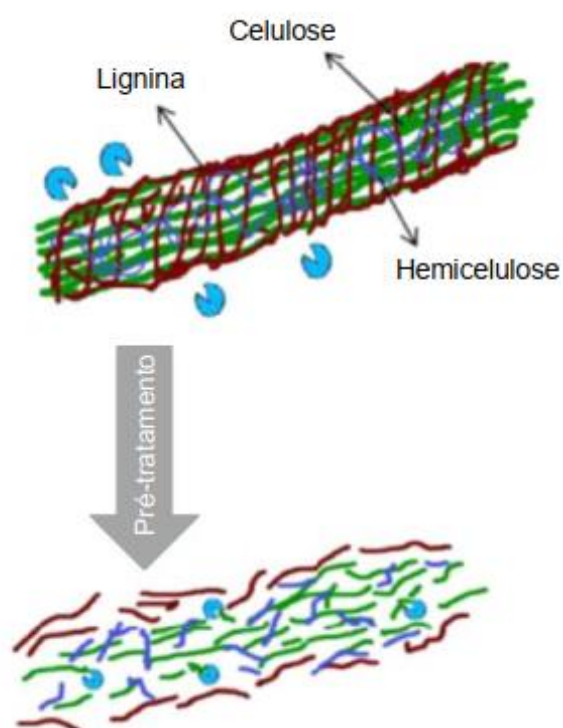
3.9.1 Co-digestão de Resíduo Alimentar e Compostos Lignocelulósicos

Compostos lignocelulósicos são formados por hemicelulose, celulose e lignina. A hemicelulose possui estrutura amorfa, composta por monossacarídeos. Sua baixa cristalinidade facilita o ataque dos microrganismos e suas enzimas (XIA et al., 2018). Já a lignina é considerada uma substância com elevada cristalinidade e é

formada por álcoois aromáticos. A composição química da lignina torna difícil sua degradação pelos microrganismos (XIAO et al., 2001). A celulose é mais facilmente biodegradada devido à sua composição por polímeros da glicose, e pode ser cristalina ou amorfa (HU et al., 2016; CHEN et al., 2019).

A complexa composição de materiais lignocelulósicos é caracterizada por fortes ligações entre celulose com hemicelulose e lignina, fato que dificulta sua biodegradabilidade e uso na digestão anaeróbia. Protegida pela lignina e hemicelulose, a celulose fica na parte interna da estrutura. Com isso, os microrganismos não conseguem entrar em contato com este componente que é de maior biodegradação. Alguns processos podem ser aplicados com o objetivo de quebrar estas estruturas e facilitar a decomposição pelos microrganismos (Figura 4) (DAVID et al., 2018; TIAN; ZHAO; CHEN, 2018).

Figura 4 – Esquema da estrutura de materiais lignocelulósicos



Fonte: Tian, Zhao e Chen (2018)

Entre os resíduos lignocelulósicos mais abundantes, pode-se citar os resíduos agrícolas (palha de milho e de arroz), culturas herbáceas (capim) e resíduos de papel. Estudos sugerem que o potencial de geração de metano é maior na digestão

anaeróbia de biomassa lignocelulósica. Contudo, esta digestão possui algumas limitações, devido à algumas características do resíduo, como elevada relação C:N, deficiência de nitrogênio, longo tempo de digestão devido à baixas taxas de conversão da lignina, celulose e hemicelulose (DAVID et al., 2018).

Neste sentido, a co-digestão de resíduo alimentar com substratos lignocelulósicos pode favorecer o processo, visto que os resíduos podem melhorar algumas características da mistura e favorecer o desempenho do tratamento biológico. Alguns resíduos, como dejetos suínos e bovinos, auxiliam no fornecimento de alcalinidade ao sistema e introdução frequente de microrganismos (GANESH et al., 2013; PRABHU; MUTNURI, 2016). Já alguns resíduos lignocelulósicos, como resíduos da agricultura (palha de diferentes culturas e resíduos de grãos) e de jardinagem (podas de diferentes plantas) proporcionam uma melhor relação C:N na mistura, por exemplo (ALKAYA; ERGUDER; DEMIRER, 2010; BROWN; LI, 2013; PERIN et al., 2020).

Resíduos vegetais provenientes de pastagens, palha de trigo, grama, entre outros, têm sido estudados principalmente como co-substratos ao tratamento anaeróbio de dejetos animais (KRISHANIA; VIJAY; CHANDRA, 2013; JAGADABHI; LEHTOMÄKI; RINTALA, 2008). Contudo, há poucos trabalhos na literatura que analisam a influência da adição de substratos lignocelulósicos ao tratamento de resíduo alimentar (BROWN; LI, 2013; PANIGRAHI; SHARMA; DUBEY, 2020).

3.9.1.1 Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos

Alguns trabalhos estudam diferentes tipos de pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos, visando facilitar a sua biodegradação e melhorar o desempenho da digestão anaeróbia. Entre as alternativas, utiliza-se processos físicos, químicos ou biológicos, de diversas formas. Contudo, dependendo do método utilizado, estes processos podem tornar o tratamento mais complexo e oneroso. O tratamento físico por meio de trituração é caracterizado por maior simplicidade e possibilita a diminuição do tamanho das partículas e quebra das estruturas (DAVID et al., 2018; KIM et al., 2018; YU et al., 2019).

Entre as alternativas de pré-tratamento químico, o alcalino se destaca, devido ao seu potencial de provocar a redução do grau de polimerização e cristalinidade, destruindo as ligações entre a lignina e outros polímeros. Geralmente são utilizados hidróxido de sódio ou cálcio como agentes químicos alcalinos. A eficiência desta forma

de pré-tratamento está relacionada principalmente à quebra da lignina por meio do aumento da porosidade na estrutura do vegetal, permitindo o acesso dos microrganismos no interior da célula (AMIN et al., 2017).

Zheng et al. (2009) utilizaram o pré-tratamento químico com NaOH (2, 4 e 6% em relação ao peso seco) em palha de milho e obtiveram de 11 a 24% de remoção de lignina. Zhu, Wan e Li (2010) também realizaram o pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos com NaOH (1 a 7,5%), o qual resultou de 9 a 46% de remoção. Além disso, o pré-tratamento aumentou a produção de biogás e metano em comparação com o resíduo sem pré-tratamento. Os autores destacam que esta alternativa pode ser um método com bom custo-benefício para a posterior conversão biológica destes resíduos em biogás.

3.9.2 Trabalhos já Realizados Sobre o Tema

Brown e Li (2013), investigaram o desempenho da co-digestão seca de resíduos alimentares e de jardim (folhas e galhos de árvore). O resíduo de jardim foi seco a 40°C por 48 horas e triturado para um diâmetro das partículas de 5 mm. Foram analisadas diferentes proporções dos substratos (0, 10 e 20% de resíduo alimentar adicionado ao resíduo de jardim, em relação aos STV), em reatores com volume total de 1L operados em batelada. Os resultados indicaram que a condição com 10% de resíduo alimentar e relação alimento/microrganismos de 2, resultou em relação C:N da mistura de 25 com produção de metano de 8,6 L de CH₄ L_{útil}⁻¹ e 43% de remoção de STV.

Malinowsky (2016) realizou um estudo sobre a co-digestão de resíduos alimentares de restaurante universitário e resíduos de jardinagem do campus, em um reator em escala piloto operado de modo semi-contínuo, com volume total de 115 L. A carga orgânica volumétrica – COV foi de 1, 2 e 4 kg de STV m⁻³d⁻¹, temperatura de 35°C, agitação de 30 RPM por 30 minutos a cada 3 horas e TDH de 30 dias. A máxima eficiência obtida foi com COV de 2 kgSTV m⁻³d⁻¹, a qual resultou em produção média diária de 9,8 L de biogás e 64% de CH₄, com remoção de aproximadamente 60% de DQO.

Magalhães (2018) também realizou um estudo sobre a digestão anaeróbia de resíduos alimentares provenientes do restaurante universitário, em um reator com volume de 1300 L, TDH de 30 dias e temperatura ambiente. A agitação era realizada por meio da recirculação do líquido com o auxílio de uma bomba. Nas condições com

COV de 1 e 2 kg de STV $\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$, a autora obteve rendimento na produção de metano de 150 e 245 m^3CH_4 tSTV^{-1} , respectivamente.

Além disso, Magalhães (2018) realizou um estudo em escala de bancada (BMP) para avaliar o desempenho da co-digestão de resíduos alimentares e poda vegetal (folhas de árvores), com porcentagens de 5 e 10% de poda em relação ao volume total. O volume dos frascos foi de 250 mL, relação inóculo:substrato de 1:1, temperatura de 35°C e agitação de 150 RPM. A condição com 5% de poda vegetal resultou em melhor produção, com 1566 NmL de biogás acumulado, 536 NmL CH_4 gSTV^{-1} e teor de metano de 53%.

David et al. (2018) avaliaram a co-digestão de substratos lignocelulósicos (palha de milho, capim de pradaria e papel não branqueado) com resíduo alimentar. O objetivo principal foi minimizar as limitações da monodigestão do resíduo alimentar, principalmente em relação ao acúmulo de AGV e baixa relação C:N. Os testes foram realizados em escala de bancada, em frascos com volume útil de 200 mL, a uma temperatura de 60°C e agitação de 100 RPM. Após 30 dias de incubação, foi obtida uma taxa de produção de metano de 279 L kgSTV^{-1} e 58% de remoção de STV, para a condição de co-tratamento de capim e resíduo alimentar (proporção de 2,5:1,5 em gSTV).

Mais recentemente, Panigrahi, Sharma e Dubey (2020) realizaram um estudo sobre a co-digestão de resíduo alimentar e resíduo de jardim (grama, folhas e lascas de madeira). Foi realizado um pré-tratamento do resíduo de jardim por micro-ondas a uma temperatura de 140°C. A proporção do resíduo de jardim foi de 1:3 em relação ao resíduo alimentar, para atingir uma relação C:N de 25:1 e um teor de sólidos totais dentro do reator acima de 15%. A quantidade de inóculo adicionada foi variada de modo a atingir as relações de alimento/microrganismos – A/M de 1,0; 2,0; 2,5 e 3,0. O pré-tratamento do resíduo de jardim, promoveu um aumento na produção de metano (394 mL gSTV^{-1}) em relação à condição sem pré-tratamento (178 mL gSTV^{-1}), para a relação A/M de 1,0, a qual foi indicada como mais viável para aplicação.

Uma, Thalla e Devatha (2020) também avaliaram a co-digestão anaeróbia de resíduos alimentares e um tipo de gramínea, nas proporções de 1:0, 1:1 e 0:1, com base no peso. O maior rendimento de metano foi obtido na condição 1:1, com 267 $\text{mLCH}_4/\text{gSTV}$ adicionado, em temperatura mesofílica (35°C). O teste foi conduzido em batelada e os reatores em escala de bancada utilizados possuíam volume total de 1

L. Na Tabela 5 é apresentada uma compilação de informações de trabalhos relacionados ao tema deste trabalho.

Tabela 5 - Compilação de estudos sobre co-digestão anaeróbia de resíduo alimentar e lignocelulósico

Fonte	Tipo de experimento	Temperatura (°C)	TDH (d)	Inóculo	Substrato	Co-substrato	% Co-substrato	COV ou ST do afluente	Remoção STV (%)	Produção de CH ₄
Brown e Li (2013)	BMP	36	30	Efluente de trat. de RA e lodo anaeróbio de esgoto	Resíduo alimentar	Resíduo de jardim (folhas e galhos)	80, 90 e 100	19,3 a 30,2 % ST	43	8,6 L L _{útil} ⁻¹
Malinowsky (2016)	Reator piloto	35	30	Lodo anaeróbio de esgoto	Resíduo alimentar	Resíduo de jardim	10	1, 2 e 4 kgSTV m ⁻³ d ⁻¹	87	0,45 L gSTV ⁻¹
Magalhães (2018)	BMP	35	60	Lodo de tanque séptico	Resíduo alimentar	Poda vegetal (folhas de árvores)	90 e 95	14 a 16 g L ⁻¹ ST	89	0,536 L gSTV ⁻¹
	Reator piloto	35	30	Lodo de tanque séptico	Resíduo alimentar	-	-	1 e 2 kgSTV m ⁻³ d ⁻¹	49,5	245 m ³ tSTV ⁻¹
David et al. (2018)	BMP	60	30	Efluente anaeróbio cultivado em laboratório	Resíduo alimentar	Palha de milho, capim e papel	37,5	1, 2, 5 e 10% peso/volume STV	58	0,279 L gSTV ⁻¹
Panigrahi, Sharma e Dubey (2020)	BMP	30	30	Lodo ativado	Resíduo alimentar	Resíduo de jardim (grama, folhas e lascas de madeira)	25	>15% ST	24	0,394 L gSTV ⁻¹
Uma, Thalla e Devatha (2020)	BMP	35	35	Lodo anaeróbio de uma destilaria	Resíduo alimentar	Gramínea	50 e 100	4 a 8 g L ⁻¹ ST	-	0,267 L gSTV ⁻¹

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho está vinculado ao projeto de pesquisa intitulado Geração de energia elétrica por metanização e gaseificação a partir de resíduos sólidos orgânicos, executado no âmbito da Chamada Pública VPDE COPEL DIS 001/2017 do Projeto prioritário de Eficiência Energética e Estratégico de P&D PD2866-0472/2017, financiado pela Companhia Paranaense de Energia – COPEL (Contrato de cooperação técnico-científica nº. 4600013405). Sendo assim, parte dos experimentos foi desenvolvida de forma colaborativa com Helenas (2019) e Torrecilhas (2019).

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo se dividiu em duas etapas experimentais:

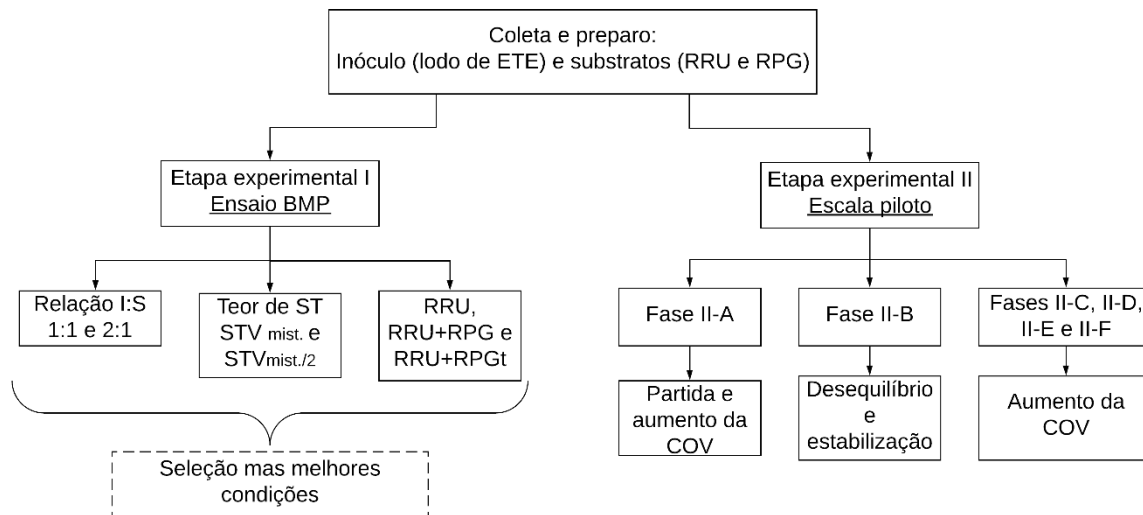
- Etapa experimental I: Avaliação do potencial bioquímico de metano - BMP do resíduo do restaurante universitário – RRU e da sua combinação com resíduo de poda de grama – RPG com e sem pré-tratamento; escolha da condição ideal em relação à proporção inóculo:substrato e teor de sólidos totais voláteis – STV da mistura;
- Etapa experimental II: Avaliação da influência da adição de RPG na digestão anaeróbia do RRU nas características quali-quantitativas do efluente e biogás gerados, em escala piloto.

A etapa experimental II foi ainda subdividida em:

- Fase II-A: Inoculação e partida dos reatores, adaptação dos microrganismos e aumento progressivo da carga orgânica volumétrica – COV aplicada;
- Fase II-B: Desequilíbrio no processo e adoção de medidas corretivas;
- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: Aumento da COV de maneira moderada (0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹, respectivamente).

Na Figura 5 é apresentado um fluxograma geral das etapas realizadas neste trabalho.

Figura 5 – Fluxograma do trabalho experimental



4.2 INÓCULO E SUBSTRATOS UTILIZADOS

4.2.1 Coleta e Acondicionamento do Inóculo

Como inóculo dos reatores de ambas etapas experimentais, foi utilizado lodo do fundo de um reator anaeróbico de manta de lodo - UASB, da ETE sul localizada em Londrina-PR. O lodo foi coletado em bombonas plásticas com cuidado para evitar aeração, levado até o laboratório e armazenado em recipientes fechados por 4 dias, para consumo da matéria orgânica presente pelos microrganismos. O biogás gerado era expurgado diariamente (ANGELIDAKI et al., 2009).

Na Figura 6 são apresentados momentos da coleta e acondicionamento do inóculo, para posterior uso nos experimentos.

Figura 6 – Coleta e acondicionamento do inóculo para utilização nos experimentos



4.2.2 Coleta e Preparo do Resíduo do Restaurante Universitário - RRU

De acordo com dados fornecidos pela administração do restaurante universitário - RU da UEL, este serve em média 4000 refeições e gera aproximadamente 470 kg de resíduos alimentares por dia. Este resíduo é gerado no preparo das refeições (como por exemplo, cascas de legumes) e no pós-consumo, que são as sobras da comida servida nos balcões de distribuição e as deixadas nas bandejas dos consumidores.

O RRU utilizado nesta pesquisa é referente apenas às sobras do pós-consumo, não sendo utilizada a parte gerada no preparo das refeições. Cada consumidor, realizava a separação dos talheres, papéis, plásticos e devolução das bandejas com as sobras de alimento. Então, os funcionários realizavam uma pré-limpeza das bandejas, retirando as sobras com um jateamento de água e detergente, encaminhando este resíduo para bombonas plásticas de 200 L e posterior armazenamento destas em câmara fria.

Ao final do período de almoço no restaurante realizava-se a coleta, transporte, trituração, peneiramento (tamanho médio de 5 mm), homogeneização, acondicionamento e congelamento a -18 °C. A trituração do resíduo foi realizada em triturador industrial (Tritury ACX 500) e posteriormente em liquidificador doméstico. Na

Figura 7 são demonstrados procedimentos realizados na coleta e acondicionamento do RRU.



Na Tabela 6 são apresentados os cardápios das coletas realizadas ao longo deste trabalho.

Tabela 6 – Coletas de RRU realizadas e cardápio relacionado

Coleta	Etapa experimental	Cardápio
1ª Coleta	I	Arroz, feijão, peixe, pirão, frango, proteína de soja, beterraba, acelga e laranja
2ª Coleta	II	Arroz, feijão, lasanha de carne, polenta, bife grelhado, proteína de soja, tomate, acelga, laranja e banana à milanesa
3ª Coleta	II	Arroz, feijão, bife à milanesa, proteína de soja, repolho, pepino, farofa de milho com cenoura e azeitona
4ª Coleta	II	Arroz, feijão, bife, proteína de soja, maionese de batatas, polenta e laranja
5ª Coleta	II	Arroz, feijão, quibe assado, estrogonofe de frango, proteína de soja, cenoura refogada, acelga, chicória
6ª Coleta	II	Arroz, feijão, carne ao molho, proteína de soja, banana, repolho e laranja

A primeira coleta de RRU foi utilizada no ensaio BMP e as demais no experimento em escala piloto. Neste experimento, o volume de RRU necessário para

o abastecimento dos reatores na COV previamente definida era retirado do freezer para descongelamento um dia antes de seu uso.

4.2.3 Coleta e Preparo do Resíduo de Poda de Grama – RPG

Segundo informações fornecidas pelo setor de jardinagem, há aproximadamente 900.000 m² de área verde no campus da UEL. Como não há funcionários suficientes para realizar a coleta da grama cortada, esta permanece no local do corte e com isso não há estimativas de quantidade gerada.

Para uso neste trabalho, o resíduo de grama era coletado após o corte e deixado em local coberto de 3 a 5 dias para secagem natural. Posteriormente, o RPG era submetido à um pré-tratamento físico por trituração com um moinho de facas, com tamanho médio da malha de 1,19 mm. Na Figura 8 é demonstrado o processo de secagem natural da grama (a) e o resíduo triturado para utilização nos experimentos (b).

Figura 8 – RPG antes e após a trituração

a) Secagem natural do RPG



b) RPG triturado



Para o experimento de BMP, foi analisado o pré-tratamento químico do RPG (RPGt) com NaOH, com base nos procedimentos utilizados por PANG et al. (2008), ZHENG et al. (2009) e CROCE et al. (2016), com o objetivo de transformar as estruturas de mais difícil degradação, como a lignina, em compostos mais facilmente biodegradáveis. Para isso, adicionou-se 6% de NaOH em relação ao peso seco do RPG (*p/p*). O resíduo foi disposto em um béquer de 2 L, sendo adicionada a solução

de NaOH e água para atingir 80% de umidade. Em seguida, o béquer foi fechado com filme plástico e mantido em repouso por 21 dias à temperatura de 30 °C. No final do pré-tratamento químico, este foi seco em estufa a uma temperatura de 60 °C durante 48 h e depois armazenado a 4 °C para caracterização e uso nos ensaios de BMP.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização físico-química das amostras sólidas, líquidas e gasosas relacionadas a este trabalho foram realizadas de acordo com os procedimentos estabelecidos e mencionados na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros, métodos de referência e equipamentos utilizados

Parâmetro	Referência	Método	Equipamento (modelo/marca)
Temperatura (°C)	2550 B (*)	-	Termômetro de sonda
pH	Potenciométrico 4500 (*)	Potenciométrico	pHmetro: Digimed DM-2P Agitador: FISATOM 761 eletrodo específico para amostras gordurosas
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	2320 B (*)	Titulométrico	pHmetro Digimed DM-2P Agitador FISATOM 761 Titulador METROHM 20 mL
AGV (mg L ⁻¹)	Dilallo; Albertison (1961)	Titulométrico	pHmetro Digimed DM-2P Agitador FISATOM 761 Titulador METROHM 20 mL
Série de sólidos (mg L ⁻¹)	2540 adaptado (*)	Gravimétrico	Estufa 90°C LUFERCO Mufla 550°C Marconi MA383/3
DQO (mg L ⁻¹)	5220 C Refluxo fechado (*)	Espectrofotométrico	Bloco digestor COD Reactor HACH Espectrofotômetro MN Nanocolor Vis
NKT (mg L ⁻¹)	4500 - N _{org} B e C (*)	Micro-Kjeldhal	pHmetro Digimed DM-2P Agitador FISATOM 761 Titulador METROHM 20 mL
Proteínas	Instituto Adolfo Lutz (2008)	Kjeldhal * 6,25	Destilador BUCHI K-355 Bloco Digestor BUCHI K-435 Lavador de gases BUCHI B-414
N-amoniacoal (mg L ⁻¹)	4500 – NH ₃ B e C	Destilação e titulação	pHmetro Digimed DM-2P Agitador FISATOM 761 Titulador METROHM 20 mL Destilador BUCHI K-355

Parâmetro	Referência	Método	Equipamento (modelo/marca)
Lipídios (mg L ⁻¹)	Instituto Adolfo Lutz (2008)	Estração direta em Soxhlet	-
Carboidratos (mg L ⁻¹)	Instituto Adolfo Lutz (2008)	Diferença entre 100 e a soma das percentagens de proteínas, lipídios, água e cinzas	-
COT (mg L ⁻¹)	5310 B (*)	Método da combustão a alta temperatura	Vario TOC Select / Elementar
Macro e micro nutrientes	MAPA, 2017	Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente.	-
Gases (CO ₂ , H ₂ S e CH ₄) (%)		Sensores catalíticos infravermelhos e detectores eletroquímicos	Analizador portátil de gases DRAGER X-AM 7000

(*): método baseado no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA AWWA; WEF, 2012).

- Análises realizadas em laboratório externo

O procedimento utilizado para medição do pH das amostras de RPG e RPGt foi realizado com base em metodologia para amostras sólidas. Foi adicionado 10g de amostra em 100 mL de água deionizada e realizada a mistura por 30 minutos sob agitação magnética (100 RPM). Após este procedimento, as amostras foram mantidas em repouso por 60 minutos e então uma alíquota do sobrenadante foi coletada para análise do pH (TEDESCO et al, 1995).

A análise da alcalinidade foi dividida três categorias: total, parcial e intermediária. Para alcalinidade total, a titulação foi realizada no intervalo do pH da amostra até pH 4,3; para alcalinidade intermediária, titulação entre pH 4,30 e 5,75 e alcalinidade parcial até pH 5,75.

Estudos indicam que para amostras orgânicas, há a possibilidade de perda de matéria orgânica presente na amostra submetida a elevadas temperaturas. Portanto, o método de sólidos totais foi adaptado e utilizou-se a temperatura na estufa de 90°C (ANGELIDAKI et al., 2009).

Durante as análises iniciais das amostras deste estudo, constatou-se dificuldades na análise da DQO, devido ao tamanho e desuniformidade das partículas. Após alguns testes, foi estabelecida a aplicação de um banho ultrassônico nas amostras já diluídas, por um tempo de 15 minutos e frequência de 55 kHz (equipamento UltraCleaner 7000 da marca Unique).

4.4 ETAPA EXPERIMENTAL I – ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO – BMP

Neste experimento realizou-se a avaliação do potencial de produção de metano do RRU e da sua combinação com RPG e RPGt, em reatores em escala de bancada, a partir de adaptações do método *Biochemical Methane Potential* inicialmente desenvolvido por Owen et al (1979) e aprimorado por Chynoweth *et al.* (1993); Hansen *et al.* (2004); Raposo *et al.* (2011); Strömberg *et al.* (2014) e Holliger *et al.* (2016).

Para este ensaio foi utilizada a primeira coleta de RRU, composta por arroz, feijão, peixe, pirão, frango, beterraba, acelga e laranja. A forma de coleta, preparo e acondicionamento dos resíduos utilizados nesta etapa são as mesmas descritas nos itens 4.2.1, 4.2.2 e 4.2.3.

4.4.1 Aparato Experimental

Após vários ajustes para construção e funcionamento do aparato experimental, os reatores utilizados foram semelhantes ao demonstrado na Figura 9, totalizando 48 frascos de BMP. Estes consistiram em frascos de borossilicato com volume total de 310 mL e útil de 120 mL, com tampas de nylon tecnil compostas por duas saídas. Em uma das saídas da tampa, foi acoplado um manômetro, com leitura máxima de 3 kgf cm^{-2} (escala de $0,05 \text{ kgf cm}^{-2}$), para medir a pressão exercida pelo biogás gerado no interior do reator. Na outra saída, foi inserida uma válvula agulha de latão para a expurga e análise qualitativa do gás.

Figura 9 – Reator em escala de bancada utilizado para o ensaio de BMP



4.4.2 Descrição do Experimento

As variações empregadas nesta etapa experimental foram: substrato (RRU, RRU+RPG e RRU+RPGt), proporção I:S (1:1 e 2:1) e teor de STV ($STV_{mist.}$ e $STV_{mist./2}$). Com base em outros trabalhos já realizados (MALINOWSKY, 2016; MAGALHÃES, 2018) e visando aumentar a relação C:N da mistura, nas condições com RPG, 20% da massa de STV do RRU foi substituída por RPG. Desta forma, os substratos foram adicionados com base nos STV, de modo a garantir as proporções de I:S definidas.

Para os níveis de teor de STV, foi empregado o valor obtido com a mistura do(s) substrato(s) e inóculo ($STV_{mist.}$) e a metade deste valor por meio de diluição com água ($STV_{mist./2}$). Estes teores de STV foram definidos visando avaliar o desempenho da digestão destes resíduos com maior e menor teor de sólidos. Ensaio como controle, contendo apenas inóculo, também foram realizados, sendo que o volume total de CH_4 produzido neste caso deve ser inferior a 20% da produção obtida pelos tratamentos (HOLLIGER *et al.*, 2016). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Inicialmente, foi conduzida uma análise estatística para verificação da viabilidade do pré-tratamento químico, comparando-se apenas as condições com substratos RRU+RPG e RRU+RPGt, conforme o planejamento apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 – Planejamento fatorial 2^3 com os fatores substrato RPG e RPGt

Tratamento	Variáveis codificadas			Variáveis decodificadas		
	Substrato	I:S	Teor de STV	Substrato	I:S	Teor de STV
B1	-1	-1	+1	RRU+RPG	1:1	$STV_{mist.}$
B2	-1	-1	-1	RRU+RPG	1:1	$STV_{mist./2}$
B3	-1	+1	+1	RRU+RPG	2:1	$STV_{mist.}$
B4	-1	+1	-1	RRU+RPG	2:1	$STV_{mist./2}$
C1	+1	-1	+1	RRU+RPGt	1:1	$STV_{mist.}$
C2	+1	-1	-1	RRU+RPGt	1:1	$STV_{mist./2}$
C3	+1	+1	+1	RRU+RPGt	2:1	$STV_{mist.}$
C4	+1	+1	-1	RRU+RPGt	2:1	$STV_{mist./2}$

A segunda análise estatística com planejamento fatorial 2^3 foi conduzida para avaliação da interação dos fatores substrato (RRU e RRU+RPG), proporção I:S (1:1 e 2:1) e teor de STV ($STV_{mist.}$ e $STV_{mist./2}$). A combinação dos fatores estudados (substrato, proporção I:S e teor de STV) na segunda análise estatística estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Planejamento fatorial 2^3 com os fatores substrato RRU e RPG

Tratamento	Variáveis codificadas			Variáveis decodificadas		
	Substrato	I:S	Teor de STV	Substrato	I:S	Teor de STV
A1	-1	-1	+1	RRU	1:1	STV _{mist.}
A2	-1	-1	-1	RRU	1:1	STV _{mist./2}
A3	-1	+1	+1	RRU	2:1	STV _{mist.}
A4	-1	+1	-1	RRU	2:1	STV _{mist./2}
B1	+1	-1	+1	RRU+RPG	1:1	STV _{mist.}
B2	+1	-1	-1	RRU+RPG	1:1	STV _{mist./2}
B3	+1	+1	+1	RRU+RPG	2:1	STV _{mist.}
B4	+1	+1	-1	RRU+RPG	2:1	STV _{mist./2}

Na Tabela 10 são apresentadas as quantidades de cada resíduo adicionado, de acordo com as condições previamente definidas. O volume de cada resíduo foi adicionado de modo a manter a proporção I:S e o teor de STV, com base na massa de STV correspondente.

Tabela 10 – Relação da quantidade dos resíduos adicionados aos frascos de BMP

Condição	RRU	RPG	Inóculo
	Massa (Gstv)	Massa (Gstv)	Massa (Gstv)
A1	2,62	-	2,62
A2	1,31	-	1,31
A3	1,50	-	3,00
A4	0,75	-	1,50
B1	2,10	0,52	2,62
B2	1,05	0,26	1,31
B3	1,20	0,30	3,00
B4	0,60	0,15	1,50
C1	2,10	0,52	2,62
C2	1,05	0,26	1,31
C3	1,20	0,30	3,00
C4	0,60	0,15	1,50

Após realizar a mistura dos resíduos nas condições estabelecidas, foram analisados os valores de pH. Contudo, foram constatados valores baixos devido às características do RRU. Visto que, durante o processo anaeróbio há diminuição do pH, optou-se por adicionar uma solução alcalinizante de carbonato de sódio (Na_2CO_3) em todas as condições (A, B e C) de modo que sua concentração na mistura resultasse em 2.000 mg L^{-1} , para assegurar que o pH se mantivesse na faixa ideal durante o processo.

Após preparação das misturas de inóculo e substrato(s) nas diferentes condições e adição do alcalinizante, o volume de 120 mL destas foi colocado dentro dos frascos, restando 190 mL de *headspace* para armazenamento do biogás. Os frascos foram fechados hermeticamente, incubados em estufa sob temperatura mesofílica (36 ± 1 °C) e agitados diariamente de forma manual. Inicialmente, a duração do experimento foi determinada como o período até que a produção diária de biogás resultasse em valor inferior a 1% da produção total para cada condição (HOLLIGER et al., 2016; EDWIGES et al., 2018). Contudo, durante o experimento percebeu-se que alguns reatores apresentaram períodos de baixa produção e posteriormente, aumento progressivo desta. Com isso, optou-se por prolongar o monitoramento por um período maior.

Ao longo deste experimento, foram monitorados o volume de biogás produzido e os teores dos gases CH₄, CO₂ e H₂S. As expurgas foram realizadas quando a pressão exercida no manômetro estivesse entre 0,75 e 1,10 kgf cm⁻², por meio do acoplamento de uma mangueira entre o registro da saída do biogás e a entrada do analisador portátil (Dräger® X-am 7000), sem acionamento da bomba do equipamento. Também foi realizada a caracterização físico-química das amostras no início e final do ensaio, em relação aos parâmetros pH, alcalinidade, DQO, ST e STV.

4.4.3 Cálculo do Volume de Biogás Gerado

A medição da pressão exercida nos manômetros foi anotada diariamente e posteriormente convertida em volume de biogás gerado (entre o dia atual e dia anterior), com base na lei dos gases ideais e de Clapeyron, conforme a Equação 1 (EL-MASHAD; ZHANG, 2010; LABATUT; ANGENENT; SCOTT, 2011):

$$\text{Vol. entre T e (T + 1)} = \left(\frac{\text{PF} \cdot \text{VUF} \cdot \text{C}}{\text{R} \cdot \text{TF}} \right) \cdot 1000 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Vol. Entre T e (T+1): Volume de biogás gerado em um intervalo de tempo (mL)

T: Tempo (dias);

PF: Pressão do Frasco (mbar);

V_{UF}: Volume útil do frasco ocupado pelo gás (L);

C: Volume molar (22,41 L mol⁻¹);

R= Constante universal dos gases (83,14 L mbar mol⁻¹K⁻¹);

TF: Temperatura do Frasco (K).

Conforme Strömberg, Nistor e Liu (2014), o vapor da água é um constituinte do biogás e leva a uma superestimação do volume produzido em 2 a 8% nas CNTP, fato que precisa ser considerado nos cálculos. Esta pressão varia de acordo com a temperatura, portanto utilizou-se o valor de 59,3 mbar, resultante do cálculo para uma temperatura de 36°C, em que os frascos foram incubados. A equação utilizada para cálculo da pressão de vapor da água é apresentada na Equação 2:

$$Pa = 10^{8,1962 - \frac{1730,63}{T_{gás} - 39,724}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

Pa: Pressão de vapor da água (mbar);

Tgás: Temperatura do gás (K).

Os dados de volume de biogás produzido foram também ajustados às Condições Normais de Temperatura e Pressão – CNTP, utilizando a pressão atmosférica local fornecida pela Estação Agrometeorológica do Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR de Londrina, conforme a Equação 3:

$$Vol_{CNTP} = Vol_{acum.} \cdot \left(\frac{T_{cntp}}{TF} \right) \cdot \left(\frac{Patm - Pa}{Po} \right) \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

Vol. CNTP: Volume de biogás acumulado no período ajustado às CNTP (NmL);

Vol. acum.: Volume de biogás acumulado no período (mL);

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

TF: Temperatura do frasco no ambiente de incubação (K);

Patm: Pressão atmosférica local (Londrina) no dia da medição (mbar);

Pa: Pressão do vapor da água (59,3 mbar);

Po: Pressão atmosférica normal (1.013 mbar).

A taxa de geração do biogás foi calculada conforme a Equação 4:

$$\text{Taxa de geração de biogás (\%)} = \left(\frac{\text{Vol}_{\text{biogás}}}{\text{Dias}} \right) \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

$\text{Vol}_{\text{biogás}}$ acumulado = Volume de biogás acumulado (mL);

Dias = Dias de experimento

Também foi calculada a produção específica de metano, que representa a produção volumétrica de metano em relação à massa de STV adicionada no reator ($\text{Nv}_{\text{CH}_4} \text{STV}_{\text{resíduo, adic.}}^{-1}$), conforme a Equação 5.

$$\text{Produção específica de metano} = \left(\frac{\text{Nv}_{\text{CH}_4}}{\text{mSTV}_{\text{resíduo adic.}}} \right) \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

Nv_{CH_4} : Volume acumulado de metano (CNTP) (NmL);

$\text{Mstv}_{\text{resíduo, adic.}}$: quantidade de matéria orgânica adicionada (g STV).

Para o cálculo de todos os valores referentes às produções de biogás e metano das diferentes condições estudadas, foram descontadas as produções dos frascos controle (apenas inóculo).

4.4.4 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R CORE TEAM, 2018). A qualidade de ajuste da equação dos modelos foi expressa pelo coeficiente de determinação ajustado $R_{\text{ajustado}2}$ e sua significância estatística foi avaliada pelo teste F. Os pressupostos do modelo, normalidade de resíduos e homogeneidade de variância, foram avaliados pelos testes Shapiro-Wilk (1965) e Breusch-Pagan (1979) respectivamente. Médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey. As análises foram realizadas ao nível de significância de 5%.

4.5 ETAPA EXPERIMENTAL II – DIGESTÃO ANAERÓBIA EM ESCALA PILOTO

4.5.1 Descrição Geral do Sistema

Nesta etapa do trabalho, foram construídos os sistemas de digestão anaeróbia, compostos por 2 reatores apoiados em estrutura metálica, com volume total de 500 L e útil de 400 L cada, além do sistema de medição e armazenamento do biogás. Cada reator possuía diâmetro de 80 cm e altura de 103 cm, sendo constituído por placas de fibra de vidro e isolamento térmico interno. Cada placa lateral era composta por 3 aberturas em diferentes alturas, nas quais estavam acoplados sensores e resistências elétricas para manutenção da temperatura, além de registros para coleta de amostras.

Na parte inferior do reator havia um registro para possibilitar descarte de fundo e na parte superior se localizava uma tubulação afogada no meio líquido, a qual possuía um êmbolo que era retirado para possibilitar a alimentação (introdução do substrato). A agitação era realizada por 6 pás agitadoras em forma axial acopladas à um motorreductor e defletores nas paredes laterais internas para otimizar a mistura. O controle da temperatura e agitação era realizado por meio de um painel eletrônico.

Na Figura 10 são detalhadas as medidas dos reatores e na Tabela 11 são apresentadas algumas informações relacionadas ao experimento em escala piloto.

Figura 10 – Representação esquemática detalhada dos reatores em escala piloto

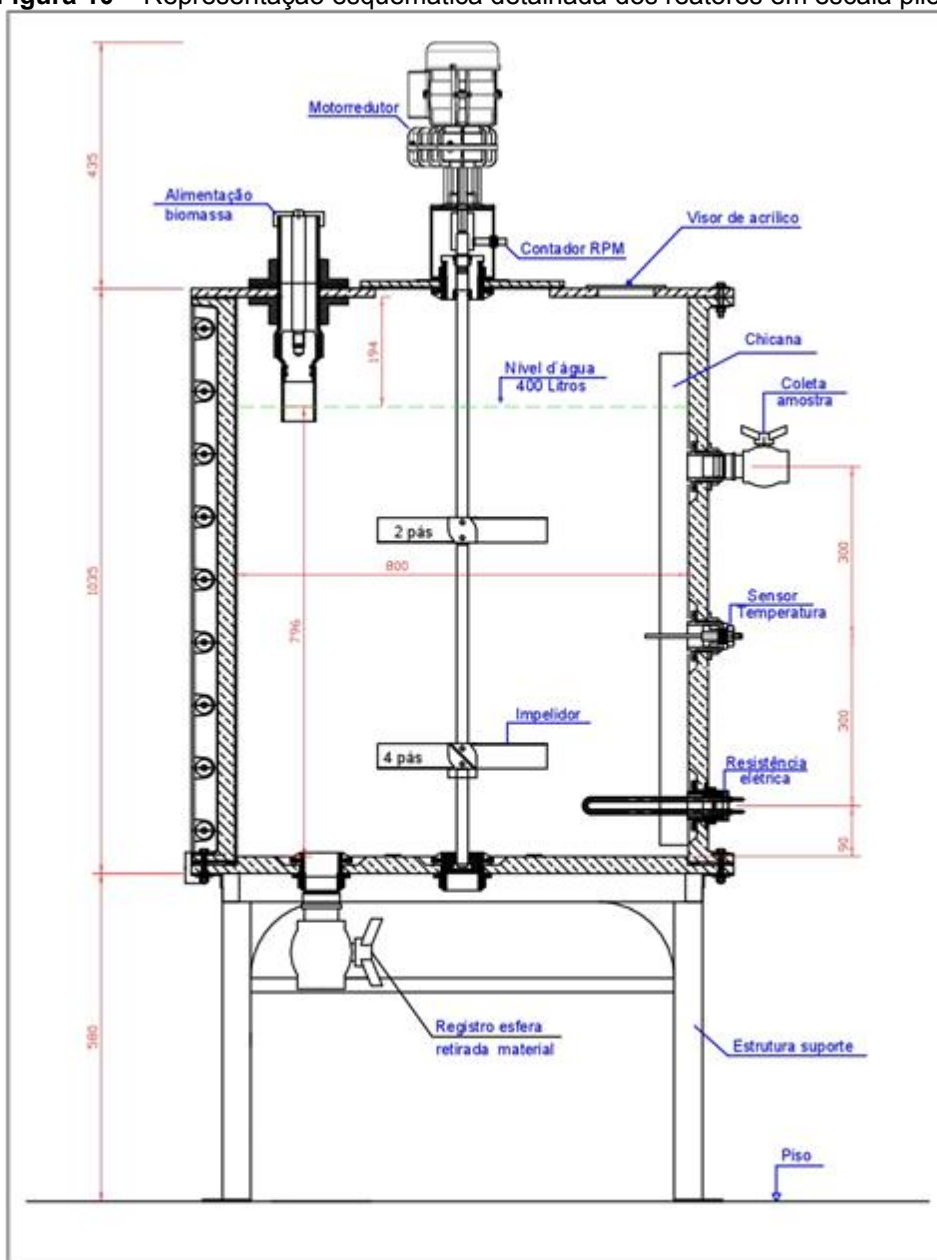


Tabela 11 – Condições utilizadas nos reatores em escala piloto

Volume total	500 L
Volume útil	400 L
Processo	Semi-contínuo
TDH	40 d
Temperatura	36 °C
Agitação	30 RPM por 30 min a cada 2h30, até o 130º dia 30 RPM por 15 min a cada 1 h, do 131º dia em diante

O biogás gerado em cada reator era encaminhado por meio de uma saída na tampa superior, e então passava por um medidor de vazão modelo G1 fabricado pela LAO Indústria®. Posteriormente, o biogás era conduzido para análise de metano no equipamento Guardian CH₄ 0-100% fabricado pela Edinburg e então era

armazenado em um balão volumétrico de PVC com capacidade de 1 m³, fabricado pela empresa BGS Equipamentos.

Também foram analisados os teores de CH₄, CO₂ e H₂S do biogás por meio da conexão do analisador portátil Dräger® X-am 7000 em um registro posicionado antes do balão de armazenamento. No momento da análise, a mangueira que encaminhava o biogás para o balão era fechada, com o objetivo de se analisar apenas o biogás do interior do reator. Esta análise era realizada com frequência aproximada de 5 vezes por semana.

A Figura 11 apresenta os reatores utilizados no experimento em escala piloto, além do sistema de coleta, análise e armazenamento do biogás.

Figura 11 – Vista dos reatores pilotos utilizados neste trabalho



4.5.2 Partida dos Reatores

Os procedimentos realizados para coleta, preparação e armazenamento do inóculo e substrato(s) são os mesmos descritos nos itens 4.2.1, 4.2.2 e 4.2.3. Como procedimento para partida dos reatores, foi introduzida dentro de cada reator uma quantidade de 120 L de inóculo, correspondendo a 30% do volume útil. A temperatura do reator foi acrescida lentamente para adaptação dos microrganismos, com valor

inicial de 25 °C e aumento de 2 °C por dia, até ser atingida a temperatura de operação (36 °C), após 6 dias de aclimação.

As alimentações eram realizadas com frequência de 3 vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras). Antes da adição do substrato nos reatores, o mesmo volume de efluente era retirado pelo registro localizado na altura intermediária. Antes da coleta acionava-se a agitação do reator, para homogeneização da amostra e garantir a manutenção do processo por mistura completa.

O início da alimentação dos reatores ocorreu 4 dias após introdução do inóculo, com COV – Carga Orgânica Volumétrica inicial baixa para adaptação dos microrganismos e posteriormente foi realizado o aumento gradual desta carga. Assim, o reator foi completado com água e dentro do planejamento experimental a primeira alimentação resultou em uma COV de 0,01 kgSTV m⁻³d⁻¹.

4.5.3 Operação e Monitoramento dos Reatores

Os 2 reatores utilizados nesta etapa foram operados simultaneamente nas mesmas condições e com a mesma COV. Seguindo a condições aplicadas ao experimento de BMP, um reator foi operado apenas com adição de RRU (reator A) e o outro foi operado com 20% da COV do RRU substituída por RPG (reator B). Na Tabela 12 são especificadas as condições utilizadas.

Tabela 12 – Condições estudadas nos reatores em escala piloto

Nomenclatura utilizada	Condição
Reator A	Tratamento de RRU
Reator B	Tratamento de RRU+RPG

Após a primeira adição de substrato nos reatores, seguiu-se com um aumento de 0,05 kgSTV m⁻³d⁻¹ em cada alimentação, objetivando-se atingir o valor de 1,26 kgSTV m⁻³d⁻¹, relacionado à concentração aproximada de 5% de STV no afluente, valor próximo à condição STV_{mist.} do teste BMP, a qual resultou em maior produção de CH₄.

Contudo, no 31° dia de operação, ocorreu um desequilíbrio no reator operado apenas com RRU, sendo necessárias medidas de recuperação do processo. Quando se percebeu os sinais de instabilidade, manteve-se a alimentação sem aumento da carga, a qual era de 0,63 kgSTV m³d⁻¹. Contudo, mesmo após duas alimentações sem

aumento da COV, os valores de AGV e a relação AI/AP situaram-se acima do recomendado pela literatura (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008; CHERNICHARO, 2016). Com isso, suspendeu-se a alimentação dos reatores e iniciou-se a adição do tampão carbonato de sódio visando aumentar a alcalinidade do meio.

Neste mesmo período, foi constatada a formação de uma camada com aspecto gorduroso no sobrenadante da mistura dentro dos reatores. Visando a remoção da mesma, realizou-se a recirculação do sobrenadante. Primeiramente, no 47° dia de operação, o efluente foi retirado do reator até a altura do registro superior e retornado pelo compartimento de alimentação. Contudo, não houve melhorias e o procedimento foi repetido no 51° dia, porém até o registro intermediário de cada reator. Após este procedimento foi verificada a diminuição da camada, porém definiu-se que tal medida não seria mais realizada, devido à aeração do meio e impacto na qualidade do biogás.

Após este período, prosseguiu-se com a alimentação dos reatores com COV de $0,34 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$, apenas uma vez na semana e então esta foi reduzida a $0,14 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$ e a alimentação três vezes por semana foi retomada. No 80° dia de operação, a COV foi aumentada para $0,24 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$ e então prosseguiu-se com o monitoramento e aumento da COV quando os efluentes apresentavam características estáveis.

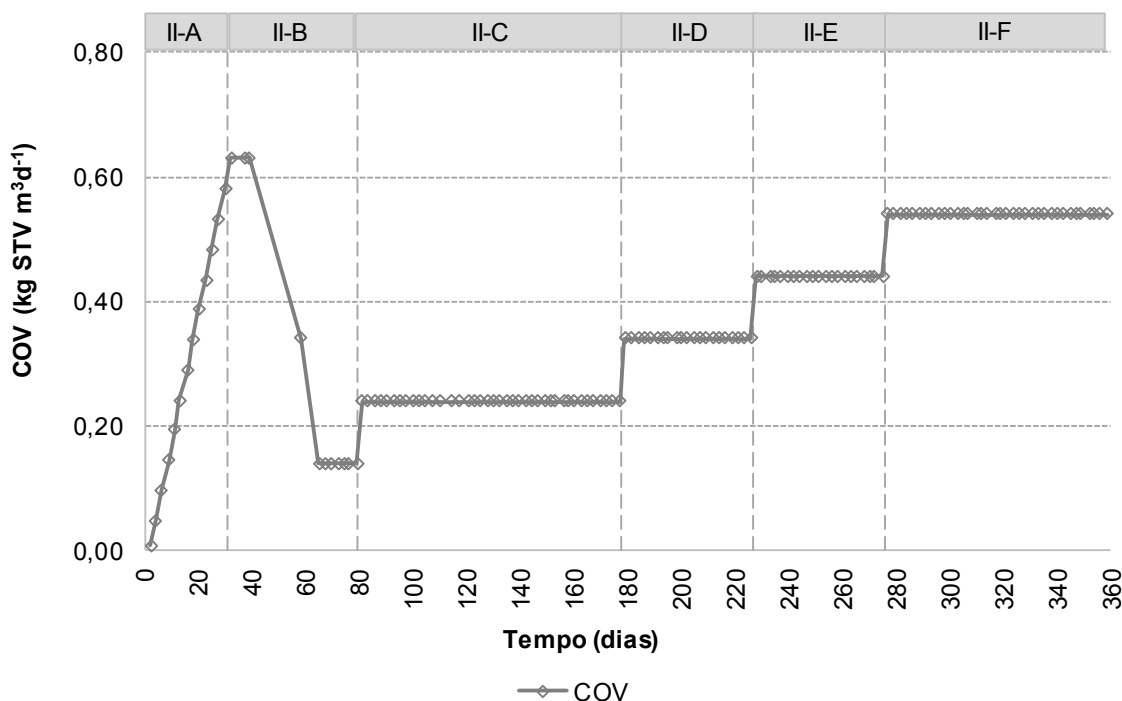
Contudo, mesmo com as medidas corretivas adotadas e baixa carga aplicada, o reator A não apresentou melhorias, e, portanto, foi desativado e prosseguiu-se com o monitoramento do Reator B durante as fases subsequentes. A partir de então, a COV foi aumentada de maneira cuidadosa e esperou completar-se ao menos um TDH para um novo incremento. Após este período foram aplicadas mais 3 diferentes cargas na alimentação do reator ($0,34$; $0,44$ e $0,54 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$).

Resumidamente, as fases relacionadas à esta etapa experimental, foram:

- Fase II-A: Inoculação, partida dos reatores e aumento progressivo da carga orgânica volumétrica – COV até $0,63 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$;
- Fase II-B: Desequilíbrio no processo e adoção de medidas corretivas (COV reduzida para $0,14 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$);
- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: Aumento da COV de maneira moderada ($0,24$; $0,34$; $0,44$ e $0,54 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$, respectivamente);

Na Figura 12 são apresentados os valores de COV aplicados durante o monitoramento dos reatores em escala piloto.

Figura 12 – Relação da COV em cada fase experimental



4.5.4 Parâmetros de Monitoramento

Nos experimentos em escala piloto, foram realizadas análises quali-quantitativas dos afluentes, efluentes e biogás. Os parâmetros de controle operacional empregados no monitoramento para caracterizar as amostras líquidas antes e após o tratamento foram pH, alcalinidade e AGV. Como parâmetros de desempenho foram analisados DQO, ST, STV, volume de biogás e teor de metano. Outros parâmetros como nutrientes, carbono orgânico total e nitrogênio total e amoniacal foram analisados em amostras específicas. Na Tabela 13 são apresentados os parâmetros de monitoramento dos reatores e a frequência de análise.

Tabela 13 – Relação da frequência de análise dos parâmetros de monitoramento

Parâmetro	Frequência	Amostra
pH	3 x por semana	Afluente/efluente
Alcalinidade	3 x por semana	Afluente/efluente
AGV	3 x por semana	Afluente/efluente
STV	1 x por semana	Afluente/efluente

Parâmetro	Frequência	Amostra
ST	1 x por semana	Afluente/efluente
DQO	1 x por semana	Afluente/efluente
N-amoniacal	Final de cada fase	Efluente
N-total	Final de cada fase	Afluente
COT	Final de cada fase	Afluente
Volume de biogás	Diariamente	Biogás
Teor de CH₄, H₂S e CO₂	Diariamente	Biogás

4.5.5 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

Visando avaliar a biodegradação da grama no Reator B, com base na presença de microrganismos aderidos e formação de biofilme, foi realizada uma análise por MEV de partículas do RPG antes e após o tratamento anaeróbio, no laboratório de microscopia eletrônica e microanálise da UEL. Foram coletadas amostras do efluente do reator B, aos 160 dias de operação (COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹) e ao final do experimento (COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹).

O preparo das amostras consistiu na centrifugação e lavagem com tampão fosfato 0,1 M e posterior fixação com uma solução composta por glutaraldeído 2,5%; paraformaldeído 2,0% e tampão fosfato 0,1M. Então, realizou-se outra lavagem com tampão fosfato, processo de desidratação etanólica, secagem ao ponto crítico (modelo CPD 030, marca Bal-tec), montagem dos suportes e metalização com ouro (SCD 050, marca Bal-tec). A análise de MEV foi realizada em um aparelho da marca Philips, modelo Quanta 200.

4.5.6 Análise da Comunidade Microbiana Existente

As amostras finais referentes à COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ (Fase II-C) para os reatores A e B e COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ (Fase II-F) para o Reator B, foram submetidas à um sequenciamento genético, em laboratório externo. As amostras foram coletadas em frascos cônicos de 15 mL (livres de DNases, RNases e pirogênicos), congeladas a -20 °C e enviadas ao laboratório externo em caixa de isopor contendo placas de gelo gel.

A extração do DNA total foi realizada usando o QIAmp Fast DNA Stool Kit (Qiagen; Hilden, Germany), seguindo as recomendações do fabricante, com adaptações otimizadas no laboratório. A análise do DNA quanto a concentração

(quantificação) e pureza foi determinada por meio do NanoDrop™ One/OneC Microvolume UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific; Waltham - MA, US). Um µL do DNA total extraído foi usado nas reações de amplificação de duas regiões do gene 16S do rRNA bacteriano. Para as 3 amostras, a região V3-V4 foi amplificada a partir dos primers contendo pré-adaptadores Illumina (Forward Primer = 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG; Reverse Primer = 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-GACTACHVGGGTATCTAATCC) para sequenciamento de todas as bactérias presentes na comunidade. Além da região V3-V4, foi usado primers contendo pré-adaptadores Illumina (Forward Primer 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGAGGAATTGGCGGGGGAGCA; Reverse Primer 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-GCGGTGTGTGCAAGGAGC) para sequenciamento da região que identifica espécies de arqueas presentes na comunidade (915F / 1386R). Os produtos de PCR (Polymerase Chain Reaction) foram checados em eletroforese de gel de agarose 1 % (m/v).

Uma segunda PCR foi realizada para adicionar os adaptadores Illumina (barcodes) e construção da biblioteca para sequenciamento. Para isso, 10 µL do primeiro amplificado foram usados na reação. Os produtos de PCR da segunda amplificação foram checados em eletroforese de gel de agarose 1 % (m/v), purificados e quantificados para normalização da biblioteca. O pool das amostras da biblioteca foi quantificado por PCR em tempo real (RT-PCR) e sequenciamento usando o MiSeq System (Illumina; San Diego-CA, US) com cobertura de 50 mil reads.

O programa DADA2 (pacote de código aberto implementado na linguagem R), foi utilizado para modelagem e correção de erros de amplicons, sem a construção de OTUs. O banco de dados Genome Taxonomy Database - GTDB foi utilizado como referência para classificação.

4.5.7 Ensaios de Ecotoxicidade Aguda

Os ensaios de ecotoxicidade aguda foram realizados em quadruplicata, com amostras dos efluentes dos digestores anaeróbios em escala piloto. As amostras analisadas foram coletadas ao final da fase II-C (COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹) para

ambos os reatores, e ao final da fase II-F (COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹) para o reator B.

Os organismos-teste utilizados foram *Daphnia magna* (ABNT, 2016^a) e *Artemia salina* (ABNT, 2016^b), com base nos procedimentos indicados pelas respectivas normas. As amostras foram filtradas em membrana qualitativa, para retirada dos sólidos com maior tamanho de partículas. Em seguida, foram preparadas diluições com base em um teste preliminar, visando atingir a mortalidade necessária para cálculo e validação do teste pelo programa estatístico.

Os resultados foram expressos como concentração efetiva ou letal mediana da amostra que causa efeito a 50% da população exposta após 48 h – CE₅₀48h ou CL₅₀48h, obtidas por cálculo estatístico usando o programa Trimmed Spearman-Kärber, com intervalo de confiança de 95% (HAMILTON et al. 1977). O ensaio foi validado quando a porcentagem de organismos imóveis ou mortos no controle negativo resultou inferior a 10%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ETAPA EXPERIMENTAL I - ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO – BMP

5.1.1 Caracterização Físico-Química do Inóculo, Substrato e Co-Substrato

Na Tabela 14 são apresentados os dados de caracterização do inóculo e dos substratos (RRU e RPG) utilizados nesta etapa experimental.

Tabela 14 – Características físico-químicas dos resíduos utilizados no experimento de BMP

Parâmetro	Unidade	Inóculo	RRU	Parâmetro	Unidade	RPG	RPGt
ST	%	5,57	9,27	ST	%	86	36
STV	%	2,92	8,70	STV	%	76	30
STV/ST	%	52,4	93,9	STV/ST	%	88,4	83,3
pH	-	6,8	4,4	pH		6,2	9,6
Alcalinidade	g L ⁻¹	2,30	-	COT	%*	45	25
DQO	g L ⁻¹	43,60	144,1	N	%*	1,5	1,2
COT	%*	-	48	C:N	%*	30	21
N	%*	-	7,8	FDN**	%*	84	56
C:N	-	-	6,1	FDA**	%*	67	50
Carboidratos	%*	-	38,5	CEL**	%*	35	24
Lipídios	%*	-	12,0	HCEL**	%*	16	5,8
Proteínas	%*	-	49,0	LIG**	%*	29	26
Sódio	%*	-	12,1				

*Em relação à massa seca

** FDN: Fibra em Detergente Neutro; FDA: Fibra em Detergente Ácido; CEL: Celulose; HCEL: Hemicelulose; LIG: Lignina.

Conforme apresentado na Tabela 14, o inóculo utilizado apresentou relação STV/ST de 52,4%, indicando ser parcialmente estabilizado. O pH do inóculo ficou próximo à neutralidade (6,8), estando de acordo com os valores encontrados na literatura (MALINOWSKY, 2016; MAGALHÃES, 2018). O pH e a alcalinidade do inóculo propiciam benefícios ao tratamento do resíduo alimentar, visto que este possui características ácidas devido à rápida decomposição logo após o seu descarte. O elevado teor de STV/ST no RRU (93,9%), demonstra seu potencial de biodegradação, devido à elevada quantidade de matéria orgânica presente. Neste estudo, o RRU apresentou pH de 4,37, outros trabalhos também citam esta característica do resíduo alimentar (KUCSMAN et al., 2018; STRAZZERA et al., 2018).

Os valores do RRU referentes à carboidratos (38%), lipídios (12%) e proteínas (49%) estão relacionados ao tipo de cardápio e quantidade de cada alimento contido no resíduo. O elevado teor de proteínas potencializa a produção de biogás, contudo,

também leva a maiores concentrações de nitrogênio e H_2S (DEUBLEIN E STEINHAUSER, 2008). He et al. (2012) utilizaram em seu estudo resíduo de uma cantina universitária, o qual apresentou teores de 35,47% de carboidratos, 14,42% de proteínas e 24,11% de lipídios, em relação à massa seca.

Destaca-se também a baixa relação C:N do RRU, que resultou em 6,1, devido ao elevado teor de nitrogênio presente neste resíduo (7,8%). Como a relação C:N ideal para a digestão anaeróbia situa-se entre 20 a 30, este fator pode prejudicar o desempenho do processo. Com isso, a adição do co-substrato RPG, que apresentou C:N de 30, demonstra ser benéfica.

Em relação à caracterização do RPG utilizado nesta fase experimental, a relação STV/ST de 88,4% indicou a grande parcela de material orgânico no resíduo. Contudo, esta parcela orgânica possui características distintas do RRU, devido à presença de lignina, celulose e hemicelulose. Os teores de celulose (35%), hemicelulose (16%) e lignina (29%) estiveram próximos aos obtidos por Brown e Li (2013), em sua análise do resíduo de jardim utilizado na digestão, os quais obtiveram 24,3% de celulose, 9,4% de hemicelulose e 23% de lignina.

A aplicação do pré-tratamento químico no RPG apresentou remoções de celulose, hemicelulose e lignina de 33%, 65% e 14% respectivamente, indicando a transformação em compostos mais simples. Mesmo com a secagem em estufa, não houve remoção total da umidade do RPGt, causada pela adição da solução de NaOH. Com isso, os valores de ST deste resíduo ficaram maiores em comparação com o RPG sem tratamento químico. Também houve diminuição do teor de STV, provavelmente devido à transformação ou volatilização de compostos orgânicos.

5.1.2 Parâmetros de Controle

Na Tabela 15 são apresentados os valores médios de pH e alcalinidade no início e fim do experimento de BMP.

Tabela 15 - Valores médios de pH e alcalinidade iniciais e finais do experimento de BMP

Tratamento	pH inicial	pH inicial + tampão	pH final	Alcalinidade inicial	Alcalinidade final
A1	6,0	8,7	7,8	2.008	3.815
A2	6,3	9,6	7,2	1.655	2.544
A3	6,4	8,6	7,4	2.258	4.301
A4	6,6	9,5	7,2	1.868	2.623
B1	6,5	9,1	7,5	2.492	4.560
B2	6,6	8,9	7,3	1.899	3.293
B3	6,6	9,0	7,2	2.343	4.142
B4	6,7	8,7	7,3	1.911	2.945
C1	6,5	8,4	7,3	2.660	4.701
C2	6,7	9,4	7,3	1.947	3.239
C3	6,6	8,5	7,1	2.485	4.196
C4	6,8	9,4	7,2	1.873	2.940
A1 - RRU/1:1/STV _{mist}		B1 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist}		C1 - RRU+RPGt/1:1/STV _{mist}	
A2 - RRU/1:1/ STV _{mist-/2}		B2 - RRU+RPG/1:1/ STV _{mist-/2}		C2 - RRU+RPGt/1:1/ STV _{mist-/2}	
A3 - RRU/2:1/ STV _{mist}		B3 - RRU+RPG/2:1/ STV _{mist}		C3 - RRU+RPGt/2:1/ STV _{mist}	
A4 - RRU/2:1/STV _{mist-/2}		B4 - RRU+RPG/2:1/ STV _{mist-/2}		C4 - RRU+RPGt/2:1/ STV _{mist-/2}	

De acordo com a literatura pode-se obter estabilidade no processo anaeróbio com valores de pH entre 6 e 8 (CHERNICHARO, 2016). Como o pH e a alcalinidade estão relacionados, sugere-se que a alcalinidade inicial seja adequada para garantir a estabilidade do processo, visto que a formação de ácidos orgânicos consumirá a alcalinidade à bicarbonatos e, conseqüentemente, o pH tende a diminuir.

Uma vez que os valores iniciais de pH das misturas situaram-se entre 6,0 e 6,8, optou-se pela adição do agente tamponante carbonato de sódio (Na_2CO_3) de modo que sua concentração na mistura resultasse em 2.000 mg L^{-1} , para assegurar que o pH se mantivesse na faixa ideal durante o processo. Com isso, os valores de alcalinidade inicial ficaram entre 1.655 e 2.660 mg L^{-1} , enquadrando-se na faixa indicada pela literatura, de 1.000 a 5.000 mg L^{-1} (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

Contudo, com a adição do tampão, os valores iniciais de pH extrapolaram o valor máximo indicado, ficando entre 8,4 a 9,6. Ao fim do experimento, estes permaneceram próximos à neutralidade, entre 7,1 a 7,8. Portanto, os valores elevados de pH ao início do experimento, podem ter auxiliado a impedir a acidificação do meio.

Oliveira et al. (2018) observaram benefícios pela adição do agente tamponante bicarbonato de sódio na concentração de $0,2 \text{ g}$ de $\text{HCO}_3 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$, na digestão anaeróbia de resíduo alimentar em escala de bancada. Os autores verificaram que na condição sem adição de tampão, houve acidificação do meio (pH final de 5,38) e a produção acumulada de metano foi 6 vezes menor em comparação com a condição na qual foi adicionado bicarbonato.

Malinowsky (2016) também verificou a acidificação do meio em seu ensaio de BMP com resíduo alimentar, visto que a formação de metano cessou no segundo dia de monitoramento em algumas condições estudadas e ao final do experimento o pH resultou em 4,7. A autora ressalta que a metanogênese ocorre apenas em valores de pH próximos a neutralidade, e o acúmulo de AGV no meio pode ocasionar a queda do pH e conseqüente paralisação da produção de metano.

5.1.3 Parâmetros de Desempenho

Na Tabela 16 são apresentados os valores médios de sólidos totais – ST, sólidos totais voláteis – STV e a eficiência na remoção de STV, em relação às amostras iniciais e finais do experimento de BMP.

Tabela 16 – Valores médios de ST e STV iniciais e finais do experimento de BMP

Tratamento	ST (mg L ⁻¹)		STV (mg L ⁻¹)		
	Inicial	Final	Inicial	Final	Remoção (%)
A1	35.168	21.667	26.590	11.655	56,2
A2	16.703	9.730	12.775	4.153	67,5
A3	48.402	36.610	29.587	16.105	45,6
A4	20.250	17.387	12.647	7.785	38,4
B1	62.855	47.717	41.585	24.595	40,9
B2	31.545	24.895	20.745	11.870	42,8
B3	55.615	46.997	33.667	22.915	31,9
B4	25.552	23.410	15.812	10.310	34,8
C1	61.055	46.465	40.449	23.682	41,4
C2	30.337	23.387	20.065	10.895	45,7
C3	58.285	49.965	35.477	25.307	28,7
C4	26.752	24.450	16.007	11.205	30,0

A1 - RRU/1:1/STV_{mist} B1 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist} C1 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist}
A2 - RRU/1:1/STV_{mist-./2} B2 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist-./2} C2 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist-./2}
A3 - RRU/2:1/STV_{mist} B3 - RRU+RPG/2:1/STV_{mist} C3 - RRU+RPG/2:1/STV_{mist}
A4 - RRU/2:1/STV_{mist-./2} B4 - RRU+RPG/2:1/STV_{mist-./2} C4 - RRU+RPG/2:1/STV_{mist-./2}

A partir dos dados apresentados na Tabela 16, verifica-se que os valores de ST iniciais das amostras estão relacionados às condições previamente definidas, portanto, as amostras A2, A4, B2, B4, C2 e C4 resultaram em aproximadamente metade das demais. Como os ST envolvem tanto os STV e os sólidos totais fixos – STF, é importante avaliar a eficiência do tratamento considerando os STV, que estão relacionados à quantidade de matéria orgânica.

Em relação à todas as condições estudadas, de modo geral, os tratamentos A (apenas com RRU) resultaram em maiores remoções de STV, sendo que a maior eficiência obtida neste caso foi com o Tratamento A2 (1:1 STV_{mist-./2}), o qual

proporcionou remoção de 67,5%. A menor eficiência dos tratamentos com RPG, pode estar relacionada à maior dificuldade na biodegradação dos compostos presentes na grama, como a lignina.

Na Tabela 17 são apresentados os valores iniciais, finais e remoção referente ao parâmetro DQO.

Tabela 17 - Valores médios de DQO iniciais e finais do experimento de BMP

Tratamento	DQO Inicial (mg L ⁻¹)	DQO final (mg L ⁻¹)	Remoção (%)
A1	42.965	27.448	36,1
A2	28.054	10.377	63,0
A3	53.278	34.498	35,2
A4	29.672	18.614	37,3
B1	60.760	51.788	14,8
B2	35.364	24.516	30,7
B3	53.076	42.082	20,7
B4	32.937	20.674	37,2
C1	59.749	47.238	20,9
C2	33.544	24.920	25,7
C3	56.918	53.153	6,6
C4	34.515	22.797	34,0

A1 - RRU/1:1/STV _{mist}	B1 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist}	C1 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist}
A2 - RRU/1:1/STV _{mist-1/2}	B2 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist-1/2}	C2 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist-1/2}
A3 - RRU/2:1/STV _{mist}	B3 - RRU+RPG/2:1/STV _{mist}	C3 - RRU+RPG/2:1/STV _{mist}
A4 - RRU/2:1/STV _{mist-1/2}	B4 - RRU+RPG/2:1/STV _{mist-1/2}	C4 - RRU+RPG/2:1/STV _{mist-1/2}

Em relação ao parâmetro DQO, os resultados seguiram o mesmo comportamento de STV, com maior remoção no Tratamento A2 (63%). Contudo para as outras condições, a eficiência na remoção de DQO foi baixa, variando de 6,6 a 37,3%. Gueri et al. (2018) realizou um ensaio de BMP utilizando como inóculo dejeito suíno e como substrato RRU, na proporção de 1:1. Nestas condições, com temperatura de 32°C, o autor obteve eficiência acima do obtido neste experimento, com aproximadamente 82% de remoção de DQO e 24% de STV.

5.1.3.1 Comparação entre os tratamentos B e C

A fim de analisar a viabilidade da utilização do pré-tratamento químico do RPG, inicialmente foi comparada a produção de biogás e metano das condições B e C. Na Tabela 18 são apresentados os valores máximos de CH₄, CO₂ e H₂S, volume de biogás e metano acumulados e produção específica de metano.

Tabela 18 – Características da geração de biogás para os Tratamentos B e C.

Tratamento	Teor máximo (%)			Biogás acumulado (NmL)	Metano acumulado (NmL)	Produção específica (LCH ₄ gSTV ⁻¹)
	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	H ₂ S (ppm)			
B1	64	43	860	931	437	0,082
B2	51	33	60	425	175	0,066
B3	62	35	160	514	240	0,056

B4	54	24	80	304	126	0,054
C1	61	36	760	946	442	0,083
C2	56	28	230	421	174	0,066
C3	70	36	430	615	301	0,071
C4	50	24	120	333	152	0,059
B1 - RRU+RPG/1:1/STV _{mist}			C1 - RRU+RPGt/1:1/STV _{mist}			
B2 - RRU+RPG/1:1/ STV _{mist-2}			C2 - RRU+RPGt/1:1/ STV _{mist-2}			
B3 - RRU+RPG/2:1/ STV _{mist}			C3 - RRU+RPGt/2:1/ STV _{mist}			
B4 - RRU+RPG/2:1/ STV _{mist-2}			C4 - RRU+RPGt/2:1/ STV _{mist-2}			

O maior teor de metano obtido, foi com a condição C3, a qual continha co-substrato RPGt, proporção I:S de 2:1 e STV_{mist}, que resultou em teor máximo de 70% de CH₄. Contudo, o maior valor acumulado de metano foi na condição C1 (442 NmL), seguida da condição B1 (437 NmL).

O gás de maior interesse para o aproveitamento energético é o metano, devido ao seu poder calorífico. Portanto, a análise estatística foi baseada nos resultados de produção acumulada deste gás. A produção de metano foi avaliada por ensaio fatorial 2³ variando os fatores substrato, proporção I:S e teor de STV. Os pressupostos da análise de variância (ANOVA) foram satisfeitos, visto que o modelo proposto apresentou normalidade (Shapiro-Wilk, p-valor > 0,05) e homogeneidade de variância (Breusch-Pagan, p-valor > 0,05) dos resíduos.

Na Tabela 19 são apresentados os resultados relacionados à análise fatorial aplicada aos tratamentos B e C.

Tabela 19 – Análise de variância para a produção acumulada de metano das condições B e C.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Substrato	1	3056	3056	1.3703	0.258898
I:S	1	62777	62777	28.1477	7.107e-05
Teor	1	234981	234981	105.3609	1.908e-08
Substrato*I:S	1	2544	2544	1.1406	0.301375
Substrato*Teor	1	613	613	0.2748	0.607345
I:STeor	1	26796	26796	12.0150	0.003182
Substrato*I:S*Teor	1	317	317	0.1419	0.711300
Resíduo	16	35684	2230		
Total	23	366767			

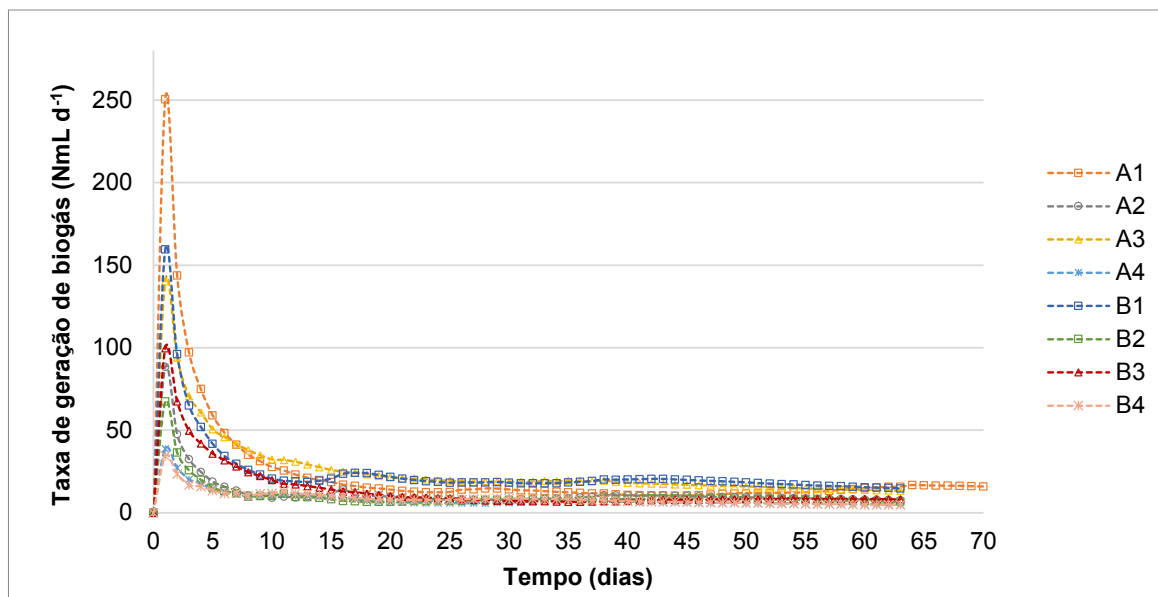
A análise de variância apresentada na Tabela 19 indicou que não houve interação entre os três fatores. Apenas o Teor de STV e a proporção I:S e sua interação, apresentaram efeito significativo para a produção de metano (p-valor<0,05). Analisando os efeitos simples do fator Substrato, de acordo com o teste F, as médias desse fator são estatisticamente iguais. Portanto, para os tratamentos B e C, o fator substrato não influenciou significativamente na produção de metano. Esta análise

sugere que o pré-tratamento químico do RPG, nas condições de estudo, não proporcionou benefícios significativos. Com isso, optou-se por utilizar o RPG sem tratamento químico e realizar a comparação dos tratamentos A e B para escolha das condições a serem aplicadas em escala piloto.

5.1.3.2 Comparação entre os tratamentos A e B

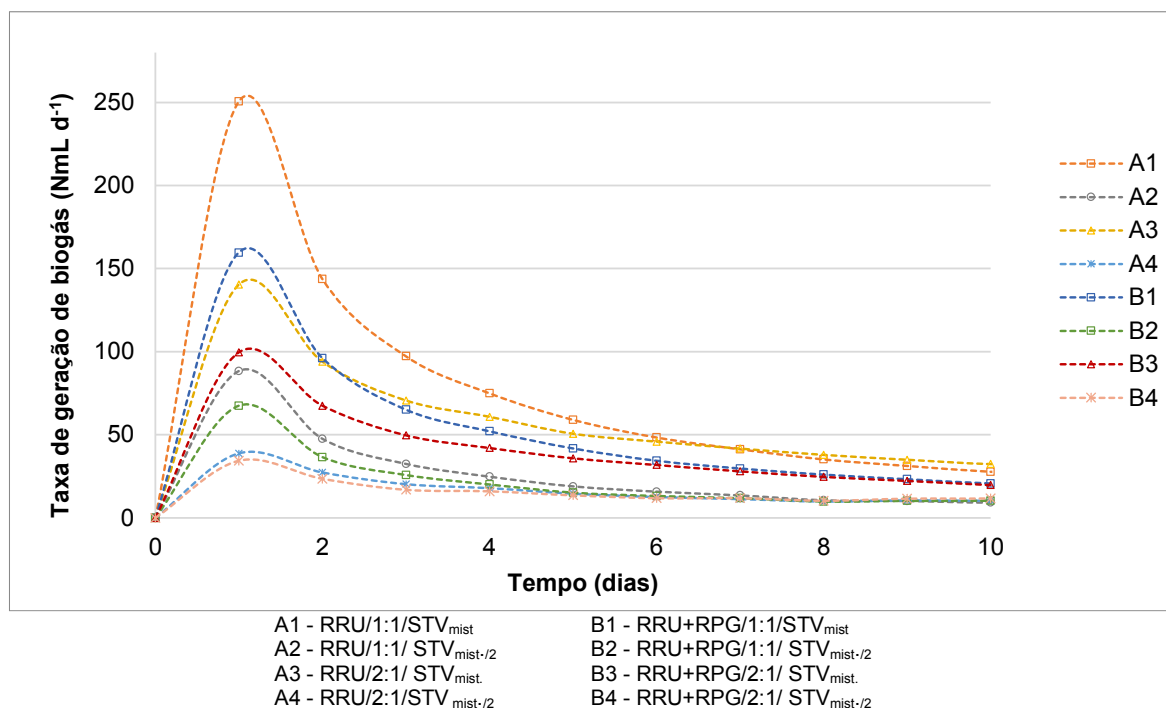
Na Figura 13 são apresentados os resultados referentes à produção diária de biogás (taxa de geração) para cada Tratamento durante o experimento e na Figura 14 pode-se observar a produção diária mais detalhada nos 10 primeiros dias de monitoramento.

Figura 13 – Taxa de geração de biogás ao longo do experimento de BMP



A1 - RRU/1:1/STV_{mist}
 A2 - RRU/1:1/ STV_{mist./2}
 A3 - RRU/2:1/ STV_{mist.}
 A4 - RRU/2:1/STV_{mist./2}

B1 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist}
 B2 - RRU+RPG/1:1/ STV_{mist./2}
 B3 - RRU+RPG/2:1/ STV_{mist.}
 B4 - RRU+RPG/2:1/ STV_{mist./2}

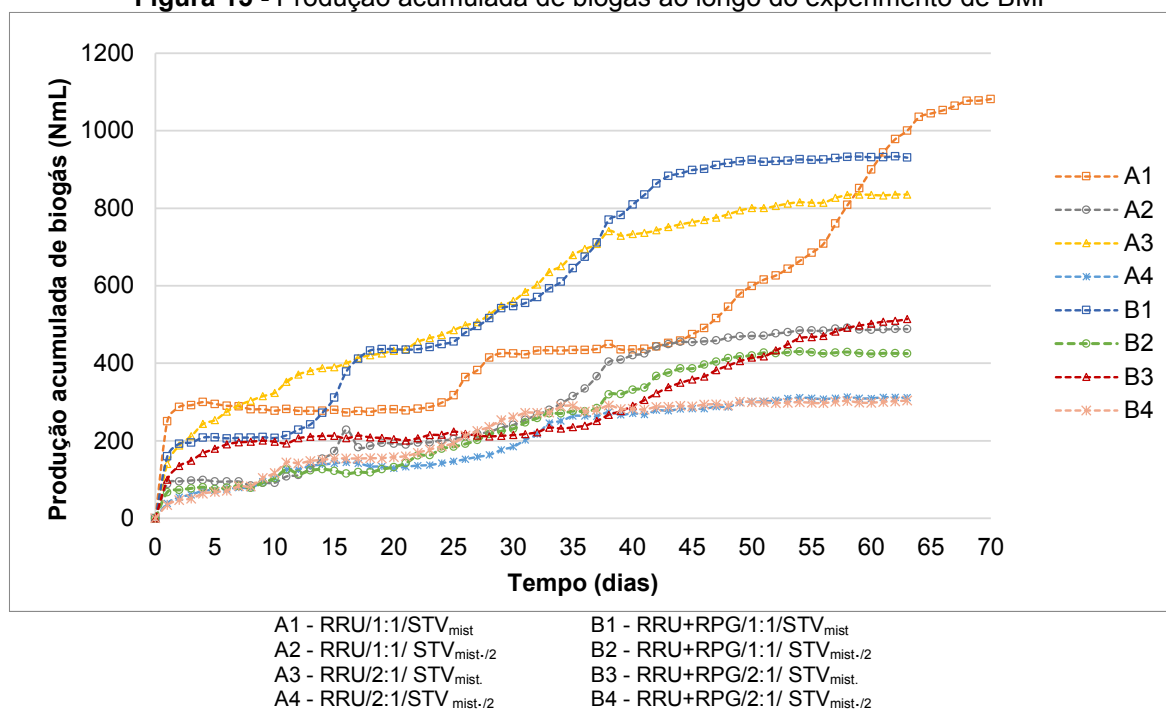
Figura 14 – Taxa de geração de biogás até o 10º dia de experimento de BMP

Conforme os dados apresentados nas Figuras 13 e 14, pode-se notar a elevada produção de biogás nos primeiros dias de experimento. Este fato ocorre devido à elevada quantidade de matéria orgânica e microrganismos disponíveis, induzindo as primeiras etapas da digestão anaeróbia, transformação dos compostos para a metanogênese e consequente produção do biogás. Após degradação dos compostos facilmente degradáveis, a produção decresce devido à presença de compostos de mais difícil biodegradação. As taxas de produção máximas foram para os Tratamentos A1 e B1, com valores de 251 NmL d⁻¹ e 160 NmL d⁻¹.

Em geral, espera-se obter estabilização da produção de biogás entre 30 e 60 dias de monitoramento, como obtido por El-Mashad e Zhang (2010), Gueri (2017), Magalhães (2018) e Oliveira et al. (2018). O tempo de biodegradação depende do tipo de substrato e das condições de operação. Neste trabalho, houve produção de biogás por um maior intervalo de tempo e este fato pode estar relacionado ao pH inicial elevado e dificuldade na degradação de alguns compostos.

Na Figura 15 são apresentados os resultados de produção acumulada de biogás para cada condição estudada.

Figura 15 - Produção acumulada de biogás ao longo do experimento de BMP



Nota-se na Figura 15 que na condição A1, houve uma estabilização da produção do 5º dia ao 25º dia, retornando a produzir biogás posteriormente. A condição B1 resultou em maior produção acumulada até o 60º dia de monitoramento, porém neste momento houve um aumento considerável de geração de biogás da condição A1, a qual finalizou com maior valor. Estes 2 Tratamentos seguiram com os maiores valores de produção acumulada, com 1.082 NmL e 931 NmL para os tratamentos A1 e B1, respectivamente.

Comparando estes dois tratamentos em relação à remoção de matéria orgânica, na condição A1 houve remoção de 56% de STV, enquanto que na condição B1 houve eficiência de aproximadamente 41%. Esta menor eficiência da condição B1 pode estar relacionada à dificuldade de degradação dos compostos lignocelulósicos do RPG e a maior quantidade de matéria orgânica facilmente degradável da condição A1.

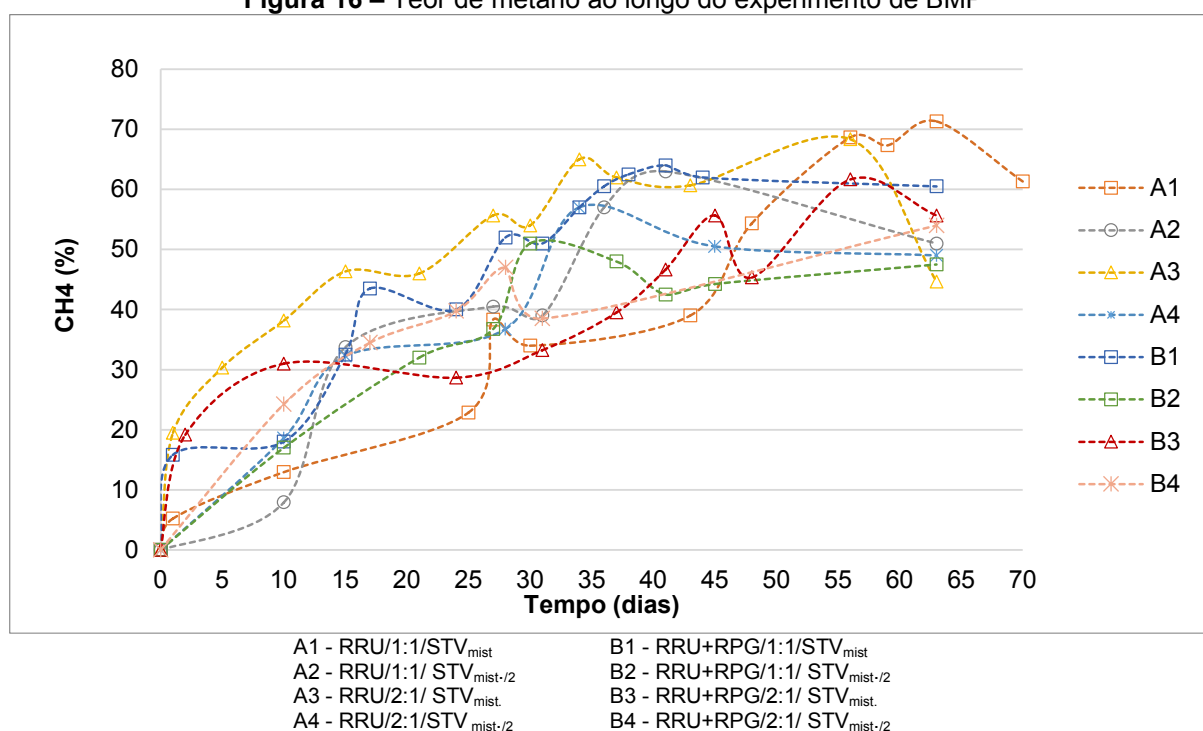
De acordo com a Figura 15, pode-se notar os diferentes patamares de produção ao longo do tempo, para cada condição, que podem estar relacionados à fatores como pH inicial elevado e também a composição do substrato. Após início da biodegradação por meio dos processos de hidrólise e acidogênese, provavelmente, o pH sofreu uma queda, chegando a valores mais próximos do ideal para que a metanogênese ocorresse. Assim, este fato pode estar relacionado ao maior tempo de

produção de biogás ocorrido neste experimento. Além disso, alguns compostos de maior dificuldade de degradação, podem ter sido degradados em estágios diferentes, formando os patamares de produção.

A adição de um agente alcalinizante é importante para garantir que não ocorra acidificação do meio durante o processo. Oliveira et al. (2018), verificaram o efeito da adição de um agente tamponante na biodigestão de resíduo alimentar, utilizando como inóculo lodo de reator anaeróbio de tratamento de esgoto. Com a adição de bicarbonato de sódio, o pH inicial não sofreu alterações, ficando ambas as condições com pH entre 7,14 e 7,16. Os resultados de produção acumulada demonstraram a influência benéfica da adição do tampão, visto que para esta condição houve produção acumulada de metano de 3.516 NmL, enquanto que sem tampão, a produção foi de 533 NmL.

Na Figura 16 são apresentados os valores referentes ao teor de metano obtidos para cada condição, ao longo do experimento.

Figura 16 – Teor de metano ao longo do experimento de BMP



Com base nos dados apresentados, observa-se que o teor máximo de CH₄ não ocorreu no mesmo período em que houve máxima produção de biogás. Isto porque, grande parte do biogás gerado no início do experimento, é resultado principalmente das primeiras etapas da digestão anaeróbia e contém baixo teor de

metano. Os maiores teores de metano foram obtidos a partir do 30º dia de experimento, variando de acordo com a condição. Os teores máximos foram para as condições A1 e A3, com 71 e 68%, respectivamente.

Na Tabela 20 são apresentados os valores máximos de CH₄, CO₂ e H₂S, volume de biogás acumulado e produção específica de metano, para as condições A e B.

Tabela 20 – Características da geração de biogás para os Tratamentos A e B.

Tratamento	Teor máximo			Biogás acumulado (NmL)	Produção específica (LCH ₄ gSTV ⁻¹)
	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	H ₂ S (ppm)		
A1	71	41	1040	1082	0,159
A2	63	31	510	489	0,131
A3	68	35	340	835	0,116
A4	57	24	130	311	0,090
B1	64	43	860	931	0,082
B2	51	33	60	425	0,066
B3	62	35	160	514	0,056
B4	54	24	80	304	0,054

A1 - RRU/1:1/STV_{mist}
A2 - RRU/1:1/ STV_{mist-1/2}
A3 - RRU/2:1/ STV_{mist}
A4 - RRU/2:1/STV_{mist-1/2}

B1 - RRU+RPG/1:1/STV_{mist}
B2 - RRU+RPG/1:1/ STV_{mist-1/2}
B3 - RRU+RPG/2:1/ STV_{mist}
B4 - RRU+RPG/2:1/ STV_{mist-1/2}

Os valores máximos de metano, em geral, situaram-se entre 51 e 71%, dentro da faixa citada pela literatura, em que geralmente os valores encontram-se entre 50 a 75% para biogás gerado no tratamento anaeróbio de resíduos orgânicos (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008). A condição que resultou no maior teor de CH₄ foi o Tratamento A1, o qual também resultou na maior concentração de CO₂ e H₂S. Este fato pode estar relacionado à maior decomposição da matéria orgânica nesta condição, e geração dos 3 gases nas diferentes fases da digestão anaeróbia. Também a composição do substrato pode ter influenciado na composição do biogás.

Os resultados de produção específica de metano, representam o volume total de metano produzido em função da massa de STV adicionada. Os maiores valores obtidos foram para os Tratamentos A1 e A2, ou seja, as condições apenas com RRU e I:S de 1:1. Os tratamentos com adição de RPG resultaram em valores inferiores de produção específica, podendo estar relacionado aos maiores valores de STV iniciais e por conter um substrato de maior dificuldade de biodegradação, que resultou em menor produção.

Comparando-se estes resultados com os obtidos por Brown e Li (2013), verifica-se uma semelhança, visto que estes obtiveram melhorias quando adicionado resíduo alimentar na digestão anaeróbia de resíduos de jardim. O estudo foi realizado

em reatores com volume total de 1L operados em batelada e elevado teor de ST da mistura (19,3 a 30,2%). Comparando as condições estudadas (0, 10 e 20% em STV de resíduo alimentar adicionado ao resíduo de jardim), a substituição da maior parcela de resíduo vegetal por alimentar, resultou em maior produção de metano, com uma produção específica de aproximadamente 120 L CH₄ kgSTV⁻¹ adicionados ao reator.

Na comparação dos resultados de produção específica com outros trabalhos, deve-se ter atenção à forma em que os dados são expressos, visto que há variações em relação ao cálculo, que pode utilizar a massa de STV adicionada no início do experimento ou a massa removida. Com isso, os resultados podem ser significativamente diferentes, bem como a interpretação. Magalhães (2018), por exemplo, obteve produção específica de 420,33 NmLCH₄ gSTV⁻¹ removidos, na relação I:S de 1:1 no tratamento de RRU. Com a adição de resíduo de poda vegetal, houve um aumento na produção, resultando em 466,09NmL gSTV⁻¹ removidos, na condição com 10% de resíduo de poda.

5.1.4 Ensaio Fatorial 2³

Como não houve interação e diferença significativa entre RPG e RPGt, prosseguiu-se com o segundo ensaio fatorial 2³ variando os fatores substrato (RRU e RPG), proporção I:S (1:1 e 2:1) e teor de STV (STV_{mist.} e STV_{mist./2}). Os pressupostos da análise de variância (ANOVA) foram satisfeitos, visto que o modelo proposto apresentou normalidade (Shapiro-Wilk, p-valor > 0,05) e homogeneidade de variância (Breusch-Pagan, p-valor > 0,05) dos resíduos.

Pela ANOVA tem-se que substrato, I:S, teor de STV e suas interações, com exceção a interação entre substrato e I:S, apresentaram efeito significativo para a produção de metano (Tabela 21).

Tabela 21 – Análise de variância para a produção acumulada de metano das condições A e B

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Substrato	1	31088	31088	33.6332	2.713e-05
I:S	1	59479	59479	64.3493	5.353e-07
Teor	1	352455	352455	381.3125	1.383e-12
Substrato*I:S	1	3261	3261	3.5279	0.0786913
Substrato*Teor	1	17872	17872	19.3349	0.0004499
I:STeor	1	11135	11135	12.0462	0.0031523
Substrato*I:S*Teor	1	5771	5771	6.2437	0.0237342
Resíduo	16	14789	924		
Total	23	495850			

Considerando a significância da interação tripla, têm-se, por exemplo, que o efeito do fator substrato depende dos níveis dos fatores I:S e STV. Logo, o teste de Tukey foi realizado para avaliar o efeito de cada fator fixando os níveis dos demais fatores em estudo, conforme apresentado nas Tabelas 22 - 24. Na Tabela 22 são apresentados os efeitos do fator I:S quando fixado os fatores substrato e teor de STV.

Tabela 22 - Diferenças estatísticas entre os tratamentos para a relação I:S

Teor de STV	Substrato	I:S	Produção média acumulada de CH ₄ (NmLCH ₄)
STV _{mist.}	RRU	1:1	509 ^a
		2:1	421 ^b
	RRU+RPG	1:1	437 ^a
		2:1	240 ^b
STV _{mist./2}	RRU	1:1	200 ^a
		2:1	136 ^b
	RRU+RPG	1:1	175 ^a
		2:1	126 ^a

Somente para a condição de STV_{mist./2} e RRU+RPG, não houve diferença significativa quando comparadas as proporções 1:1 e 1:2. Nas demais condições de estudo, houve diferença estatística, sendo que o maior volume de metano acumulado foi obtido utilizando a proporção de inóculo e substrato 1:1.

Na Tabela 23 são apresentados os efeitos do fator STV quando fixado os fatores substrato e proporção I:S. Em todos os níveis estudados de substrato e I:S, os maiores volumes de metano foram obtidos nas condições de STV_{mist.}, sendo essa estatisticamente diferente da condição STV_{mist./2} ao nível de 5% de significância. Portanto, esta análise demonstra que o teor STV_{mist.} (maior teor de sólidos na mistura) resultou em melhor desempenho na produção de metano.

Tabela 23 - Diferenças estatísticas entre os tratamentos para o teor de STV

Substrato	I:S	Teor de STV	Produção acumulada de CH ₄ (NmLCH ₄)
RRU	1:1	STV _{mist.}	509 ^a
		STV _{mist./2}	200 ^b
	2:1	STV _{mist.}	421 ^a
		STV _{mist./2}	136 ^b
RRU + RPG	1:1	STV _{mist.}	437 ^a
		STV _{mist./2}	175 ^b
	2:1	STV _{mist.}	240 ^a
		STV _{mist./2}	126 ^b

Os resultados apresentados na Tabela 24 são referentes aos efeitos do fator substrato quando fixado os fatores I:S e teor de STV. Nota-se que houve diferença significativa entre os tratamentos com RRU e RRU+RPG apenas nas condições com maior teor de sólidos da mistura ($STV_{mist.}$), tanto para a proporção 1:1 como 2:1. Para as condições com $STV_{mist./2}$, não houve diferença significativa entre os dois substratos estudados.

Tabela 24 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para o tipo de substrato

I:S	Teor de STV	Substrato	Produção acumulada de CH_4 (NmL CH_4)
1:1	$STV_{mist.}$	RRU	509 ^a
		RRU+RPG	437 ^b
	$STV_{mist./2}$	RRU	200 ^a
		RRU+RPG	175 ^a
2:1	$STV_{mist.}$	RRU	421 ^a
		RRU+RPG	240 ^b
	$STV_{mist./2}$	RRU	136 ^a
		RRU+RPG	126 ^a

Considerando que os fatores I:S de 1:1 e $STV_{mist.}$ resultaram em maior produção de metano e diferiram significativamente das demais, nota-se que nestas condições houve diferença significativa entre RRU e RRU+RPG. O Tratamento A1 resultou em maior produção de metano (509 NmL) e diferiu estatisticamente do Tratamento B1 (437 NmL). Com isso, verifica-se de modo geral, que a adição de RPG não influenciou positivamente na produção de metano, quando comparadas as condições de maior produção.

Estes resultados diferem dos obtidos por Magalhães (2018), que avaliou a influência da adição de poda vegetal (5 e 10%) na digestão anaeróbia de resíduo alimentar, em escala de bancada. A proporção I:S utilizada foi de 1:1 e como inóculo, lodo de tanque séptico. Os resultados obtidos indicaram maior produção acumulada de biogás e metano para as condições com adição de resíduo de poda. A melhor condição foi com 5% de poda, que resultou em produção acumulada de 1.566 NmL de biogás e 718 NmL de metano.

Malinowsky (2016), realizou um ensaio de biodegradabilidade de resíduo alimentar e resíduos de jardinagem (10, 15 e 30% de resíduo vegetal em relação aos STV), com proporção I:S de 1:2, 1:3 e 1:4. A autora obteve um curto período de produção de biogás devido à acidificação do meio, e assim o experimento teve

duração de apenas 11 dias. Nestas condições, foi obtida maior produção acumulada de biogás com proporção I:S de 1:1 e adição de 10% de resíduo de jardinagem em relação ao resíduo alimentar (produção acima de 1.200 NmL).

Nota-se que os resultados obtidos no experimento de BMP diferem dos obtidos por outros autores, visto que estes obtiveram melhor produção de metano com a co-digestão. Diversos fatores podem ter influenciado nesta diferença, como características dos substratos (inóculo, substrato e co-substrato). Considerando os resultados obtidos, verificou-se que as condições 1:1 e $STV_{mist.}$ seriam as ideais para aplicação em escala piloto. Assim, na fase experimental II buscou-se adaptar esta condição para aplicação em modo semi-contínuo e realizou-se o planejamento experimental para aumento da carga orgânica de modo a atingir uma concentração de sólidos próxima ao valor de $STV_{mist.}$

5.1.5 Considerações Sobre o Ensaio do Potencial Bioquímico de Metano

Visto que o ensaio BMP é realizado em um sistema de digestão anaeróbia em batelada, deve-se levar em consideração que este não reflete as mesmas condições de um reator anaeróbio em fluxo contínuo ou semi-contínuo. Como no BMP há uma grande quantidade de inóculo, as condições são otimizadas devido à elevada alcalinidade e quantidade de microrganismos adicionada.

Nesse sentido, o BMP é uma ferramenta de auxílio na definição de algumas condições a serem aplicadas em escalas maiores, pois fornece o potencial máximo de produção de biogás de um substrato, em função do inóculo utilizado. Contudo, com o aumento da escala e operação de modo contínuo e mistura completa, há a troca do material que está dentro do reator, com conseqüente perda de biomassa e condições diferenciadas que podem levar a resultados distintos.

5.2 ETAPA EXPERIMENTAL II – DIGESTÃO ANAERÓBIA EM ESCALA PILOTO

5.2.1 Caracterização Físico-Química do Inóculo, Substrato e Co-Substrato

As características dos resíduos utilizados na digestão anaeróbia, interferem diretamente no desempenho do processo. Na Tabela 25 são apresentadas as características físico-químicas do inóculo e RPG utilizados durante o experimento em escala piloto.

Tabela 25 - Características físico-químicas dos resíduos utilizados na etapa experimental II

Parâmetro	Unidade	Inóculo	Parâmetro	Unidade	RPG (valor médio)
ST	%	3,84	ST	%	93
STV	%	2,30	STV	%	84
STV/ST	%	59,9	STV/ST	%	90
pH	-	6,63	pH	-	6,5
Alcalinidade	mg L ⁻¹	1.680	COT	%*	47
DQO	mgO ₂ L ⁻¹	35.454	N	%*	1,35
			C:N	-	35
			FDN**	%*	84
			FDA**	%*	69
			CEL**	%*	54
			HCEL**	%*	16
			LIG**	%*	11

*Em relação à massa seca

** FDN: Fibra em Detergente Neutro; FDA: Fibra em Detergente Ácido; CEL: Celulose; HCEL: Hemicelulose; LIG: Lignina.

Os resíduos utilizados nesta etapa experimental apresentaram características similares ao inóculo, RRU e RPG da etapa I. Além disso, estes valores foram próximos aos obtidos pela literatura (SANTOS, 2017; MARTINS, 2018). O inóculo apresentou relação STV/ST de 59,9%, indicando ser parcialmente estabilizado e o pH ficou próximo à neutralidade (6,63).

Os resultados da caracterização do RPG, demonstraram elevado teor de matéria orgânica, com STV/ST de 90% e baixo teor de umidade, com ST de 93%. A boa relação C:N (35) deste resíduo, indica um melhor balanceamento quando realizada a co-digestão com o RRU. Estes dados estão de acordo com os obtidos por Panigrahi, Sharma e Dubey (2020), que utilizaram resíduo de jardinagem (grama, folhas e lascas de madeira) na co-digestão com resíduo alimentar. Neste caso, o resíduo de jardinagem apresentou 89,5% de ST, 87,3% de STV/ST e 44,8 de relação C:N. Os autores ainda citam que a alta relação C:N do resíduo lignocelulósico influencia em uma baixa taxa de proteínas e consequentemente, baixas concentrações de nitrogênio amoniacal e AGV no sistema.

Os teores de celulose (54%), hemicelulose (16%) e lignina (11%) do RPG indicam maiores teores de celulose e menores de lignina, em comparação com os valores obtidos por David et al. (2018) e Panigrahi, Sharma e Dubey (2020). Esta diferença nos valores de celulose e lignina estão relacionadas principalmente ao tipo de resíduo lignocelulósico. De acordo com estes autores, elevados teores de STV e

celulose no resíduo, indicam maior facilidade de degradação pelos microrganismos e alta produção de biogás.

Na Tabela 26 são apresentados os parâmetros analisados nas diferentes coletas realizadas de RRU para utilização no experimento em escala piloto.

Tabela 26 – Caracterização das amostras de RRU coletadas durante o experimento em escala piloto

Parâmetro		2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	5ª coleta	6ª coleta
pH	-	4,1	4,5	4,5	4,5	4,1
DQO	mg L ⁻¹	133.747	116.722	62.513	96.927	108.527
ST	%	8,93	8,63	7,81	8,92	11,25
STV	%	8,31	8,11	7,35	8,36	10,50
STV/ST	%	93	94	94	94	93
Carboidratos	%*	44,46	45,49	39,98	54,80	54,33
Lipídios	%*	17,36	25,72	28,82	20,64	21,39
Proteínas	%*	31,24	22,76	25,31	18,28	17,57

Com base nos dados apresentados na Tabela 26, nota-se uma aproximação dos valores entre as diferentes coletas, mesmo com cardápios distintos, demonstrando que o RRU gerado possui características similares. O pH variou de 4,1 a 4,5 e a concentração de ST ficou entre 7,81 e 11,25%. Na Tabela 27 são apresentados os valores médios da caracterização do RRU utilizado nesta etapa experimental, além das características obtidas por outros autores.

Tabela 27 - Comparação das características do RRU com outros trabalhos

Parâmetro	Unidade	Presente estudo	Zhang, Su e Than (2013)	Zhang et al. (2007)	He et al. (2012)	Browne e Murphy (2014)
pH	-	4,3	4,4	-	-	4,85
DQO	mg L ⁻¹	103.687	-	-	-	-
ST	%	9,11	25,7	30,9	18,3	31,5
STV	%	8,53	23,4	26,3	16,0	28,7
STV/ST	%	93,6	91,0	85,3	87,5	91,2
COT	% *	41,6	51,8	46,8	48,3	49
N	% *	4,45	-	3,16	0,76	3,4
C:N	-	9,3	17,9	14,8	63,6	14,4
Carboidratos	% *	48	-	-	35,5	34,7
Lipídios	% *	23	-	-	24,1	26,7
Proteínas	% *	23	-	-	14,4	29,6
Na	% *	1,3	2,8	-	-	-
K	% *	0,5	2,1	0,9	-	-
Mg	% *	0,11	0,17	0,14	-	-
Ca	% *	0,27	0,4	2,16	-	-
Fe	ppm *	1617	106	766	-	-
Mn	ppm *	26	129	60	-	-

Zn	ppm *	224	192	76	-	-
P	% *	0,49	-	0,52	-	-
S	ppm *	3842	-	2508	-	-
Al	ppm *	-	-	1202	-	-
B	ppm *	57	-	12	-	-

*em relação à massa seca; - Análise não realizada

Pode-se verificar na Tabela 27 que os valores de pH das amostras de resíduo alimentar, tanto deste trabalho como da literatura, apresentam características ácidas, situando-se na faixa de 4 a 5 aproximadamente. A concentração de ST demonstrou maior variação entre os resultados comparados, variando entre 9 e 32% de massa seca. Este parâmetro está relacionado principalmente ao modo de descarte dos resíduos alimentares, visto que no caso deste trabalho, o teor de ST foi mais baixo devido ao jateamento de água que é realizado nas bandejas para remoção do resíduo.

A relação C:N também é importante para o crescimento dos microrganismos e varia de acordo com o tipo de resíduo. O valor médio de C:N obtido neste trabalho para o RRU resultou em 9,3, valor abaixo dos obtidos pelos outros autores (ZHANG; SU; THAN, 2013; ZHANG et al., 2007; HE et al., 2012; BROWNE; MURPHY, 2014). Provavelmente, devido ao elevado teor de proteínas presente no resíduo de estudo. A relação C:N indicada como ideal para a digestão anaeróbia é entre 20 a 30 (ZHANG et al., 2014; MAO et al., 2015). Portanto, a relação C:N do RRU utilizado neste experimento, não se encontra na faixa indicada para a digestão anaeróbia.

Os valores de carboidratos, lipídios e proteínas, aproximaram-se aos obtidos por He et al. (2012) e Browne e Murphy (2014), sendo que houve um maior teor médio de carboidratos neste resíduo (48%), seguido de lipídios e proteínas com 23% cada. Os carboidratos possuem menor potencial de geração de metano em comparação com lipídios e proteínas. Além disso, são fácil e rapidamente convertidos por meio da hidrólise, a açúcares simples e conseqüente formação de AGV (MATA-ALVAREZ, 2003; DEUBLEIN E STEINHAUSER, 2008).

Um dos compostos presentes no resíduo alimentar que pode afetar o desempenho da digestão anaeróbia, é o sódio. A literatura indica que elevadas concentrações deste composto (acima de 3,5 g L⁻¹) podem inibir o desenvolvimento das arqueas metanogênicas, em especial as metanogênicas acetoclásticas. Elevadas concentrações de sal podem ocasionar drástico aumento na pressão osmótica e conseqüente morte celular (PARKIN; OWEN, 1986; GAGLIANO et al., 2017).

Considerando o teor de sólidos do RRU, a concentração de sódio foi de aproximadamente $1,2 \text{ g L}^{-1}$, situando-se abaixo do valor considerado inibitório.

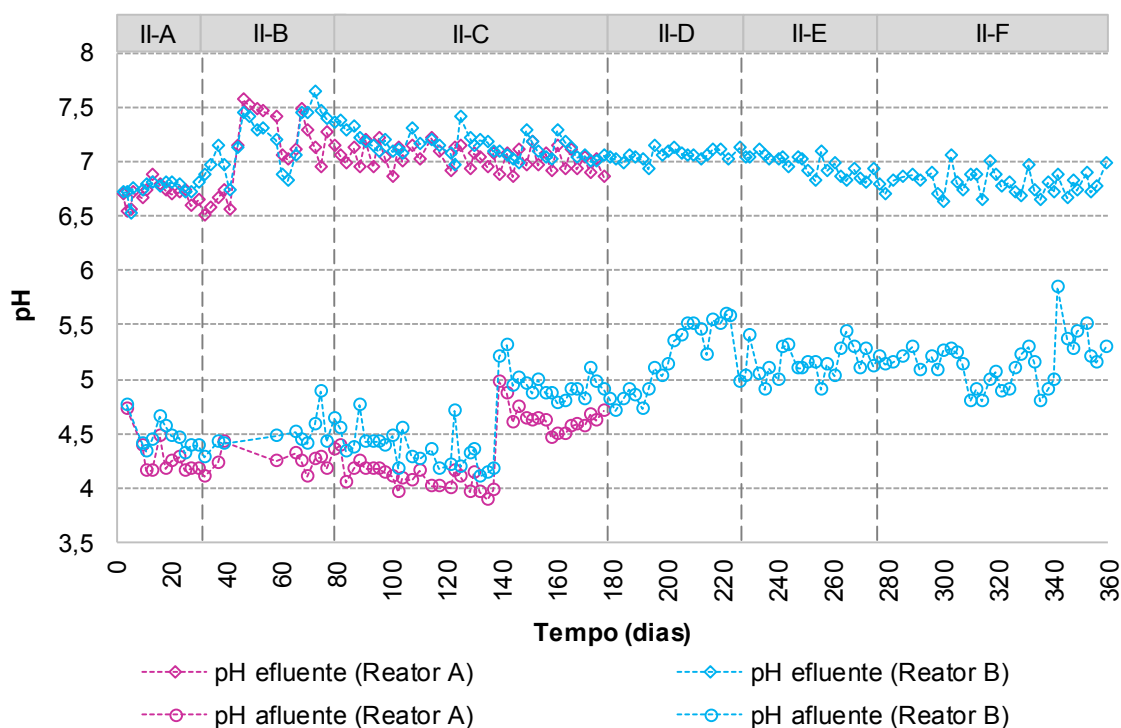
A concentração de macro e micronutrientes presentes no RRU, em geral, esteve próxima aos valores obtidos por Zhang, Su e Than (2013) e Zhang et al. (2007). Pode-se destacar que os valores de cálcio (Ca) e manganês (Mn) ficaram abaixo e os teores de ferro (Fe), enxofre (S) e boro (B) foram superiores aos obtidos por estes autores. A análise do macronutriente fósforo (P) foi realizada apenas por Zhang et al. (2007) e o valor (0,52%) situou-se próximo ao obtido no presente trabalho (0,49%).

Zhang et al. (2007) analisaram a composição de diferentes coletas de resíduo alimentar e a análise dos nutrientes presentes indicou que as concentrações estavam adequadas para o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios. Além disso, a concentração destes compostos não deve alterar significativamente após o processo de digestão, visto que o consumo de nutrientes pelos microrganismos é baixo.

É importante ressaltar que esta caracterização é referente ao resíduo alimentar coletado no restaurante e que foram realizadas diluições deste de acordo com a carga orgânica desejada. Portanto, conseqüentemente, o afluente apresentou valores menores que os apresentados na Tabela 27 e valores diferenciados ainda, quando adicionado o RPG.

5.2.2 Parâmetros de Controle

Na Figura 17 são apresentados os resultados de pH obtidos durante o monitoramento dos reatores em escala piloto.



Com base nos resultados obtidos de pH apresentados na Figura 17, nota-se que devido às características do RRU, o afluente apresentou valores baixos em todas as fases experimentais. O pH afluente variou de 3,9 a 5 para o Reator A e de 4,1 a 5,8 para o Reator B durante o experimento. Esta variação está relacionada às características do RRU proveniente de diferentes coletas, nas quais os cardápios diferenciados interferiram. Observa-se, por exemplo, que aos 138 dias de operação houve um aumento nos valores de pH afluente, devido à utilização de uma nova amostra de RRU. Além disso, a quantidade de RRU utilizada, de acordo com a COV, também influenciou nos valores de pH afluente.

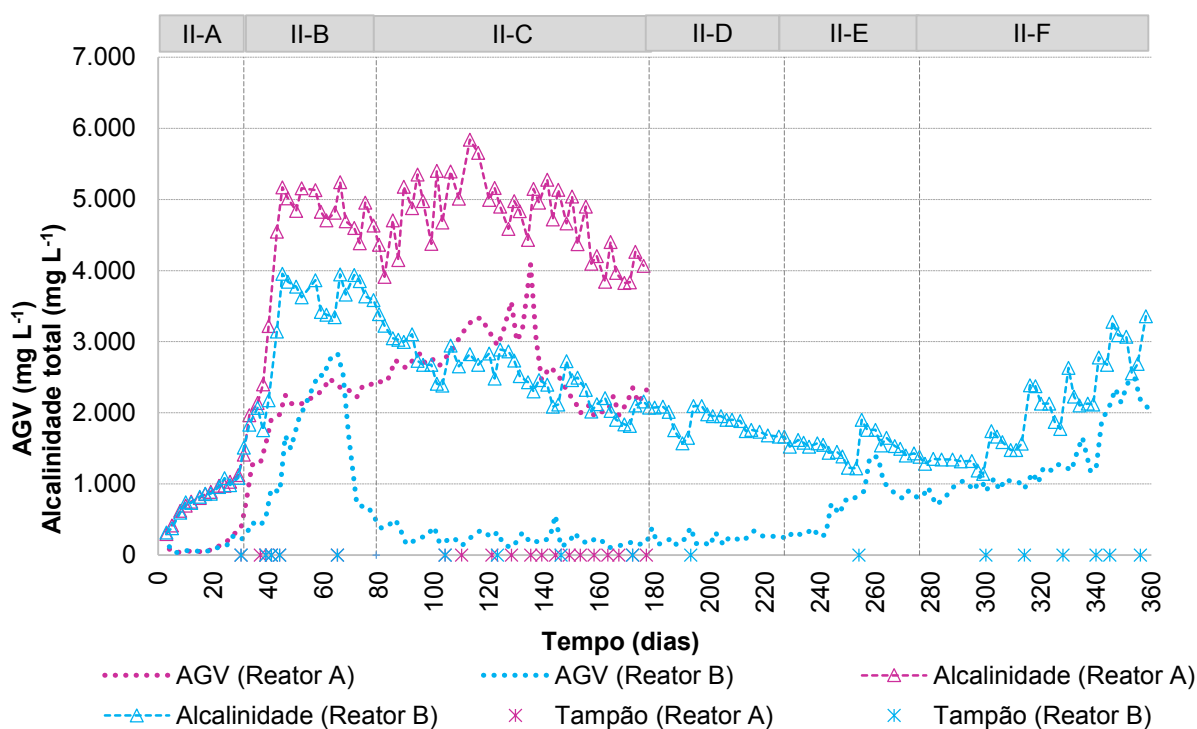
Em relação aos valores de pH dos efluentes dos reatores, inicialmente (fase II-A) situaram-se entre 6,5 a 6,9. Contudo, após esta fase, iniciou-se a adição do tampão e com isso ocorreu um aumento nos valores de pH dos efluentes. Alguns dias após a adição do tampão, notava-se uma rápida diminuição dos valores de pH, fato relacionado ao consumo de alcalinidade. Assim, foi verificada a necessidade de adição de tampão durante todo o experimento e com isso foi possível obter valores de

pH entre 6,5 e 7,6, dentro da faixa indicada pela literatura como aceitável para a digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2016).

Malinowsky (2016) também destaca que o parâmetro pH está entre as principais dificuldades do tratamento anaeróbio de resíduos alimentares. Devido ao elevado teor de matéria orgânica, há a formação de grande quantidade de ácidos orgânicos voláteis, que podem se acumular no reator caso não forem consumidos na proporção em que são produzidos, e assim agir diretamente no poder tamponante do meio, ocorrendo a queda do pH.

Na Figura 18 são apresentados os valores de alcalinidade e AGV durante o monitoramento dos reatores em escala piloto, além dos dias em que foi realizada a adição do agente tamponante carbonato de sódio.

Figura 18 – Valores de AGV e alcalinidade durante o monitoramento dos reatores em escala piloto



Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até 0,63 kgSTV m⁻³d⁻¹;

- Fase II-B: Desequilíbrio ;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: 0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ respectivamente.

Verifica-se o aumento gradativo tanto da alcalinidade total como dos AGV durante as fases II-A e II-B. O aumento da alcalinidade está relacionado à diferentes fatores. Primeiramente, porque na digestão anaeróbia ocorre o processo de

amonificação (transformação do nitrogênio orgânico em amoniacal) e para cada 1 mg de N-orgânico amonificado são gerados $3,57 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (METCALF; EDDY, 2016). A adição de carbonato de sódio a partir do 29º dia de operação também influenciou no aumento da alcalinidade.

Além disso, na etapa de acidificação da digestão anaeróbia, parte da alcalinidade de bicarbonato é convertida em alcalinidade devido aos ácidos orgânicos, chamada de alcalinidade parcial – AP e sua quantificação pode ser feita pela titulação na faixa de pH de 4,3 a 5,75. Esta alcalinidade representa pouca importância para o tamponamento do sistema e pode superestimar a quantificação da alcalinidade total. Por esta razão, torna-se importante a análise da alcalinidade intermediária - AI, que é decorrente da presença de bicarbonatos (MCCARTY, 1964; RIPLEY et al., 1986; CHERNICHARO, 2016).

Neste contexto, alguns autores sugerem o monitoramento da relação AI/AP para verificar a estabilidade do processo. Elevados valores de AI/AP sugerem maior concentração de AGV em relação à alcalinidade a bicarbonato, podendo ser uma previsão de um desequilíbrio. A literatura reporta que a relação AI/AP deve ser de até 0,3 (RIPLEY et al., 1986; CHERNICHARO 2016).

Observa-se na Figura 18 que na fase II-C os valores de alcalinidade total - AT situaram-se entre 3.914 e 5.842 mg L^{-1} para o Reator A e de 1.818 a 3.390 mg L^{-1} para o Reator B, valores próximos aos obtidos por Malinowsky (2016) de 1.000 a 3.800 mg L^{-1} . Após manutenção da COV em $0,24 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, os valores de AT e AGV do Reator B decresceram, provavelmente devido à recuperação do processo e consumo dos ácidos orgânicos.

Magalhães (2018), em seu estudo sobre a digestão anaeróbia de resíduos alimentares provenientes de um restaurante universitário, em um reator com volume de 1.300 L , TDH de 30 dias e temperatura ambiente, também enfrentou problemas com acidificação do meio e necessidade da correção do pH com bicarbonato de sódio. Foi adicionada uma quantidade inicial de 20 kg de tampão e $0,5 \text{ kg d}^{-1}$ nas alimentações subsequentes. A autora destaca que a queda do pH influencia no aumento da concentração de CO_2 no biogás e inibição das metanogênicas.

A adição de tampão auxilia no fornecimento de alcalinidade para o meio, evitando a acidificação. Contudo, aumenta o custo do processo pela necessidade de uso de produto químico. Outra alternativa utilizada por alguns autores, é a recirculação

do efluente, visto que este contém alcalinidade formada no processo e pode auxiliar até mesmo na diluição do resíduo, substituindo a água (ZAMANZADEH et al., 2016).

Li et al. (2014) destacam que a combinação de alguns parâmetros de monitoramento pode refletir o desempenho do sistema anaeróbio e auxiliar como um alerta para a tomada de medidas de precaução e evitar a falha do processo. Entre estes parâmetros, os autores verificaram que a combinação no monitoramento de AGV, relação AGV/AT e a relação entre a alcalinidade de bicarbonatos com a alcalinidade total auxiliaram na verificação da situação de equilíbrio do processo.

Em relação ao parâmetro AGV, nota-se que este chegou a níveis elevados em ambos reatores aos 60 dias de monitoramento. Visando reestabelecer o equilíbrio do processo, ao início da fase II-C a COV de alimentação dos reatores foi reduzida para $0,24 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$. Com isso, a concentração caiu drasticamente no reator B e continuou aumentando no Reator A. A análise deste parâmetro demonstra que mesmo com baixa COV aplicada, o reator A não respondeu positivamente às medidas corretivas adotadas. Neste reator, a concentração de AGV atingiu um valor máximo de 4.083 mg L^{-1} , acima da faixa indicada pela literatura, de até 2.000 mg L^{-1} (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

Assim, verificou-se que as condições do Reator A podem ter ocasionado um forte desequilíbrio na comunidade microbiana. As arqueas metanogênicas são responsáveis pelo consumo dos AGV, e ao mesmo tempo, são sensíveis a elevadas concentrações destes compostos. Quando não ocorre uma relação de equilíbrio entre acidogênicas e metanogênicas, há o acúmulo de AGV no sistema e, conseqüentemente, ocorre a inibição das metanogênicas, desestabilização do processo e redução na produção de biogás (ZHANG et al., 2007; CHERNICHARO 2016).

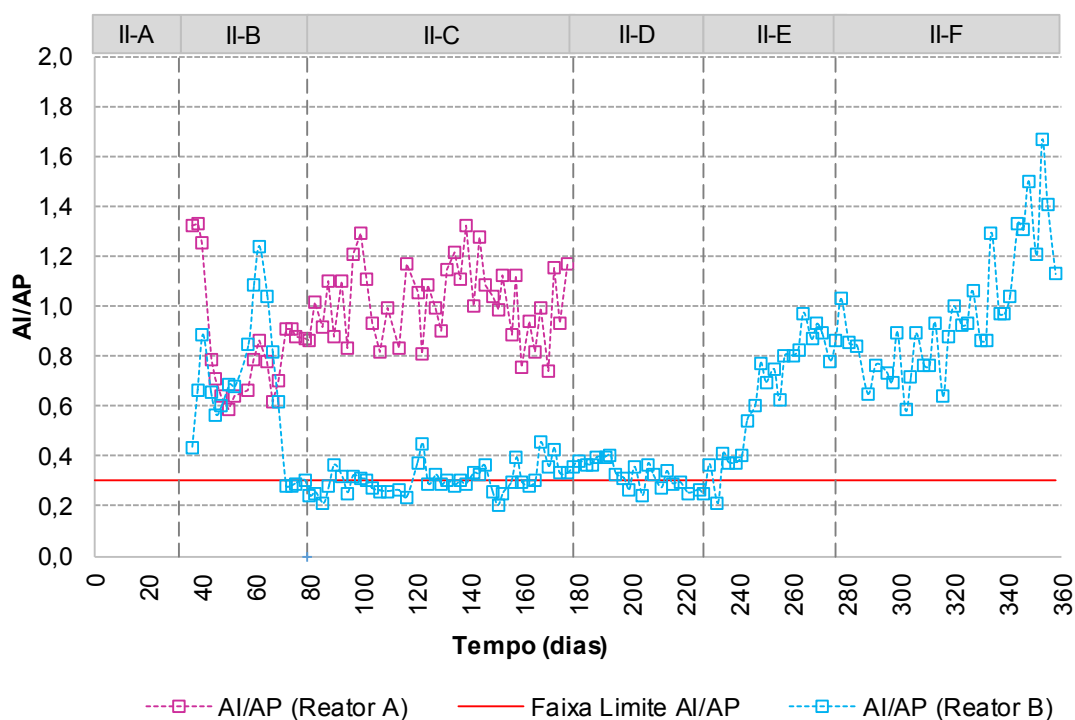
Dessa forma, devido ao grande desequilíbrio no reator A, e não havendo melhorias com as medidas adotadas, optou-se por desativá-lo e prosseguiu-se com o monitoramento do Reator B durante as fases seguintes. Após aumento da COV para $0,34 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$ na fase II-D para o Reator B, os valores de AGV continuaram constantes e a alcalinidade continuou decrescendo, logo, provavelmente ocorreu um consumo gradual da alcalinidade a bicarbonatos, fato indicado também pela relação AI/AP que aumentou gradualmente (Figura 19). Quando a COV foi alterada para $0,44 \text{ kgSTV m}^3\text{d}^{-1}$ (Fase II-E) ocorreu um aumento da concentração de AGV, que se intensificou ainda mais com o aumento da COV para $0,54 \text{ kg STV m}^3\text{d}^{-1}$ (Fase II-F).

Ganesh et al. (2013) também constataram elevadas concentrações de AGV no reator alimentado com alta carga na co-digestão de resíduos orgânicos. Os resíduos utilizados foram grama, dejetos bovinos, frutas e vegetais, nas proporções de 52, 38 e 12% em relação à COV aplicada. Os reatores utilizados possuíam um volume de 15 litros e foram operados a uma temperatura de 35°C. Os valores de AGV obtidos foram de 7.500 mg L⁻¹ com COV de 5 kgSTV m³d⁻¹ e de 7.000 mg L⁻¹ com COV de 7,5 kgSTV m³d⁻¹.

Observa-se que estes autores utilizaram baixa proporção de frutas e vegetais em relação aos outros resíduos. Mesmo atingindo elevadas concentrações de AGV, foi possível chegar a uma COV mais elevada em comparação com o presente trabalho. Além disso, a co-digestão com dejetos bovinos demonstra benefícios devido à alcalinidade proporcionada por este resíduo.

Na Figura 19 são apresentados os valores da relação AI/AP durante o monitoramento dos reatores.

Figura 19 - Valores de AI/AP durante o monitoramento dos reatores em escala piloto



Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até 0,63 kgSTV m³d⁻¹;

- Fase II-B: Desequilíbrio ;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: 0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m³d⁻¹ respectivamente.

Como pode-se observar na Figura 19, houve grande dificuldade na manutenção da relação AI/AP abaixo do valor máximo de 0,3 indicado pela literatura (RIPLEY et al., 1986; CHERNICHARO 2016). Estes elevados valores de AI/AP estão relacionados a baixa alcalinidade do substrato e elevada formação de AGV durante o processo. Os resultados desta relação foram obtidos a partir da fase II-B, e para o Reator A estiveram durante todo o monitoramento acima de 0,3, demonstrando a sua instabilidade.

Para o Reator B, houve um aumento dos valores de AI/AP na fase de desequilíbrio (II-B) e posteriormente, uma rápida redução à valores abaixo do limite indicado. Este equilíbrio permaneceu até o final da COV de 0,34 kgSTV m³d⁻¹ (Fase II-D), e então um novo aumento ocorreu até o final do experimento. Nota-se a partir dos dados de AI/AP e AGV, que surgiu um processo de desequilíbrio no Reator B na fase II-E, chegando a valores próximos a 1,7 na fase II-F, acima dos obtidos no Reator A. Dessa forma, realizou-se a desativação do Reator B, visto que um novo aumento da COV implicaria em prejuízos ao processo e à qualidade do biogás.

O monitoramento dos parâmetros pH, AGV, alcalinidade e AI/AP, demonstrou que a co-digestão de RRU com RPG proporcionou benefícios em relação à estabilidade do processo. Na fase II-C nota-se que o Reator B recuperou sua estabilidade, enquanto que o Reator A não respondeu positivamente. Este fato pode estar relacionado à substituição de 20% da COV pelo RPG no Reator B, um substrato com característica muito distinta. Com isso, os problemas de acidificação foram retardados, contudo aconteceram em uma COV maior e consequente maior volume de RRU adicionado (Fase II-F).

Na Tabela 28 são apresentados os valores médios obtidos dos parâmetros de controle durante o monitoramento dos reatores em escala piloto, nas diferentes Fases desta etapa experimental.

Tabela 28 – Valores médios dos parâmetros de controle em cada fase experimental

Reator A				
Fase	pH		Alcalinidade (mg L⁻¹) Efluente	AGV (mg L⁻¹) Efluente
	Afluente	Efluente		
II-A	4,3	6,7	786	128
II-B	4,3	7,1	4.193	2.047
II-C	4,3	7,0	4.712	2.648
Reator B				
Fase	pH		Alcalinidade (mg L⁻¹) Efluente	AGV (mg L⁻¹) Efluente
	Afluente	Efluente		
II-A	4,5	6,7	785	109
II-B	4,5	7,2	3.216	1.406

II-C	4,6	7,1	2.527	234
II-D	5,2	7,1	1.879	236
II-E	5,1	7,0	1.534	700
II-F	5,2	6,8	2.017	1.346

Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até 0,63 kgSTV m⁻³d⁻¹;

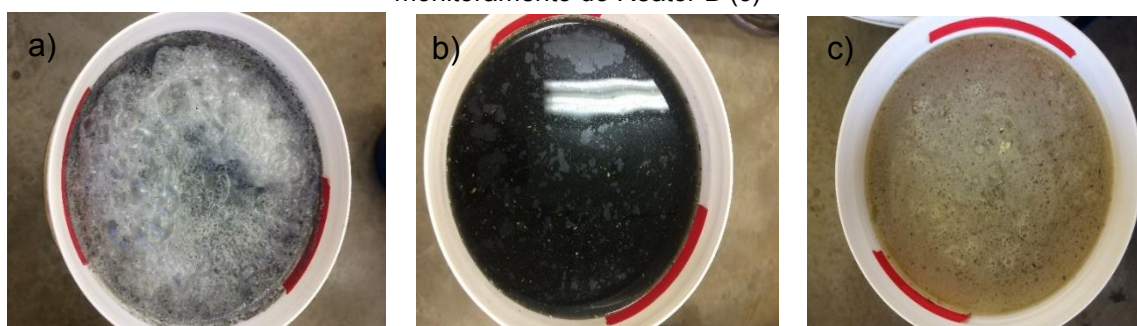
- Fase II-B: Desequilíbrio;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: 0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ respectivamente.

Tendo em vista os dados de pH, alcalinidade, AGV e AI/AP apresentados, destaca-se a dificuldade obtida na manutenção do equilíbrio no processo de digestão anaeróbia do resíduo alimentar nas condições estudadas. Devido às características do RRU, como elevada quantidade de matéria orgânica facilmente degradável, a digestão anaeróbia de resíduos alimentares demonstrou ser sensível.

Nos mesmos períodos em que foi observada a instabilidade nos parâmetros de controle, foi observada a formação de uma camada de espuma gordurosa no sobrenadante dos Reatores. Esta ocorrência foi observada em maior intensidade na fase II-C para o Reator A, e na fase II-F para o Reator B, como demonstrado na Figura 20. No Reator B, notou-se que a formação desta camada de espuma ocasionou um acúmulo de material em suspensão, principalmente RPG no sobrenadante.

Figura 20 – Aspecto dos efluentes dos Reatores A e B aos 134 dias (a e b) e aos 302 dias de monitoramento do Reator B (c)



Na fase II-F, quando foi observada a formação desta camada de espuma no interior do Reator B, utilizou-se o produto comercial antiespumante Greenfoam W-50 (Greentex) para o controle, visto os problemas operacionais causados. Foi aplicado um volume de choque de 10 mL e a partir deste dia, era adicionado 1 mL da solução juntamente com o afluente, em cada alimentação. Este procedimento resultou em satisfatória diminuição da camada de espuma formada.

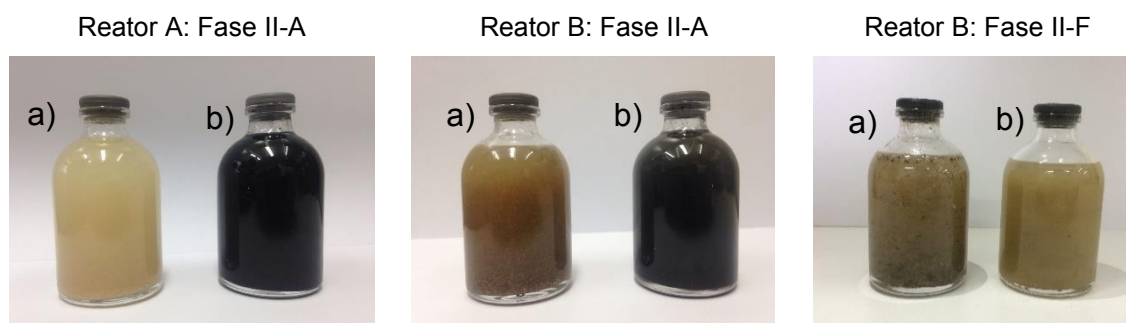
Schmeier (2017) também obteve problemas com a formação de espuma, em seu experimento em escala piloto na digestão anaeróbia de resíduos alimentares. A autora utilizou COV de 3 a 9,64 kgSTV m⁻³d⁻¹ em um digester com volume útil de 196 L, agitação programada de 27 RPM (0,5h a cada 1,5h) e temperatura entre 35 e 40°C. A sobrecarga orgânica, relação C:N abaixo do valor ideal e relação AGV/AT acima do valor indicado pela literatura, foram citados como possíveis fatores que provavelmente causaram o desequilíbrio e ocasionaram a formação de espuma.

Malinowsky (2016) também observou a formação de uma camada sobrenadante composta principalmente por resíduos de jardinagem. Contudo a autora cita apenas problemas de configuração do reator como precursores desta formação. Assim como a autora, no presente trabalho também foi observada a dificuldade de eliminar esta camada formada, devido às posições das pás agitadoras.

Segundo He et al. (2017) as principais causas para a formação de espuma na digestão anaeróbia de resíduos alimentares são elevadas concentrações de AGV, visto que estes possuem estruturas carboxílicas com propriedades surfactantes. Elevadas concentrações de AGV podem ser decorrentes da toxicidade causada por nitrogênio amoniacal e por COV elevada. Além disso, a formação de espuma pode ocorrer pela presença de microrganismos produtores de compostos biossurfactantes.

Além da formação de espuma durante o experimento, notou-se a alteração do aspecto visual dos efluentes. Como pode-se observar na Figura 21, ao início do experimento, os efluentes eram escuros, devido à cor do inóculo, e com o decorrer do monitoramento, o efluente passou a ter coloração clara. Este fato está relacionado à perda do inóculo introduzido, em função do modo de mistura completa.

Figura 21 - Aspecto das amostras em diferentes fases do experimento em escala piloto

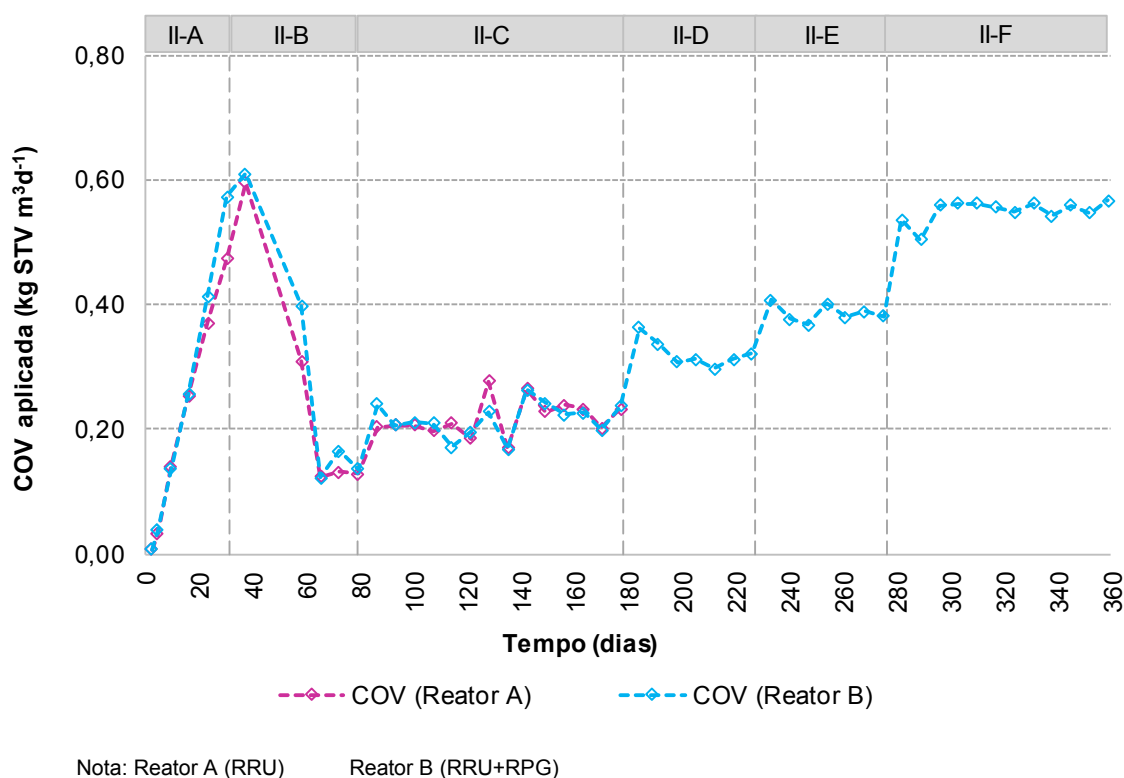


Obs.: a: Afluente
b: Efluente

5.2.3 Parâmetros de Desempenho

Com base nos resultados obtidos no ensaio de BMP, objetivou-se no experimento em escala piloto, atingir um teor de sólidos de aproximadamente 5% no reator. Assim, iniciou-se a alimentação com uma COV de $0,01 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ e a cada alimentação foi planejado um incremento de $0,05 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, até atingir uma COV de $1,26 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ (2 meses após a partida do reator). No entanto, após a ocorrência do desequilíbrio no processo, o planejamento experimental foi alterado, e a carga reduzida, conforme apresentado na Figura 22.

Figura 22 – Relação da COV aplicada durante o monitoramento dos reatores

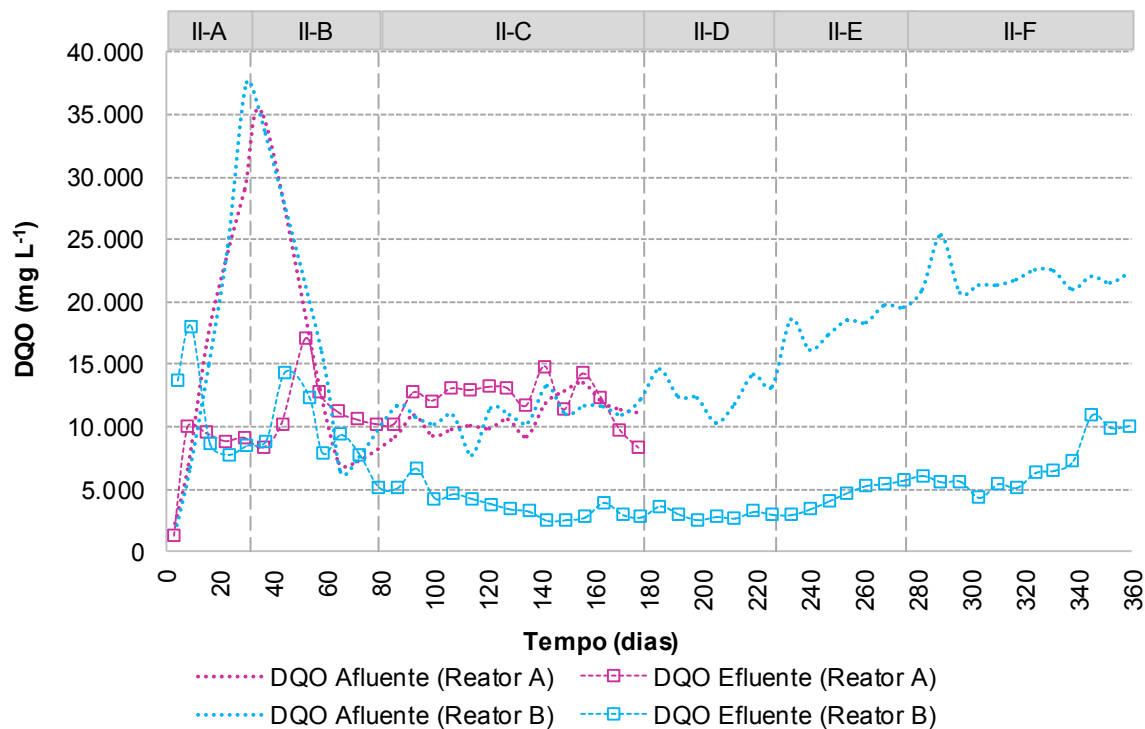


De acordo com os dados apresentados na Figura 22, nota-se a aproximação da carga orgânica aplicada nos 2 reatores e que os valores se aproximaram da COV prevista. Na fase II-A a COV foi de até $0,6 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, e na fase subsequente foi realizada a diminuição até $0,14 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, devido à instabilidade dos reatores. Na fase II-C a COV foi mantida em $0,24 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ e então prosseguiu-se com o aumento apenas para o Reator B nas demais fases.

De modo a avaliar o desempenho do processo de digestão anaeróbia, foi analisada a eficiência na remoção de matéria orgânica com base nos parâmetros de

desempenho. Na Figura 23 são apresentados os resultados de DQO e na Figura 24 são apresentados os resultados de STV obtidos no monitoramento dos afluentes e efluentes.

Figura 23 - Valores de DQO obtidos durante o monitoramento dos reatores

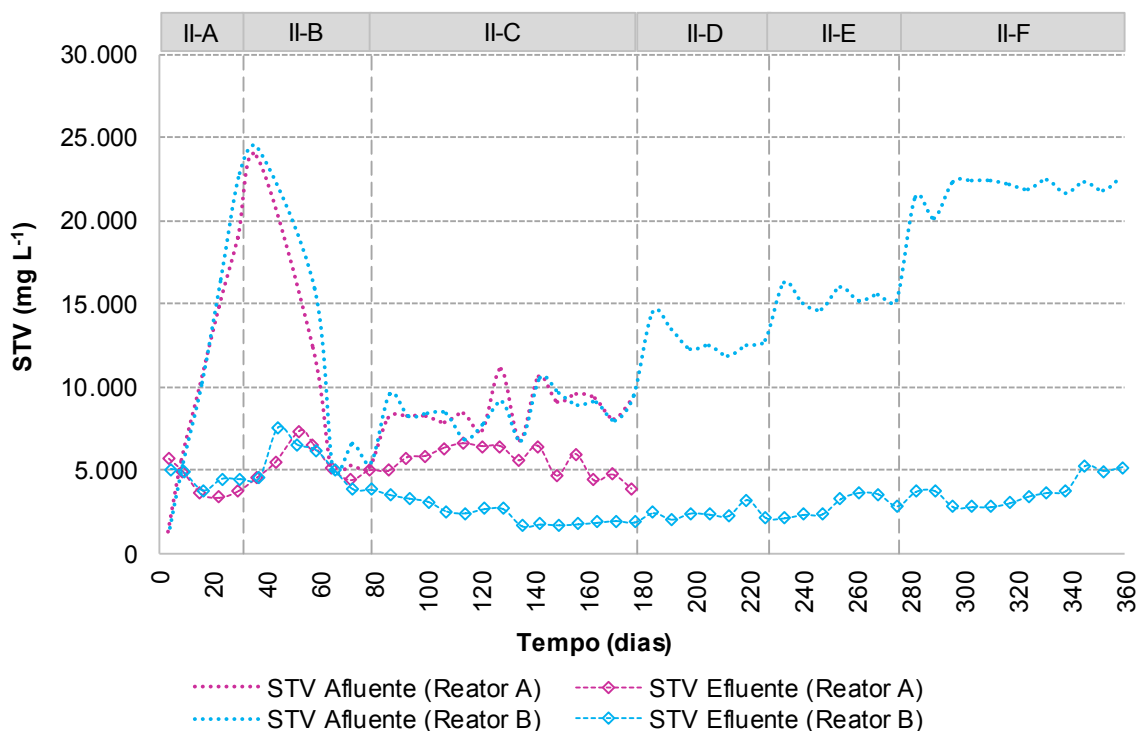


Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até $0,63 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$;

- Fase II-B: Desequilíbrio;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: $0,24$; $0,34$; $0,44$ e $0,54 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ respectivamente.

Figura 24 - Valores de STV obtidos durante o monitoramento dos reatores

Como na fase II-A a COV havia uma grande quantidade de microrganismos provenientes do inóculo, obteve-se bons resultados de remoção de matéria orgânica na operação dos reatores. Contudo, devido ao aumento da carga e conseqüente elevada formação de AGV, no período de desequilíbrio (fase II-B) houve um rápido aumento dos valores de DQO e STV no efluente, entre os 40 e 60 dias de monitoramento.

Após diminuição da COV na fase II-C, percebe-se que no Reator B os valores de DQO do efluente diminuíram, demonstrando que o processo retomou sua eficiência. Já o Reator A não apresentou melhoria, fato que indica que houve um grande desequilíbrio nas fases da digestão anaeróbia, ocasionando perda de eficiência de remoção de matéria orgânica no processo. Com isso, na Fase II-C, a DQO chegou a resultar em maiores valores no efluente em comparação com o afluente, demonstrando que houve acúmulo de matéria orgânica das fases anteriores.

O Reator B permaneceu apresentando eficiência nas fases II-D e II-E, mesmo com o aumento da COV. No entanto, ao final da fase II-F, mesmo com COV fixa em $0,54 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ há mais de 50 dias, houve um aumento na DQO do efluente, indicando que o processo estava sendo afetado.

No processo de digestão anaeróbia os microrganismos convertem a matéria orgânica em biogás, biomassa e sólidos fixos. Como a análise de STV representa a

quantidade de matéria orgânica presente, o monitoramento da eficiência de remoção deste parâmetro é de suma importância (CHERNICHARO, 2016). Com a digestão anaeróbia espera-se que a matéria orgânica seja parcialmente mineralizada, e com isso ocorre uma diminuição dos valores de ST e STV e aumento dos STF (METCALF; EDDY, 2016).

Os resultados de STV demonstraram o mesmo comportamento que a DQO, visto que ambos estão relacionados à concentração de matéria orgânica. O fato de ter ocorrido uma queda na remoção de STV no Reator A na fase II-C, indica que não estava ocorrendo o processo da digestão de maneira satisfatória, provavelmente devido às condições adversas do meio aos microrganismos (elevadas concentrações de AGV), podendo ter ocasionado uma perda irreversível da comunidade microbiana e consequente perda de eficiência de remoção da matéria orgânica.

Malinowsky (2016) também obteve problemas de estabilidade no processo, com a ocorrência de um aumento da concentração de STV no efluente e acúmulo de material orgânico no reator. O reator em escala piloto foi operado com COV de 1, 2 e 4 kgSTV m⁻³d⁻¹.

Na Tabela 29 são apresentados os valores médios dos parâmetros de desempenho, segundo cada fase desta etapa experimental. De acordo com os resultados expostos, para o Reator A, houve melhor desempenho nas 2 primeiras fases, contudo, nestas a COV não foi constante. Na fase II-C, com COV mantida em 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ houve remoção média de 36% de STV e não houve eficiência na remoção de DQO e ST.

- Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)
- Fase II-A: Partida e aumento da COV até 0,63 kgSTV m³d⁻¹;
 - Fase II-B: Desequilíbrio;
 - Fases II-C, II-D, II-E e II-F: 0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m³d⁻¹ respectivamente.

Por sua vez, o Reator B referente ao co-tratamento de RRU e RPG, apresentou de modo geral, melhor desempenho em relação a todos os parâmetros nas diferentes fases. Na fase II-C, houve remoção de 73% de STV e produção de efluente com 2.350 mg L⁻¹ de STV, e a maior eficiência obtida foi na COV de 0,54 com 83% de remoção, resultando em um efluente com 3.761 mg L⁻¹ de STV em média.

Tabela 29 - Valores médios do monitoramento dos parâmetros de desempenho em cada fase experimental

Reator A									
Fase	DQO (mg L ⁻¹)			ST (mg L ⁻¹)			STV (mg L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente	% Rem.	Afluente	Efluente	% Rem.	Afluente	Efluente	% Rem.
II-A	15752	7737	51	11125	7342	34	10161	4272	58
II-B	15576	11484	26	11234	10895	3	10309	5495	47
II-C	10873	12126	-	9513	11999	-	8717	5578	36

Reator B									
Fase	DQO (mg L ⁻¹)			ST (mg L ⁻¹)			STV (mg L ⁻¹)		
	Afluente	Efluente	% Rem	Afluente	Efluente	% Rem.	Afluente	Efluente	% Rem.
II-A	17207	11290	34	12363	7811	37	11324	4537	60
II-B	15861	9368	41	12503	9856	21	11434	5366	53
II-C	11076	3750	66	9498	5005	47	8624	2350	73
II-D	12709	2956	77	13725	5815	58	12860	2415	81
II-E	18332	4490	76	16856	4667	72	15441	2883	81
II-F	21951	6896	69	23904	6602	72	22025	3761	83

Magalhães (2018) obteve satisfatória eficiência na remoção de ST e STV no experimento de digestão anaeróbia de resíduo alimentar. Houve uma remoção média de 72%, com afluente apresentando 61.000 mg L⁻¹ e efluente 17.000 mg L⁻¹ de STV, com COV aplicada variando entre 0,76 e 1,74 kgSTV m⁻³d⁻¹. Gueri (2017) utilizou uma COV de 0,798 kgSTV m⁻³d⁻¹ na digestão de resíduos alimentares e obteve remoção de aproximadamente 90% de STV, porém aplicou um TDH de 163 dias, devido à não diluição do substrato e sua elevada concentração de ST.

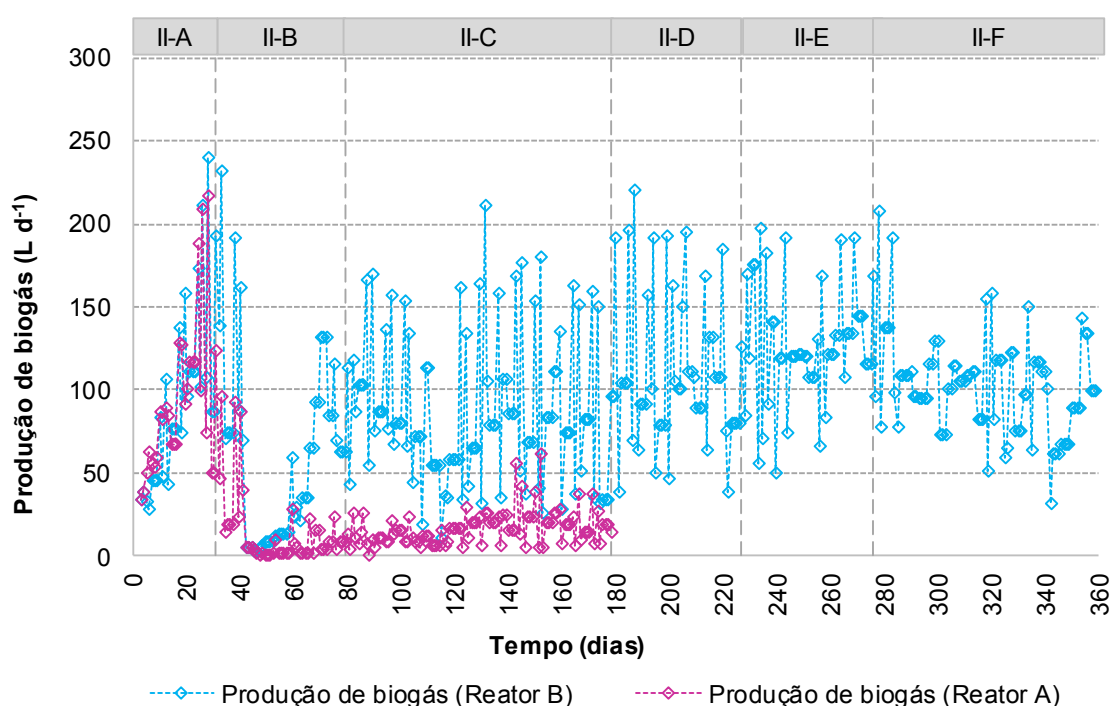
Malinowsky (2016) obteve remoção média de 37,8% de DQO e 62% de STV, com COV aplicada de 1 kgSTV m⁻³d⁻¹. A autora destaca que obteve baixa eficiência no início do experimento e sugere que este fato está relacionado à fase de adaptação

e crescimento dos microrganismos. Após continuação do experimento com aumento da COV, obteve-se remoções de até 74% com cargas orgânicas mais elevadas.

5.2.4 produção de Biogás

O desempenho da digestão anaeróbia também foi avaliado em relação à produção e qualidade do biogás. Na Figura 25 são apresentados os resultados de produção volumétrica diária de biogás, nas diferentes fases de monitoramento dos reatores.

Figura 25 – Produção volumétrica de biogás durante o monitoramento dos reatores



Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até 0,63 kgSTV m⁻³d⁻¹;

- Fase II-B: Desequilíbrio;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: 0,24; 0,34; 0,44 e 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ respectivamente.

Com o aumento inicial da COV na fase II-A e elevada concentração de inóculo, a produção volumétrica de biogás também foi crescente, para ambos os reatores. Nesta fase, a produção máxima diária foi de 217 L d⁻¹ para o Reator A e de 240 L d⁻¹ para o Reator B. Contudo, esta geração foi afetada com o desequilíbrio encontrado na fase II-B, ocorrendo uma queda drástica na produção de biogás.

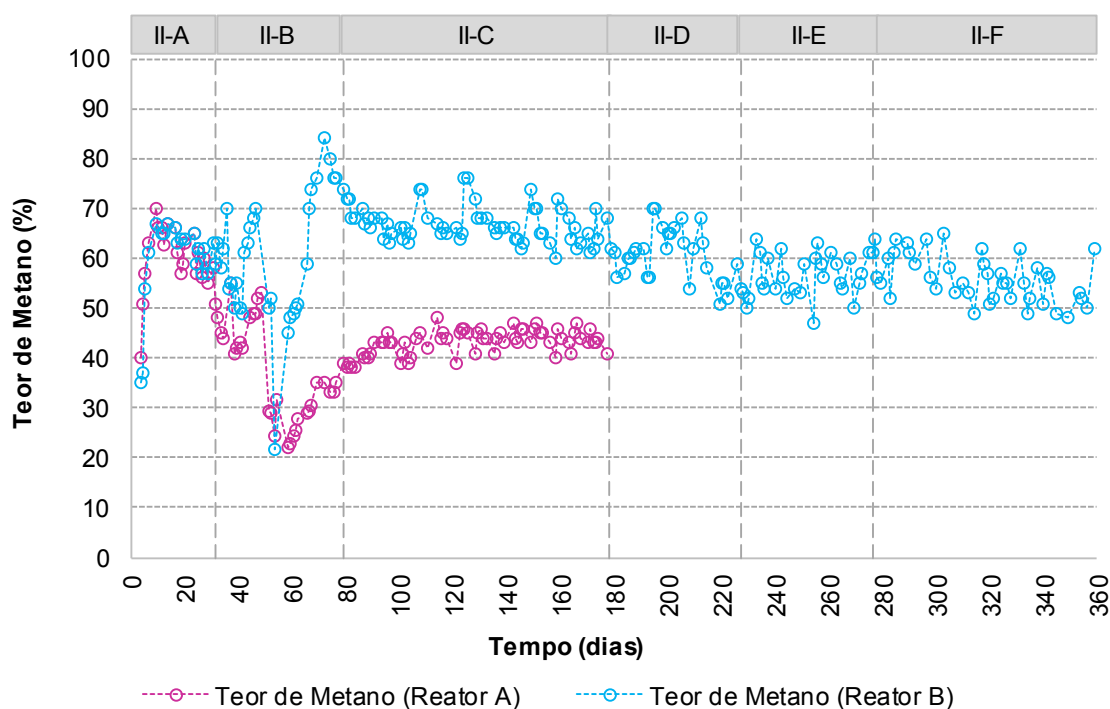
Com o retorno da alimentação com COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ na fase II-C, o Reator B respondeu positivamente às medidas adotadas e recuperou sua produção. Contudo, não foi possível obter o mesmo resultado com o Reator A, o qual continuou

com baixa produção de biogás durante toda a fase II-C. Esta baixa produção de biogás condiz com a baixa remoção de matéria orgânica e demonstra que o processo e a comunidade microbiana foram drasticamente afetados.

Durante o monitoramento da produção diária de biogás, foi possível observar a variabilidade na geração de acordo com os dias de alimentação. Observou-se que a maior produção acontecia no primeiro dia após alimentação dos reatores. Este fato está relacionado à maior disponibilidade de matéria orgânica facilmente biodegradável nos dias em que o substrato era adicionado e conseqüente maior conversão em biogás.

Na Figura 26 são apresentados os teores de metano presentes no biogás gerado durante o monitoramento dos reatores.

Figura 26 – Teor de metano presente no biogás durante o monitoramento dos reatores



Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até $0,63 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$;

- Fase II-B: Desequilíbrio;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: $0,24$; $0,34$; $0,44$ e $0,54 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ respectivamente.

Os teores de metano presentes no biogás seguiram o mesmo comportamento do desempenho dos outros parâmetros já apresentados. Na Fase II-A ocorreram os maiores teores de CH_4 para o Reator A, atingindo 70% aos 8 dias de operação.

Contudo, após o desequilíbrio ocorrido, o teor caiu drasticamente na fase II-B e atingiu valores insatisfatórios na fase II-C, abaixo de 50%.

Já o Reator B apresentou melhoria na fase II-B, atingindo o teor máximo de 84% quando a alimentação foi retomada em $0,14 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, além de bons valores durante a fase II-C. Após aumento da carga, nas fases seguintes, o teor de CH_4 seguiu uma tendência de diminuição. Este fato demonstra que o processo do Reator B também sofreu prejuízos com o aumento da COV e provavelmente houve perda de microrganismos metanogênicos devido às elevadas concentrações de AGV nas fases finais.

Na Tabela 30 são apresentados valores médios da caracterização quali e quantitativa do biogás produzido nas diferentes fases, incluindo os teores dos gases analisados, a produção diária de biogás e metano e a Produção Específica de Metano – PEM em função da massa de STV adicionada.

Tabela 30 - Valores médios de caracterização do biogás no monitoramento dos reatores

Reator A						
	CH₄ (%)	CO₂ (%)	H₂S (ppm)	Produção de biogás (L d⁻¹)	Produção de CH₄ (L d⁻¹)	PEM (L CH₄ gSTV⁻¹)
II-A	60	39	660	93	59	0,42
II-B	37	40	410	14	7	0,09
II-C	43	46	880	17	7	0,06
Reator B						
	CH₄ (%)	CO₂ (%)	H₂S (ppm)	Produção de biogás (L d⁻¹)	Produção de CH₄ (L d⁻¹)	PEM (L CH₄ gSTV⁻¹)
II-A	60	38	570	96	60	0,35
II-B	61	36	280	46	34	0,49
II-C	67	37	320	86	60	0,47
II-D	61	36	370	110	72	0,35
II-E	57	36	480	127	71	0,28
II-F	56	47	520	102	58	0,14

Nota: Reator A (RRU) Reator B (RRU+RPG)

- Fase II-A: Partida e aumento da COV até $0,63 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$;

- Fase II-B: Desequilíbrio;

- Fases II-C, II-D, II-E e II-F: $0,24$; $0,34$; $0,44$ e $0,54 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ respectivamente.

A produção média diária de biogás para o Reator A na fase II-C foi de 17 L d^{-1} , a qual correspondeu a uma produção de metano de 7 L d^{-1} e produção específica de $0,06 \text{ L CH}_4 \text{ gSTV}^{-1}$ adicionado. Nesta fase, foram obtidos teores baixos de metano, e a composição média do biogás foi de 43% de CH_4 , 46% de CO_2 e 0,088% de H_2S .

Já o Reator B, nesta mesma fase, produziu 86 L d⁻¹ de biogás, do qual 60 L d⁻¹ correspondeu ao metano e 0,47L CH₄ gSTV⁻¹ de PEM. Os correspondentes valores médios do teor dos gases analisados foi de 67% de CH₄, 37% de CO₂ e 0,032 % de H₂S.

Ganesh et al. (2013) realizaram um estudo sobre a co-digestão de grama, dejetos bovinos, frutas e vegetais nas proporções de 45, 33 e 22% respectivamente, em relação ao volume de alimentação. Em reatores com volume total de 15 L e temperatura de 35°C, a COV foi variada de 1,5 a 7,5 kgSTV m⁻³d⁻¹. O maior rendimento de metano foi com a menor COV, resultando em 0,33 LCH₄ gSTV⁻¹ e teve uma diminuição de 20% deste valor com a máxima carga. A remoção de sólidos foi afetada com o aumento da COV e os autores sugerem que esta baixa remoção foi relacionada às partículas de difícil degradação provenientes do dejetos bovinos e da grama.

Liu et al. (2009) avaliaram a produção de biogás de resíduo alimentar e resíduos verdes (partes de grama), em escala de bancada, em reatores com volume total de 1 L, operados em batelada. Sob condições mesofílicas (35°C±2) e mistura de 1:1 (com base em STV) de resíduo alimentar e grama, foi obtida uma produção de biogás 0,358 L gSTV⁻¹ com 51,7% de metano e remoção de 48,7% de STV do efluente.

O gás sulfídrico (H₂S) gera um problema operacional, devido às suas propriedades corrosivas. Com isso, espera-se que um biogás de qualidade possua baixa concentração deste gás. Nota-se na Tabela 30 que maiores concentrações de H₂S estão relacionadas à acidificação do meio, sendo que os maiores valores foram na fase II-C para o Reator A (880 ppm) e II-A para o Reator B (570 ppm).

5.2.5 Análise dos nutrientes

Na Tabela 31 são apresentados os valores médios de nitrogênio total, carbono orgânico total e a relação C:N de amostras do afluente dos reatores, a partir da fase experimental II-C.

Tabela 31 - Resultados de nitrogênio e carbono em diferentes fases do monitoramento dos reatores

Reator	Fase experimental	N-Total (%*)	COT (%*)	C:N
A	II-C	3,6	41,0	11,4
B	II-C	2,8	43,6	15,6
B	II-D	2,9	45,4	15,8

B	II-E	3,1	43,4	14,1
B	II-F	2,5	43,2	17,3

*Em relação à massa seca

Comparando-se os valores da fase II-C, a adição do RPG no reator B, aumentou a relação C:N de 11,4 (Reator A) para 15,6 (Reator B). Como o RPG possui menor concentração de nitrogênio e maior de carbono, a relação C:N é maior. Contudo a substituição de 20% da COV por este resíduo, ainda resultou em valores abaixo da faixa considerada ideal para a digestão anaeróbia, que conforme Mao et al. (2015) é de 20 a 30.

Ainda, nota-se que para o Reator B, os valores de C:N foram próximos nas diferentes fases, variando de 14,1 a 17,3. Esta variação está relacionada principalmente às diferentes coletas de RRU, que se caracterizaram por cardápios diferentes e conseqüentemente, teores de lipídios, proteínas e carboidratos distintos.

Na Tabela 32 são apresentados os valores de nitrogênio amoniacal, obtidos de amostras do efluente dos reatores, ao final das diferentes fases experimentais.

Tabela 32 – Valores de nitrogênio amoniacal nas diferentes fases do monitoramento dos reatores

Reator	Fase experimental	N-Amoniacal (mg L ⁻¹)
A	II-A	191
	II-B	309
	II-C	300
B	II-A	224
	II-B	336
	II-C	293
	II-D	275
	II-E	256
	II-F	271

Segundo Ren et al. (2018), substratos como o resíduo alimentar possuem baixa relação C:N e elevado teor de nitrogênio orgânico, ocasionando a formação excessiva de nitrogênio amoniacal durante o processo de digestão anaeróbia. O nitrogênio amoniacal é composto pela amônia livre (NH₃) e o íon amônio (NH₄⁺), que podem ser convertidos um ao outro, dependendo do pH e temperatura do meio. Elevados valores de nitrogênio amoniacal podem ocasionar efeito tóxico aos microrganismos e conseqüente inibição do processo.

Em condições com valores altos de pH e temperatura, a predominância é de amônia livre. Como neste estudo, o pH do efluente situou-se abaixo de 8, considera-

se que a maior parte do nitrogênio amoniacal se encontrava na forma ionizada (NH_4^+). Além disso, os valores de nitrogênio amoniacal obtidos nas diferentes fases, foram baixos, situando-se entre 191 e 336 mg L^{-1} , conforme apresentado na Tabela 32. Ren et al. (2018) reporta que concentrações inibitórias de amônia livre e nitrogênio amoniacal estão relacionadas ao substrato, inóculo e condições ambientais, variando de 53-1.450 mg L^{-1} e 1.500-7.000 mg L^{-1} , respectivamente.

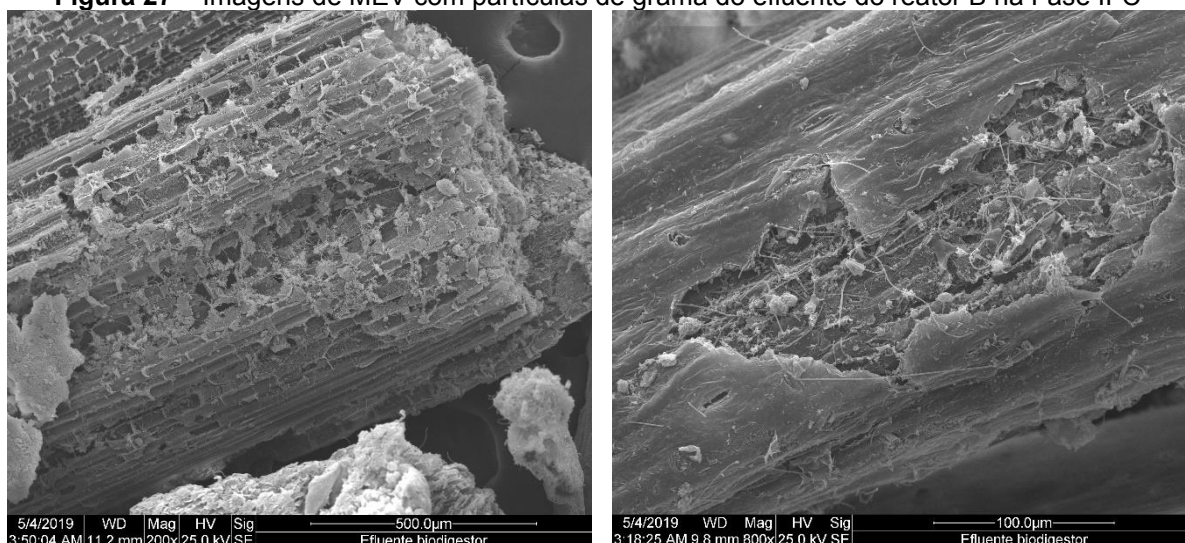
Yi et al. (2014) observaram um aumento da concentração de nitrogênio amoniacal total com o acréscimo do teor de sólidos no reator anaeróbio, tratando resíduo alimentar. Com 5% de ST, foi obtido um valor médio de 400 mg L^{-1} e com 20% de ST a concentração de nitrogênio amoniacal foi para 1.920 mg L^{-1} , valores mais elevados que os obtidos neste trabalho.

5.2.6 Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

A análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada em dois momentos do monitoramento dos reatores. Buscou-se verificar nas imagens, se havia microrganismos fortemente aderidos nas partículas de grama comparando-se as fases II-C e II-F do Reator B.

Nas Figuras 27, 28 e 29 são apresentadas imagens de MEV da amostra do Reator B coletada na fase II-C.

Figura 27 – Imagens de MEV com partículas de grama do efluente do reator B na Fase II-C



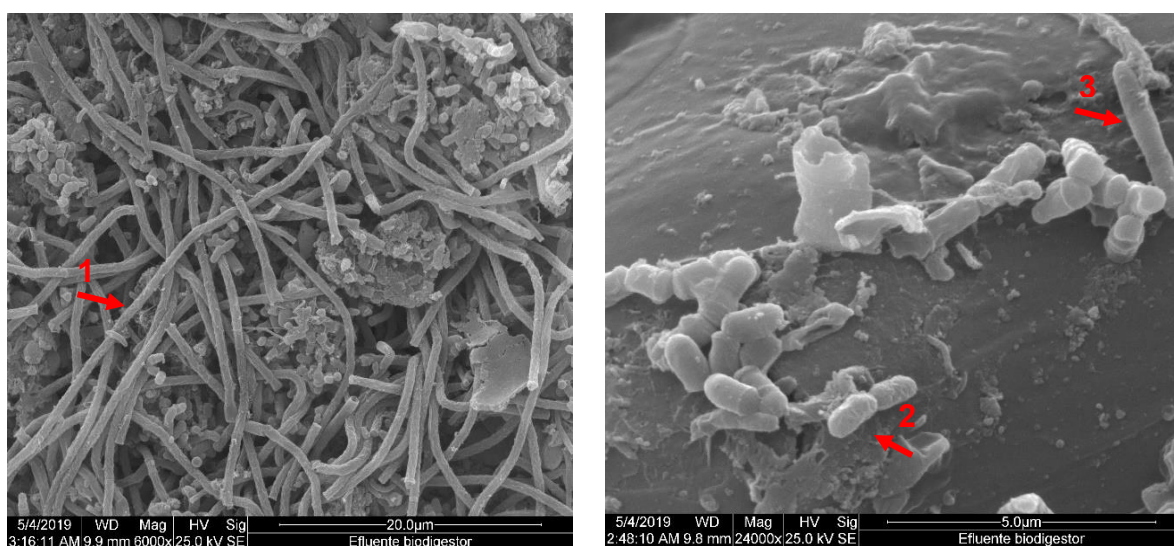
Na Figura 27 pode-se observar duas partículas de grama em estado de parcial degradação, com maior intensidade na primeira imagem. Durante a análise de MEV, foi possível observar partículas em diferentes estágios de decomposição, devido à amostra do efluente conter substrato com distintos tempos de residência no reator. Como o reator foi operado em modo semi-contínuo e mistura completa, havia a presença de substrato recentemente adicionado e também presente há mais tempo.

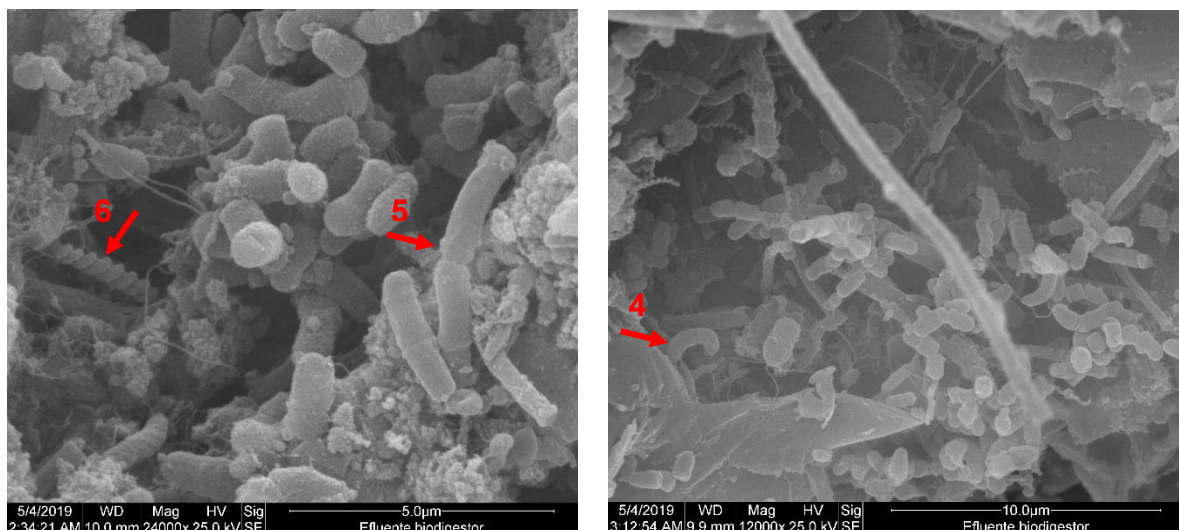
A parcial degradação demonstrada nas imagens, indica que estruturas mais fáceis de serem hidrolisadas pelos microrganismos, como a celulose e hemicelulose, foram consumidas de forma mais rápida. Já compostos como a lignina, podem ter dificultado a degradação total do RPG.

Molinuevo-Salces et al. (2012) também avaliaram a biodegradação de substrato vegetal (resíduos de ervilhas, milho, cenoura e alho-poró) no co-tratamento com dejetos suínos. Para isto, foram utilizados 2 reatores com volume total de 7 L, temperatura controlada em 37°C e operação em modo semi-contínuo. As imagens de MEV indicaram que as estruturas lignocelulósicas não foram completamente degradadas até o final do experimento.

Na Figura 28 são apresentadas imagens dos microrganismos encontrados na análise de MEV do Reator B na fase II-C.

Figura 28 – Imagens de MEV com a diversidade de microrganismos aderidos na superfície do RPG, do Reator B na Fase II-C



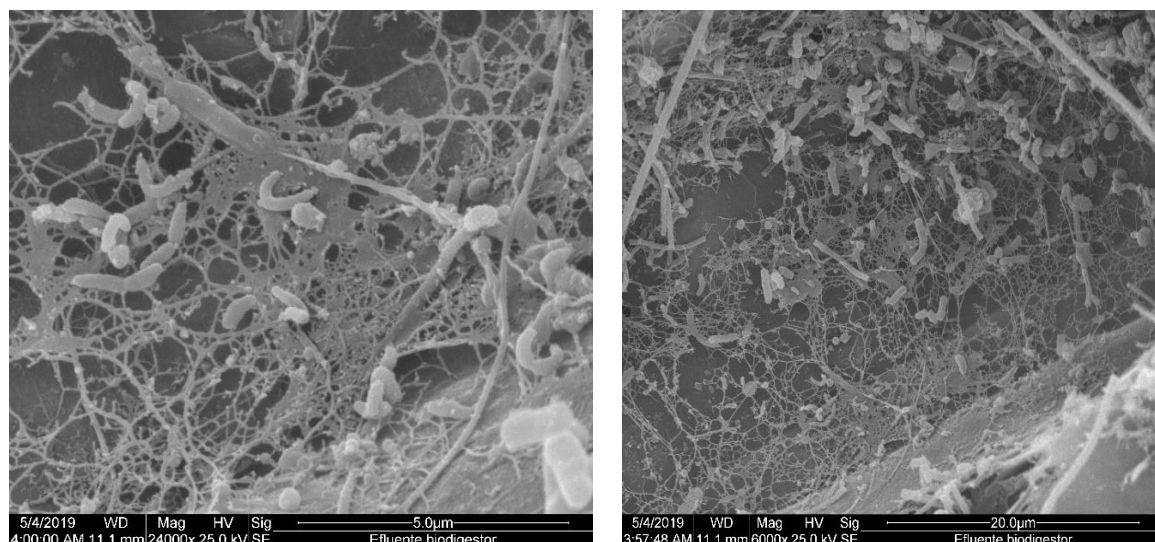


As imagens apresentadas na Figura 28 demonstram a diversidade de microrganismos encontrados na análise de MEV. Devido ao processo de preparo da amostra, com lavagens e centrifugação, considera-se que os microrganismos encontrados, estavam fortemente aderidos às partículas de RPG. Portanto, estas imagens não representam a totalidade de microrganismos presentes nas amostras. Mesmo assim, foi constatada uma grande diversidade de microrganismos, na forma de colônia e isoladamente.

Verifica-se a presença em grande quantidade de microrganismos na forma de filamentos (seta 1) com extremidades ocas. Também foi encontrada grande quantidade de bacilos curtos de extremidades arredondadas (seta 2), bacilos longos (seta 3) e bacilos curvos (seta 4). Microrganismos filamentosos em espiral também foram encontrados (seta 6).

Na Figura 29 são apresentadas imagens do biofilme encontrado em partículas de RPG.

Figura 29 – Biofilme formado dentro dos orifícios do RPG do efluente do Reator B na fase II-C



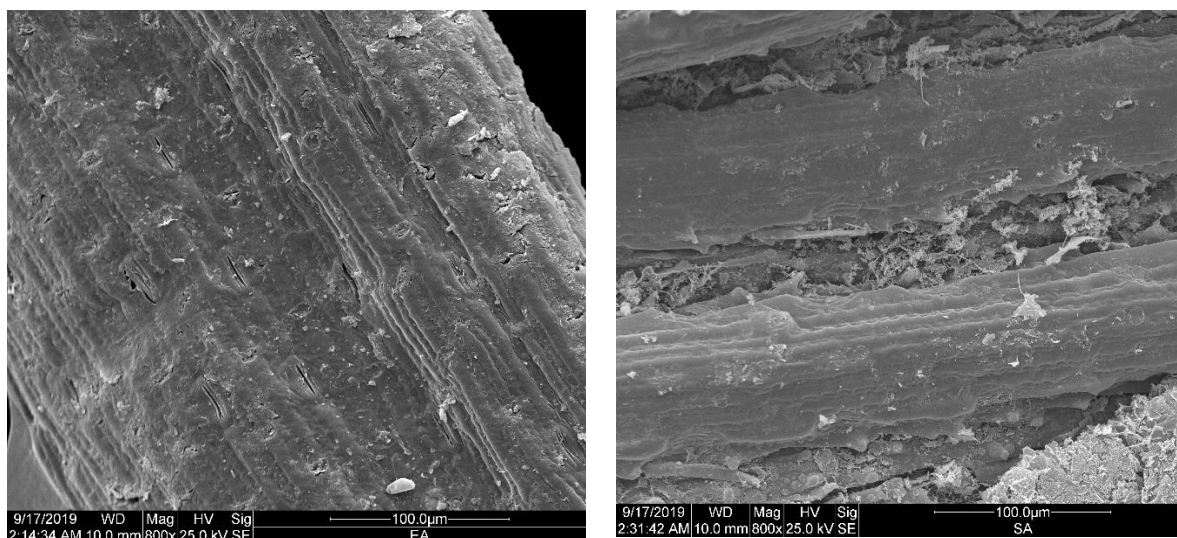
Durante a análise de MEV, verificou-se a presença de orifícios em partículas com maior estado de degradação do RPG, onde havia a formação de biofilmes com diferentes microrganismos. Este fato indica que as partículas do RPG, serviram como meio suporte aos microrganismos, os quais se fixaram de diferentes formas ao substrato.

Os biofilmes podem ser descritos como estruturas com agregados de microrganismos, matéria orgânica e inorgânica mantidos juntos por polissacarídeos extracelulares. O biofilme se caracteriza por formar um ecossistema microbiano com característica diferenciada. Entre os benefícios da formação de biofilme, pode-se citar a complementação de nichos funcionais, maior diversidade de organismos e também maior estabilidade. Dentro de um único reator, as comunidades de biofilme podem ser bem distintas da biomassa suspensa (BRIONES; RASKIN, 2003; GAGLIANO et al. 2017).

Neste contexto, a formação de biofilme nas partes mais profundas da grama, pode ter favorecido o desenvolvimento de algumas espécies, pois nestes locais há um menor impacto de alterações externas, como a agitação mecânica realizada ou alterações do meio. Este fato pode ter influenciado também no melhor desempenho do Reator B, por favorecer o desenvolvimento de alguns microrganismos.

Nas Figuras 30, 31 e 32 são apresentadas imagens de MEV da amostra coletada na fase II-F.

Figura 30 – Imagens de MEV com partículas de grama do efluente do reator B na Fase II-F

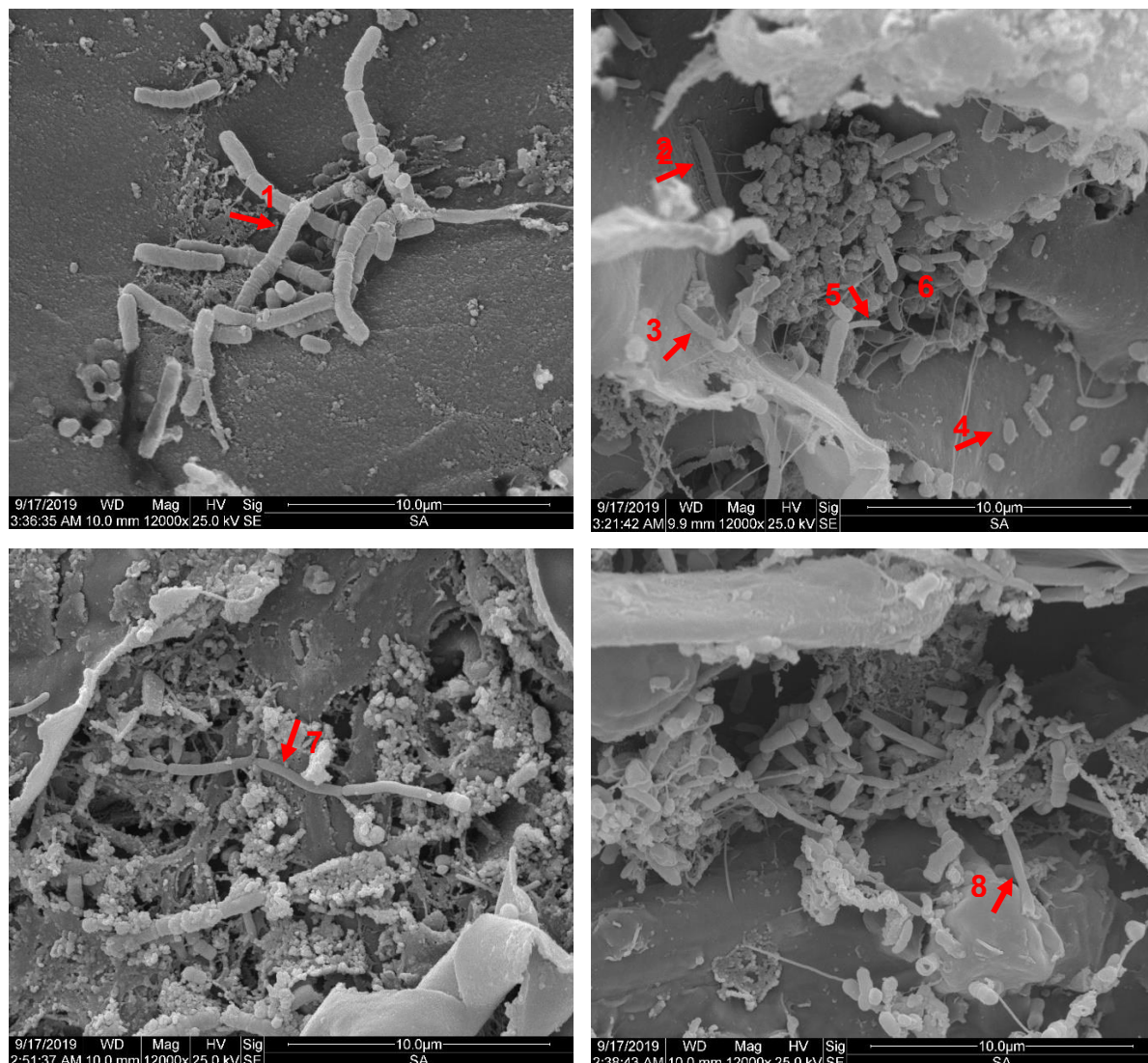


Na Figura 30 pode-se observar, primeiramente uma partícula sem grandes alterações na sua estrutura, que provavelmente tinha um pequeno tempo de residência no reator. Já na segunda imagem, pode-se verificar faixas de maior ataque dos microrganismos na partícula de RPG.

Chen et al. (2019) também verificaram a degradação na estrutura de resíduos vegetais, por meio de imagens de MEV. Os autores avaliaram a digestão anaeróbia de substratos lignocelulósicos (espiga de milho, palha de milho, palha de trigo e palha de arroz), em reatores de batelada com volume de 500 mL, temperatura de 37°C e agitação contínua. Inicialmente, as superfícies dos resíduos eram lisas e as fibras lignocelulósicas estavam cobertas pela epiderme. Após 38 dias de digestão, a epiderme foi destruída e a superfície da fibra lignocelulósica tornou-se áspera e irregular. Logo, as imagens demonstraram que houve degradação parcial do resíduo, que variou de acordo com o tipo e suas características morfológicas.

Na Figura 31 são apresentadas imagens dos microrganismos encontrados na análise de MEV do Reator B na fase II-F.

Figura 31 – Imagens de MEV com a diversidade de microrganismos aderidos na superfície do RPG, do Reator B na Fase II-F

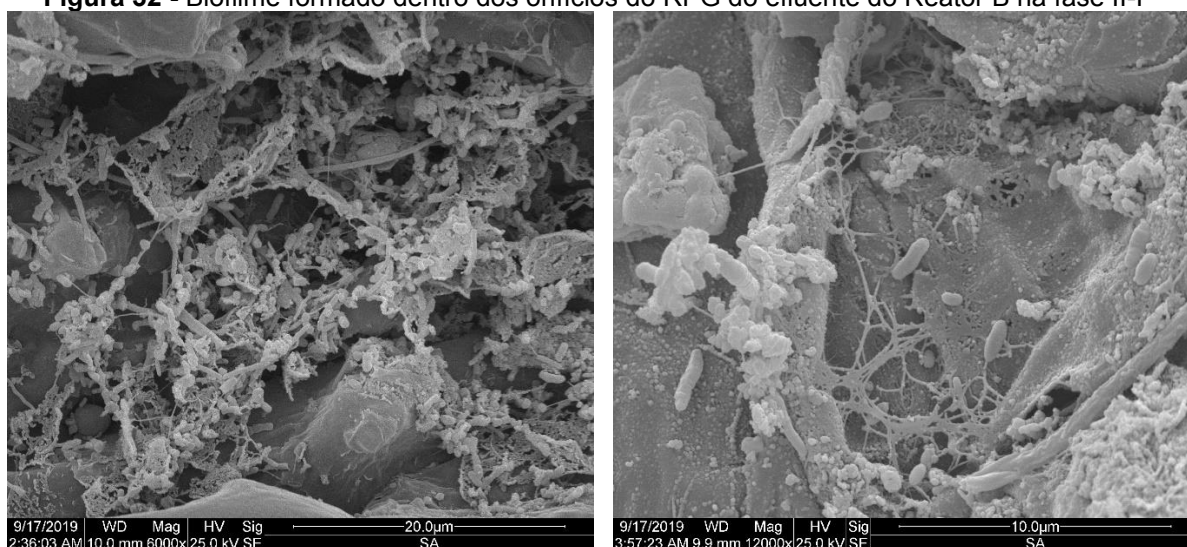


Comparando-se as imagens dos organismos encontrados nas Fases II-C e II-F (Figuras 28 e 31, respectivamente), notou-se que houve alteração da diversidade microbiana presente. Na Fase II-F, foi encontrada grande quantidade de bastonetes, unidos longitudinalmente (seta 1), encontrados também na Fase II-C, porém em menor quantidade. Foi verificada grande quantidade de bacilos de diversas formas, curtos, longos e curvos, de diferentes tamanhos e espessuras (setas 2 a 6).

Na seta 7 pode-se observar bacilos longos e unidos longitudinalmente, porém diferentes do organismo indicado na seta 1. De acordo com a indicação da seta 8, encontra-se o microrganismo filamentoso de extremidade oca, encontrado em menor quantidade em comparação com as imagens de MEV da Fase II-C. Na Fase II-F, não

foram encontrados microrganismos filamentosos em forma de espiral, como na Fase II-C. Esta variação na diversidade microbiana entre as duas fases, pode estar relacionada às condições ambientais no reator, visto que o aumento da carga orgânica ocasionou alterações como o aumento da concentração de AGV, por exemplo.

Figura 32 - Biofilme formado dentro dos orifícios do RPG do efluente do Reator B na fase II-F



Assim como na Fase II-C, também foi verificada a formação de biofilmes nas partículas de RPG na Fase II-F. Este fato reforça a ideia de que as partículas do RPG, serviram como meio suporte aos microrganismos, os quais se fixaram de diferentes formas ao substrato.

5.2.7 Análise da Comunidade Microbiana Existente

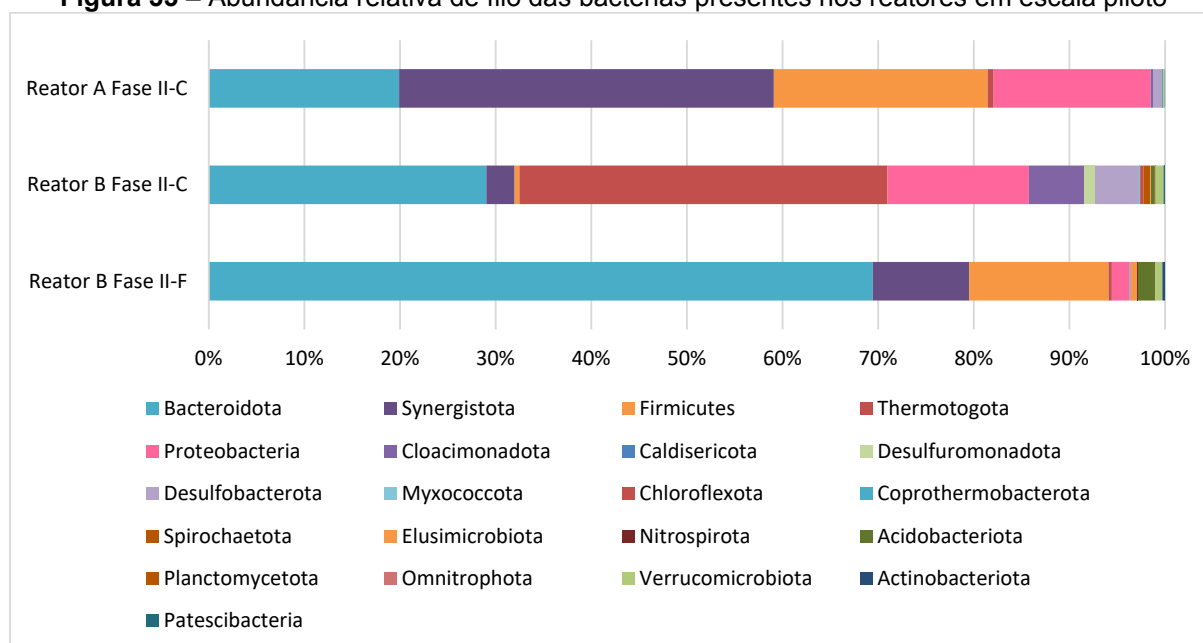
Os microrganismos são os principais atuantes no processo de digestão anaeróbia. A diversidade e abundância destes determinam o desempenho dos processos envolvidos (hidrólise, acidogênese, acetogênese, metanogênese) e equilíbrio entre eles (CHEN et al., 2019). A digestão anaeróbia é um processo altamente sensível, e pequenas variações nas condições operacionais podem induzir flutuações na composição e atividade da comunidade microbiana (LI et al., 2018).

Para melhor compreensão do processo de digestão anaeróbia ocorrido neste experimento, foi analisada a comunidade de microrganismos presente nos reatores, em amostras da Fase II-C nos reatores A e B e Fase II-F no reator B. A abundância para cada grupo taxonômico corresponde à abundância relativa em relação ao total contabilizado.

5.2.7.1 Bactérias

Nas Figuras 33 a 37 são apresentados os resultados referentes à abundância dos grupos taxonômicos filo, classe, ordem, família e gênero de bactérias presentes nos efluentes dos reatores.

Figura 33 – Abundância relativa de filo das bactérias presentes nos reatores em escala piloto



Na Figura 33 pode-se observar que houve diferença dos filotaxas predominantes e sua abundância, entre as 3 amostras analisadas. Os filotaxas dominantes para o Reator A na Fase II-C foram *Synergistota* (39,2%), *Firmicutes* (22,3%), *Bacteroidota* (19,9%) e *Proteobacteria* (16,4%). Para o Reator B na Fase II-C, os grupos dominantes foram *Thermotogota* (38,4%), *Bacteroidota* (28,9%), *Proteobacteria* (14,7%), *Cloacimonadota* (5,7%), *Desulfobacterota* (4,3%), *Synergistota* (2,9%) e *Desulfuromonadota* (1,1%). Já na Fase II-F, os filotaxas com maior representatividade foram *Bacteroidota* (69,5%), *Firmicutes* (14,6%), *Synergistota* (10,1%), *Proteobacteria* (1,8%) e *Acidobacteriota* (1,8%).

De acordo com Guo et al. (2014) a abundância de qualquer grupo de microrganismos em um reator, depende de diversos fatores, como inoculação, carga orgânica, características do substrato, condições de operação, entre outros. Os filotaxas *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Synergistota*, e *Actinobacteria* geralmente encontram-se em maior população no tratamento de resíduo alimentar em digestores

anaeróbios mesofílicos. No entanto, neste trabalho, os filos *Chloroflexi* e *Actinobacteria* apresentaram baixa abundância para todas as amostras.

O grupo *Bacteroidota* é comumente dominante em reatores anaeróbios. São microrganismos fermentativos, responsáveis por degradar aminoácidos, glicerol, glicose e outros polissacarídeos e na produção de AGV. Além disso, este filo está relacionado à processos hidrolíticos de compostos orgânicos macromoleculares, como lipídios, carboidratos, celulose e hemicelulose e sua conversão em ácidos acético, propiônico, butírico, láctico e AGV de cadeia longa (YUE et al., 2013; YI et al., 2014; CHEN et al., 2019). Além disso, o filo *Bacteroidota* é conhecido por ser proteolítico (atuar na degradação de proteínas) e desempenhar papéis importantes na estabilização de resíduos semi-sólidos (LIM et al., 2014).

Pode-se observar que houve maior abundância relativa de *Bacteroidota* no Reator B, com 28,9% na Fase II-C (COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹) e 69,5% na Fase II-F (COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹). Já no Reator A, com COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ a abundância foi de 19,9%. Ou seja, quanto maior a carga de material lignocelulósico, mais alta foi a representatividade deste filo, que pode estar relacionada à degradação de celulose e hemicelulose.

Chen et al. (2019) também obtiveram maior abundância de *Bacteroidota* nos reatores em que foram adicionados substratos lignocelulósicos na digestão anaeróbia de lodo. Reatores com espiga de milho, palha de milho, palha de trigo e palha de arroz resultaram em 70,0; 56,2; 45,2 e 41,5% de abundância deste filo, respectivamente. O autor sugere que este fato esteve vinculado às próprias condições e composição dos substratos provenientes de palha de colheita, como o aumento de compostos orgânicos exógenos e pontos de fixação para os microrganismos.

Neste contexto, Wu et al. (2016) também observaram um aumento do filo *Bacteroidota* e uma diminuição de *Proteobacteria*, com a adição de substrato lignocelulósico na digestão anaeróbia. Os autores investigaram os efeitos da adição de resíduos de repolho e palha de milho no tratamento anaeróbio de dejetos bovinos, visando a produção de metano. Segundo os autores, *Bacteroidota* contém a maioria das espécies de bactérias que realizam a degradação da celulose.

Yi et al. (2014), realizaram um estudo da população microbiana em reatores operados com resíduos de alimentos e 3 diferentes teores de sólidos (5, 15 e 20% de ST nos reatores R1, R2 e R3, respectivamente). Em geral, os filos encontrados em maior abundância foram *Chloroflexi*, *Bacteroidota* e *Firmicutes*, somando uma

abundância total relativa conjunta de 96,13%, 95,61% e 81,35% nos R1, R2 e R3. O grupo *Bacteroidota* elevou sua abundância com o aumento do teor de sólidos, de 18,2% (R1) para 26,40% (R2) e 36,33% (R3), conseqüentemente ocasionando uma maior taxa de adição de proteínas e maior produção de AGV, demonstrando uma forte ligação entre a presença de *Bacteroidota* e a hidrólise. Similarmente, no presente estudo foi possível observar a maior predominância de *Bacteroidota* (69,5%) na fase II-F, mediante a maior carga orgânica volumétrica (0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹) e com 1.346 mg L⁻¹ de AGV.

Outros filos encontrados em grande abundância foram *Proteobacteria* e *Firmicutes*, bactérias hidrolíticas de matéria orgânica e produtoras de ácidos orgânicos. A produção do ácido acético por estes microrganismos tem papel importante na produção de metano por metanogênicas acetoclásticas. Houve maior abundância de *Proteobacteria* no Reator A Fase II-C (16,4%) e no Reator B Fase II-C (14,7%), quando a COV era de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹. Com o aumento da COV para 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ no Reator B, sua abundância diminuiu para 1,8%, prevalecendo, na dinâmica microbiana, principalmente o filo *Bacteroidota* e *Firmicutes*, com respectivamente 69,5 e 14,6%.

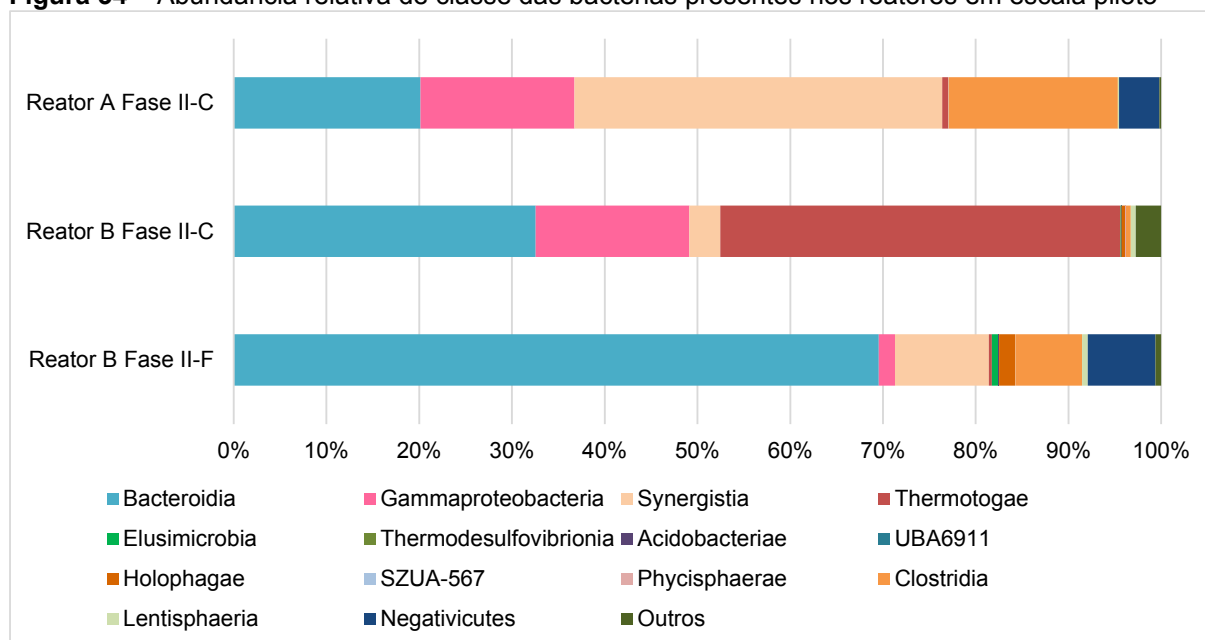
O grupo *Firmicutes* geralmente está presente em reatores anaeróbios com elevada concentração de matéria orgânica e também produz enzimas extracelulares, como protease, lipase, hemicelulase e celulase para hidrolisar a matéria orgânica. A presença de *Firmicutes* em abundância indica a capacidade do reator em metabolizar uma grande variedade de substratos, incluindo proteínas, lipídios, lignina, celulose, açúcares e aminoácidos, comumente encontrados nos resíduos deste estudo (LIM et al., 2014; YI et al., 2014; CHEN et al., 2019). Este filo esteve presente com 22,3% no Reator A Fase II-C (COV de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹) e 14,6% no Reator B Fase II-F (COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹). Já no Reator B Fase II-C, houve abundância de apenas 0,5% de *Firmicutes*.

O filo *Spirochaetota* foi encontrado apenas no Reator B Fase II-C (0,4%) e é capaz de converter ácido propiônico, butírico, valérico e outros compostos orgânicos simples em ácido acético, H₂ e CO₂. Este fato é benéfico ao sistema, visto que o ácido acético pode ser utilizado pelas arqueas para a produção de metano. Com isso, o filo *Spirochaetota* tem papel importante na estabilidade do sistema e geração de metano (YI et al., 2014; SHEN et al., 2018; CHEN et al., 2019). A presença destes microrganismos, embora baixa, no Reator B na fase II-C, pode ter contribuído para

um melhor balanço entre acidogênese e metanogênese e consequente maior produção de metano.

Yi et al. (2014) encontraram uma relação entre o aumento da carga orgânica e maior abundância de filos como *Proteobacteria*, *Spirochaeta* e *Tenericutes*, sugerindo um papel importante destes grupos na degradação do resíduo alimentar. O reator R3, com carga de 20% de ST, teve alta abundância relativa de *Spirochaeta* (8,09%), *Tenericutes* (6,86%) e *Proteobacteria* (2,16%). Contudo, no presente trabalho, não houve o mesmo comportamento, ocorrendo maior abundância de Bacteroidota (69,5%), Firmicutes (14,6%) e Synergistota (10,1%) no Reator B fase II-F.

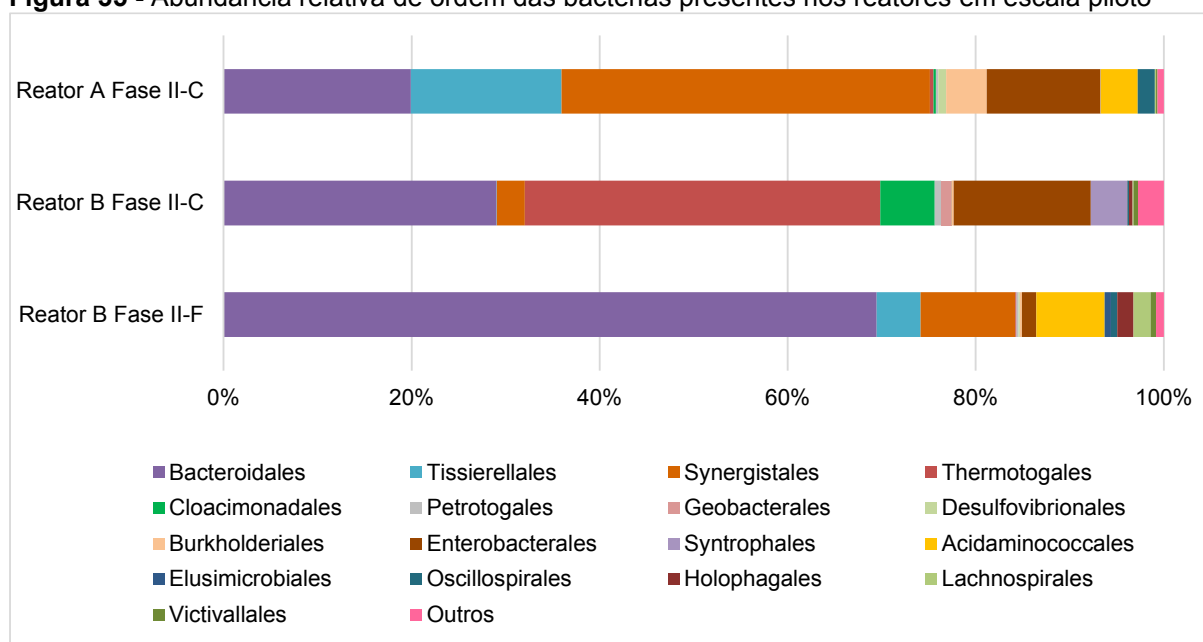
Figura 34 – Abundância relativa de classe das bactérias presentes nos reatores em escala piloto



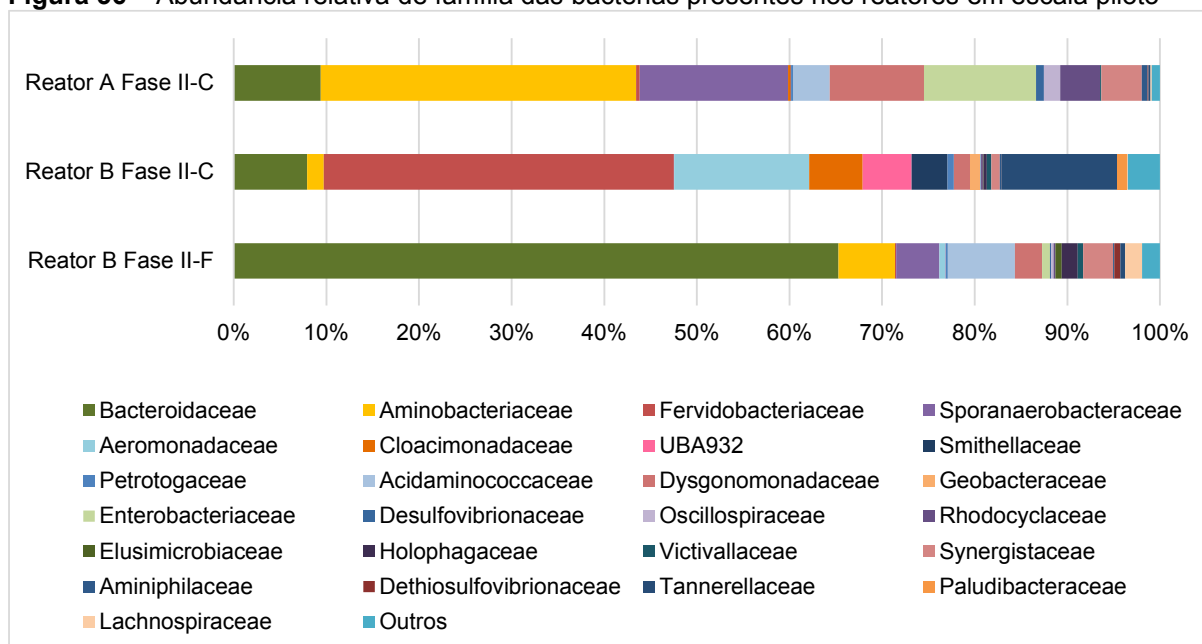
As classes dominantes para o Reator A na Fase II-C foram *Synergistia* (39,2%), *Bacteroidia* (19,9%), *Gammaproteobacteria* (16,4%), *Clostridia* (18,0%) e *Negativicutes* (4,3%). Para o Reator B na Fase II-C, os grupos dominantes foram *Thermotogae* (38,4%), *Bacteroidia* (28,9%), *Gammaproteobacteria* (14,7%), *Cloacimonadia* (5,7%), *Syntrophia* (3,8%), *Synergistia* (2,9%) e *Desulfuromonadia* (1,1%). Já para o reator B na Fase II-F, as classes com maior representatividade foram *Bacteroidia* (69,4%), *Synergistia* (10,1%), *Negativicutes* (7,2%), *Clostridia* (7,2%), *Gammaproteobacteria* (1,7%) e *Holophagae* (1,7%).

A classe *Bacteroidia* foi a única pertencente ao filo *Bacteroidota* e esteve presente nas três amostras, contudo em abundâncias diferentes. Nota-se um aumento da parcela desta classe com o aumento do teor de RPG na amostra, podendo estar relacionado à degradação do substrato lignocelulósico. Já a *Gammaproteobacteria* foi a classe predominante do filo *Proteobacteria*, e *Synergistia* foi a única classe do filo *Synergistota*, para todas as amostras.

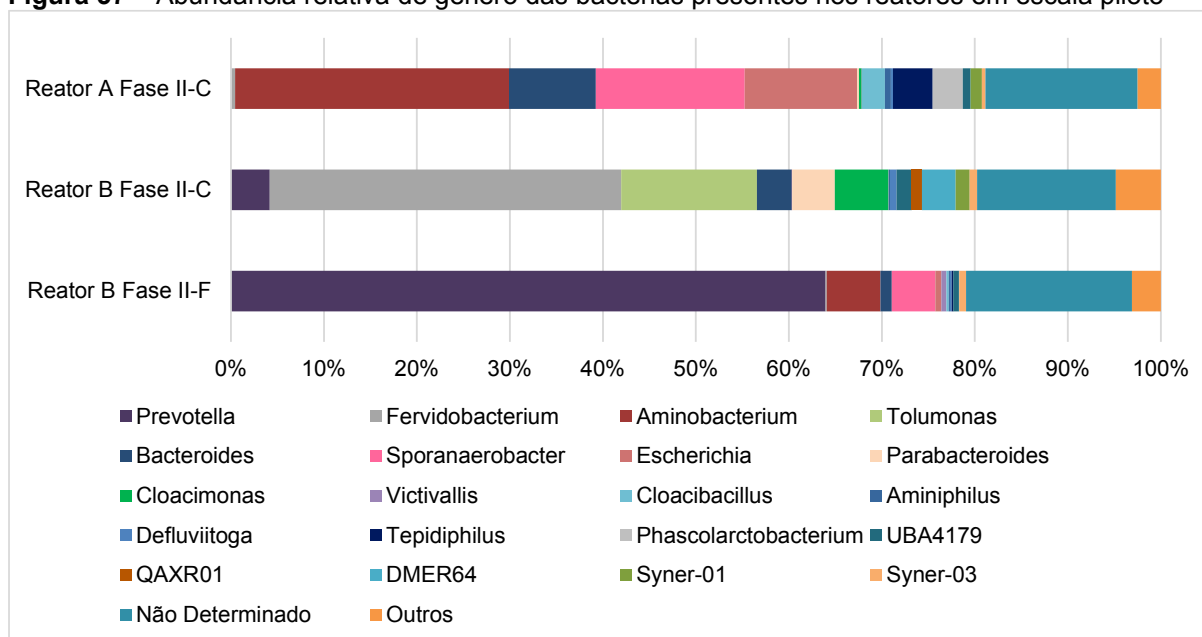
Figura 35 - Abundância relativa de ordem das bactérias presentes nos reatores em escala piloto



As ordens predominantes no Reator A na Fase II-C foram *Synergistales* (39,2%), *Bacteroidales* (19,9%), *Tissierellales* (16,0%), *Enterobacterales* (12,1%), *Burkholderiales* (4,3%) e *Oscillospirales* (1,8%). Para o Reator B na Fase II-C, os grupos dominantes foram *Thermotogales* (37,7%), *Bacteroidales* (28,9%), *Enterobacterales* (14,5%), *Cloacimonadales* (5,7%), *Syntrophales* (3,9%), *Synergistales* (2,9%) e *Geobacterales* (1,1%). Já para o reator B na Fase II-F, as ordens com maior representatividade foram *Bacteroidales* (69,4%), *Synergistales* (10,1%), *Acidaminococcales* (7,2%), *Tissierellales* (4,7%), *Lachnospirales* (1,8%), *Holophagae* (1,7%), *Enterobacterales* (1,5%).

Figura 36 – Abundância relativa de família das bactérias presentes nos reatores em escala piloto

Os grupos de família predominantes no Reator A na Fase II-C foram *Aminobacteriaceae* (34,0%), *Sporanaerobacteraceae* (16,0%), *Enterobacteriaceae* (12,1%), *Dysgonomonadaceae* (10,2%), *Bacteroidaceae* (9,4%), *Synergistaceae* (4,4%), *Rhodocyclaceae* (4,3%), *Acidaminococcaceae* (3,9%) e *Oscillospiraceae* (1,8%). Para o Reator B na Fase II-C, os grupos dominantes foram *Fervidobacteriaceae* (37,7%), *Aeromonadaceae* (14,5%), *Tannerellaceae* (12,5%), *Bacteroidaceae* (7,9%), *Cloacimonadaceae* (5,7%), UBA932 (5,3%), *Smithellaceae* (3,8%), *Aminobacteriaceae* (1,8%), *Dysgonomonadaceae* (1,8%), *Geobacteraceae* (1,1%) e *Paludibacteraceae* (1,0%). Já para o reator B na Fase II-F, as ordens com maior representatividade foram *Bacteroidaceae* (65,3%), *Acidaminococcaceae* (7,3%), *Aminobacteriaceae* (6,1%), *Sporanaerobacteraceae* (4,7%), *Synergistaceae* (3,2%), *Dysgonomonadaceae* (2,9%), *Lachnospiraceae* (1,8%) e *Holophagaceae* (1,7%).

Figura 37 – Abundância relativa de gênero das bactérias presentes nos reatores em escala piloto

Os gêneros predominantes que puderam ser identificados, no Reator A na Fase II-C foram *Aminobacterium* (29,4%), *Sporanaerobacter* (16,0%), *Escherichia* (12,1%), *Bacteroides* (9,3%), *Tepidiphilus* (4,3%), *Phascolarctobacterium* (3,2%), *Cloacibacillus* (2,5%). Para o Reator B na Fase II-C, os grupos dominantes foram *Fervidobacterium* (37,6%), *Tolumonas* (14,5%), *Cloacimonas* (5,7%), *Parabacteroides* (4,6%), *Prevotella* (4,1%), *Bacteroides* (3,7%). Já para o reator B na Fase II-F, os gêneros com maior representatividade foram *Prevotella* (63,9%), *Aminobacterium* (5,8%), *Sporanaerobacter* (4,7%) e *Bacteroides* (1,2%).

Como pode-se verificar na Figura 37, não foi possível identificar alguns gêneros encontrados em abundância, decorrente da impossibilidade de determinar com segurança a qual gênero ele deveria pertencer (N/D) ou por possuírem nomes provisórios (siglas) e sua caracterização ainda não estar finalizada.

O gênero *Bacteroides*, pertencente ao filo *Bacteroidetes*, esteve em maior abundância no Reator A fase II-C (9,3%), seguido do Reator B Fase II-C (3,7%) e Fase II-F (1,2%). A função deste grupo de microrganismos está relacionada à degradação de glicose, frutose, lactose e sacarose. É também um tipo de bactéria importante no intestino humano (CHEN et al., 2019).

O gênero *Prevotella* esteve presente em grande quantidade na amostra do Reator B na Fase II-F (64%), seguido do Reator B (4,1%) na fase II-C e em baixa abundância do Reator A na Fase II-C (0,062%). *Prevotella* pertence ao filo

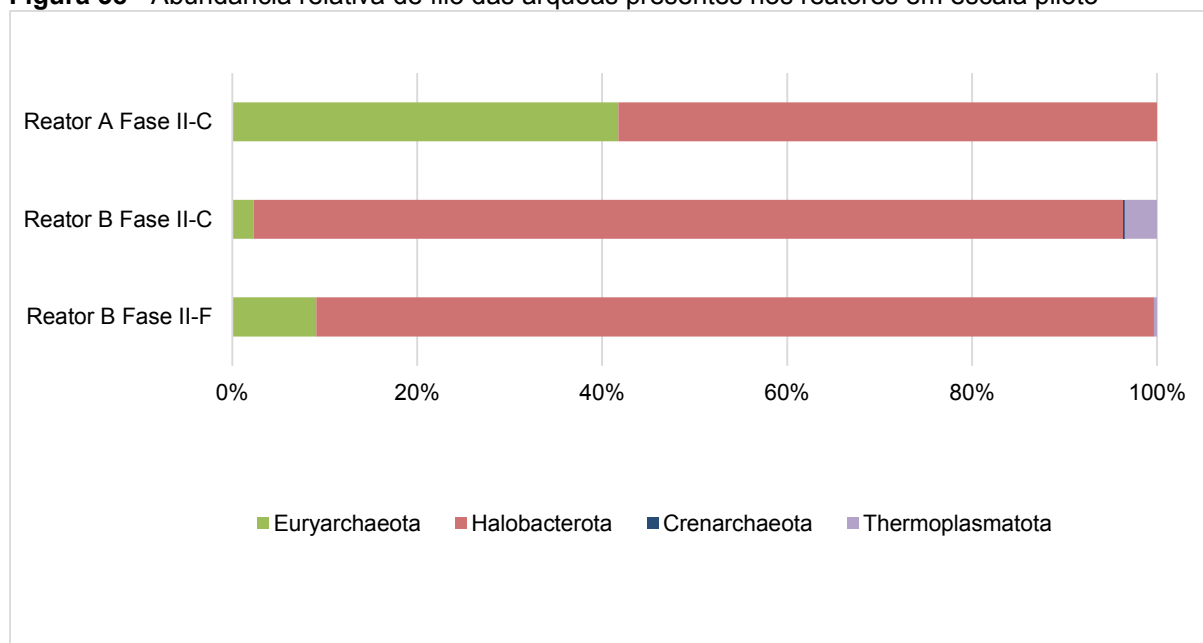
Bacteroidetes e é um grupo de bactérias que fermentam compostos nitrogenados em ácidos orgânicos, amônia, pequenos peptídeos ou aminoácidos (LIM et al., 2014). Sua presença em maior quantidade na Fase II-F pode estar relacionada à maior carga orgânica aplicada, e conseqüente maior concentração de nitrogênio orgânico.

Aminobacterium, e *Cloacibacillus*, pertencentes ao filo *Synergistota*, não foram detectados no Reator B fase II-C. O gênero *Aminobacterium* apresentou abundância de 29,4% para o Reator A e 5,7% para o Reator B na Fase II-F. Já o gênero *Cloacibacillus* resultou em 2,5% no Reator A e 0,2% no Reator B Fase II-F. Estes dois gêneros são fermentadores de aminoácidos e disponibilizam ácidos graxos de cadeia curta para as arqueas metanogênicas (SINISCALCHI et al., 2016).

5.2.7.2 Arqueas

Nas Figuras 38 a 42 são apresentados os resultados referentes à abundância dos grupos taxonômicos filo, classe, ordem, família e gênero de arqueas, encontrados nos efluentes dos reatores.

Figura 38 - Abundância relativa de filo das arqueas presentes nos reatores em escala piloto

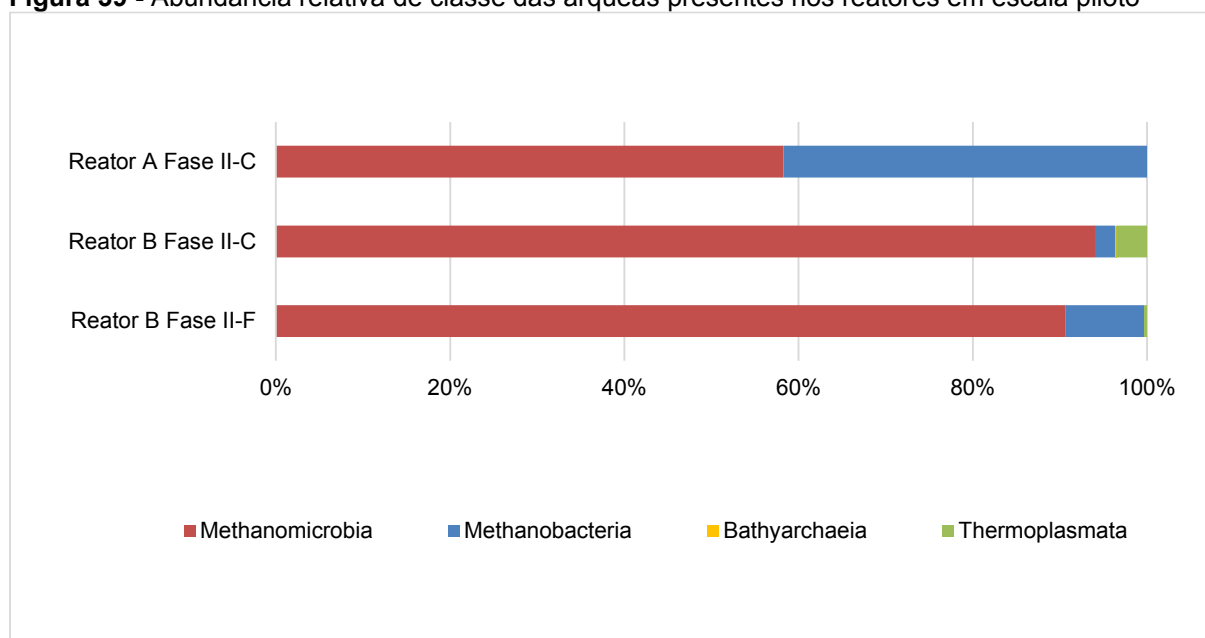


Os filos de arqueas presentes nas amostras, foram em sua maioria, relacionados à organismos metanogênicos, os quais são responsáveis por transformar os precursores em gás metano. A grande diferença entre os microrganismos metanogênicos, diz respeito aos compostos que estes utilizam para

gerar o metano, podendo ser arqueas hidrogenotróficas e/ou acetoclásticas (CHERNICHARO, 2016; METCALF; EDDY, 2016).

Os filos de arqueas encontrados no Reator A na Fase II-C foram *Halobacterota* (58,2%) e *Euryarchaeota* (41,8%), onde a produção de metano foi de apenas 0,06 L CH₄ gSTV⁻¹. Comparativamente, no Reator B, na fase II-C, houve um aumento na abundância de *Halobacterota* (94,0%) e baixa presença de *Thermoplasmatota* (3,5%) e *Euryarchaeota* (2,3%), resultando no melhor desempenho de produção de metano do presente estudo, de 0,46 L CH₄ gSTV⁻¹. Para a fase II-F, encontrou-se em maior abundância o filo *Halobacterota* (90,5%) e a baixa presença de *Euryarchaeota* (9,1%). Os resultados sugerem que a elevada presença de *Halobacterota* e a ausência e/ou baixa presença de *Euryarchaeota* pode ser um indicativo de melhores resultados de desempenho de produção de metano. Assim, nota-se que o filo mais abundante, para todas as amostras nas diferentes fases, foi o *Halobacterota* e que no reator A, no qual foi obtida a menor produção de metano houve participação de elevada porcentagem do filo *Euryarchaeota*, de uma forma mais intensa que no reator B fases II-C e II-F.

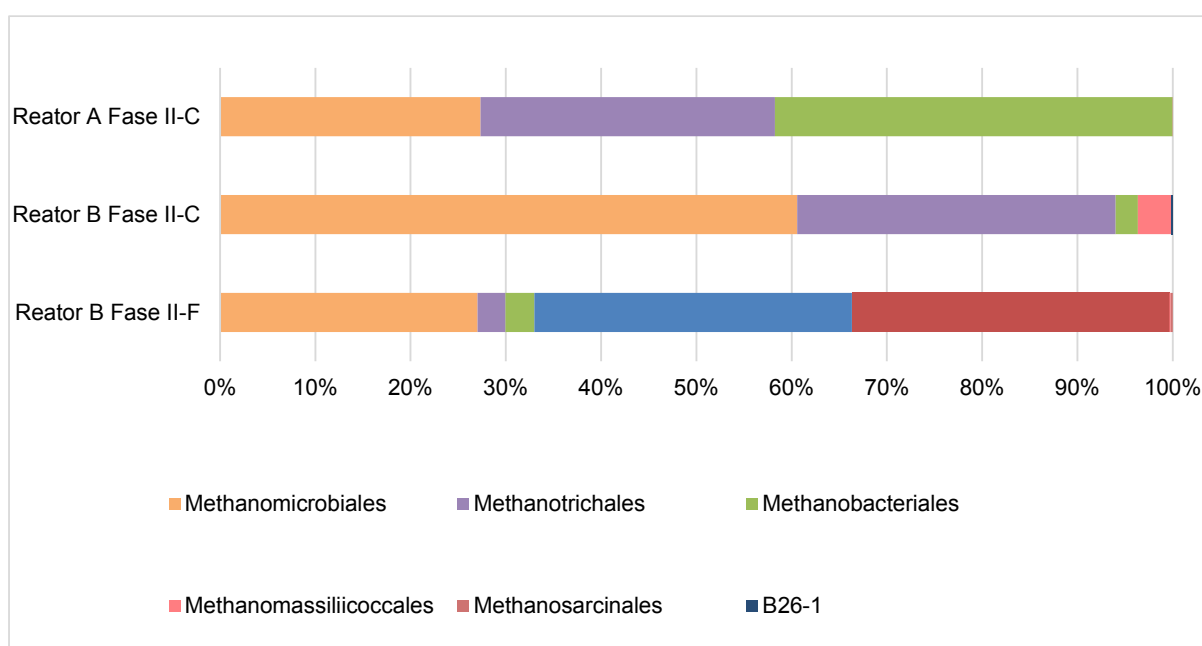
Figura 39 - Abundância relativa de classe das arqueas presentes nos reatores em escala piloto



As classes de arqueas encontradas no Reator A na Fase II-C foram *Methanomicrobia* (58,2%) e *Methanobacteria* (41,8%). Já no Reator B fase II-C, as classes com maior abundância foram *Methanomicrobia* (94,0%), *Thermoplasmatota*

(3,5%) e *Methanobacteria* (2,3%). Para a fase II-F, encontrou-se em maior abundância no Reator B as classes *Methanomicrobia* (90,5%) e *Methanobacteria* (9,1%). Os valores indicam que maiores porcentagens de *Methanomicrobia* no Reator B (94,0% e 90,5%) podem ser atribuídas às maiores produções de metano obtidas no presente estudo (0,46 e 0,14 L CH₄ gSTV⁻¹), para as fases II-C e II-F respectivamente. Ao passo que menores porcentagens desta classe no Reator A (58,2%) resultou em ineficiente produção de metano (0,06 L CH₄ gSTV⁻¹).

Figura 40 - Abundância relativa de ordem das arqueas presentes nos reatores em escala piloto

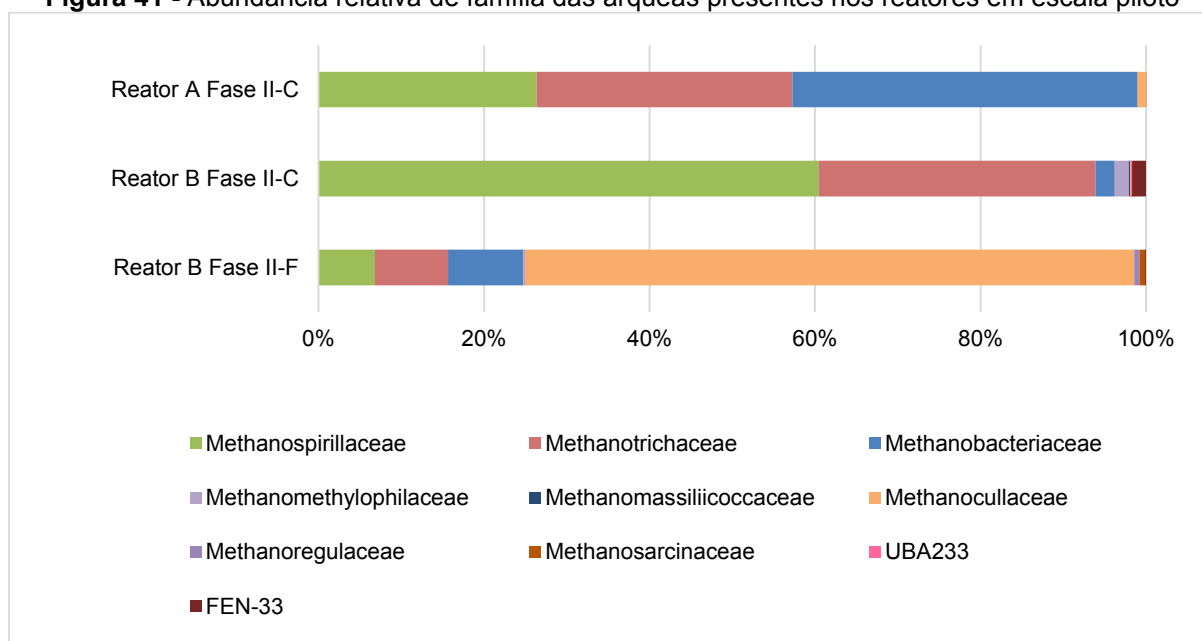


As ordens de arqueas encontradas no Reator A na Fase II-C foram *Methanobacteriales* (41,6%), *Methanotriconales* (30,9%) e *Methanomicrobiales* (27,3%). Já no Reator B fase II-C, as ordens com maior abundância foram *Methanomicrobiales* (60,6%), *Methanotriconales* (33,4%), *Methanomassiliicoccales* (3,5%) e *Methanobacteriales* (2,3%). Para a fase II-F, encontrou-se em maior abundância no Reator B as ordens *Methanomicrobiales* (81,1%), *Methanotriconales* (8,8%), *Methanobacteriales* (8,5%).

A ordem *Methanomicrobiales*, encontrada em grande abundância nos reatores, especialmente no Reator B, é formada por arqueas metanogênicas hidrogenotróficas (GARCIA; PATEL; OLLIVIER, 2000). Já o grupo *Methanobacteriales*, também hidrogenotrófico, apresentou maior abundância no Reator A, e menores valores no Reator B.

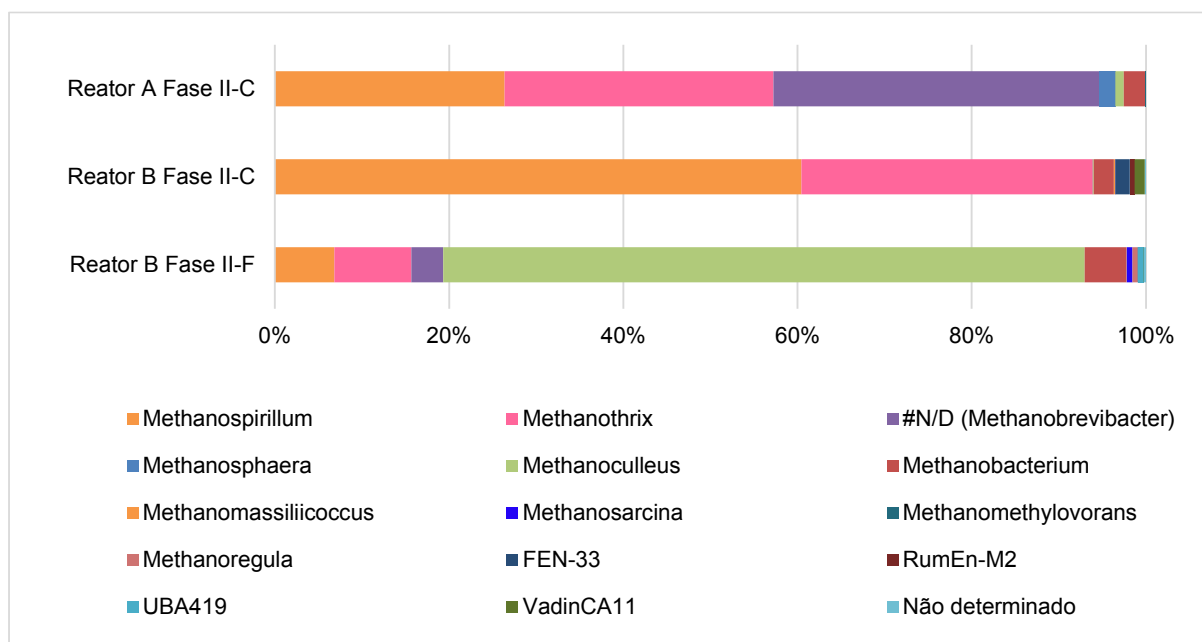
As classes de metanogênicas comumente detectadas em digestores anaeróbios incluem *Methanomicrobiales*, *Methanobacteriales*, *Methanosarcinales* e *Methanococcales*. Li et al. (2015) encontrou *Methanomicrobiales* e *Metanossarcinales* como as ordens dominantes durante o período de monitoramento, tanto na fase estável como na fase de desequilíbrio devido ao aumento da COV de 3 para 6 gSTV L⁻¹d⁻¹, em reator anaeróbio tratando resíduo alimentar.

Figura 41 - Abundância relativa de família das arqueas presentes nos reatores em escala piloto



Ao nível de família, foram encontradas no Reator A na Fase II-C *Methanobacteriaceae* (41,7%), *Methanotrachaceae* (30,9%), *Methanospirillaceae* (26,3%). Já no Reator B fase II-C, os grupos de família com maior abundância foram *Methanospirillaceae* (60,4%), *Methanotrachaceae* (33,4%), *Methanobacteriaceae* (2,3%), FEN-33 (1,7%) e *Methanomethylphilaceae* (1,7%). Para a fase II-F, encontrou-se em maior abundância no Reator B as ordens *Methanocullaceae* (73,6%), *Methanotrachaceae* (8,8%), *Methanobacteriaceae* (8,5%), *Methanospirillaceae* (6,8%).

A família *Methanospirillaceae* esteve presente em maior abundância no Reator B fase II-C e menores concentrações nas outras amostras. A criação desta família foi proposta recentemente para incluir um único gênero, *Methanospirillum*. Os membros do gênero são mesofílicos e foram relatados em vários habitats (GARCIA; PATEL; OLLIVIER, 2000).

Figura 42 - Abundância relativa de gênero das arqueas presentes nos reatores em escala piloto

Os gêneros com maior abundância verificados no Reator A Fase II-C foram *Methanothrix* (30,7%), *Methanospirillum* (26,3%), N/D (*Methanobrevibacter*) (37,3%), *Methanobacterium* (2,5%) e *Methanosphaera* (1,8%). Já no Reator B fase II-C, os gêneros dominantes foram *Methanospirillum* (60,4%), *Methanothrix* (33,4%), *Methanobacterium* (2,3%), FEN-33 (1,7%) e VadinCA11 (1,1%). Para a fase II-F do Reator B, houve maior abundância de *Methanoculleus* (73,6%), *Methanothrix* (8,7%), *Methanospirillum* (6,8%), *Methanobacterium* (4,8%) e N/D (*Methanobrevibacter*) (3,7%).

Alguns gêneros abundantes não puderam ser identificados devido a impossibilidade de determinar com segurança a qual grupo ele deveria pertencer (N/D) ou por possuírem nomes provisórios (siglas) e sua caracterização ainda não estar finalizada. Um gênero N/D encontrado no Reator A fase II-C (37,4%) e Reator B Fase II-F (3,7%), não foi determinado com segurança. Contudo, de acordo com a sequência de nucleotídeos obtida e análise na biblioteca do NCBI, apresentou 100% de similaridade com o gênero *Methanobrevibacter* (código de acesso AY454735.1).

Observa-se a partir dos dados apresentados, que houve grande variação na comunidade de arqueas metanogênicas entre as 3 amostras analisadas. Este fato está relacionado às condições ambientais de cada reator nas diferentes fases, como o equilíbrio do processo e tipo de resíduo adicionado, que propiciaram condições diferenciadas em que os microrganismos com maior afinidade se desenvolveram.

As arqueas do gênero *Methanobacterium*, estiveram em maior teor no Reator B fase II-F (4,8%) no qual a COV era de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ e ligeiramente menor nas outras amostras da fase II-C, com 2,3% no Reator B e 2,5% no Reator A, quando a COV era de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹. Este gênero pertence ao filo *Euryarchaeota*, e é composto por arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. *Methanobacterium* geralmente encontra-se em grande abundância nos reatores anaeróbios, juntamente com os hidrogenotróficos *Methanobrevibacter*, *Methanospirillum*, *Methanoculleus* e *Methanocorpusculum* (LECLERC et al., 2004).

O gênero *Methanoculleus* é composto por espécies mesofílicas hidrogenotróficas de cocos não móveis altamente irregulares (GARCIA; PATEL; OLLIVIER, 2000). Este é geralmente encontrado em grande proporção em digestores anaeróbios, contudo sua proporção populacional pode ser afetada pelo TDH, COV ou concentração de AGV.

Yi et al. (2014) observaram uma diminuição da parcela de *Methanoculleus* com o aumento da COV. No entanto, no presente trabalho este gênero teve abundância relativa aumentada com o acréscimo da carga orgânica, de 0,10% para 73,6%, com o aumento da COV de 0,24 para 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹ no reator B. Nettmann et al., (2008) relataram uma comunidade de metanogênicas predominada por *Methanoculleus* (79%) em um reator alimentado com esterco bovino e silagem de milho.

O gênero *Methanospirillum* esteve presente em abundância nos reatores, com 26,3% (Reator A Fase II-C) e 60,4% (Reator B Fase II-C) quando a COV era de 0,24 kgSTV m⁻³d⁻¹ e 6,8% (Reator B Fase II-F) com COV de 0,54 kgSTV m⁻³d⁻¹. As células de *Methanospirillum* são hastes curvas e frequentemente formam filamentos com várias centenas de µm de comprimento. As espécies são hidrogenotróficas, utilizam H₂+CO₂ e formato, e algumas cepas são capazes de usar 2-propanol e 2-butanol como doadores de hidrogênio para a metanogênese a partir de CO₂. No estudo de Li et al. (2015) *Methanospirillum* foi o gênero dominante nos metanogênicos hidrogenotróficos na fase estável de operação e seu domínio foi substituído por *Methanoculleus* na fase instável.

O gênero *Methanosphaera* foi encontrado apenas no Reator A, com uma abundância de 1,8%. As espécies deste gênero têm formato esférico e são organismos que foram isolados de fezes humanas e alguns animais, e geralmente são observadas no trato digestivo destes. As espécies requerem metanol e H₂ como

substratos para a metanogênese e são incapazes de usar H_2+CO_2 ou formato (GARCIA; PATEL; OLLIVIER, 2000).

Methanosarcina é arquea metanogênica capaz de converter ácido acético em metano (PRAPINAGSORN, SITTIJUNDA, REUNGSANG, 2013). Contudo foi ausente no Reator A e encontrada em baixa abundância no Reator B, com 0,01% na Fase II-C e 0,7% na Fase II-F. Este gênero pode produzir metano a partir de acetato, metanol, monometilamina, dimetilamina, trimetilamina, H_2 / CO_2 e CO, ou seja, são metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas. *Methanosarcina* também é citada por alguns autores como um microrganismo versátil, que tem sido frequentemente relatada como um grupo de metanogênicas dominantes na digestão anaeróbia (GARCIA, PATEL, OLLIVIER, 2000; GUO et al., 2014).

A capacidade de *Methanosarcina* crescer em agregados e formar grupos irregulares de células, pode ser um fator favorável para uma maior tolerância a variações no pH e elevadas concentrações de agentes iônicos tóxicos (GUO et al., 2014; Yi et al., 2014). Devido às características morfológicas e flexibilidade deste gênero, um digestor com predominância de *Methanosarcina* possui potencial de atingir estabilidade na metanogênese (Yi et al., 2014).

No estudo de Yi et al. (2014), foi observado o aumento da abundância de *Methanosarcina* com o aumento do teor de sólidos e carga orgânica no reator anaeróbio, tratando resíduo alimentar. Com o aumento da carga, houve uma consequente maior concentração de AGV, como o acetato. Portanto, concentrações maiores de AGV (especialmente acetato) pode induzir a proliferação de *Methanosarcina*. Neste trabalho também houve um aumento da abundância de *Methanosarcina* com o aumento da carga orgânica, contudo, mesmo assim, os valores foram baixos.

Os gêneros *Methanosaeta*, *Methanosarcina* e *Methanotherix* são as metanogênicas acetoclásticas, capazes de converter o acetato em metano (CHEN et al., 2019). Nas amostras analisadas nas diferentes fases, houve baixa abundância de *Methanosarcina* e ausência de *Methanosaeta*. Com isso, provavelmente o gênero *Methanotherix* desempenhou papel importante no consumo do acetato. Sua abundância nas amostras foi de 30,7% no Reator A fase II-C, 33,4% no Reator B fase II-C e 8,7% na fase II-F.

As arqueas metanogênicas acetoclásticas encontradas neste estudo, que realizam a conversão do ácido acético são *Methanosarcina* e *Methanotherix*. Ambas

possuem uma lenta taxa de crescimento, com um tempo de duplicação de aproximadamente 24 horas. Além disso, ambas são afetadas pela presença de hidrogênio. Portanto, a manutenção de um metabolismo de degradação dos compostos orgânicos equilibrado é de extrema importância. Já as metanogênicas hidrogenotróficas, possuem crescimento mais rápido, com duplicação entre 4-6 horas (GERARDI, 2003; MATA-ALVAREZ, 2003).

Methanosaeta apresenta menor taxa de crescimento em acetato do que a *Methanosarcina*. É provável que concentrações mais altas de acetato no meio favoreceria o crescimento da *Metanosarcina*, enquanto menores concentrações favoreceriam o crescimento da *Methanosaeta* (GUO et al., 2014).

Li et al. (2015) realizaram variações na COV visando causar fases de instabilidade em um digestor anaeróbio mesofílico tratando resíduo alimentar. Após aumento da COV de 3 para 6 gSTV L⁻¹d⁻¹, foi verificado que a abundância relativa de bactérias produtoras de ácido e sintróficas oxidantes de AGV aumentaram drasticamente em elevada carga orgânica. Além disso, a abundância e atividade dos metanogênicos hidrogenotróficos decresceu, causando prejuízos ao processo. Este prejuízo está relacionado ao menor consumo de H₂ e conseqüente aumento da sua pressão parcial, desfavorecendo a transformação dos ácidos e outros metabólitos em ácido acético.

Na Tabela 33 é apresentada uma correlação entre as condições operacionais de cada fase e a comunidade microbiana encontrada para filo de bactérias e arqueas.

Tabela 33 – Correlação entre a comunidade microbiana e as condições operacionais

Parâmetros	Reator A		Reator B
	Fase II-C	Fase II-C	Fase II-F
Tempo de operação (d)	177	177	358
COV (kgSTV m ⁻³ d ⁻¹)	0,24	0,24	0,54
AGV (mg L ⁻¹)	2.648	234	1.346
Remoção de STV (%)	36	73	83
Produção de CH ₄ (L CH ₄ gSTV ⁻¹)	0,06	0,47	0,14
CH ₄ (%)	43	67	56

Bactérias predominantes	<i>Synergistota</i> (39,2%) <i>Firmicutes</i> (22,3%)	<i>Thermotogota</i> (38,4%) <i>Bacteroidota</i> (28,9%)	<i>Bacterioidota</i> (69,5%) <i>Firmicutes</i> (14,6%)
filos (%)	<i>Bacteroidota</i> (19,9%)	<i>Proteobacteria</i> (14,7%)	<i>Synergistota</i> (10,1%)
Arqueas predominantes	<i>Halobacterota</i> (58,2%) <i>Euryarchaeota</i> (41,8%)	<i>Halobacterota</i> (94,0%) <i>Thermoplasmata</i> (3,5%)	<i>Halobacterota</i> (90,5%) <i>Euryarchaeota</i> (9,1%)
filos (%)		<i>Euryarchaeota</i> (2,3%)	

Com base nas informações apresentadas, observa-se que houve diferença na predominância da comunidade microbiana entre as 3 amostras analisadas. Estas amostras também possuíam diferenças entre si, principalmente em relação à COV e estabilidade do reator. A concentração de AGV provavelmente foi determinante para a comunidade microbiana existente em cada reator nas 2 fases.

Observa-se que na Fase II-C, houve grande diferença na concentração de AGV entre os 2 reatores. O Reator A apresentou em média 2.648 mg L⁻¹ de AGV, enquanto que o Reator B apresentou média de 234 mg L⁻¹. Esta elevada concentração no Reator A, está relacionada ao desequilíbrio ocorrido, em que o consumo de ácidos foi menor que sua produção, ocorrendo o acúmulo no reator. Com isso, estes ácidos podem ter conferido toxicidade a alguns grupos de microrganismos. Também a remoção de STV e produção de CH₄ refletiram este problema ocorrido.

Após aumento da carga no Reator B, houve aumento na concentração de AGV neste reator também, resultando em média de 1.346 mg L⁻¹ na Fase II-F. Esta alteração do meio ao longo da operação, com aumento da concentração de AGV, provavelmente influenciou na alteração da abundância de bactérias e arqueas neste Reator.

5.2.8 Ensaios de Ecotoxicidade Aguda

Na Tabela 34 são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade aguda realizados com os organismos-teste *Daphnia magna* e *Artemia salina*, para os efluentes gerados no experimento de digestão anaeróbia em escala piloto.

Tabela 34 - Valores de CE₅₀48h e CL₅₀48h (% v v⁻¹) obtidos nos ensaios de ecotoxicidade em *D. magna* e *A. salina*

Reator - Fase	COV	<i>Daphnia magna</i>	<i>Artemia salina</i>
	(kgSTV m ⁻³ d ⁻¹)	CE ₅₀ 48h (% v v ⁻¹)	CL ₅₀ 48h (% v v ⁻¹)
Reator A – Fase II-C	0,24	19	8
Reator B – Fase II-C	0,24	22	53

Com base nos dados obtidos e expostos na Tabela 34, observa-se que as amostras do Reator A, Fase II-C e do Reator B, Fase II-F apresentaram a mesma toxicidade, tanto para *D. magna* como para *A. salina*, com valores de CE_{5048h} e CL_{5048h} de 19 e 8, respectivamente. Este fato, juntamente com os resultados de monitoramento, indica que os efluentes apresentavam características de toxicidade similares quando houve desestabilização do processo.

A presença de ácidos graxos voláteis - AGV nas amostras citadas, confere alta toxicidade, e esta foi mais acentuada para o organismo *A. salina*. Outros componentes presentes nos efluentes também podem ocasionar toxicidade a estes organismos. Quanto maior a carga orgânica aplicada ao reator, mais elevada é a concentração destes compostos. Como exemplos de compostos possivelmente tóxicos, pode-se destacar nitrogênio amoniacal e AGV, formados durante o processo de biodegradação anaeróbia e o cloreto de sódio proveniente do próprio resíduo.

Já para a amostra do Reator B, Fase II-C, na qual a COV era de $0,24 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$, houve menor toxicidade para os dois organismos-teste, em comparação com as outras amostras analisadas. Neste caso, houve maior toxicidade para *D. magna*, com CE_{5048h} de 22 e menor para *A. Salina*, com CL_{5048h} de 53 ($\% \text{ v v}^{-1}$). Esta menor toxicidade da amostra, está relacionada à menor quantidade de resíduo alimentar adicionada ao reator B nesta fase e melhor estabilidade no processo, com consumo dos ácidos voláteis gerados e menor concentração no efluente.

Ressalta-se que esta análise foi realizada visando comparar a toxicidade das amostras. Contudo, os efluentes gerados na digestão anaeróbia de resíduos alimentares possuem elevado teor de matéria orgânica e requerem um processo de estabilização, podendo ser a compostagem com outros resíduos que forneçam maior teor de carbono, e como destinação do resíduo estabilizado pode-se empregar o uso agrícola por exemplo.

5.2.9 Considerações Sobre o Experimento em Escala Piloto

Nota-se com base nos trabalhos da literatura (RATANATAMSKUL; ONNUM; YAMAMOTO, 2014; MALINOWSKY, 2016) que a COV aplicada na digestão anaeróbia de resíduos alimentares geralmente é superior aos valores utilizados neste trabalho. Os valores de COV indicados pela literatura variam de 1 a $4 \text{ kgSTV m}^{-3}\text{d}^{-1}$. Contudo,

analisando-se os resultados obtidos, verifica-se que para este resíduo e nestas condições de estudo, não seria viável o aumento da COV, pois isto implicaria em dificuldades de manutenção de um processo estável.

Esta dificuldade encontrada pode estar relacionada ao procedimento de partida dos reatores. Muitos trabalhos utilizam um volume de inóculo elevado na partida do biodigestor, entre 50 a 100% do volume do reator (GANESH et al., 2013; MALINOWSKY, 2016; KUCZMAN et al., 2018; MAGALHÃES, 2018). Com isso, o tempo para renovação da mistura e perda deste material inoculado é maior e os benefícios proporcionados sobre o pH e alcalinidade são prolongados. A adaptação da comunidade microbiana também pode ser favorecida neste caso.

A inoculação com 30% do volume do reator e o aumento progressivo da carga provavelmente foram determinantes para o desequilíbrio ocorrido. Isto porque o inóculo não estava adaptado ao tipo de substrato e com o aumento da carga orgânica, os microrganismos metanogênicos, que possuem taxa de crescimento lento, não foram capazes de degradar os compostos gerados. Outra estratégia de partida poderia ter evitado o colapso do Reator A.

O monitoramento dos parâmetros de controle (pH, alcalinidade e AGV) e desempenho (DQO, STV, produção de biogás e teor de metano) demonstraram que a co-digestão do RRU com RPG proporcionou benefícios em relação à estabilidade e eficiência do processo. Este fato pode estar relacionado à substituição de 20% da COV pelo RPG, um substrato com características distintas. Com isso, os problemas de acidificação foram retardados, contudo aconteceram em uma COV maior (Fase II-F).

O RRU apresentou características que indicam facilidade de biodegradação, no entanto, dificuldades em relação à manutenção do pH, alcalinidade e AGV dentro da faixa ideal para a digestão anaeróbia. Neste sentido, a adição do RPG contribuiu para o melhor desempenho do processo. A relação C:N é citada por diversos autores como um fator benéfico da adição de compostos lignocelulósicos. Contudo neste trabalho não houve melhoria satisfatória nos valores de C:N. O fato das partículas de RPG servirem como meio suporte para aderência dos microrganismos pode ter sido mais importante para o melhor desempenho da co-digestão.

6 CONCLUSÕES

- Ao avaliar as condições estudadas no ensaio do potencial bioquímico de metano – BMP, a análise fatorial indicou que os fatores proporção I:S de 1:1, teor de sólidos da mistura $STV_{mist.}$ e substrato RRU, resultaram em maiores produções acumuladas de metano. O Tratamento A1, referente a estas condições, resultou em maior produção e diferiu dos demais, com volume acumulado de 1082 NmL de CH_4 e produção específica de metano de 159 $NmLCH_4 gSTV^{-1}$, atingindo um valor máximo de 71% de CH_4 ;
- No experimento de digestão anaeróbia em escala piloto, destaca-se a dificuldade obtida na manutenção do equilíbrio do processo, nas condições estudadas. Os problemas de estabilidade verificados, estão relacionados às características do RRU, como elevada quantidade de matéria orgânica e geração de AGV;
- O monitoramento dos parâmetros de controle e de desempenho, sugeriu que a co-digestão apresentou benefícios no que diz respeito à estabilidade e eficiência do processo. Ao substituir 20% da COV de resíduo alimentar por RPG, houve maior rendimento na produção de metano e um atraso na acidificação do sistema, pois aconteceu com uma COV mais elevada;
- Na fase II-C, com COV mantida em $0,24 kgSTV m^{-3}d^{-1}$ houve remoção média para o Reator A de 36% de STV e não houve eficiência na remoção de DQO total e ST. A produção de biogás e metano também foi prejudicada, com média de $17 L d^{-1}$ e 43% de CH_4 . Provavelmente, a rápida acidificação prejudicou as fases posteriores (acetogênese e metanogênese). Por sua vez, o Reator B apresentou nesta fase em média 73% de remoção de STV, produção de $86 L d^{-1}$ de biogás e 67% de CH_4 ;
- As imagens de MEV das partículas de RPG, indicaram que estas serviram como meio suporte aos microrganismos, os quais se fixaram de diferentes formas ao substrato, formando biofilmes com diversificados microrganismos;
- A análise da comunidade microbiana (bactérias e arqueas) presente nos reatores, indicou que houve diferença na diversidade e abundância dos microrganismos presentes. O filo de bactérias *Bacteroidota*, capaz de degradar celulose e hemicelulose, se desenvolveu em maior abundância com o aumento da quantidade de RPG adicionado ao reator. Já o filo *Firmicutes*, que pode

metabolizar uma variedade de substratos, foi mais representativo nas amostras com maior volume de RRU adicionado;

- Entre os gêneros de arqueas encontrados, a maioria caracterizou-se por ser metanogênica hidrogenotrófica (*Methanospirillum*, *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e *Methanoculleus*), provavelmente devido à elevadas concentrações de H₂ no meio. Apenas um gênero de metanogênica acetoclástica (*Methanotherix*) esteve presente em abundância nos reatores;
- Os ensaios de ecotoxicidade indicaram que as amostras do Reator A Fase II-C e Reator B Fase II-F apresentaram a mesma toxicidade aos organismos teste *Daphnia Magna* e *Artemia Salina*. Já a amostra do Reator B Fase II-C, apresentou menor toxicidade em comparação com as demais.

7 RECOMENDAÇÕES

- Aplicar outras metodologias para inoculação e partida dos reatores;
- Investigar o uso do efluente decantado para diluição dos resíduos e incremento de alcalinidade no afluente;
- Analisar a influência de outros inóculos, como rúmen bovino, dejetos bovino e suíno para a digestão anaeróbia do RRU e sua co-digestão com RPG;
- Avaliação do potencial agronômico do lodo digerido para uso como biofertilizante no solo.

BIBLIOGRAFIA

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 16530 - Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com Artemia sp. (Crustacea, Brachiopoda)**, Rio de Janeiro, 2016a.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12713 - Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com Daphnia spp (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro, 2016b.
- ABRELPE. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2020**. São Paulo: ABRELPE, 2020.
- ALKAYA, E., ERGUDER, T. H., DEMIRER, G. N., Effect of operational parameters on anaerobic co-digestion of dairy cattle manure and agricultural residues: a case study for the Kahramanmaraşregion in Turkey. **Engineering in Life Sciences**, v. 10, p. 552–559, 2010.
- ALVES, I. R. F. S. **Análise experimental do potencial de geração de biogás em resíduos sólidos urbanos**. 2008. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife, 2008.
- AMIN, F. R., KHALID, H., ZHANG, H., RAHMAN, S. U, ZHANG, R., LIU, G., & CHEN, C. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **AMB Express**, v. 7, ed. 1, 2017.
- AMORIM, V.P.P. **Comissionamento e produção de biogás a partir de vários resíduos**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Recife, 2012.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J.L.; GUWY, A.J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J.B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science & Technology**, v.59. n.5, p. 927-934, 2009.
- ANEEL. **Resolução Normativa nº 687 de 24 de novembro de 2015**. Altera a Resolução Normativa nº 482, de 17 de abril de 2012, e os Módulos 1 e 3 dos Procedimentos de Distribuição – PRODIST.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington, DC: APHA, 2012.
- BARCELOS, B. R. **Avaliação de diferentes inóculos na digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos orgânicos**. 2009. 90f. Dissertação (Mestrado do Programa de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Universidade de Brasília - UnB. 2009.
- BI, S., QIAO, W., XIONG, L., RICCI, M., ADANI, F., & DONG, R. Effects of organic loading rate on anaerobic digestion of chicken manure under mesophilic and thermophilic conditions. **Renewable Energy**, v. 139, p. 242-250, 2019.

BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., BEN CHEIKH, R., HAMDY, M. Bioreactors performance used in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: review. **Process Biochem.** v.40, p. 989–995. 2005.

BRASIL. **Lei n. 12.305, de 02 de agosto de 2010.** Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: **Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos Urbanos – 2019.** Brasília: SNS/MDR, 2020. 244 p.

BREUSCH, T. S; PAGAN, A. R. A Simple Test for Heteroscedasticity and Random Coefficient Variation, **Econometrica**, Vol. 47, N. 5, p. 1287-1294. 1979.

BRIONES, A.; RASKIN, L. Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability. **Current Opinion in Biotechnology**, vol. 14, p. 270-276, 2003.

BROWN, D.; LI, Y. Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. **Bioresource Technology**, v.127, p. 275–280. 2013.

BROWNE, J.D.; MURPHY, J.D. The impact of increasing organic loading in two phase digestion of food waste, **Renewable Energy**, v.71, p. 69-76, 2014.

CAMPOS, J. R. (Coor.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo.** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), 435p. 1999.

CASSINI, S. T. (Coord.). **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do Biogás.** Rio de Janeiro: ABES/Rima, 2003. 210 p.

CHEN, Y.; ZHU, R.; JIANG, Q.; SUN, T.; LI, M.; SHI, J.; CHAI, H.; GU, L.; AI, H.; HE Q. Effects of green waste participation on the co-digestion of residual sludge and kitchen waste: A preliminary study. **Science of the Total Environment**, v.671, p. 838-849, 2019.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Reatores Anaeróbios.** v. 5. 2 ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. 379 p.

CHYNOWETH, D.P., TURICK, C.E., OWENS, J.M., JERGER, D.E., PECK, M.W., Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 5, p. 95–111, 1993.

CROCE, Serena et al. Anaerobic digestion of straw and corn stover: The effect of biological process optimization and pre-treatment on total bio-methane yield and energy performance. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 8, p.1289-1304, 2016.

DAVID, A.; GOVIL, T.; TRIPATHI, A. K.; MCGEARY, J.; FARRAR, K.; SANI, R. K. Thermophilic Anaerobic Digestion: Enhanced and Sustainable Methane Production from Co-Digestion of Food and Lignocellulosic Wastes. **Energies**, v. 11, p. 1-13, 2018.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: An introduction**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O.E. Volatile Acids by Direct Titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, v.33, p.356-365, 1961.

DURBIN, J.; WATSON G. S. Testing for serial correlation in least squares regression I. **Biometrika**, London, v.37, n.3/4, p.409-428, 1950.

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

EL-MASHAD, H. M.; ZHANG, R. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4021-4028, 2010.

EPE. Balanço Energético Nacional 2020. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2020>

ESPOSITO, G; FRUNZO L; GIORDANO, A; LIOTTA, F; PANICO, A. Anaerobic codigestion of organic wastes. **Reviews In Environmental Science And Bio/technology**, v. 11, n. 4, p.325-341, 5 abr. 2012.

FORSTER-CARNEIRO, T.; PÉREZ, M.; ROMERO, L. I. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 15, p. 6994-7002, 2008.

FRIGO, K. D. A.; FEIDEN, A.; GALANT, N. B.; SANTOS, R. F.; MARI, A. G.; FRIGO, E. P. Biodigestores: seus modelos e aplicações. **Acta Iguazu**, v. 4, n. 1, p. 57-67, 2015.

GAGLIANO, M.; ISMAIL, S.; STAMS, A.; PLUGGE, C.; TEMMINK, H.; VAN LIER, J. Biofilm formation and granule properties in anaerobic digestion at high salinity. **Water Research**, v.121, p. 61-71, 2017.

GANESH, R.; TORRIJOS, M.; SOUSBIE, P.; STEYER, J. P.; LUGARDON, A. DELGENES, J. P. Anaerobic co-digestion of solid waste: effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilised organic matter. **Bioresource Technology**, v.130, p.559-569, 2013.

GARCIA, J.L., PATEL, B.K.C., OLLIVIER, B. Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic archaea. *Anaerobe*, v. 6, p. 205-226, 2000.

GERARDI, M. H. The microbiology of anaerobic digesters. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2003.

GRIGATTI, M.; CIAVATTA, C.; GESSA, C. Evolution of organic matter from sewage sludge and garden trimming during composting. **Bioresource Technology**. v. 91 n. 2, p. 163–169, 2004.

GUERI, M. V. D. **Avaliação do processo de digestão anaeróbia de resíduos alimentares em reatores batelada e semi-contínuo**. 2017. 82 f. Dissertação (Mestrado em Bioenergia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE. Cascavel, 2017.

GUERI, M. V. D.; SOUZA, S. N. M.; KUCZMAN, O.; SHIRMER, W. N.; BURATTO, W. G.; RIBEIRO, C. B.; BESINELLA, G. B. Digestão anaeróbia de resíduos alimentares utilizando ensaios BMP. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 3, n. 1, p. 08-16, 2018.

GUO, X.; WANG, C.; SUN, F.; ZHU, W.; WU, W. A comparison of microbial characteristics between the thermophilic and mesophilic anaerobic digesters exposed to elevated food waste loadings. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 420–428, 2014.

HAIDER, M.R.; ZESHAN; YOUSAF, S.; MALIK, R.N.; VISVANATHAN, C. Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production, **Bioresource technology**, v.190, p. 451-457, 2015.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentration in Toxicity Bioassays. **Environmental Science & Technology**, Easton, v.11, n.7, 1977, p.714-719.

HANSEN, T. L., SCHMIDT, J. E., ANGELIDAKI, I., MARCA, E., JANSEN, J. C., MOSBÆK, H. & CHRISTENSEN, T. H. Measurement of methane potentials of solid organic waste. **Waste Management**, v. 24, p. 393–400, 2004.

HARTMANN, H.; AHRING, B. K. Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure. **Water Research**. v. 39, p. 1543–1552. 2005.

HE, M.; SUN, Y.; ZOU, D.; YUAN, H.; ZHU, B.; LI, X. YUNZHI, P. Influence of temperature on hydrolysis acidification of food waste, **Procedia Environmental Sciences**, v.16, p. 85-94, 2012.

HE, Q.; LI, L.; ZHAO, X.; QU, L.; WU, D.; PENG, X. Investigation of foaming causes in threemesophilic food waste digesters: reactor performance and microbial analysis. **Scientific Reports**, v.7, p.1-10, 2017.

HELENAS, J. K. **Biodigestão anaeróbia de resíduos alimentares visando a produção de metano**. Dissertação (mestrado em engenharia civil). 2019. 89 f. Universidade Estadual de Londrina – UEL. Londrina, 2019.

HOLLIGER, C., ALVES, M., ANDRADE, D., ANGELIDAKI, I., ASTALS, S., BAIER, U., BOUGRIER, C., et al., Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science Technology**, v. 74, p. 2515–2522, 2016.

HU, Y., HAO, X., WANG, J., CAO, Y. Enhancing anaerobic digestion of lignocellulosic materials in excess sludge by bioaugmentation and pre-treatment. **Waste Management**. v.49, p. 55–63, 2016.

INDREN, M.; BIRZER, C. H.; KIDD, S. P.; HALL, T.; MEDWELL P. R.; Effects of biochar parent material and microbial pre-loading in biochar-amended high-solids anaerobic digestion. **Bioresource Technology**. v. 298, 2020.

IPCC 2014. Intergovernmental Panel on Climate Change, Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change, Contribution of Working Groups III o the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Chapter 10 – Industry.

JAGADABHI, P. S.; LEHTOMÄKI A.; RINTALA J. Co-digestion of grass silage and cow manure in a cstr by re-circulation of alkali treated solids of the digestate, **Environmental Technology**, v. 29,. N.10, p.1085-1093, 2008.

JORDÃO, E.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ª ed., Rio de Janeiro: ABES. 2005. 906 p.

KIM, M., KIM, B., NAM, K., CHOI, Y. Effect of pretreatment solutions and conditions on decomposition and anaerobic digestion of lignocellulosic biomass in rice straw. **Biochemical Engineering Journal**, v. 140, p. 108-114, 2018.

KRISHANIA, M.; VIJAY, V. K.; CHANDRA R. Methane fermentation and kinetics of wheat straw pretreated substrates co-digested with cattle manure in batch assay. **Energy**, v.57, p.359-367, 2013.

KUCZMAN, O. GUERI, M.V.D. DE SOUZA, S.N.M. SCHIRMER, W.N. ALVES, H.J. SECCO, D. BURATTO, W.G. RIBEIRO, C.B. HERNANDES, F.B. Food waste anaerobic digestion of a popular restaurant in Southern Brazil, **Journal of Cleaner Production**, v.196, p. 382-389, 2018.

LABATUT, R. A.; ANGENENT, L. T.; SCOTT, N. R. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. **Bioresource Technology**, v.102, p.2255–2264, 2011.

LAY, J. J.; LI, Y.Y.; NOIKE, T.; ENDO, J.; ISHIMOTO, S. Analysis of environmental factors affecting methane production from high-solids organic waste. **Water Science and Technology**, v. 36, n. 6 – 7, p. 493 – 500, 1997.

LECLERC, M.; CÉLINE, D.; RENÉ, M.; JEAN-JACQUES, G. Single strand conformation polymorphism monitoring of 16S rDNA Archaea during start-up of an anaerobic digester. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 34, n. 3, p. 213-220, 2001.

LEITE, W.; MAFFAZZIOLI, E.; GUIMARÃES, L.; MAGO, A. D.; BELLI FILHO, P. Análise comparativa dos efeitos da carga orgânica e do tempo de detenção hidráulica na digestão anaeróbia mesofílica de lodo adensado de estação de tratamento de esgoto. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, p. 581–588, 2015.

LI, L.; HE, Q.; WEI, Y.; HE, Q.; PENG, X. Early warning indicators for monitoring the process failure of anaerobic digestion system of food waste, **Bioresource Technology**, v.171, p. 491-494, 2014.

LI, L.; HE, Q.; MA, Y.; WANG, X.; PENG, X. Dynamics of microbial community in a mesophilic anaerobic digester treating food waste: Relationship between community structure and process stability. **Bioresource Technology**, v. 189, p. 113–120, 2015.

LI, Y.; JIN, Y.; LI, J.; LI, H.; YU, Z.; NIE, Y. Effects of thermal pretreatment on degradation kinetics of organics during kitchen waste anaerobic digestion. **Energy**, v.118, p.377-386, 2017.

LI, L.; PENG, X.; WANG, X.; WU, D. Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 20–28, 2018.

LIM, J., CHIAM, J., WANG, J. Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 132–138. 2014.

LIU, G.; ZHANG, R; EI-MASHAD, H. M; DONG, R. Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 21, p.5103-5108, 2009.

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.05, p.966–977, 2011.

MAGALHÃES, G. V. V. **Avaliação da biodigestão anaeróbia de resíduos orgânicos: ensaios de potencial bioquímico de metano (BMP) e projeto piloto de um biodigestor em escala real**. 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil). Universidade Federal do Ceará – UFC. Fortaleza, 2016.

MALINOWSKY, C. **Tratamento de resíduos sólidos orgânicos da UFSC através de biodigestor anaeróbio**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). 2016. 121 f. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, 2016.

MARTINS, A. S. **Digestão anaeróbia de resíduos alimentares: efeito da carga orgânica e da adição de elementos traço sobre a produção de metano e a diversidade microbiana**. 2018. 156f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

MATA-ALVAREZ, J. **Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes**. IWA Publishing Press, Cornwall, UK, p.302–320. 2003.

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X.; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540-555, 2015.

MCCARTY, P.L., 1964. *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals*. Part 1. Public Works: NY, p. 107.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. Tradução: Ivanildo Hespanhol, Jose Carlos Mierzwa. Bookman. 5 ed. 2016.

MICOLUCCI, F.; GOTTARDO, M.; PAVAN, P.; CAVINATO, C.; BOLZONELLA, D. Pilot scale comparison of single and double-stage thermophilic anaerobic digestion of food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 1376–1385, 2018.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA - MME. **Programa de incentivo as fontes alternativas de energia elétrica**. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/programas/proinfra/menu/programa/tecnologias_contempladas.html>. Acesso em: 21 nov. 2018.

MISI, S.N., FORSTER, C.F. Batch co-digestion of multi-components agro-wastes. *Bioresource Technology*, v.80, p.19–28. 2001.

MOLINUEVO-SALCES, B.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; GÓMEZ, X. GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C.; MORÁN, A. Vegetable processing wastes addition to improve swine manure anaerobic digestion: Evaluation in terms of methane yield and SEM characterization. **Applied Energy**, v. 91, p. 36–42, 2012.

NETTMANN, E.; BERGMANN, I.; MUNDT, K.; LINKE, B.; KLOCKE, M. Archaea diversity within a commercial biogas plant utilizing herbal biomass determined by 16S rDNA and mcrA analysis. *Journal of Applied Microbiology*, v.105, p. 1835–1850. 2008.

OLIVEIRA, L. R. G. SANTOS FILHO, D. A.; VASCONCELOS, K. C.; LUCENA, T. V.; JUCÁ, J. F. T.; SANTOS, A. F. M. S. Methanization potential of anaerobic biodigestion of solid food waste. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2018, vol.22, n.1, p.69-73.

OWEN, W.F; STUCKEV, D. C.; HEALV, JR. J.B.; YOUNG, L.Y.; McCARTY, P. L. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. **Water Research**, v. 13, p. 485-492, 1979.

PANG, Y. Z., Liu, Y. P., Li, X. J., Wang, K. S., and Yuan, H. R. Improving Biodegradability and Biogas Production of Corn Stover through Sodium Hydroxide Solid State Pretreatment. **Energy & Fuels**, v. 22, p. 2761-2766, 2008.

PANIGRAHI, S.; SHARMA, H. B.; DUBEY, B. K. Anaerobic co-digestion of food waste with pretreated yard waste: A comparative study of methane production, kinetic modeling and energy balance. **Journal of Cleaner Production**, v. 243, p. 1-9, 2020.

PARK, S.; LI, Y. Evaluation of methane production and macronutrient degradation in the anaerobic co-digestion of algae biomass residue and lipid waste. **Bioresource technology**, v. 111, p. 42-48, 2012.

PARKIN, G. F.; OWEN, W. F. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. **Journal of Environmental Engineering**. Vol.112 (5), p.867-920. 1986.

PERIN, J. K. H.; BORTH, P. L. B.; TORRECILHAS, A. R.; CUNHA, L. S.; KURODA, E. K.; FERNANDES, F. Optimization of methane production parameters during

anaerobic co-digestion of food waste and garden waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 1-7, 2020.

PINTO, R. O. **Avaliação da digestão anaeróbia na bioestabilização de resíduos sólidos orgânicos, lodos de tanques sépticos, dejetos suínos e lixiviado**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2006.

PRABHU, M. S.; MUTNURI, S. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste. **Waste Management & Research**, v. 34, n.4, p.307–315, 2016.

PRAPINAGSORN, W. SITTIJUNDA, S. REUNGSANG, A. Co-digestion of napier grass and its silage with cow dung for bio-hydrogen and methane production by. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 28, p. 664–676, 2013.

QDAIS, H. A.; HANI, K. B.; SHATNAWI, N. Modeling and optimization of biogas production from a waste digester using artificial neural network and genetic algorithm. **Resource, Conservation and Recycling**, v. 54, p- 359-363, 2010.

R Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. URL <https://www.R-project.org/>.

RATANATAMSKUL, C.; WATTANAYOMMANAPORN, O.; YAMAMOTO, K. An on-site prototype two-stage anaerobic digester for co-digester of food waste and sewage sludge for biogas production from high-rise building. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 102, p. 143-148, 2015.

RAPOSO, A.; DE LA RUBIA, M. A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and sustainable energy reviews**. v.16, p.861-877, 2011.

REIS, A. S. **Tratamento de resíduos sólidos orgânicos em biodigestor anaeróbio**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Caruaru, 2012.

REN, Y., YU, M., WU, C., WANG, Q., GAO, M., HUANG, Q., LIU, Y. A comprehensive review on food waste anaerobic digestion: research updates and tendencies. **Bioresource Technology**, v. 247, pp. 1069–1076, 2018.

RIBAS, M. M.F.; MORAES, E.M.; FORESTI, E. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade e bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbicos. **Engenharia Sanitária Ambiental**. vol.12, n. 3, p. 240-246, 2007.

RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, v.58, n.5, p. 406-411, 1986.

SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; TRAVIESO, L.; MARTÍN, A.; COLMENAREJO, M.F. Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a

secondary up flow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 3, p. 335-344, 2005.

SANTOS, T. N. **Biodigestão anaeróbia de palma forrageira, vinhaça e resíduos alimentares para produção de biogás**. 2017. 107 p. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares - Fontes Renováveis de Energia). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife, 2017.

SHEN, S., NGES, I. A., YUN, J.; LIU, J. Pre-treatments for enhanced biochemical methane potential of bamboo waste. **Chemical Engineering Journal**, v. 240, p. 253–259, 2014.

SHEN, F., LI, H., WU, X., WANG, Y., ZHANG, Q. Effect of organic loading rate on anaerobic co-digestion of rice straw and pig manure with or without biological pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 155–162. 2018.

SCHMEIER, N. P. **Avaliação da operação de biodigestor no processo de digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos**. 2017, 94f. Dissertação (mestrado em engenharia civil). Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, São Leopoldo, 2017.

SGORLON, J. G.; RIZK, M. C.; BERGAMASCO, R.; TAVARES, C. R. G. Avaliação da DQO e da relação C:N obtidas no tratamento anaeróbio de resíduos fruti-hortícolas. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, n. 4, p. 421-421, 2011.

SILVA, M.C.P. **Avaliação de lodo anaeróbio e dejetos bovinos como potencial inóculo para partida de digestores anaeróbios de resíduos alimentares**. 2014. 115 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, 2014.

SILVA, G. A.; MORAIS JR, J. A.; ROCHA, E. R.. Proposta de procedimento operacional padrão para o teste do Potencial Bioquímico do Metano aplicado a resíduos sólidos urbanos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 11-16, 2016.

SILVA, E. S.; OLIVEIRA, G. S. Biodigestor: uma proposta de aproveitamento do lixo orgânico no município de santarém. **Revista Científica Semana Acadêmica**. Fortaleza, ano MMXIV, Nº. 000055. 2014.

SILVA, J. A.; SILVA, G. H. R; SARTI, A. Tratamento de esgoto sanitário de baixa carga utilizando reator compartimentado anaeróbio/aeróbio em escala piloto. **Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, 2017.

SINISCALCHI, L. A. B.; VALE, I. C. C.; ANTUNES, J. D.; CHERNICHARO, C. A. L; ARAÚJO, J. C. Enriquecimento de microrganismos metanotróficos a partir de lodo de reator UASB tratando esgotos domésticos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n.1, p.109-122, 2016.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, p. 591-611, 1965.

SHUBEITA, F. M. **Análise e Modelagem de Sistema de Digestão Anaeróbia Monitorado para Previsão e Busca de Eficiência de Operação**. 2016. 124 p. Tese (Doutorado em Ciência da Computação). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUC. Porto Alegre, 2016.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. 1 ed. Tennessee: Archaea Press, 394 p., 1996.

SRISOWMEYA, G; CHAKRAVARTHY, M.; DEVI, G. N. Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 119, 2020.

STRAZZERA, G.; BATTISTA, F.; GARCIA, N.H.; FRISON, N.; BOLZONELLA, D. Volatile fatty acids production from food wastes for biorefinery platforms: A review. **Journal of Environmental Management**, v.226, p.78–288, 2018.

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, p.1939–1948, 2014.

TCHOBANOGLIOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. **Integrated Solid Waste Management: Engineering Principles and Management Issues**. New York: Mcgraw- Hill, 1993. 978p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 174 p.,1995.

TIAN, S.; ZHAO, R.; CHEN, Z. Review of the pretreatment and bioconversion of lignocellulosic biomass from wheat straw materials. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p.483-489, 2018.

TOLMASQUIM, M. T. Energia Renovável: Hidráulica, Biomassa, Eólica, Solar, Oceânica. In: TOLMASQUIM, M. T. (coord.). **Empresa de Pesquisa Energética - EPE**. Rio de Janeiro, 2016. 452p.

TORRECILHAS, A. R. **Co-digestão anaeróbia de resíduos de restaurante e de poda de grama visando a produção de metano**. 2019. 85f.Dissertação (mestrado em engenharia civil). Universidade Estadual de Londrina – UEL. Londrina, 2019.

UMA, S., THALLA, A. K., DEVATHA, C. P. Co-digestion of Food Waste and Switchgrass for Biogas Potential: Effects of Process Parameters. **Waste and Biomass Valorization**. v. 11, p. 827-839, 2020.

VDI 4630 - Fermentation of organic materials – Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. VDI- Handbuch Energietechnik.

WOON, K. S.; LO, I. M. C. A proposed framework of food waste collection and recycling for renewable biogas fuel production in Honk Kong. **Waste Management**, v. 47, p. 3-10, 2016.

WU, W.; CHEN, Y.; FAISAL, S.; KHAN, A.; CHEN, Z.; LING, Z.; LIU, P.; LI, X. Improving methane production in cow dung and corn straw co-fermentation systems via enhanced degradation of cellulose by cabbage addition. **Science Reports**, v. 6, 2016.

XIA, T., HUANG, H., WU, G., SUN, E., JIN, X., TANG, W. The characteristic changes of rice straw fibers in anaerobic digestion and its effect on rice straw-reinforced composites. **Industrial Crops and Products**, v.121, p.73-79, 2018.

XIAO, B., SUN, X.F., SUN, R.C., Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. **Polym. Degrad. Stab.** V.74, p.307–319, 2001.

YE, M. LIU, J. MA, C. LI, Y.-Y. ZOU, P. QIAN, G. XU, Z. Improving the stability and efficiency of anaerobic digestion of food waste using additives: a critical review, **Journal of Cleaner Production**, v. 192, p. 316-326, 2018.

YI, J., DONG, B., JIN, J. Effect of increasing total solids contents on anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: performance and microbial characteristics analysis. **PLoS ONE 9**, e102548, v. 09, p. 01-10, 2014.

YIN, J., YU, X., ZHANG, Y., SHEN, D., WANG, M., LONG, Y.; CHEN, T. Enhancement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste: Effect of redox potential and inoculum. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 996–1003, 2016.

YONG, Z.; DONG, Y.; ZHANG, X.; TAN, T. Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. **Renewable Energy**, v. 78, p. 527-530, 2015.

YU, Q., LIU, R., LI, K., MA, R. A review of crop straw pretreatment methods for biogas production by anaerobic digestion in China. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, June 2019, p. 51-58, 2019.

YUE, Z., CHEN, R., YANG, F., MACLELLAN, J., MARSH, T., LIU, Y., LIAO, W. Effects of dairy manure and corn stover co-digestion on anaerobic microbes and corresponding digestion performance. *Bioresource Technology*, v. 128, p. 65–71, 2013.

TARRENTO. G. E., MARTINES, J. C. Análise da implantação de biodigestores em pequenas propriedades rurais, dentro do contexto da produção limpa. In: SIMPEP, 13. 2006. Bauru, SP, Brasil.

ZAMANZADEH, M., HAGEN, L.H., SVENSSON, K., LINJORDET, R., HORN, S.J. Anaerobic digestion of food waste-Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. **Water Research**. v.96, p.246-254. 2016.

ZANDONADI, H. S.; MAURÍCIO, A. A. Avaliação do índice de resto-ingesta, de refeições, consumidas por trabalhadores da construção civil no município de Cuiabá, MT. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.26, n. 206/207, p. 64-70, 2012.

ZANETTE, A. L. **Potencial do aproveitamento energético do biogás no Brasil**. 2009. 105 f. Dissertação (Mestre em Planejamento Energético). Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, 2009.

ZHANG, R.; EL-MASHAD, H.M.; HARTMANN, K.; WANG, F.; LIU, G.; CHOATE, C. GAMBLE, P. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v.98, p.929–935, 2007.

ZHANG, C.; SU, H.; B. J.; TAN, T. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 383-392, 2014.

ZHENG, Mingxia et al. Enhancing anaerobic biogasification of corn stover through wet state NaOH pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 21, p.5140-5145, 2009.

ZHU, J.; WAN, C.; LI, Y. Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 19, p.7523-7528, 2010.