

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Pesquisas Hidráulicas
Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental

MARIA TERESA DE JESUS CAMELO GUEDES

AVALIAÇÃO DA GERAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DA CO-DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE CASCA DE LARANJA E GLICEROL BRUTO

PORTO ALEGRE

2023

Maria Teresa de Jesus Camelo Guedes

AVALIAÇÃO DA GERAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DA CO-DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE CASCA DE LARANJA E GLICEROL BRUTO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito à obtenção do grau de mestra.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina de Almeida Silva

PORTO ALEGRE

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Guedes, Maria Teresa de Jesus Camelo
Avaliação da geração de biogás através da
co-digestão anaeróbia de resíduos de casca de laranja
e glicerol bruto / Maria Teresa de Jesus Camelo
Guedes. -- 2023.
120 f.
Orientadora: Maria Cristina de Almeida Silva.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas,
Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e
Saneamento Ambiental, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Biogás. 2. Digestão anaeróbia. 3. Resíduos
agroindustriais. I. Silva, Maria Cristina de Almeida,
orient. II. Título.

MARIA TERESA DE JESUS CAMELO GUEDES

AVALIAÇÃO DA GERAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DA CO-DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE CASCA DE LARANJA E GLICEROL BRUTO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito à obtenção do grau de mestra.

Aprovado em: Porto Alegre, 12 de maio de 2023.

Profa. Dra. Maria Cristina de Almeida Silva - IPH/UFRGS

Orientadora

Prof. Dr. Antônio Domingues Benetti - IPH/UFRGS

Examinador

Prof. Dr. Odorico Konrad - UNIVATES

Examinador

Prof. Dr. José Alberto Domingues Rodrigues – Inst. Mauá de Tecnologia

Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora por estarem comigo em todos os momentos e me permitirem finalizar essa etapa tão importante na minha vida.

À minha mãe, Samara Martins Camelo, por todo amor, incentivo, dedicação, zelo e por não medir esforços para me ver feliz. Ao meu irmão, João Pedro Camelo Guedes, por torcer por mim, ser meu amigo e dividir todos os momentos comigo, sejam de alegrias ou tristezas. Ao meu pai, Flaviano Xavier Guedes (*in memoriam*). Sei que estaria orgulhoso com a finalização dessa etapa especial para mim.

Aos meus avós, tios e primos por torcerem por minha felicidade e vibrarem com minhas conquistas. Agradeço por entenderem minha ausência em momentos importantes em família.

Agradeço à minha orientadora, Maria Cristina de Almeida Silva, por ter sido tão acolhedora, desde o nosso primeiro contato, por todos os ensinamentos e disponibilidade. Sou extremamente grata por ter tido sua ajuda e companhia nas nossas idas ao laboratório, em finais de semana e feriados, e pela confiança que depositou para que eu executasse esse trabalho.

Agradeço de modo especial à Marcos e Vinícius, meus amigos da Pós, e à Clara, bolsista de iniciação científica, pelas diversas vezes que me ajudaram nas atividades em laboratório e nas saídas de campo. A ajuda de vocês foi fundamental.

Aos amigos que conheci no IPH, Raíssa, Camila, Yana, Marcos, Lucas, Lígia, Ian e Naiara, obrigada pela amizade, conversas, almoços no RU e saídas por Porto Alegre. Vocês tornaram minha rotina mais leve.

Aos meus amigos de Campina Grande, sou grata pela amizade e torcida de cada um. Sei que posso contar com vocês, mesmo de longe.

Agradeço ao prof. Odorico Konrad, por abrir as portas do CPETS para realização dos testes de PBB e PBM. Deixo, também, meu agradecimento à equipe do CPETS, em especial, à Juliana e à Munique, pela ajuda durante a realização do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram para realização deste trabalho.

RESUMO

GUEDES, Maria Teresa de Jesus Camelo. Avaliação da geração de biogás através da co-digestão anaeróbia de resíduos de casca de laranja e glicerol bruto. 2023. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) — Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande Sul, Porto Alegre, 2023.

Neste trabalho, foram utilizados resíduos de casca de laranja (RCL) e glicerol bruto (GB), proveniente do processo de geração de biodiesel, em processo de digestão anaeróbia (DA), uma vez que o Brasil se destaca como o maior produtor de laranjas e de biodiesel do mundo. Ambos os resíduos têm potencial para serem utilizados na DA, entretanto, o composto D-limoneno, que está presente nos RCL, é considerado um inibidor para o processo anaeróbio. Para minimizar este efeito inibitório, pode-se utilizar os dois resíduos, em um processo de co-digestão anaeróbia em dois estágios. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a geração de biogás através da co-digestão anaeróbia de RCL e de GB. Para isto, o estudo experimental foi realizado em duas etapas principais. Na Etapa 1, foi determinado o Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e do Potencial Bioquímico do Metano (PBM) dos resíduos separadamente e mixados, em sistema de estágio único (Fase metanogênica) e em sistema duplo estágio (Fase acidogênica e metanogênica), em batelada, seguindo a norma alemã VDI 4630. Na Etapa 2, foi analisado o emprego da etapa acidogênica para eliminação do pré-tratamento do D-limoneno, bem como foi avaliada a estabilidade da co-digestão anaeróbia de RCL e GB em sistema de estágio único (M1), e em sistema de dois estágios, formado por reator acidogênico (AC) e metanogênico (M2). Os sistemas foram operados por 60 dias em temperatura mesofílica (35 °C) com aumento da carga orgânica volumétrica (COV). A composição física e química dos conteúdos dos reatores e do biogás foram determinadas para avaliar a estabilidade do processo. Na Etapa 1 do estudo, ao utilizar os RCL, o valor de PBB encontrado foi igual a 284,7 m³ biogás. tonSV⁻¹, enquanto que o PBM foi de 160,5 m³ CH₄. tonSV⁻¹. Já para o GB, esses valores foram equivalentes a 544,2 m³ biogás. tonSV⁻¹ para o PBB e 344,8 m³ CH₄. tonSV⁻¹ para o PBM. Os resultados desses resíduos mixados foram equivalentes a 1.003,3 m³ biogás. tonSV⁻¹ para o PBB e 501,3 m³ CH₄. tonSV⁻¹, para o PBM. Os RCL e GB mixados obtiveram potenciais bioquímicos cerca de 250% e 210%, maiores em relação ao PBB e PBM dos RCL, e cerca de 80% e 45% maiores, respectivamente, em relação ao PBB e PBM do GB. Então, diante desses resultados, verificou-se que a co-digestão desses resíduos é promissora para geração de biogás e metano. Na Etapa 2, verificou-se baixos percentuais de hidrogênio no reator AC, entre 0-28,3%, enquanto que os reatores M1 e M2 apresentaram percentuais de metano entre 15-25%, na maior parte do tempo. Observou-se acúmulo de AGVs nos reatores M1 e M2, após aumento da COV, sendo atingidas concentrações de ácido acético que provocam redução considerável de produção de biogás, equivalentes a 20.560 mg/L no reator M1 e 52.270 mg/L, no reator M2. Além disso, verificou-se que a média das concentrações de alcalinidade obtidas nos reatores M1 e M2 foram cerca de 22.300 mg CaCO₃/L, valor superior à faixa recomendada. Houve instabilidade na co-digestão anaeróbia do sistema semi-contínuo, provavelmente potencializada pelo acúmulo de D-limoneno nos reatores, sendo verificado concentrações superiores a concentração mínima de inibição (0,0002%) para DA. Diante dos resultados da Etapa 2 do estudo, observou-se que a fermentação prévia não é o pré-tratamento mais indicado para reduzir o efeito inibidor do D-limoneno e potencializar a geração de biogás. Apesar disso, verificou-se que a co-digestão de RCL e GB é promissora e contribui para a gestão e tratamento desses resíduos agroindustriais.

Palavras-chave: Biogás; Co-digestão anaeróbia; D-limoneno; Potencial Bioquímico do Biogás; Potencial Bioquímico do Metano; Resíduos agroindustriais; Sistema Estágio Único; Sistema duplo estágio.

ABSTRACT

GUEDES, Maria Teresa de Jesus Camelo. Evaluation of biogas generation by anaerobic co-digestion of orange peel waste and crude glycerol. 2023. Master's thesis (Water Resources and Environmental Engineering) — Instituto de Pesquisas Hidráulicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2023.

In this work, orange peel waste (OPW) and crude glycerol (CG), from the biodiesel generation process, were used in anaerobic digestion (AD) process, since Brazil stands out as the largest producer of oranges and biodiesel in the world. Both wastes have potential to be used in AD, however, the compound D-limonene, which is present in OPW, is considered an inhibitor to the anaerobic process. To minimize this inhibitory effect, both wastes can be used in a two-stage anaerobic co-digestion process. Thus, this work aimed to evaluate the generation of biogas through the anaerobic co-digestion of OPW and CG. For this, the experimental study was carried out in two main stages. In Stage 1, the Biochemical Biogas Potential (BBP) and the Biochemical Methane Potential (BMP) of the wastes were determined separately and mixed, in a single-stage system (methanogenic phase) and in a two-stage system (acidogenic and methanogenic phase), in batch, following the German VDI 4630 standard. In Stage 2, the use of the acidogenic stage was analyzed to eliminate the pretreatment of D-limonene, as well as the stability of the anaerobic co-digestion of OPW and CG in a single-stage system (M1), and in a two-stage system, formed by acidogenic (AC) and methanogenic (M2) reactor. The systems were operated for 60 days at mesophilic temperature (35 °C) with increasing organic load rate (OLR). The physical and chemical composition of the reactor contents and biogas were determined to evaluate the stability of the process. In Stage 1 of the study, when using the OPW, the BBP value found was equal to 284.7 m³ biogas. tonSV⁻¹, while the BMP was 160.5 m³ CH₄. tonSV⁻¹. As for the GB, these values were equivalent to 544.2 m³ biogas. tonSV⁻¹ for the BBP and 344.8 m³ CH₄. tonSV⁻¹ for the BMP. The results of these mixed wastes were equivalent to 1,003.3 m³ biogas. tonSV⁻¹ for the BBP and 501.3 m³ CH₄. tonSV⁻¹, for the BMP. The mixed OPW and CG obtained biochemical potentials about 250% and 210%, higher compared to the BBP and BMP of the OPW, and about 80% and 45% higher, respectively, compared to the BBP and BMP of the CG. Then, in view of these results, it was verified that the co-digestion of these wastes is promising for the generation of biogas and methane. In Stage 2, there were low percentages of hydrogen in the AC reactor, between 0-28.3%, while reactors M1 and M2 showed percentages of methane between 15-25%, most of the time. It was observed accumulation of VFAs in reactors M1 and M2, after increasing the OLR, reaching concentrations of acetic acid that cause considerable reduction of biogas production, equivalent to 20,560 mg/L in reactor M1 and 52,270 mg/L in reactor M2. In addition, it was found that the average alkalinity concentrations obtained in reactors M1 and M2 were about 22,300 mg CaCO₃/L, higher than the recommended range. There was instability in the anaerobic co-digestion of the semi-continuous system, probably enhanced by the accumulation of D-limonene in the reactors, with concentrations higher than the minimum inhibition concentration (0.0002%) for AD. Given the results of Stage 2 of the study, it was observed that prior fermentation is not the most suitable pre-treatment to reduce the inhibitory effect of D-limonene and enhance the generation of biogas. Nevertheless, it was found that the co-digestion of OPW and CG is promising and contributes to the management and treatment of these agro-industrial wastes.

Keywords: Biogas; Anaerobic Co-digestion; D-limonene; Biochemical Biogas Potential; Biochemical Methane Potential; Agroindustrial wastes; Single-stage system; Two-stage system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rotas metabólicas da digestão anaeróbia	23
Figura 2: Estrutura química do D-limoneno	34
Figura 3: Diagrama esquemático do processo de hidrogênio-metano de dois estágios	41
Figura 4: RCL, GB e inóculo utilizados no estudo	48
Figura 5: Fluxograma do sistema experimental em batelada	49
Figura 6: Design experimental do sistema acidogênico em batelada.....	51
Figura 7: Biorreatores utilizados no experimento.....	52
Figura 8: Sistema experimental do Centro de Pesquisa em Energias e Tecnologias Sustentáveis (CPETS).	53
Figura 9: Sensor Advanced Gasmitter	54
Figura 10: Estágio acidogênico – Reator AC.....	56
Figura 11: Sistema metanogênico – M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio).....	57
Figura 12: Geração diária de biogás e metano e percentual de CH ₄ na amostra de biogás. ...	68
Figura 13: Produção acumulada de biogás e metano e porcentagem de metano nas amostras *. 70	
Figura 14: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator acidogênico (AC).	73
Figura 15: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator do sistema estágio único (M1)	74
Figura 16: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2).....	74
Figura 17: Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo	75
Figura 18: Volume acumulado de hidrogênio no reator AC ao longo do tempo	76
Figura 19: Percentuais de H ₂ e CH ₄ no reator AC ao longo do tempo	76
Figura 20: Produção acumulada de biogás e metano e porcentagem de metano nas amostras M1 e M2 *	77
Figura 21: Conteúdo de metano no biogás com relação ao tempo nos reatores M1 e M2.	78
Figura 22: Rendimento de hidrogênio do reator acidogênico (AC) com relação ao tempo....	79
Figura 23: Rendimento de metano para o reator M1 e M2 com relação ao tempo	80
Figura 24: Produtividade volumétrica do reator AC durante o experimento realizado.	81

Figura 25: Produtividade volumétrica dos reatores M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio) durante o experimento realizado.....	82
Figura 26: Produtividade volumétrica específica do reator acidogênico (AC) ao longo do tempo	83
Figura 27: Produtividade volumétrica específica dos reatores M1 e M2 ao longo do tempo.	83
Figura 28: pH e alcalinidade total do reator acidogênico (AC).	85
Figura 29: pH e da alcalinidade total no reator de estágio único (M1).....	86
Figura 30: pH e da alcalinidade total no reator duplo estágio (M2).....	86
Figura 31: Relação AI/AT para os reatores M1 e M2.....	88
Figura 32: Concentrações de AGVs no reator acidogênico (AC).....	89
Figura 33: Concentrações de AGVs no reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2).	90
Figura 34: Concentrações de AGVs no reator de estágio único (M1)	90
Figura 35: Concentrações de ST, STV e STF do reator acidogênico (AC) ao longo do tempo	92
Figura 36: Concentrações de ST, STV e STF do reator de estágio único (M1) ao longo do tempo	92
Figura 37: Concentrações de ST, STV e STF do reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2) ao longo do tempo	93
Figura 38: Concentrações de DQO dos reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo.....	94
Figura 39: DQO de entrada x DQO de saída no reator acidogênico (AC)	95
Figura 40: DQO de entrada x DQO de saída no reator de estágio único (M1).....	95
Figura 41: DQO de entrada x DQO de saída no reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2).....	96
Figura 42: Concentrações de NTK para os reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo	97
Figura 43: Percentuais de D-limoneno nos reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Delineamento das condições adotadas para os reatores AC e M1 no período do experimento.	56
Tabela 2: Caracterização físico-química dos substratos (RCL e GB) e inóculo	63
Tabela 3: Caracterização do inóculo e das amostras.	64
Tabela 4: Composição dos biorreatores.	64
Tabela 5: Valores de PBB, PBM e rendimentos de biogás e metano.	65
Tabela 6: Avaliação estatística dos volumes acumulados na produção de biogás e metano. .	71
Tabela 7: Comparação entre a recuperação total de energia no sistema de digestão anaeróbica de dois estágios e de estágio único	100

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Revisão da literatura relacionada a utilização de RCL e GB na digestão anaeróbia	45
Quadro 2: Parâmetros físicos e químicos utilizados na caracterização dos resíduos e inóculo do sistema experimental	49
Quadro 3: Periodicidade das amostragens realizadas nos experimentos propostos	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV – Ácidos Graxos Voláteis

AI – Alcalinidade Intermediária

AI/AT – Relação Alcalinidade Intermediária/Alcalinidade Total

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

AnSBR – Reator em batelada sequencial (*Anaerobic Sequencing Batch Reactor*)

AP – Alcalinidade Parcial

APHA – Associação Americana de Saúde Pública (*American Public Health Association*)

AT- Alcalinidade Total

C - Carbono

Ca – Cálcio

CH₄ - Metano

COV – Carga Orgânica Volumétrica

CO₂ – Dióxido de Carbono

CSTR – Reator de Mistura Completa (*Continuous Stirred Tank Reactor*)

Cu – Cobre

CPETS - Centro de Pesquisa em Energias e Tecnologias Sustentáveis (CPETS)

DA – Digestão Anaeróbia

DMAE - Departamento Municipal de Água e Esgotos

DQO – Demanda Química de Oxigênio

ETA - Estação de Tratamento de Água

ETE – Estação de Tratamento de Esgotos

Fe – Ferro

H₂ – Hidrogênio

H₂O – Água

H₂S – Sulfeto de Hidrogênio

IPH – Instituto de Pesquisas Hidráulicas

I/S – Relação Inóculo/Substrato

K – Potássio

kJ - Kilojoule

LADETEC – Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico

MME – Ministério de Minas e Energia

Mn - Manganês

Mg – Magnésio

N – Nitrogênio

NH₃ – Amônia

NO_x – Óxidos de Nitrogênio

MW - MegaWatts

Ni - Níquel

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

ODS – Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

ONU – Organização das Nações Unidas

PBB – Potencial Bioquímico do Biogás

PBM – Potencial Bioquímico do Metano

pH - Potencial Hidrogeniônico

RCL – Resíduos de Casca de Laranja

SO₂ – Dióxido de Enxofre

ST – Sólidos Totais

STF – Sólidos Totais Fixos

STV – Sólidos Totais Voláteis

TCD – Detector de Condutividade Térmica

TDH – Tempo de Detenção Hidráulico

UASB – Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*)

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VDI – Associação Alemã de Engenheiros (*Verein Deutscher Ingenieure*)

YH₂ - Rendimento Específico de Hidrogênio

YCH₄ - Rendimento Específico de Metano

Zn – Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral.....	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1 Combustíveis fósseis	19
3.2 Energias renováveis	20
3.3 Matriz energética brasileira.....	21
3.4 Biogás	22
3.5 Digestão anaeróbia.....	23
3.6 Fatores interferentes na atividade anaeróbia.....	25
3.6.1 Temperatura.....	25
3.6.2 Tempo de detenção hidráulico (TDH).....	26
3.6.3 Nutrientes	27
3.6.4 Resíduo utilizado	28
3.6.5 Alcalinidade e pH	31
3.6.6 Carga Orgânica Volumétrica (COV).....	32
3.6.7 Agitação.....	33
3.6.8 Presença de inibidores (Toxicidade).....	34
3.6.9 Ácidos graxos voláteis (AGVs).....	36
3.6.10 Inóculo	37
3.7 Tipos de reatores	38
3.8 Alternativas da digestão anaeróbia	39
3.8.1 Co-digestão anaeróbia	39
3.8.2 Digestão anaeróbia em 2 estágios.....	40

3.9	Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e Potencial Bioquímico do Metano (PBM)	42
3.9.1	Norma VDI 4630	43
3.10	Estado da arte.....	44
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
4.1	Resíduos (Casca de laranja e glicerol bruto) e inóculo.....	48
4.2	Testes em batelada em sistema de estágio único e duplo estágio.....	49
4.3	Sistema semi-contínuo formado por reatores de estágio único e duplo estágio .	54
4.3.1	Reator Acidogênico - AC	56
4.3.2	Reatores Metanogênicos – M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio)	57
4.4	Análises físicas e químicas.....	58
4.5	Composição e qualidade do biogás produzido	58
4.6	Normalização da produção de biogás e metano	59
4.7	Determinação do PBB e PBM.....	60
4.8	Detecção e quantificação de ácidos graxos voláteis (AGVs)	61
4.9	Avaliação da concentração de D-limoneno.....	61
4.10	Análise da eficiência energética nos reatores semi-contínuos.....	61
4.11	Análise estatística	62
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1	Caracterização física e química dos resíduos (RCL e GB) e inóculo	63
5.2	Etapa 1: Testes em batelada em sistema de estágio único e duplo estágio	63
5.2.1	PBB e PBM	65
5.2.1.1	Resíduos não fermentados.....	65
5.2.1.2	Resíduos fermentados	67
5.2.2	Produção de biogás e metano	67
5.2.3	Efeito da fermentação dos RCL e GB, individualmente e mixados, para produção de biogás e metano	70
5.3	Etapa 2: Sistema semi-contínuo formado por reatores de estágio único e duplo estágio.....	72

5.3.1	Produção de biogás.....	73
5.3.2	Produção de hidrogênio e metano.....	75
5.3.3	Rendimento de hidrogênio e metano	79
5.3.4	Produtividade volumétrica	81
5.3.5	Produtividade volumétrica específica.....	82
5.3.6	Análises físicas e químicas das amostras do sistema duplo-estágio	84
5.3.6.1	pH e alcalinidade	84
5.3.6.2	AGVs.....	88
5.3.6.3	Sólidos	91
5.3.6.4	DQO	94
5.3.6.5	NTK	96
5.3.6.5	D-Limoneno.....	97
5.3.7	Estabilidade operacional do sistema semi-contínuo.....	99
5.3.8	Avaliação da recuperação de energia do sistema semi-contínuo	100
6.	CONCLUSÕES	101
7.	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	102
	REFERÊNCIAS	103

1. INTRODUÇÃO

A matriz energética mundial é predominantemente composta por fontes não renováveis, provenientes de combustíveis fósseis (NGUYEN et al., 2020). Quando submetidos ao processo de combustão, os mesmos formam gases que, ao serem liberados para atmosfera, geram consequências e impactos para o meio ambiente, tais como mudanças climáticas, poluição, efeito estufa e aquecimento global (KHAN et al., 2017). Assim, em virtude desses impactos, a busca por tecnologias para a produção de energias renováveis é um dos grandes objetivos da sociedade nos dias atuais, de modo a promover a segurança ambiental e o desenvolvimento sustentável.

Dentre as energias provenientes de fontes renováveis, destacam-se os biocombustíveis, como o biogás (SRISOWMEYA et al., 2019; CAMARGO et al., 2021). Os biocombustíveis são formados através de um processo biológico, denominado digestão anaeróbia (DA), que ocorre em quatro fases principais (CHERNICHARO, 2016), capaz de reaproveitar e de transformar resíduos em produtos valiosos (biogás e biofertilizante). Esses gases podem ser gerados a partir da utilização de vários tipos de substratos, como efluentes domésticos e industriais, resíduos agroindustriais e orgânicos (LI et al., 2021).

A integração entre o aproveitamento de resíduos agroindustriais e a produção de energia renováveis pode ser uma solução para conciliar a preservação ambiental e a geração de bioenergia dentro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) (AMPESE et al., 2023). Os ODS são estratégias para superar o risco de escassez de água, questões de segurança energética e mudanças climáticas e apoiar políticas públicas em busca do desenvolvimento sustentável (SGANZERLA et al., 2021).

O Brasil é considerado o maior produtor de laranjas do mundo, e durante seu processo de produção, cerca de 50 a 60% da fruta é transformada em resíduo (WILKINS et al., 2007; MARTÍN et al., 2013), sendo normalmente destinado para aterros sanitários ou para compostagem (CAMARGO et al., 2019; ORTIZ et al., 2020). Entretanto, essas soluções podem causar problemas ambientais, tais como odores, emissão de metano e amônia, além de poluição de águas doces, subterrâneas e do solo (CALABRÓ et al., 2019). Em virtude da alta capacidade

de biodegradação dos resíduos de laranja, os mesmos podem ser excelentes substratos para digestão anaeróbia (ROKAYA et al., 2019).

Além de se destacar na produção de laranjas, o Brasil é conhecido como um dos maiores produtores de biodiesel no mundo (BERGMANN et al., 2013; RODRIGUES, 2016). No processo empregado para sua obtenção é gerado o glicerol bruto (SILES LÓPEZ et al., 2009; MARTÍN et al., 2013). No país, a adição de biodiesel no diesel é obrigatória e corresponde a 12%. No entanto, haverá aumento de 1% ao ano até atingir o teor de 15% em abril de 2026 (BRASIL, 2023). Em virtude desse aumento percentual, com uma produção de biodiesel cada vez maior, há uma tendência que grandes excedentes de glicerol sejam gerados e assim, requerem usos que sejam ambientalmente sustentáveis.

Ambos os resíduos supracitados têm potencial para serem utilizados na digestão anaeróbia. Porém, um composto, conhecido como D-limoneno, presente nas cascas de laranja pode agir como inibidor para o processo (MARTÍN et al., 2013; CALABRÓ et al., 2016; ZEMA et al., 2018; JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020). Apesar de ser possível remover o D-limoneno, através de pré-tratamento das cascas de laranja, os mesmos possuem custos, referentes à energia e à utilização de produtos químicos (CALABRÓ et al., 2018).

De modo a eliminar a etapa de pré-tratamento das cascas de laranja, pode-se utilizar os dois resíduos, em um processo de co-digestão anaeróbia em dois estágios. A co-digestão envolve a mistura de dois ou mais substratos com características complementares (NGHIEM et al., 2017) e o glicerol é considerado como um excelente co-substrato, pois contribui para aumentar a carga de matéria orgânica biodegradável e para melhorar a estabilidade do processo (SILVA et al., 2017). Já o sistema duplo estágio, ao adotar condições ótimas individualmente para cada fase da DA (FU et al., 2020), contribui para se obter rendimentos consideráveis de biogás (KUNATSA & XIA, 2022).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar a geração de biogás e metano através da co-digestão anaeróbia de resíduos de casca de laranja e de glicerol em um sistema de estágio único e duplo estágio. Com este estudo, espera-se contribuir para o reaproveitamento desses resíduos agroindustriais, ao serem utilizados como biomassa para geração de energias renováveis, e avaliar as condições necessárias para aumentar a produtividade de biogás e metano.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a geração de biogás através da co-digestão anaeróbia de resíduos de casca de laranja (RCL) e de glicerol bruto (GB).

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar o Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e Potencial Bioquímico do Metano (PBM) dos RCL e de GB individualmente e mixados;
- Analisar o efeito da fermentação prévia dos RCL e GB, individualmente e mixados, em etapa acidogênica, na produção de biogás e metano, em etapa metanogênica, em sistema batelada e semi-contínuo;
- Quantificar o teor de D-limoneno no efluente do sistema semi-contínuo e analisar o emprego do reator acidogênico para eliminar a etapa de pré-tratamento desse composto;
- Avaliar a estabilidade da co-digestão anaeróbia de RCL e GB em um sistema de estágio único e duplo estágio em operação semi-contínua, com aumento da carga orgânica volumétrica (COV);
- Comparar a recuperação energética do sistema de estágio único e duplo estágio no sistema semi-contínuo.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Esta seção apresenta a pesquisa e a contextualização realizada sobre o tema, que embasou o desenvolvimento deste trabalho. De maneira geral, são abordados sobre os combustíveis fósseis e as fontes renováveis de energia, além de detalhes sobre digestão anaeróbia e os diversos fatores de influência do processo. São apresentadas também, as principais condições operacionais de reatores, e as alternativas da digestão anaeróbia, co-digestão e processo em duplo estágios.

3.1 Combustíveis fósseis

A energia é essencial no cotidiano dos seres humanos, no preparo de refeições, para locomoção e em processos industriais, sendo indispensável para o desenvolvimento social e

econômico. A energia vem de um conjunto de fontes que formam a matriz energética em um país, estado, ou no mundo (EPE, 2021).

O mundo apresenta uma matriz energética majoritariamente composta por fontes não renováveis que são em grande maioria decorrentes da queima de combustíveis fósseis, como o carvão e o petróleo, correspondendo a aproximadamente 80% do fornecimento de energia (NGUYEN et al., 2020).

Os combustíveis fósseis representam a decomposição de animais e vegetais que viveram na Terra antes da chegada dos seres humanos e para que sejam transformados em matrizes energéticas, precisam ser submetidos a certas condições de temperatura e pressão (EPE, 2022). No processo da queima de combustíveis fósseis são formados gases, como o gás carbônico (CO_2), dióxido de enxofre (SO_2) e óxidos de nitrogênio (NO_x) que são liberados para atmosfera (NGUYEN et al., 2020), contribuindo negativamente para o aquecimento global, mudanças climáticas e efeito estufa (HOU et al., 2023).

A atual demanda global de energia depende principalmente das reservas de combustíveis fósseis que estão se esgotando, não possuindo reservas para atender todas as necessidades da população durante as próximas 4 décadas (IEA, 2016; REIS et al., 2021). Dessa forma, em virtude dos graves problemas de poluição devido à queima desses combustíveis e da baixa disponibilidade para as próximas décadas, esforços têm sido gerados ao redor do mundo em busca de fontes de energias renováveis para produção de energia.

3.2 Energias renováveis

A demanda por fontes de energias renováveis está crescendo em virtude das preocupações ambientais causadas pela emissão de gases do efeito estufa, provocados principalmente pela combustão de combustíveis fósseis (KHAN et al., 2017; HOU et al., 2023).

Assim, as fontes renováveis têm sido peça-chave na transição para uma economia mais sustentável (MENDIOLA-RODRIGUES & RICARDEZ-SANDOVAL, 2023) e representam uma alternativa à atual dependência global de combustíveis fósseis que geram diversos impactos ao meio ambiente (BHATNAGAR et al., 2022).

Entre as energias renováveis, destacam-se os biocombustíveis produzidos através de resíduos industriais e antrópicos. Sua produção, além de ser vantajosa economicamente, pode ser considerada ecologicamente correta, devido à possibilidade de aliar a produção de energia

ao reaproveitamento de diversos resíduos agroindustriais, minimizando os impactos ambientais de seu descarte inadequado (CAMARGO et al., 2021).

As energias renováveis são provenientes de ciclos naturais de conversão da radiação solar, fonte primária de quase toda energia disponível na Terra e são consideradas praticamente inesgotáveis, uma vez que as fontes utilizadas são capazes de se regenerar (PACHECO, 2006). Alguns exemplos de fontes de energia renovável são a energia solar, eólica, o etanol de segunda geração e os biocombustíveis. Esses últimos podem ser produzidos utilizando fontes renováveis, tais como biomassa e produtos agrícolas, a exemplo da cana-de-açúcar e plantas oleaginosas, gordura e resíduos agroindustriais (MILANEZ et al., 2018).

Dentre os biocombustíveis, destaca-se o biohidrogênio (H_2) que pode ser considerado uma alternativa promissora em substituição aos combustíveis fósseis (KAPDAN & KARGI, 2005; LIU et al., 2006; CAMARGO et al., 2021), uma vez que é um combustível limpo que tem como único subproduto final de combustão a água (SINGH & DAS, 2019), não contribuindo para a emissão de dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera (LIN et al., 2012; SARMA et al., 2015), além de possuir alto poder calorífico (142 kJ/g) (SILVA et al., 2018).

Além do hidrogênio, um outro biocombustível de grande importância é o metano, principal constituinte do biogás, conhecido como uma fonte nova e sustentável de energia, sendo seu uso também considerado como provável substituinte dos combustíveis fósseis, como petróleo e gás natural em futuro próximo (YUN et al., 2016; LI et al., 2020; CAMARGO et al., 2021), através do aproveitamento de resíduos agroindustriais (MILANEZ et al., 2018), por possuir alto poder calorífico (55,6 kJ/g) (CAMARGO, 2021).

3.3 Matriz energética brasileira

A matriz elétrica é composta por fontes disponíveis apenas para a geração de energia elétrica em um país, estado ou no mundo (EPE, 2021). O Brasil possui 83% da matriz elétrica composta por fontes renováveis, sendo a participação liderada pela hidrelétrica (63,8%), seguida de eólica (9,3%), biomassa e biogás (8,9%) e solar centralizada (1,4%) (Brasil, 2021a).

A matriz energética Brasileira, de acordo com o Departamento de Informações e Estudos Energéticos do Ministério de Minas e Energia (MME), é uma das mais renováveis do mundo. As fontes renováveis totalizam 48,4%, valor três vezes superior ao mundial (BRASIL, 2021b).

De acordo com o Plano Decenal de Expansão da Energia para o ano de 2029, (PDE, 2022) as fontes renováveis terão crescimento médio anual de 2,9% na próxima década, com crescimento de 7% ao ano (a.a.) da oferta de fontes renováveis (eólica, solar e biodiesel) (IPEA, 2020).

3.4 Biogás

O biogás pode ser utilizado como ferramenta global para superar a escassez energética (SRISOWMEYA et al., 2019), sendo considerado uma fonte de energia sustentável. É composto por 50-70% de metano, 20-50% de dióxido de carbono e outros gases, como gás sulfídrico, amônia, hidrogênio e nitrogênio (ANGELIDAKI et al., 2018). Ele é gerado através da digestão anaeróbia, processo que gera gases e forma um resíduo digerido.

O biogás pode ser empregado para geração de energia elétrica, térmica e como combustível (TAVERA-RUIZ et al., 2023) enquanto para o resíduo digerido no processo, há a possibilidade de ser destinado por meio de compostagem ou utilizado como fertilizante de solo (ALVES, 2016; CALEGARI, 2017).

Sua produção tem sido estudada a partir da utilização de vários tipos de substratos, incluindo efluentes domésticos e industriais (LI et al., 2021), resíduos sólidos (LV et al., 2021), resíduos de alimentos e cascas de frutas (CALABRÓ et al., 2016; ACHINAS et al., 2019; CAMARGO et al., 2021; AMPESE et al., 2023), bagaço da cana-de-açúcar (SOARES et al., 2019) e resíduos do processamento de café (MONTROYA et al., 2020), sendo uma alternativa eficaz para gestão de resíduos agroindustriais (TAVERA-RUIZ et al., 2023).

A integração entre o tratamento de resíduos e a produção de bioenergia pode ser uma solução para conciliar a preservação do meio ambiente e a geração de energia dentro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) na Convenção sobre Mudança do Clima em 2015. Os ODS são metas estratégicas que devem ser implementadas mundialmente até 2030 para apoiar o desenvolvimento de políticas públicas rumo ao desenvolvimento sustentável, incluindo questões de segurança energética e mudanças climáticas. Dentre os ODS, os que estão diretamente relacionados com mudanças climáticas e valorização de resíduos são: ODS 7 – Energia limpa e acessível; ODS 12 – Consumo e produção sustentável; e ODS 13- Combate às alterações climáticas (AMPESE et al., 2023).

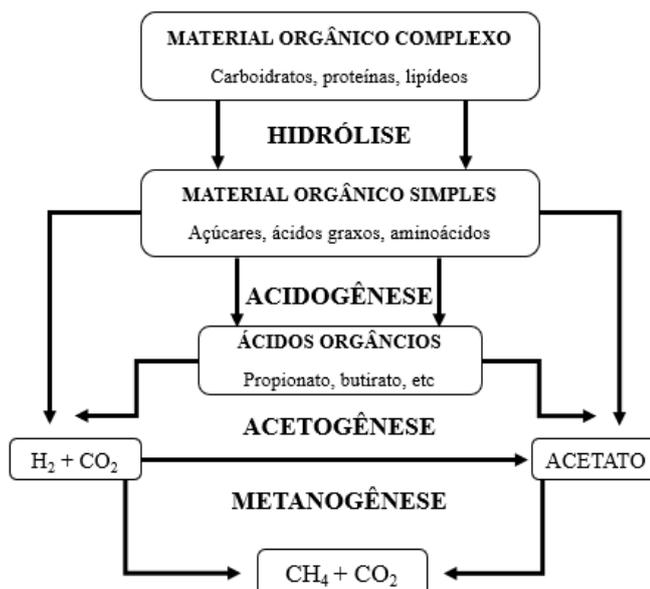
O Brasil tem potencial para atingir os ODS estabelecidos e relacionados com valorização de biomassa, pois se destaca como um dos produtores mais importantes desses resíduos da América Latina (RAMBO et al., 2015; LEITE et al., 2021). O país dispõe de grandes quantidades de resíduos agrícolas, a exemplo da vinhaça, bagaço de cana-de-açúcar e frutas, além de resíduos urbanos, efluentes e dejetos de animais (CANAL – JORNAL DA BIOENERGIA, 2016). Atualmente, a produção de energia através do biogás no Brasil representa cerca de 8,9% da matriz elétrica (FERRAZ JÚNIOR, 2022).

3.5 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo que pode ser comparado a um ecossistema em que grupos distintos de microrganismos em ambientes na ausência de oxigênio, trabalham de forma interativa para converter matéria orgânica complexa em produtos mais simples, como metano, gás carbônico, gás sulfídrico (H_2S), amônia (NH_3), água (H_2O) e novas células bacterianas (CHERNICHARO, 2016).

Esse processo pode ser subdividido em quatro rotas metabólicas principais, em que há participação de diversos grupos microbianos que possuem comportamentos fisiológicos distintos (CHERNICHARO, 2016). As rotas são: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1: Rotas metabólicas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Lettinga et al. (1996).

- **Hidrólise**

Nessa etapa ocorre a conversão de materiais complexos e insolúveis, como carboidratos, lipídeos e proteínas presentes na matéria orgânica, em materiais dissolvidos mais simples e solúveis, como açúcares, ácidos graxos e aminoácidos, os quais podem atravessar as paredes celulares das bactérias (CALDEREIRO; SILVA, 2015). Isso é possível através da ação de exoenzimas excretadas por bactérias fermentativas hidrolíticas (CHERNICHARO, 2016).

Na anaerobiose, a hidrólise de polímeros pode ocorrer de forma lenta devido a fatores como composição de substrato e tamanho das partículas (LETTINGA et al., 1996), sendo geralmente, uma fase limitante ao processo de digestão anaeróbia e conseqüentemente, para produção de biogás (MALINA & POHLAND, 1992).

- **Acidogênese**

Na acidogênese, os compostos mais simples e solúveis provenientes da etapa da hidrólise são assimilados e metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas acidogênicas e produzem compostos ainda mais simples, como ácidos graxos voláteis – AGV (acetato, propionato e butirato), álcoois na forma de etanol, cetonas na forma de cetona, dióxido de carbono, hidrogênio e novas células bacterianas (CHERNICHARO, 2016; SIMON, 2020).

- **Acetogênese**

A acetogênese é um processo de continuação da fermentação por bactérias sintróficas acetogênicas para converter produtos intermediários da acidogênese em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono, substratos que serão consumidos pelos microrganismos metanogênicos (METCALF & EDDY; SHUBEITA, 2016). Quando há formação de acetato, grande quantidade de H₂ é liberado no sistema, fazendo com que o pH do meio decresça (CHERNICHARO, 2016).

A mudança da energia livre associada à conversão de propionato e butirato a acetato e hidrogênio requer que a concentração de hidrogênio no sistema seja baixa (H₂ < 10⁻⁴ atm) para que a reação aconteça (METCALF & EDDY, 2016). Portanto, para que as bactérias acetogênicas mantenham sua atividade, é necessário que as concentrações de acetato e de H₂ sejam mínimas. Isso é possível através da ação de microrganismos consumidores de acetato e hidrogênio (CHERNICHARO, 2016).

- **Metanogênese**

Na etapa da metanogênese, através da ação de microrganismos, conhecidos como *archeas* metanogênicas, ocorre a formação de metano e dióxido de carbono, por meio da utilização do acetato e hidrogênio, como substrato. Esses microrganismos desempenham papel importante por remover o excedente de hidrogênio e produtos da fermentação, decorrente das etapas anteriores (CHERNICHARO, 2016).

Os microrganismos metanogênicos, em função da fisiologia, podem ser divididos em dois grupos. Os metanogênicos acetoclásticos produzem CO₂ e CH₄ através do acetato como fonte de carbono e energia e os metanogênicos hidrogenotróficos produzem metano utilizando H₂ e CO₂ como fonte de energia (METCALF & EDDY; CHERNICHARO, 2016). As *archeas* metanogênicas hidrogenotróficas são responsáveis por cerca de 70% do metano produzido (GONÇALVES, 2016; CALEGARI, 2017).

Estes microrganismos, quando comparados ao crescimento de bactérias responsáveis pelas fases anteriores da digestão anaeróbia, apresentam crescimento de biomassa inferior e caso esse crescimento seja lento, a metanogênese pode ser mais limitante do que a hidrólise (RODRIGUES, 2005).

3.6 Fatores interferentes na atividade anaeróbia

Alguns fatores podem interferir nas etapas da digestão anaeróbia e, portanto, na qualidade do biogás e do biofertilizante gerados. Os mesmos são abordados nos tópicos seguintes.

3.6.1 Temperatura

A temperatura é um fator de grande importância uma vez que está diretamente relacionada com a atividade dos microrganismos presentes no processo. Alterações na temperatura podem afetar a atividade bacteriana e por consequência, a geração de biogás.

A DA pode ocorrer em três faixas de temperatura as quais podem ser associadas ao crescimento microbiano de processos biológicos (BATSTONE et al., 2002).

- Faixa psicrófila: Temperatura varia entre 0 e 20 °C;
- Faixa mesófila: Temperatura varia entre 20 a aproximadamente 40 °C;
- Faixa termófila: Temperatura entre 40 e 75 °C, e acima.

Segundo Chernicharo (2016), os microrganismos apresentam melhor crescimento em temperaturas mais elevadas que aceleram o processo de digestão. Para o processo, as faixas mesofílicas (30 a 35°C) e termofílicas (50 a 55°C) são consideradas ótimas.

Na faixa termofílica, consegue-se obter maiores concentrações de metano e inativação de patógenos. Entretanto, é preciso mais energia para manter o sistema em temperatura constante, não sendo muitas vezes viável que o processo de digestão ocorra com temperaturas mais elevadas, em virtude dos custos e problemas operacionais, como aquecimento dos reatores e instabilidade do processo (COURA, 2015; GONÇALVES, 2016; HAGOS et al., 2017).

3.6.2 Tempo de detenção hidráulico (TDH)

Esse tempo representa o período que o substrato deve permanecer no digestor para que ocorra a digestão de toda matéria orgânica. O TDH é fundamental para o dimensionamento de sistemas de tratamento anaeróbio (SILVEIRA, 2009) e pode ter a influência de alguns fatores, como o tipo de digestor, composição do substrato aplicado, temperatura do reator, entre outros, podendo variar entre algumas horas e vários dias (HEYDT et al., 2015; GONÇALVES, 2016).

Através de alguns estudos, foi possível observar que maiores concentrações de hidrogênio foram geradas com valores baixos de TDH (< 24 horas) (YANG et al., 2007; LAY et al., 2010; JUNG et al., 2010).

Considerando a produção de metano, o TDH precisa ser maior do que o tempo necessário para duplicação dos microrganismos de crescimento mais lento envolvidos na digestão anaeróbia, as *archeas* metanogênicas. O emprego de baixos períodos de detenção hidráulico pode acarretar remoção de biomassa microbiana que ainda não passou pelo processo de multiplicação (MAZARELI, 2015).

Em reatores operando em faixa mesofílica, o TDH pode variar entre 10 a 40 dias, de acordo com Caldereiro (2015). No estudo de Carvalho et al. (2019), em que foi avaliada a co-digestão anaeróbia de cascas de laranja com lodo de esgoto em condições mesofílicas, o TDH considerado foi de 15 dias. Enquanto que Jiménez-Castro et al. (2020), avaliando a DA de RCL em dois estágios, utilizaram o TDH de 25,8d.

3.6.3 Nutrientes

As necessidades nutricionais dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia são estabelecidas através dos compostos químicos das células microbianas. A presença de alguns macronutrientes, a exemplo do nitrogênio, fósforo, cálcio e potássio e alguns micronutrientes, como ferro, níquel, manganês, magnésio, são fundamentais para o desenvolvimento das bactérias envolvidas no processo de DA (CARVALHO, 2020), sendo necessário que os mesmos sejam fornecidos em quantidades ideais (CHERNICHARO, 2016), uma vez que altas concentrações de nutrientes inibem a fermentação e a metanogênese.

Camargo et al. (2021) avaliaram a composição de micro e macronutrientes no estudo para quantificar a produção de H₂ e CH₄ em um sistema de digestão anaeróbia em dois estágios utilizando resíduos de casca de laranja. Os elementos analisados foram Fe, Cu, Zn, Mn, Mg, Ni, Ca, K, sendo encontradas as concentrações de 6.5, 62.45, 47, 9.48, 1123.5, <1, 5290 e 9570 mg/kg, respectivamente. Os valores descritos encontram-se abaixo dos limites inibitórios para as fases acidogênica e metanogênica, não tendo sido verificada inibição dos processos.

- **Relação C/ N**

Na digestão anaeróbia, o carbono é fonte de energia para os microrganismos e o nitrogênio estimula o crescimento microbiano (CHERNICHARO, 2016). Assim, a relação dos nutrientes carbono-nitrogênio (C/N) é de grande importância para o processo e mede a disponibilidade de carbono orgânico em determinado efluente (KUNZ et al., 2019).

O carbono acaba sendo utilizado de 20 a 25 vezes a mais que o nitrogênio, sendo a razão ideal de 20/1 a 30/1 para processos metanogênicos (REIS, 2012; COURA, 2015). No processo de digestão, o nitrogênio é utilizado pelos microrganismos para síntese de proteínas e, caso a relação não seja adequada, há uma queda no desempenho do reator (GIACON, 2019).

Razões elevadas de C/ N induzem a uma baixa solubilidade de proteínas e leva a baixas concentrações de azoto amoniacal e ácidos, resultando na redução de produção de biogás (BAUMGUERTNER, 2018; GIACON, 2019). Considerando razões baixas de C/N, o nitrogênio se acumula na forma de nitrogênio amoniacal, elevando o pH do sistema e inibindo a atividade das *archeas* metanogênicas (COURA, 2015; HEYDT et al., 2015; SIMON, 2020).

3.6.4 Resíduo utilizado

O tipo de resíduo utilizado na DA possui grande influência no processo, em termos de eficiência, rendimento e estabilidade, uma vez que o mesmo deve conter nutrientes fundamentais para atividade dos microrganismos anaeróbios (BAUMGUERTNER, 2018). Assim, conhecer a composição química do resíduo que será tratado na digestão anaeróbia é importante.

Vários tipos de materiais orgânicos podem ser utilizados como resíduos para produzir biogás, como lodo de estações de tratamento, resíduos sólidos e alimentares, da indústria de laticínios, farmacêutica, resíduos do setor agrícola, além de dejetos de animais, principalmente de suínos e bovinos (SANTOS FILHO, 2015, SHUBEITA, 2016; CONTE, 2019). De acordo com Hobbs et al. (2018), os resíduos alimentares representam um excelente substrato para o processo anaeróbio em virtude da sua alta biodegradabilidade e umidade.

Em relação aos resíduos utilizados na digestão anaeróbia, cabe destacar os resíduos de primeira e de segunda geração. A biomassa de primeira geração é rica em carboidratos e proveniente de fontes comestíveis, como açúcares, soja, girassol, palma, canola, entre outros, sendo responsável por mais de 95% do total do biodiesel comercializado no mundo (ASSEMANY, 2017).

Entretanto, em virtude da possibilidade de competição de produção de energia com o consumo humano (SILVA, 2017), tem se gerado esforços para utilização de biomassa de segunda geração. De acordo com Assemany (2017), resíduos de segunda geração são oriundos de fontes não comestíveis, como biomassa lignocelulósica, resíduos oleosos oriundos de animais e efluentes domésticos e industriais.

Para reduzir o descarte de resíduos na natureza e minimizar o consumo dos recursos naturais não renováveis, tem-se buscado reintegrar os resíduos agroindustriais, de origem vegetal e animal, nos processos produtivos através da recuperação energética (BAUMGUERTNER, 2018). Assim, a DA é uma opção apropriada que pode ser empregada para tal finalidade (HOU et al., 2021).

Os resíduos agroindustriais são, em sua maioria, descartados em aterros sanitários, devido aos baixos custos envolvidos. Entretanto, essa prática pode gerar problemas ambientais, em virtude da produção de lixiviado que atrai vetores de doenças, além de proporcionar a emissão de gases do efeito estufa (SANJAYA et al., 2016). Então, considerando os aspectos

ambientais e econômicos, a conversão de resíduos orgânicos em biocombustíveis pode reduzir o risco de poluição ambiental e os custos de deposição (AWASTHI et al., 2018), tornando a destinação adequada e sustentável.

Os resíduos alimentares ricos em carboidratos, a exemplo dos provenientes da indústria de açúcar, do processamento de frutas, vegetais e plantas são facilmente convertidos em ácidos graxos voláteis (AGVs) (BAUMGUERTNER, 2018). Tais ácidos são importantes substratos para bactérias acetogênicas e *archeas* metanogênicas (CHERNICHARO, 2016). Porém, altas concentrações de açúcares simples no digestor contribuem para rápida acumulação de AGVs, proporcionando a redução do pH, que leva a supressão da metanogênese (HAGOS et al., 2017; BAUMGUERTNER; 2018).

Os resíduos que apresentam altos teores de proteínas, como aqueles provenientes do estrume de animais, possuem grupos amina (NH_3) que são convertidos em íons amônia durante a degradação das proteínas. Embora a amônia seja um nutriente essencial para o crescimento bacteriano, altas concentrações podem inibir a atividade microbiana e promover o desequilíbrio da DA (YENIGUN & DEMIREL, 2013; LIMA, 2016; HAGOS et al., 2017).

Quando são utilizados resíduos com altas concentrações de gorduras, a exemplo dos produzidos na indústria alimentícia e em matadouros, normalmente obtêm-se resultados satisfatórios para DA, uma vez que os mesmos apresentam facilidade na degradação (BAUMGUERTNER, 2018). Entretanto, elevadas concentrações de gorduras podem acarretar problemas, como entupimentos e adsorção à biomassa, inibindo assim, a atividade microbiana (HAGOS et al., 2017).

Recentemente, alguns estudos foram desenvolvidos empregando biomassa de segunda geração, principalmente resíduos orgânicos provenientes de frutas no processo de digestão anaeróbia (ACHINAS et al., 2019; JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020; NGUYEN et al., 2020; CAMARGO et al., 2021; LI et al., 2022; SGANZERLA et al., 2023). Esses resíduos representam ótimos substratos para a produção de biogás e produtos de valor agregado, por possuírem alto teor orgânico, se encontrarem disponíveis em grandes quantidades e por serem prontamente biodegradáveis (WIKANDARI et al., 2014a; SANJAYA et al., 2016; GUTIÉRREZ et al., 2022).

- **Resíduos de casca de laranja (RCL)**

A laranja é considerada uma das frutas mais cultivadas no mundo, sendo utilizada para obter diversos produtos, como óleos essenciais, geleias, mel de flor de laranjeiras e conservas (LÓPEZ; LI; THOMPSON, 2010; CAMARGO, 2021). O Brasil é considerado um dos maiores produtores mundiais de laranja, juntamente com China e Estados Unidos (CALABRÓ et al., 2016; CAMARGO et al., 2019; JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020). Em boletim estatístico publicado em 2020 pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), o Brasil produziu mais de 17 milhões de toneladas de laranjas, representando cerca de 22,5% de toda produção mundial (FAO, 2020).

Em seu processo de fabricação, entre 50 a 60% da fruta é transformada em resíduo, composto principalmente pela casca, sementes e bagaço (WILKINS et al., 2007; MARTÍN et al., 2013) e normalmente, o resíduo é destinado para aterros sanitários, compostagem, incineração ou aproveitado para fabricação de ração para gado (CAMARGO et al.; ORTIZ et al., 2020).

No entanto, essas soluções podem causar problemas ambientais, como emissões de gases do efeito estufa, emissões líquidas para o solo e problemas de odor (MARTÍN et al., 2013; CAMARGO et al., 2019; JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020). Além disso, esses resíduos possuem alto teor de umidade (cerca de 80-90%) e de matéria orgânica (> 90%), o que dificulta seu descarte em locais apropriados, acarretando custos adicionais com transporte (CONSOLI et al., 2023).

Em virtude da alta capacidade de biodegradação dos resíduos de laranja (ROKAYA et al., 2019), os mesmos caracterizam-se como excelente substrato para DA, e conseqüentemente, para geração de biogás e metano. Assim, o Brasil possui grande potencial para produção de energia com o reaproveitamento dos resíduos da laranja, reduzindo os impactos ambientais.

- **Glicerol bruto (GB)**

No processo de transesterificação de óleos vegetais para obtenção do biodiesel é gerado o glicerol bruto (GB), como subproduto (ATTARBACHI et al., 2023). Estima-se que a cada tonelada de biodiesel gerado, são cogenerados 100 kg de glicerol (YAZDANI & GONZALEZ, 2007), composto de glicerol puro (entre 55-90%) (MARTÍN et al., 2013) e impurezas, como

quantidade variada de água, resíduos de catalisadores, metais pesados, metanol, sais inorgânicos, entre outras (SILES LÓPEZ et al., 2009; POTT et al., 2014).

O glicerol puro, também conhecido como glicerina, pode ser destinado para utilização em indústrias químicas, farmacêuticas, de cosméticos, alimentícias e têxteis (ROSSI et al., 2012; MARTÍN et al., 2013). Entretanto, para fins comerciais, a glicerina deve possuir grau de pureza maior ou igual a 95%, alcançado através da purificação que gera custos elevados (SILES LÓPEZ et al., 2009; KANCHANASUTA & SILLAPARASSAMEE, 2017).

O Brasil apresenta condições excelentes para o cultivo de oleaginosas, como amendoim e soja para extração de óleos (ROSSI et al., 2012) e se destaca como um dos maiores produtores de biodiesel no mundo (BERGMANN et al., 2013; RODRIGUES, 2016). No país, a adição de biodiesel no diesel é obrigatória e até março de 2023, o percentual obrigatório era de 10%. A partir de abril de 2023, o CNPE (Conselho Nacional de Política Energética) estabeleceu que o valor obrigatório passou a ser de 12% e haverá aumento de 1% ao ano até atingir o teor de 15% em abril de 2026 (BRASIL, 2023).

Em virtude desse aumento percentual, com uma produção de biodiesel cada vez maior, há um excesso de oferta de glicerol bruto. A China é o maior país consumidor de glicerol e o principal destino de exportação desse subproduto gerado no Brasil (ATTARBACHI et al., 2023). No entanto, não são todas as empresas brasileiras produtoras de biodiesel que possuem potencial de exportação desse subproduto, principalmente por não ser muitas vezes viável para as indústrias de pequeno porte (LUO et al., 2016).

Uma alternativa eficaz para alcançar uma produção de biodiesel mais sustentável econômica e ambientalmente, é a utilização do GB como substrato na DA para obtenção de biogás (MARTÍN et al., 2013; SUN et al., 2023).

3.6.5 Alcalinidade e pH

No processo de digestão, a alcalinidade é fundamental para a etapa metanogênica, de modo a neutralizar os ácidos formados na acidogênese e evitar quedas de pH causadas por acumulação de AGVs (CHERNICHARO, 2016). Assim, é importante controlar esse fator para que a operação dos reatores ocorra de modo satisfatório, sendo necessário que a faixa de alcalinidade esteja entre 1.000 e 5.000 mg/L (METCALF & EDDY, 2016).

Ripley et al. (1986) propõem a determinação separada da alcalinidade parcial – AP, relativa a bicarbonatos e alcalinidade intermediária – AI, devido principalmente a ácidos voláteis. Os autores estabelecem a relação AI/AT como um importante parâmetro de monitoramento de DA e indica que o processo anaeróbio é estável quando a relação AI/AT é < 0.4 (JENKINS et al., 1991; BRES et al. 2018; HOYOS, 2021). Caso sejam observados valores superiores a este, tem-se desbalanceamento da atividade anaeróbia ocasionado pela elevada produção de AGV (COSTA, 2017).

Como a DA envolve diferentes grupos de microrganismos que possuem preferências distintas quanto à acidez do meio, para cada fase do processo há um valor de pH ótimo para a atividade dos seus grupos microbianos (BAUMGUERTNER, 2018). Assim, uma opção é utilizar sistemas em dois estágios, um acidogênico e outro metanogênico (HAGOS et al., 2017).

Para produção de biohidrogênio, as bactérias acidogênicas têm um intervalo favorável de 4,0 - 8,5, segundo Kunz et al. (2019). Valores de pH entre 5-6 são frequentemente considerados ideais para evitar a metanogênese e aumentar a geração de H₂ (GUO et al., 2010). Alguns estudos evidenciaram que os valores máximos de concentrações de hidrogênio foram obtidos quando o pH estava na faixa de 5,5 - 6,0 (CHONG et al., 2009; AZBAR et al., 2009; LAY et al., 2010). Entretanto, quando o pH do meio é muito baixo, a atividade metabólica dessas bactérias é inibida, cessando a geração de H₂ (LIN et al., 2012).

Kunz et al. (2019) afirmam que as *archeas* metanogênicas têm um intervalo de pH ótimo situado na faixa entre 6,7 - 7,5. Segundo Chernicharo (2016), a faixa ideal de pH em reatores anaeróbios situa-se entre 6,5 e 7,5, mas as bactérias metanogênicas podem crescer em pH entre 6,0 e 8,0.

Benini (2019) reforça que valores baixos de pH reduzem a atividade metanogênica causando acumulação de AGVs e H₂, levando a eventuais falhas no processo. Isto foi verificado no estudo de Jiménez-Castro et al. (2020), em que foi utilizado cascas de laranjas em um sistema de digestão anaeróbia em dois estágios. Para contornar este efeito, foi acrescentada solução alcalina aos reatores, e o processo manteve-se estável, obtendo pH na faixa neutra, 7,0 a 8,0 e a alcalinidade variando entre 1.200 e 2.700 mg CaCO₃/L.

3.6.6 Carga Orgânica Volumétrica (COV)

A taxa de carregamento orgânico está relacionada a quantidade de substrato adicionada ao reator em um certo espaço de tempo (CARVALHO, 2020) e influencia no processo de

digestão anaeróbia. Caso o digestor seja alimentado com uma COV maior que sua capacidade de degradação, os microrganismos acetogênicos produzem acetato mais rápido do que as *archeas* metanogênicas consomem, gerando a um menor rendimento de CH₄ e em alguns casos, a inibição do processo. Entretanto, uma COV menor que a capacidade do sistema não fornece quantidades ideais de substrato para os microrganismos, levando à baixa produção de biogás (KINYUA, ROWSE, ERGAS, 2016).

Normalmente, os processos de DA iniciam com cargas orgânicas relativamente baixas, como, por exemplo, 0,5 g /L. d⁻¹ de matéria orgânica (MALLMANN, 2019). Zema et al. (2018), através da análise de produção de metano por meio da digestão anaeróbia de casca de laranja e estrume de aves, com aumento das taxas de carregamento orgânico, verificaram um maior rendimento de metano diário alcançado com COV de 1,0 g SVT/L. d⁻¹, em condições mesofílicas (42 °C). Neste estudo, uma inibição parcial da DA foi detectada em COV igual a 1,98 g SVT/L. d⁻¹ e o processo foi interrompido irreversivelmente quando a taxa de carregamento orgânico atingiu 2,5 g SVT/L. d⁻¹.

3.6.7 Agitação

A agitação do conteúdo presente no reator é fundamental para o processo de digestão anaeróbia. Sua função é otimizar o contato entre o substrato e a biomassa, permitindo que a temperatura e a concentração de substrato em todo o reator sejam constantes (BAUMGUERTNER, 2018; KUNZ et al., 2019; CARVALHO, 2020).

A agitação pode ser realizada por dispositivo mecânico, recirculação do conteúdo do biodigestor ou recirculação do próprio biogás gerado (QUEIROZ, 2020). Utilizando sistemas de agitação de maneira adequada, é possível atingir ganho de 15 a 30% na produtividade do biogás, de acordo com Kunz et al. (2019). Entretanto, a presença de um sistema de agitação acrescenta custos de implantação e manutenção

A intensidade da agitação tem influência na inibição do processo de DA (SILVEIRA, 2009; BAUMGUERTNER, 2018). Digestores com agitação de baixa intensidade conseguem suportar cargas orgânicas mais elevadas em relação a digestores sujeitos a níveis de agitação de alta intensidade (SILVEIRA, 2009).

3.6.8 Presença de inibidores (Toxicidade)

De acordo com Chernicharo (2016), substâncias tóxicas ou inibidoras presentes nos resíduos, como amônia, sulfato, metais pesados e orgânicos e compostos inorgânicos como cromo, cromatos, níquel, zinco, cobre, arsênio e cianeto. Essas substâncias, mesmo em concentrações mais baixas, podem provocar perturbação no reator, levando ao colapso do sistema e a baixa produção de biogás (CHEN et al., 2008; CONTE, 2019).

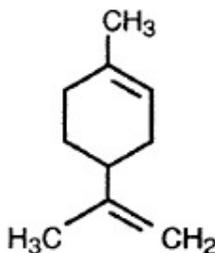
Assim, é essencial que sejam feitas análises adequadas dos efluentes para garantir que a ocorrência de problemas de toxicidade não afetará ou inibirá os processos anaeróbios (METCALF & EDDY, 2016).

Objetivando remover ou degradar as substâncias tóxicas antes da etapa final de tratamento, na qual a atividade metanogênica deve ser assegurada, pode-se adotar um sistema de tratamento em duas etapas, de modo que a primeira reduza a toxicidade do afluente antes da exposição das bactérias metanogênicas, segundo Metcalf & Eddy (2016).

- **D-limoneno**

O D-limoneno ($C_{10}H_{16}$), hidrocarboneto classificado como terpeno cíclico (MARTÍN et al., 2010; RUIZ & FLOTATS, 2016), é o maior constituinte de óleos essenciais presentes nas cascas de frutas cítricas, como nas laranjas (NIH, 2022; SIDDIQUI et al., 2022). O D-limoneno pode ser encontrado na forma de R-(+)-Limoneno e S-(-)-Limoneno, sendo que os óleos essenciais presentes nas cascas de laranja da espécie *Citrus sinensis*, quando extraídos por destilação a vapor, apresentam em torno de 95% de R-(+)-Limoneno, composto apresentado na Figura 2. (FAVELA-HERNANDEZ et al., 2016 ; RAVICHANDRAN et al., 2018 ; GUTIÉRREZ et al., 2022).

Figura 2: Estrutura química do D-limoneno



Fonte: NIH (2022).

Esse composto é considerado um agente antimicrobiano, e assim, um dos principais obstáculos para o sucesso da DA e obtenção de biogás (MARTÍN et al., 2010; CALABRÓ et al., 2016; ZEMA et al., 2018; JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020). Estima-se que sua concentração mínima para inibição da DA é próxima de 0,2 g/Kg (0,0002%) (CALABRÓ et al.; RUIZ & FLOTATS; 2016). Como as concentrações em RCL excedem esse valor, já que contêm normalmente mais de 5 kg de óleo essencial por 1000 kg de laranjas (BRADDOCK et al., 1986; MARTÍN et al., 2010), espera-se o efeito inibitório no processo para produção de biogás (CAMARGO et al., 2020).

Assim, para a utilização dos RCL como substrato no processo anaeróbio, pode-se recorrer a técnicas de extração e recuperação do limoneno, por meio de pré-tratamentos: Destilação a vapor, explosão a vapor, tratamento biológico por fungos, extração com solventes orgânicos, como hexano, entre outros (MARTÍN et al., 2010; RUIZ & FLOTATS, 2014; WIKANDARI et al., 2014b; CALABRÓ et al., 2018). No entanto, esses métodos podem ter outros efeitos sobre o processo de digestão anaeróbica devido a fatores como remoção de matéria orgânica e efeitos de temperatura (RUIZ et al., 2016).

Martín et al. (2010) utilizaram a destilação a vapor, como pré-tratamento de cascas de laranja no processo de digestão anaeróbia, conseguindo redução de 70% do composto D-limoneno. No estudo de Rokaya et al. (2019) foram utilizados dois tipos de pré-tratamento, destilação a vapor e uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em diferentes concentrações (0,05, 0,1, 0,2, 0,4g H_2O_2/L), em cascas de laranja utilizadas como substrato da DA, para promover maior produção de biogás. Através da destilação a vapor, obteve-se redução de 90% de D-limoneno. Verificou-se que, para as amostras de cascas de laranja pré-tratadas com altas concentrações de H_2O_2 (0,2 e 0,4 g H_2O_2/L), alcançou-se baixos volumes de produção de biogás, sendo mais apropriada para digestão anaeróbia dosagens mais baixas do peróxido de hidrogênio.

Apesar de eficiente, a utilização de pré-tratamento é considerada uma das etapas mais onerosas do processo, uma vez que há custos relacionados com a quantidade de energia e/ou produtos químicos utilizados (CALABRÓ et al., 2018). Normalmente, a escolha dependerá da situação econômica e do balanço energético de todo o processo (RUIZ & FLOTATS, 2014).

Como alternativa à utilização de pré-tratamentos, pode-se recorrer à digestão anaeróbia em dois estágios, em que os reatores acidogênico e metanogênico são separados

(LUKITAWESA et al., 2018). Esta configuração permite uma melhor otimização de cada reator e aumento da eficiência geral de conversão de energia (SILVA et al., 2018).

No estudo de Jiménez-Castro et al. (2020), os autores utilizaram cascas de laranjas em um sistema duplo estágio (reator acidogênico seguido de reator metanogênico), onde o primeiro reator, acidogênico, operava como um pré-tratamento para minimizar o efeito do D-limoneno. O sistema proposto pelos autores substituiu o uso de outros pré-tratamentos e aumentou a concentração de metano (aproximadamente 60% em comparação com cerca de 50%) e o volume (em 13%) em relação à digestão anaeróbica de um estágio. Os resultados obtidos mostram que a tecnologia de DA em dois estágios é promissora e pode funcionar de modo eficiente para minimizar o efeito de substâncias tóxicas.

Além de adotar um sistema de digestão anaeróbia em duas etapas para contornar o poder inibitório do limoneno, pode-se diluir sua concentração por meio da co-digestão com outros substratos (KOPPAR et al., 2013), a exemplo do glicerol. A co-digestão envolve a digestão simultânea de dois ou mais substratos com características complementares para fornecer uma quantidade equilibrada de nutrientes, permite obter uma fermentação estável e melhora o rendimento de biogás (WU et al., 2014).

O glicerol apesar de ser um composto que apresenta algumas impurezas, (MARTÍN et al., 2013; SILVA, 2017), pode ser empregado na co-digestão anaeróbia com outros resíduos para aumentar a estabilidade do processo (SILVA et al., 2017). O uso conjunto de dois ou mais substratos contribui para o aumento da biodiversidade no reator e para a diluição de inibidores presentes em cada substrato (CHEN et al., 2008).

3.6.9 Ácidos graxos voláteis (AGVs)

Um outro fator que influencia o processo de digestão anaeróbia está relacionado aos ácidos graxos voláteis (ácido acético, propiônico, butírico e valérico) que são produzidos nas etapas da hidrólise e da acidogênese.

Quando se tem um sistema em equilíbrio e em condições favoráveis para a população de *archeas* metanogênicas, os AGVs são consumidos à medida que são formados e assim, não há acúmulo dos mesmos no sistema e o pH do meio permanece neutro (MALLMANN, 2019). Porém, em situações de estresse e desequilíbrio, há acúmulo de grandes quantidades de ácidos

que faz com que haja queda do pH do sistema (CHERNICHARO, 2016), e conseqüentemente, o processo de digestão pode ser comprometido (FRANKE-WHITTLE et al., 2014).

Assim, os AGVs representam papel importante no monitoramento da estabilidade dos biodigestores anaeróbicos, mostrando uma resposta rápida devido a alterações no sistema (AHRING, 1995) e são indicadores de equilíbrio entre as bactérias acetogênicas e as *archeas* metanogênicas. Em virtude disso, recomenda-se o monitoramento periódico deste parâmetro para detectar possíveis desequilíbrios do processo (HOYOS, 2021).

3.6.10 Inóculo

O inóculo é caracterizado como um composto que possui população microbiana adaptada às condições anaeróbicas, sendo um outro fator de influência no processo de DA. O mesmo é introduzido juntamente com o substrato ao reator, de modo a proporcionar a comunidade microbiana necessária para dar início ao processo de conversão e estabilização da matéria orgânica e contribuir para o equilíbrio do pH que é essencial para o bom desempenho da digestão (SOUZA et al., 2020).

Um inóculo adequado pode aumentar a taxa de degradação da matéria orgânica, elevar a taxa de produção de biogás e reduzir o tempo de início do processo, tornando-o mais estável (DEMICHELIS et al., 2022).

A relação I/S (inóculo/substrato) representa a razão entre a quantidade de inóculo usada e a quantidade de substrato, sendo que em relações maiores, pode-se obter atividade microbiana satisfatória, baixo risco de inibição e sobrecarga no sistema, alcançando assim, maior produtividade específica de metano (ANGELIDAKI & SANDERS, 2014; HOYOS, 2021).

No estudo de Jiménez-Castro et al. (2020) o inóculo utilizado foi lodo de reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) proveniente da indústria brasileira AmBev. Franqueto et al. (2020) utilizaram na pesquisa esterco bovino coletado de uma propriedade privada na região de Santa Catarina para verificar a melhor proporção de resíduos (esterco/resíduo agrícola) de acordo com o volume de biogás produzido sob efeitos diferentes de temperaturas (36 a 60 °C).

Tsigkou et al. (2020) utilizaram lodo de digestores anaeróbios para investigar a co-digestão de fraldas descartáveis usadas e produtos alimentícios vencidos através de sistemas anaeróbicos contínuos de um e dois estágios. Já no estudo de Lee et al. (2017), foi utilizado como inóculo uma mistura de diferentes excrementos de animais (tartaruga, girafa, canguru,

rinoceronte e lontra) coletados do jardim dos zoológicos de Cingapura e lodo de digestores anaeróbicos.

3.7 Tipos de reatores

Os processos da digestão anaeróbia ocorrem em reatores, onde há conversão dos substratos em produtos e a escolha da configuração do sistema é determinante para produção de biogás (HAIDER et al., 2015). O modelo hidráulico do reator é função do tipo de fluxo e do padrão de mistura (VON SPERLING, 2016). Em termos de fluxo, o reator pode funcionar de três formas: descontínuo (batelada), contínuo ou semi-contínuo (PAULISTA, 2017; BAUMGUERTNER, 2018). Os principais tipos de fluxo estão apresentados a seguir.

- **Reator em batelada**

Nos reatores em batelada, também conhecidos como *batch*, não há escoamento entrando ou saindo do reator, e por isso o fluxo no sistema é descontínuo. O reator é alimentado apenas no início do processo, ficando retido até o fim da digestão (BAUMGUERTNER, 2018).

Na operação descontínua, o reator é alimentado, as reações ocorrem, posteriormente há o processo de decantação e por fim, o conteúdo é descarregado (METCALF & EDDY, 2016). Dessa forma, todos os elementos são expostos ao tratamento por um período de tempo igual à permanência do substrato no reator (VON SPERLING, 2016). Esse tipo de operação é mais utilizado em escala de laboratório de modo a verificar o potencial de geração de biogás com os substratos utilizados (BAUMGUERTNER, 2018).

- **Reator completamente misturado – CSTR**

Em reatores completamente misturados, também conhecidos como CSTR, do inglês *Continuous Stirred Tank Reactor*, assume-se que a mistura completa ocorre de forma instantânea e uniforme em todo o reator conforme as partículas adentram o tanque (VON SPERLING, 2016). Essas partículas saem do reator na proporção da sua distribuição estatística. O tempo real para obter condições de mistura completa dependerá da geometria do reator (circulares ou quadrados) e da energia introduzida no mesmo (METCALF & EDDY, 2016).

Esse tipo de reator é adequado para o tratamento de resíduos concentrados, facilitando a manutenção da biomassa estável no interior do digestor (CRESPO, 2013).

- **Reator semi-contínuo**

Em operações semi-contínuas, a alimentação e a saída do material fermentado ocorrem de forma intermitente (BORZANI, 2001), em três etapas principais: alimentação, reação e esvaziamento. Após o término da reação que ocorre de acordo com o tempo de detenção celular pré-determinado, uma fração do líquido é retirada do reator com agitação ligada e é introduzido ao reator um volume igual ao que foi removido (SILVA et al., 2020).

Isso possibilita que o meio fermentado não retirado do fermentador sirva como inóculo ao meio de fermentação adicionado posteriormente ao reator e permite o controle do TDC. A sequência de etapas é repetida enquanto não houver queda da produtividade no processo (SILVA, 2017).

- **Reator anaeróbio em batelada sequencial (AnSBR)**

Os reatores anaeróbios em batelada sequencial, do inglês *Anaerobic Sequencing Batch Reactor* (AnSBR), funcionam de modo semelhante aos reatores semi-contínuos. Entretanto, a fração do líquido é retirada do reator com agitação desligada e é introduzido ao reator um volume igual ao que foi removido é acrescentada uma etapa adicional de sedimentação, quando utilizada biomassa suspensa, antes do esvaziamento, para aumentar a concentração da biomassa (SILVA, 2017).

3.8 Alternativas da digestão anaeróbia

Pode-se recorrer a diferentes alternativas para obter eficiência do processo da digestão anaeróbia e possibilitar uma maior geração de H_2 e CH_4 . É possível utilizar dois ou mais substratos (co-digestão) e/ou implementar um sistema em dois estágios distintos.

3.8.1 Co-digestão anaeróbia

A co-digestão anaeróbica, processo em que ocorre a mistura de dois ou mais substratos com características complementares, mostra-se como uma opção viável para otimizar a produção de biogás e metano (ALVES, 2016; NGHIEM et al., 2017; KUNATSA & XIA, 2022).

Esta alternativa pode contribuir para estabilidade do processo e redução de custos em comparação com a monodigestão (WU et al., 2016; SILVA et al., 2018). Além disso, permite

o desenvolvimento eficiente do processo devido à sinergia dos co-substratos (MATA-ALVAREZ et al., 2014), em razão do aumento da disponibilidade de nutrientes, densidade aparente de resíduos e variabilidade do substrato (FRANQUETO et al., 2020) e contribui para diluição de compostos tóxicos que geralmente inibem o funcionamento dos reatores (ANGERIZ-CAMPOY et al., 2015).

De acordo com Alves (2016), resíduos de frutas, por apresentarem matéria orgânica facilmente biodegradável em grandes quantidades, são ideais para serem misturados com os lodos de esgoto no processo de co-digestão anaeróbia.

Bres et al. (2018) analisaram o desempenho da digestão anaeróbia de estrume de galinha co-digerido com resíduos de frutas e vegetais. Foram avaliados dois reatores semi-contínuos em escala de bancada de 19L. As condições de operação foram: 34,5 °C, 2 gSV/L.d (taxa de carga orgânica - COV) e TDH de 28 dias. Os reatores foram alimentados com a mistura de estrume de galinha e resíduos de frutas e vegetais em proporções iguais. Ao final do estudo, verificou-se que a co-digestão de estrume de galinha com resíduos de frutas e vegetais levou a maior rendimento de biogás, menores concentrações de nitrogênio amoniacal total e livre e uma melhor qualidade de digestão em comparação com a mono-digestão do estrume.

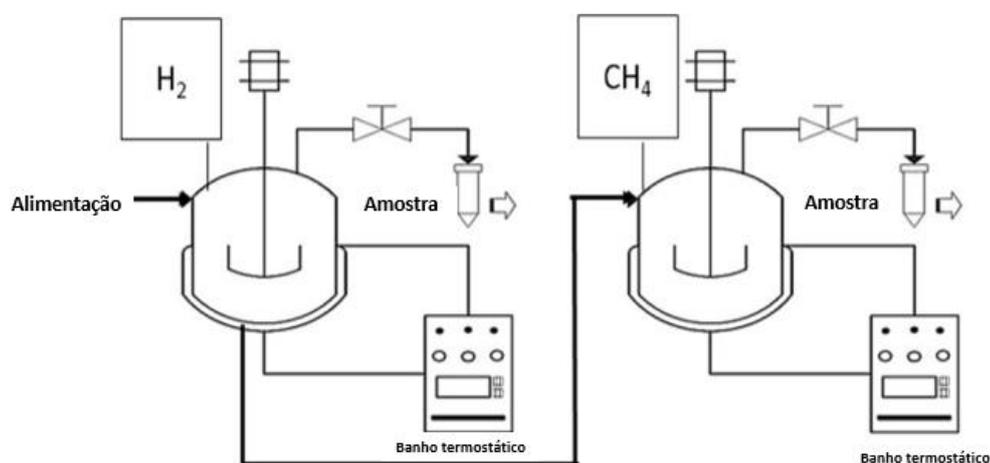
3.8.2 Digestão anaeróbia em 2 estágios

O sistema anaeróbio de dois estágios apresenta as etapas de hidrólise e acidogênese (Estágio I) separados do estágio da metanogênese (Estágio II), sendo otimizados individualmente (FU et al., 2020).

Este sistema minimiza os problemas que geralmente ocorrem em sistemas de apenas um estágio, principalmente relacionados à fase de adaptação microbiana e acidificação (CREMONEZ et al., 2020; CAMARGO et al., 2021). Além disso, apresenta mais vantagens quando comparada ao de estágio único, uma vez que o sistema pode ser configurado para que sejam atingidas condições ótimas para a atividade microbiana em cada fase (ALGAPANI et al., 2019), fornecendo estabilidade ideal ao processo, maior eficácia energética e melhor controle sobre os parâmetros essenciais para garantir bom desempenho e recuperação de energia (SRISOWMEYA et al., 2019).

A Figura 3 ilustra o sistema de digestão anaeróbia em dois estágios. No primeiro estágio, os compostos orgânicos complexos podem ser degradados ao máximo em AGVs de cadeia curta sob condições de pH ligeiramente ácidas, na faixa entre 5,0-6,0, de qual hidrogênio pode ser produzido além dos AGVs (SILVA et al., 2018; YUAN et al., 2019). Já no segundo estágio, os AGVs produzidos no estágio I podem ser convertidos em metano sob condição de pH relativamente neutro, na faixa entre 7,0-8,0.

Figura 3: Diagrama esquemático do processo de hidrogênio-metano de dois estágios



Fonte: Adaptado de Jiménez-Castro et al. (2020).

A digestão anaeróbia em dois estágios é considerada como opção para reduzir as cargas orgânicas e melhorar a eficiência geral de conversão de energia, além da geração de H_2 e CH_4 , gases de alto teor calórico (HOU et al., 2021), constituintes do biogás. Além disso, quando acompanhado da co-digestão de diferentes substratos com características complementares, o sistema em dois estágios promove a otimização do processo e maiores rendimentos na produção de biogás (KUNATSA & XIA, 2022).

No estudo de Baldi et al. (2019), resíduos alimentares foram co-digeridos com lodo ativado em um sistema anaeróbio de dois estágios e comparados ao processo de apenas um estágio. O sistema de dois estágios era composto por dois reatores conectados em série capazes de realizar a fase fermentativa e a metanogênica separadamente. Os experimentos foram realizados em modo semi-contínuo em condições mesofílicas (37 °C). A tecnologia de dois estágios alcançou uma melhoria geral do desempenho anaeróbio e os resultados evidenciaram

um aumento na produção de biogás e degradação de sólidos voláteis de 26% e 9%, respectivamente.

3.9 Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e Potencial Bioquímico do Metano (PBM)

O Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e o Potencial Bioquímico do Metano (PBM) correspondem à quantidade máxima de biogás e metano que podem ser recuperados, em determinadas condições, de um substrato por massa de matéria orgânica (SV) ou demanda química de oxigênio (DQO) (STEINMETZ et al., 2016; KOCH et al., 2020).

Ambos são parâmetros chave para avaliar substratos para a obtenção do biogás (RODRIGUES et al., 2019), podendo ser determinado através de modelos matemáticos teóricos ou através de testes laboratoriais (ARRUDA, 2020).

Os testes são amplamente usados para caracterizar a influência de um substrato no processo de digestão anaeróbia (FILER et al., 2019) e podem ser usados para a detecção de toxicidade aguda de um inibidor presente no substrato (KOCH et al., 2020). Assim, é uma ferramenta bastante útil e poderosa para digestão anaeróbia e tem sido usado para caracterizar uma ampla variedade de substratos (FILER et al., 2019).

O PBM dos substratos a serem digeridos e suas cargas orgânicas específicas podem ser usados para projetar sistemas de digestão anaeróbica em grande escala, como o tamanho dos digestores e as possibilidades de exploração do biogás produzido, segundo Filer et al. (2019).

Holliger et al. (2017) compararam o volume de metano realizado através do teste de PBM com o volume de metano medido nas instalações de uma planta de digestão anaeróbia em larga escala por um período de 7 a 9 meses. No estudo, foram escolhidas duas plantas de DA, uma em que há a digestão de resíduos sólidos urbanos com resíduos alimentares de restaurantes e supermercados e outra em que ocorre co-digestão de lodo residual de uma ETA (Estação de Tratamento de Água) com diferentes resíduos orgânicos. Os autores descobriram que as taxas semanais de produção de metano do teste PBM eram semelhantes as taxas encontradas nas plantas avaliadas.

Os testes de PBB e PBM também podem ser utilizados para sistemas de co-digestão anaeróbia, em que o resultado para a mistura é um valor próximo à média ponderada de substratos individuais (KIM et al., 2019; KOCH et al., 2020).

No estudo de Kim et al. (2019), foi realizada co-digestão anaeróbia de resíduos alimentares, fezes humanas e papel higiênico para avaliar o potencial para uso no tratamento local de resíduos orgânicos domésticos. O PBM foi determinado para esses resíduos e suas misturas e, através dos resultados encontrados, verificou-se que os substratos podem ser tratados através da co-digestão sem perda considerável de seu potencial de metano.

No estudo de Calabro et al. (2016), em que foi avaliada a co-digestão de resíduos de casca de laranja e resíduos alimentares, o PBM para casca de laranja encontrado foi de cerca de 370 Ln CH₄/kg SV e 300 Ln CH₄/kg SV, em condições mesofílicas e termofílicas, respectivamente.

Já Ruiz e Flotats (2016) encontraram um PBM médio para amostras de casca de laranja igual a 356 Ln CH₄ kg/SV. Martín et al. (2010) encontraram valores inferiores, 230 Ln CH₄ kg/SV e 332 Ln CH₄ kg/SV, operando em temperatura mesofílica (37 °C) e termofílica (67 °C), respectivamente, provavelmente devido à perda de matéria orgânica durante o pré-tratamento com arraste de vapor para remoção de D-limoneno.

Kaparaju e Rintala (2006), em experimentos em batelada operando em condições termofílicas (55±1°C), relataram um PBM para resíduos de casca de laranja de cerca de 490 Ln CH₄ kg/SV enquanto em um experimento semi-contínuo a taxa de produção foi de 600 Ln CH₄ kg/SV.

Carvalho (2020), utilizando experimentos em batelada e operando em condições mesofílicas (35±1°C), encontrou PBB para casca de laranja “Montenegrina” equivalente a 565,84 mLn/ Kg SV e para casca de laranja “Pokan” o resultado foi ligeiramente maior, igual a 615,38 mLn/ Kg SV.

3.9.1 Norma VDI 4630

Para determinar o potencial bioquímico do metano de substratos existem algumas normas provenientes de associações internacionais que possuem diferentes metodologias (FILER et al., 2019), como a ISO 11734, ASTM E-2170-01 e VDI 4630. O procedimento

padrão proposto pela Associação de Engenheiros Alemães, apresentado na norma VDI 4630, é o mais comumente empregado (HÜLSEMANN et al., 2020).

A VDI 4630 (2016) estabelece a caracterização de substratos, amostragem, coleta de dados, equipamentos e aparelhos necessários para o procedimento de teste de digestão anaeróbia de materiais orgânicos e apresenta algumas considerações que devem ser tomadas para certificar os resultados (VDI 4630, 2016).

O protocolo segue o seguinte padrão: (I) Repetições técnicas, (II) Aplicação da razão inóculo/substrato, (III) Medição do rendimento de metano do inóculo puro como uma prova em branco, e (IV) Medição do rendimento de metano de substratos padrão conhecido com produção de biogás para controle (HÜLSEMANN et al., 2020).

Para determinar a quantidade de substrato e inóculo utilizado no teste, algumas restrições devem ser consideradas:

- Para não proporcionar acidez devido ao excesso de carga orgânica, a quantidade de substrato e inóculo deve seguir conforme seguinte relação:

$$SV_{inóculo}/SV_{substrato} \leq 0,5$$

- A produção de biogás a partir do substrato utilizado deve ser de, no mínimo, 80% maior do que a contribuição do inóculo;
- A concentração de sólidos no teste em batelada não deve exceder 10%, assegurando a transferência de massa adequada durante o teste.

O PBM pode ser calculado pela razão entre o volume de gás produzido e a quantidade de sólidos voláteis adicionados, sendo necessário fazer leitura diária na fase inicial, com frequência menor na fase estacionária. O sistema pode ser encerrado no momento em que a taxa diária de biogás seja equivalente a apenas 1% do volume total de biogás produzido até aquele tempo (VDI 4630, 2016).

3.10 Estado da arte

No Quadro 1 estão apresentados alguns trabalhos que utilizaram resíduos de casca de laranja (RCL) e glicerol como substrato para digestão anaeróbia, as condições operacionais empregadas e os principais resultados encontrados.

Quadro 1: Revisão da literatura relacionada a utilização de RCL e GB na digestão anaeróbia

Autores	Substrato	Inóculo	Reator	Temp.	TDH	COV	Rendimento Biogás	Rendimento CH ₄	Rendimento H ₂
Martín <i>et al.</i> (2010)	RCL	Lodo anaeróbio	Batch	37 °C	Máx. 120 h	nd	-	230 ± 16 mL _N CH ₄ /g SV adc.	-
			Batch	67 °C	Máx. 120 h	nd	-	332 ± 17 mL _N CH ₄ /g SV adc.	-
			Semi-contínuo	55 °C	25 d	1,20-3,67 g DQO/L. d ⁻¹	-	270-290 mL _N CH ₄ /g DQO adc.	-
Martín <i>et al.</i> (2013)	RCL e glicerol	Lodo anaeróbio	Semi-contínuo	35 °C	8,5 - 30 d	0,62 -1,52 kg SV/m ³ . d ⁻¹	-	330 ± 51 mL _N CH ₄ /g DQO adc.	-
				55 °C		0,71 -1,07 kg SV/m ³ . d ⁻¹	-	356 ± 20 mL _N CH ₄ /g DQO adc.	-
Silva <i>et al.</i> (2018)	Restos alimentares e Glicerol	Lodo anaeróbio	Batch - Acidogênico	35 °C	36 h	nd	-	-	179,3 mL H ₂ /g SV
			Batch - Metanogênico	35 °C	40d	nd	-	342 mL CH ₄ /g VS	-
Zema <i>et al.</i> (2018)	RCL	Lodo	Semi-contínuo	42 °C	17,9 - 70 d	0,64 - 2,5 g SVT/L. d ⁻¹	-	0,46 L CH ₄ /g SVT	-
				51 °C	22,7 - 70 d	0,64 - 2,0 g SVT/L. d ⁻¹	-	0,12 L CH ₄ /g SVT	-
Carvalho <i>et al.</i> (2019)	RCL e lodo de esgoto	Lodo primário e lodo ativado	Semi-contínuo	37 ° C	15 d	1,80 ± 0,31 g SV/L. d ⁻¹	-	177 mL CH ₄ /g SV	-
Jiménez-Castro <i>et al.</i> (2020)	RCL	Lodo anaeróbio	1 estágio – Semi contínuo	35 °C	25,8 d	0,40 g DQO/L	0,49 L/ g SVT	-	-
			2 estágios – Semi contínuo			0,36 g DQO/L	0,79 L/g SVT	-	-
Almeida (2021)	Glicerol e soro de queijo	Lodo anaeróbio	Reator anaeróbio de leite fluidizado - RALF	25-35 ° C	24 h	2-20g DQO/L. d	-	273,2 NmL CH ₄ /gDQOcons	-
Camargo <i>et al.</i> (2021)	RCL	Lodo anaeróbio	Batch - Acidogênico	30 °C	22 h	nd	-	-	13,29 mmolH ₂ L ⁻¹
			Batch - Metanogênico		700 h	nd	-	50,2 mmolCH ₄ . L ⁻¹	-

Fonte: Elaborado pela autora.

Para o presente estudo serão utilizados como precursores os trabalhos de Martín *et al.* (2013), Jiménez-Castro *et al.* (2020) e Camargo *et al.* (2021) que contribuirão para a avaliação da co-digestão anaeróbia dos RCL e de glicerol em um sistema duplo estágio. O primeiro trabalho avaliou a co-digestão anaeróbia de GB com RCL e o segundo e terceiro, avaliaram a digestão anaeróbia de RCL em dois estágios, um acidogênico e outro metanogênico.

MARTÍN *et al.* (2013): Neste estudo, os autores avaliaram a co-digestão anaeróbia de GB com RCL. Para isso, foram utilizados 4 reatores de mistura completa de 1 L em temperatura

mesofílica (35 °C) e dois reatores de mistura completa de 3,5 L operando sob condições termofílicas (55 °C), funcionando de modo semi-contínuo e com recirculação da fração sólida do digestato.

Os reatores mesofílicos foram inoculados com biomassa granular ativa metanogênica obtida de um reator anaeróbico em escala real usado para tratar efluentes da cervejaria Heineken S.A., localizada na Espanha. Já os reatores termofílicos foram inoculados com biomassa ativa obtida de um reator anaeróbico usado para tratar resíduos agrícolas de uma indústria, Ecofuels Netherlands B. V.

A concentração de metano apresentou um valor médio de 330 ± 51 mL_N CH₄/g DQO adicionado para os reatores mesofílicos e 356 ± 20 mL_N CH₄/g DQO adicionado para os reatores termofílicos. Apesar da concentração de metano em condições termofílicas ter sido maior, verificou-se que a COV em condições mesofílicas foi mais elevada ($0,62-1.52$ kg SV/m³. d⁻¹) e considerando os gastos energéticos envolvidos para manter os reatores operando na faixa termofílica, optou-se por utilizar a temperatura mesofílica para o estudo que teve o TDH variando entre 8,5–30 dias.

JIMÉMEZ-CASTRO et al. (2020): No estudo, foi avaliada a digestão anaeróbia de resíduos de casca de laranja em um sistema duplo estágio. O sistema foi formado por dois reatores, um acidogênico e outro metanogênico, operados em temperatura mesofílica a 35 °C, sendo mantida constante através do uso de um termostato.

O pH do reator acidogênico foi mantido entre 5–6 e do metanogênico entre 7-8 com adição de 6N NaOH quando necessário. Nessa configuração, o reator acidogênico era alimentado diariamente com 65 mL de água e 35 mL de casca de laranja enquanto que o reator metanogênico foi alimentado com 100 mL do digestato proveniente do reator acidogênico.

O TDH adotado foi de 25,8 dias, e a COV foi de 0,36g DQO/L.d para o reator de dois estágios e 0,40 gDQO/L.d para o reator controle de um estágio. O pH foi monitorado diariamente e regulado com a adição de NaOH (6 N) para manter o mesmo na faixa entre 5-6 para o reator acidogênico e 7–8 para o reator metanogênico.

Verificou-se que o rendimento de biogás acumulado foi de 0,79 L/g SVT e 0,49 L/g SVT para os reatores metanogênicos e controle, respectivamente.

CAMARGO et al. (2021): Os autores utilizaram casca de laranja como substrato para geração de H₂ e ácidos graxos voláteis (Estágio I) e geração de CH₄ (Estágio II). O estágio I foi

composto por reatores em batelada operando a 30 °C, com pH 8,5, utilizando 15 g/L casca de laranja, 2,25 g SVT/L de inóculo autóctone, 3g SVT/L de inóculo alóctone (lodo de reator UASB do tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar), 5 g/L de NaCl, operado com 40% de *headspace*, em frascos Duhran® de 250 mL por 22 horas. Foi possível obter no Estágio I, 13,29 mmolH₂. L⁻¹ e 1340 mg.L⁻¹ de ácido acético.

No Estágio II, o efluente acidificado obtido após fermentação no Estágio I, foi filtrado em membrana ≤ 0,1 mm para descartar fração sólida e evitar a possibilidade de inibir a metanogênese devido à alta concentração de polissacarídeos. A fração líquida resultante, foi suplementada com meio mineral de Zinder acrescido de solução traço de vitaminas.

Após inoculação de 3 g/SVT do mesmo inóculo alóctone, o pH foi ajustado para 7,0 com NaOH ou HCl, 1 mol/L. Os ensaios foram realizados em frascos Duhran® de 250 mL com 50% de *headspace*, em temperatura de 30 °C por 700 horas, sendo possível obter 50,2 mmolCH₄. L⁻¹.

Assim, diante do que foi visto em literatura, o presente estudo visa contribuir e dar seguimento aos estudos apresentados acima, com o diferencial da utilização dos resíduos agroindustriais, RCL e GB, em co-digestão anaeróbia em sistema em batelada e semi-contínuo, para produção de biogás.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção apresenta os equipamentos e as etapas metodológicas desenvolvidas neste trabalho. São descritos os sistemas operacionais dos reatores anaeróbios e os parâmetros utilizados para caracterização e monitoramento do processo de DA.

Os experimentos foram organizados em duas etapas principais:

- **Etapa 1:** Determinação do Potencial Bioquímico do Biogás (PBB) e do Potencial Bioquímico do Metano (PBM) de RCL e GB, separadamente e mixados, em sistema metanogênico e em sistema duplo estágio, em batelada (Fase acidogênica e metanogênica);
- **Etapa 2:** Análise da etapa acidogênica para eliminação do pré-tratamento do D-limoneno e avaliação da estabilidade da co-digestão anaeróbia de RCL e GB em

sistema de estágio único e duplo estágio em operação semi-contínua, com aumento da carga orgânica volumétrica (COV).

Os experimentos das etapas 1 e 2 foram realizados no Centro de Pesquisa em Energias e Tecnologias Sustentáveis (CPETS), vinculado ao Parque Científico e Tecnológico do Vale do Taquari (Tecnovates), em Lajeado – RS e no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico (LADETEC) do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IPH/UFRGS), em Porto Alegre - RS.

4.1 Resíduos (Casca de laranja e glicerol bruto) e inóculo

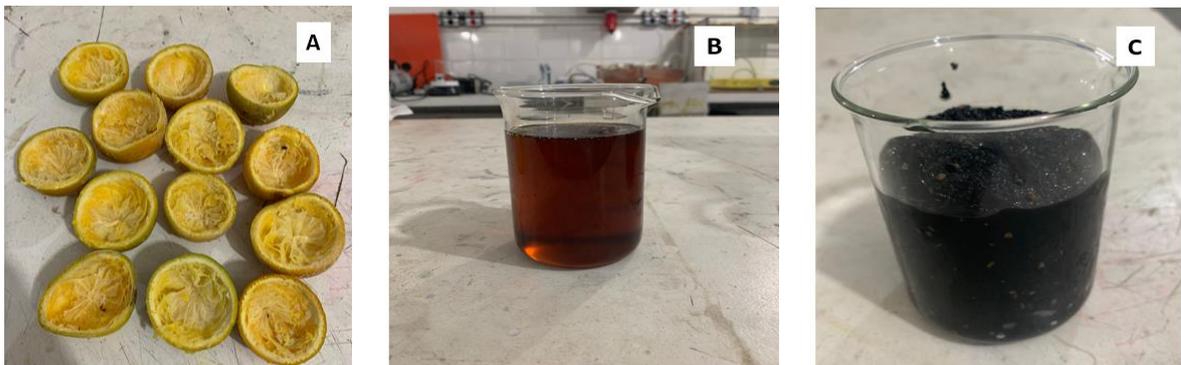
Os resíduos de casca de laranja utilizados nos experimentos deste trabalho, compostos principalmente da casca e do bagaço, foram obtidos em feiras orgânicas no município de Porto Alegre/RS. Os mesmos foram armazenados em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o uso e triturados em liquidificador.

O inóculo utilizado foi proveniente de reator tipo UASB de uma indústria alimentícia de Esteio/RS.

O glicerol bruto empregado foi oriundo de uma indústria de biodiesel localizada em Veranópolis/ RS.

Para caracterizar os RCL (cascas de laranja e bagaço), pesou-se 5g dos resíduos e adicionou-se 50 mL de água deionizada em erlenmeyer. O conteúdo foi submetido a agitação em shaker a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 200 rpm por 1 hora e posteriormente, filtrado a vácuo em papel filtro com porosidade $0,45\text{ }\mu\text{m}$ (CARNEIRO, 2005). Os RCL (A), o GB (B) e inóculo (C) utilizados estão apresentados na Figura 4.

Figura 4: RCL, GB e inóculo utilizados no estudo



Fonte: A autora.

As análises físicas e químicas para caracterizar os resíduos e inóculo utilizados, foram realizadas em triplicatas. No Quadro 2 estão apresentadas as análises realizadas e as metodologias aplicadas.

Quadro 2: Parâmetros físicos e químicos utilizados na caracterização dos resíduos e inóculo do sistema experimental

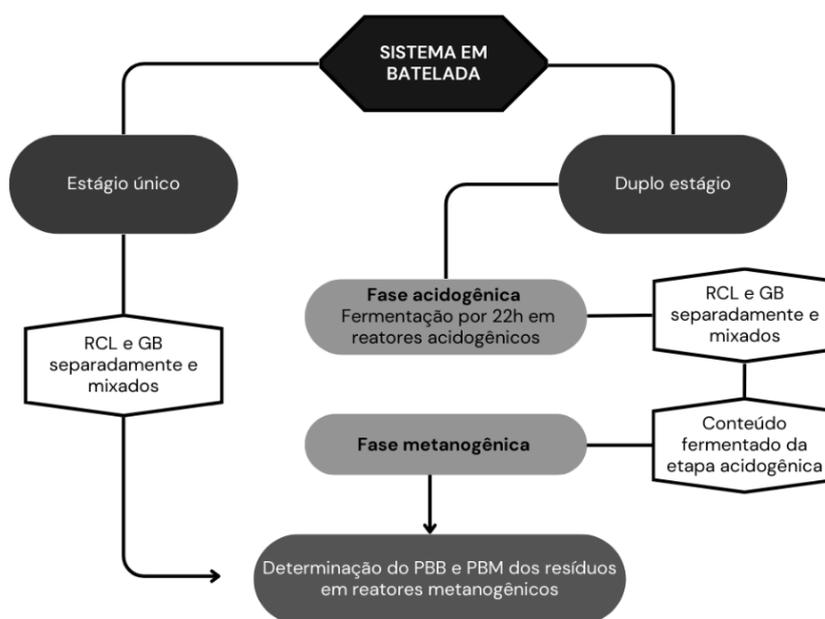
PARÂMETRO	REFERÊNCIA
pH	4500+H- APHA (2012)
Sólidos Totais (mg/L)	2540B APHA (2012)
DQO (mg/L)	5220C APHA (2012)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Ripley et al. (1986)
NTK (mg/L)	45000-NorgB APHA (2012)
D-limoneno (%)	Scott & Veldhuis (1966)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 Testes em batelada em sistema de estágio único e duplo estágio

A organização experimental dos testes em batelada ocorreu em duas etapas (Etapa acidogênica seguido de etapa metanogênica), conforme ilustrado no fluxograma da Figura 5.

Figura 5: Fluxograma do sistema experimental em batelada



Fonte: Elaborado pela autora.

Os experimentos para determinação do PBB e PBM foram realizados em reatores batelada na faixa de temperatura mesofílica (35 – 37 °C). A faixa mesofílica foi escolhida considerando os custos energéticos em temperaturas mais altas. Além disso, de acordo com estudo de Martín et al. (2013), o sistema que foi operado com temperatura de 35 °C permitiu COV maior nestas condições, além de proporcionar maior estabilidade no pH, AGVs e alcalinidade

A primeira etapa experimental do sistema duplo estágio foi realizada no LADETEC do IPH/UFRGS. Os RCL e GB, separadamente e mixados, foram fermentados em reatores acidogênicos por um período de 22 horas (CAMARGO et al., 2021).

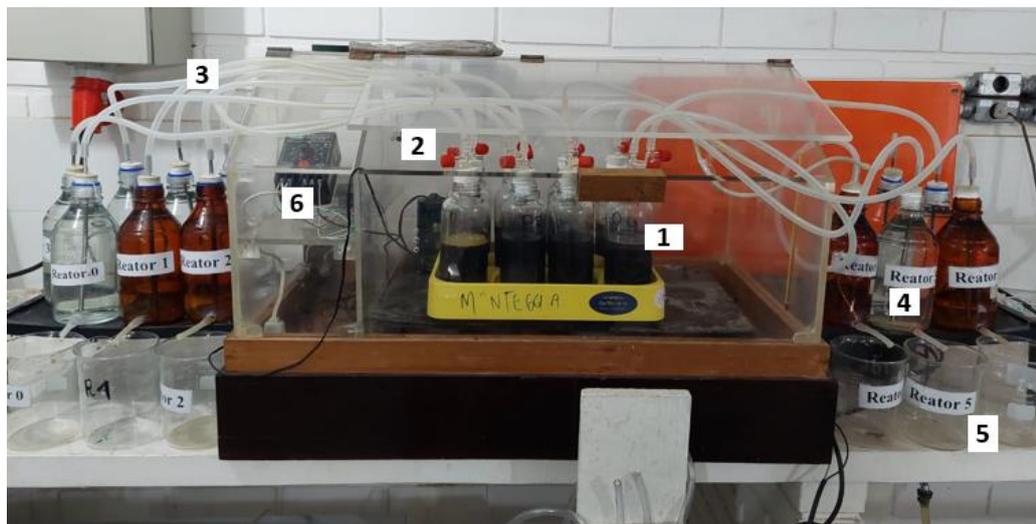
Para avaliar o potencial do sistema acidogênico para remoção dos inibidores dos resíduos e conseqüentemente, maximizar a produção de biogás e metano, o inóculo anaeróbio foi submetido a um tratamento térmico. Nesse tratamento, o lodo anaeróbio foi aquecido em chapa metálica a 100 °C por 15 minutos, para eliminação dos organismos metanogênicos. Rossi et al. (2011) relatam que esse tipo de pré-tratamento é uma opção viável para o enriquecimento de consórcios de bactérias produtoras de H₂.

Foram utilizados reatores acidogênicos de 2 L de volume total e 1,5 L de volume útil, preenchidos da seguinte forma:

- R1: Inóculo pré-tratado (inóculo pt) + RCL;
- R2: Inóculo com pré-tratamento + GB (0,5% v/v);
- R3: Inóculo com pré-tratamento + RCL + GB (0,5% v/v);

Os reatores foram incubados no sistema apresentado na Figura 6. Os biorreatores (1) foram vedados com uma tampa de borracha com septo (2), para permitir a coleta de gás através de seringa, e ligados por uma mangueira (3) a frascos Boyle-Mariotte (4), preenchidos com água. À medida que o gás foi sendo produzido, a água do frasco foi coletada em béqueres (5), sendo possível aferir o volume deslocado, referente a geração de biogás. A temperatura foi controlada por termostato (6), sendo mantida em 35 °C.

Figura 6: Design experimental do sistema acidogênico em batelada



Fonte: A autora.

Ao término da etapa 1 do sistema duplo estágio em batelada, os conteúdos fermentados foram colocados em reatores metanogênicos (Etapa 2) em batelada. Além desses conteúdos, foram utilizados RCL e GB, separadamente e mixados, sem fermentação prévia, no laboratório do CPETS. Esse laboratório é credenciado à ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), e destaca-se como uma grande referência no setor de biogás no estado do Rio Grande do Sul. O laboratório presta serviços para empresas e desenvolve pesquisas na área acadêmica, sendo realizados experimentos a nível de bancada, em processos de digestão anaeróbia, onde são empregadas e avaliadas diferentes fontes de biomassa e resíduos.

No experimento, foram utilizados biorreatores (Figura 7) de vidro com capacidade de 1.000 mL, preenchidos com a relação entre inóculo e substrato igual a 2 com base no teor de SV (sólidos voláteis). O experimento foi concluído após 20 dias, quando a produção diária de gás foi equivalente a 1% do volume total de gás produzido durante o experimento (VDI 4630).

Figura 7: Biorreatores utilizados no experimento.



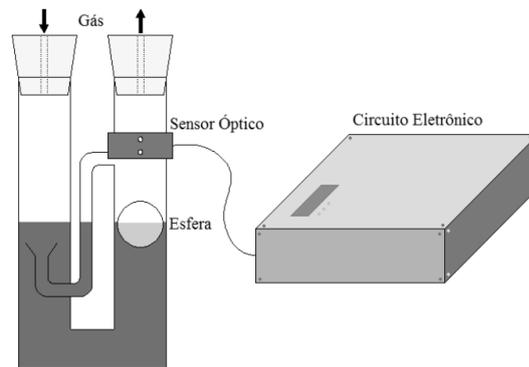
Fonte: A autora.

Foram avaliadas 8 diferentes amostras: Inóculo, Celulose Microcristalina (CM), RCL, GB, Mix (RCL + GB), RCL pós fermentação; GB pós fermentação e Mix (RCL + GB) pós fermentação. Foi utilizada a CM como controle interno positivo para assegurar a atividade anaeróbia do inóculo. Enquanto que os reatores preenchidos apenas com inóculo foram utilizados como controles negativos, seguindo recomendações da VDI 4630.

Para maior confiabilidade dos resultados, os mesmos foram avaliados em quintuplicata, totalizando 40 biorreatores. Os reatores foram mantidos em temperatura mesofílica, em torno de 35 °C, em incubadora bacteriológica adaptada, conectada a um sistema automatizado de medição de biogás (MALLMANN, 2019).

O sistema utilizado, apresentado na Figura 8, é composto um coletor de biogás constituído por um tubo de vidro em forma de U, um sensor óptico, uma esfera de isopor e um circuito eletrônico que registra a passagem do biogás pelo sistema e calcula o volume gerado (KONRAD et al., 2010).

Figura 8: Sistema experimental do Centro de Pesquisa em Energias e Tecnologias Sustentáveis (CPETS).



Fonte: Adaptado de Backes (2011)

O princípio de funcionamento do dispositivo é o deslocamento de fluidos, sendo a quantificação do biogás realizada quando ele, à medida que enche o tubo em forma de U, desloca o fluido nele contido e eleva o nível de fluido no lado oposto, que é detectado por um sensor óptico, o qual envia essa informação a um circuito eletrônico (KONRAD et al., 2010; MALLMANN, 2019).

Através da utilização de um software, recebem-se informações referentes à calibração de cada recipiente, configura data e hora do medidor, exibe informações sobre a memória e número de eventos armazenados, e descarrega os dados, disponibilizando uma planilha para cada biorreator analisado (BACKES, 2011). O volume de biogás gerado é determinado com

base na equação dos gases ideais, e considera a pressão e a temperatura do momento, que descreve que a relação entre a temperatura, a pressão e o volume de um gás são constantes (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2009; KONRAD et al., 2010).

Para a caracterização do biogás em cada reator, foram realizadas leituras do percentual de metano presente no biogás a partir da injeção de 20 mL de biogás, retirado através de uma seringa diretamente de cada reator. A determinação do percentual de metano no biogás foi realizada através de um sensor denominado Advanced Gasmitter, desenvolvido pela PRONOVA Analysentechnik GmbH & Co, calibrado com gás padrão contendo 60,01% de CH₄, apresentado na Figura 9.

Figura 9: Sensor Advanced Gasmitter



Fonte: A autora.

4.3 Sistema semi-contínuo formado por reatores de estágio único e duplo estágio

Considerando que reatores em batelada são mais utilizados em estudos preliminares, devido à sua simplicidade de operação e controle, escolheu-se avaliar a produção de biogás e metano em reatores completamente misturados com alimentação semi-contínua em um e dois estágios (Fase acidogênica e fase metanogênica), para obter resultados mais próximos dos obtidos em sistemas em escala real.

Para avaliar a co-digestão anaeróbia de RCL e GB e a estabilidade do sistema com aumento da carga orgânica volumétrica (COV), operou-se reatores semi-contínuos em estágio único (Metanogênico – M1) e duplo estágio (Acidogênico – AC e metanogênico – M2). Os

reatores foram operados em temperatura mesofílica (35-37 °C) por um período de 60 dias, de 25/01/2023 a 25/03/2023.

Cinco dias antes do início de operação, adicionou-se o inóculo aos reatores e realizou-se a primeira alimentação com os resíduos, para permitir a aclimatação dos microrganismos ao ambiente anaeróbio (LUKITAWESA et al., 2019). No reator AC o inóculo adicionado passou por pré-tratamento térmico, para o enriquecer o consórcio de bactérias produtoras de H₂ (ROSSI et al., 2011), enquanto que nos reatores M1 e M2 esse procedimento não foi realizado.

Os reatores foram preenchidos com RCL (13,9 % v/v), GB (0,1% v/v), inóculo (43% v/v) e água deionizada (43% v/v) para permitir uma melhor homogeneização do conteúdo (JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020). Optou-se por alimentar os reatores com apenas 0,1% v/v de GB, para evitar choques de carga. Além disso, adicionou-se 2,5 e 50g de NaHCO₃ no reator AC e nos reatores M1 e M2, respectivamente, para evitar quedas bruscas no pH.

O TDH adotado para o reator AC foi de 48 horas e para os reatores metanogênicos M1 e M2 foi de 25 dias, valor próximo aos utilizados nos estudos de Martín et al. (2013), Jiménez-Castro et al. (2020) e Camargo et al. (2021). Além disso, o tempo de ciclo foi igual a 24 horas (TREVISAN, 2010). A cada 24 horas de alimentação, foi retirada uma fração do líquido com agitação ligada e introduzido ao reator um volume igual ao que foi removido e o conteúdo não retirado do reator fosse inóculo para o conteúdo adicionado posteriormente (SILVA, 2017). Para inserção de alimento e retirada do efluente, foram utilizadas seringas de 60 mL acopladas a uma mangueira de borracha.

Nos primeiros 30 dias, o conteúdo introduzido aos reatores AC e M1 era composto por 34,5% v/v de RCL, 0,5% v/v de GB e 65% v/v de água deionizada, com COV nos reatores AC e M1 iguais a 18,4 gSV/L. d⁻¹ e 1,48 gSV/L. d⁻¹, respectivamente. Nos últimos 30 dias de experimento, aumentou-se a COV em 20% e o conteúdo era composto por 39,2% v/v de RCL, 0,8% v/v de GB e 60% v/v de água deionizada. Durante os 60 dias de experimento, o reator M2 foi alimentado pelo conteúdo retirado do reator AC. O delineamento das condições adotadas para os reatores AC e M1 estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Delineamento das condições adotadas para os reatores AC e M1 no período do experimento.

PERÍODO	25/01/23 - 24/02/23		25/02/23 - 25/03/23	
CONTEÚDO	Reator AC	Reator M1	Reator AC	Reator M1
RCL (mL)	172,5	69,0	196,8	78,3
GB (mL)	2,5	1,0	4,2	1,7
Água deionizada (mL)	325,0	130,0	300,0	120,0
NaHCO ₃ (g)	2,5 - 7,0	0,0 -5,0	3,5 - 5,0	4,0 - 6,5
COV (gSV/L. d ⁻¹)	18,4	1,48	22,3	1,78

Fonte: Fonte: Elaborado pela autora.

A seguir, estão apresentadas as condições experimentais que foram empregadas em cada um dos reatores.

4.3.1 Reator Acidogênico - AC

No estágio acidogênico, apresentado na Figura 10, foi utilizado um reator AC (1) de vidro de volume total igual a 2 L e volume útil de 1 L, vedado com uma tampa de borracha (2) para permitir a coleta de gás com uma seringa, e ligado através de uma mangueira (3) à um frasco Boyle-Mariotte (4) de 2 L, preenchido com água. Conforme o biogás era produzido, a água do frasco foi coletada em béquer (5), sendo possível aferir o volume deslocado, utilizando uma proveta, e assim, registrar a geração de biogás. O conteúdo do reator foi mantido em ambiente com temperatura controlada por termostato (35 - 37 °C) (6).

Figura 10: Estágio acidogênico – Reator AC.



Fonte: A autora.

Diariamente, 500 mL do conteúdo fermentado era retirado do reator e utilizado para alimentar o reator metanogênico M2. Após retirada desse conteúdo, o reator era alimentado com um volume igual a 500 mL, composto por RCL, GB e água deionizada. Bicarbonato de sódio foi adicionado diariamente em quantidades que variaram entre 2,5 e 7,0g, de modo a evitar quedas bruscas de pH, mantendo-o abaixo de 6,0 e evitar o crescimento de *archeas* metanogênicas.

4.3.2 Reatores Metanogênicos – M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio)

Foram utilizados reatores metanogênicos de vidro com volume total de 7,5 L e volume útil de 5 L, apresentados na Figura 11. Os reatores eram mantidos em velocidade constante de 250 rpm, e a medição da vazão de gás produzido foi realizada através de frascos Boyle-Mariotte de 20 L (1), acoplados aos reatores através de uma mangueira (2). Conforme o biogás era produzido, coletava-se a água com um balde (3), sendo possível aferir o volume deslocado, utilizando uma proveta, e assim, registrar a geração de biogás. O biogás foi coletado através do septo existente na parte superior do reator, através da utilização de uma seringa.

Para aquecer os reatores e manter a temperatura na faixa mesofílica (35 – 37 °C), foi utilizado barrilete (4) em PVC, com volume de 20 L. O barrilete foi preenchido com água e possui uma serpentina para aquecimento da água, um dispositivo automático para controle da temperatura e uma bomba de recirculação. A água do barrilete era encaminhada para as camisas de aquecimento dos reatores, sendo recirculada para manutenção da temperatura (SILVA, 2017).

Figura 11: Sistema metanogênico – M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio)



Fonte: A autora.

Diariamente, 200 mL de conteúdo era retirado dos reatores, para posterior caracterização. Após retirada desse conteúdo, o reator M1 era alimentado com um volume igual a 200 mL de conteúdo composto por RCL, GB e água deionizada. Enquanto que o reator M2 era alimentado com 200 mL do conteúdo proveniente do reator AC. Em ambos os reatores (M1 e M2), adicionou-se diariamente, bicarbonato de sódio em quantidades que variaram entre 4,0 e 25,0 g de modo a manter o pH na faixa ótima para as *archeas* metanogênicas (6,5 – 7,5).

4.4 Análises físicas e químicas

A fim de caracterizar o afluente e efluente dos reatores, foram realizadas análises físicas e químicas nas etapas 1 e 2 da pesquisa. A periodicidade das amostragens e a realização das análises nas etapas experimentais podem ser visualizadas no Quadro 3.

Quadro 3: Periodicidade das amostragens realizadas nos experimentos propostos

ANÁLISE	ETAPA 1: PBB e PBM	ETAPA 2: SISTEMA SEMI-CONTÍNUO EM 2 ESTÁGIOS
Cromatografia gasosa	1 - 2 vezes por semana	A cada 2 dias
Medição de vazão do biogás	Diariamente	Diariamente
pH	Ao início e fim do teste	Diariamente
Alcalinidade	-	2 vezes por semana
DQO	-	2 vezes por semana
Sólidos Totais	Ao início e fim do teste	1 vez por semana
NTK	-	1 vez por semana
AGV	-	2 vezes por semana
D-limoneno	-	1 vez por semana

Fonte: Elaborado pela autora.

4.5 Composição e qualidade do biogás produzido

Para verificar os constituintes e a qualidade do biogás produzido na Etapa 2, foi utilizado cromatógrafo gasoso DANI GC1000 com detector de condutividade térmica (DCT) e coluna capilar SUPELCO Carboxen-1006 PLOT. Foram adotadas as condições cromatográficas descritas por Morimoto et al (2004): Temperatura do injetor 50°C; temperatura do detector 50°C; temperatura da coluna 40°C; gás Hélio para arraste, com fluxo de 25 mL/min e amostra injetada com volume de 1 mL.

4.6 Normalização da produção de biogás e metano

Para controlar adequadamente o processo de DA e gerar índices técnicos confiáveis, é importante expressar os parâmetros de maneira correta e equiparável com o que é utilizado em estudos internacionais (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2011; EMBRAPA, 2016).

Assim, foi feita normalização do volume do gás às condições normais de temperatura e pressão (273 K e 1013 hPa), para quantificação e posterior comparação de resultados. Os volumes de biogás produzidos nas condições experimentais dos ensaios foram convertidos a condições padrão utilizando a Equação 1, apresentado na norma VDI 4630 (2016).

$$V_N = V \cdot \frac{(P-P_W) \cdot T_N}{P_N \cdot T} \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

V_N : Volume seco de biogás normalizado (NmL ou STP mL)

V : Volume de biogás produzido (mL)

P : Pressão do biogás no dia da leitura ou medição (hPa)

P_W : Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente (hPa)

T_N : Temperatura normal (273 K)

P_N : Pressão normal (1013 hPa)

T : Temperatura do experimento (K)

Para calcular a pressão do vapor de água, dada em função da temperatura ambiente, utilizou-se a equação modificada de Buck (1996) (Equação 2):

$$P_W = 6,1121 \cdot e^{\left(\left(18,678 - \frac{T_C}{234,5} \right) \frac{T_C}{257,14 + T_C} \right)} \text{ (Equação 2)}$$

Onde:

P_W : Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente em hPa (1 hPa = 0,1 kPa)

T_C : Temperatura ambiente do experimento (°C)

Para interpretação dos resultados do biogás foram utilizados os seguintes parâmetros:

- **Produção bruta de biogás**

Definido como o volume de biogás produzido pelo inóculo e substrato diário e acumulado ao longo do tempo experimental expresso em NmL Biogás.

- **Produção bruta de H₂ e CH₄**

Determinado como o volume de hidrogênio ou metano produzido pelo inóculo e substrato diário e acumulado ao longo do tempo experimental expresso em NmL H₂ e NmL CH₄, respectivamente.

- **Rendimento de hidrogênio e metano (YH₂ e YCH₄)**

Definido como a quantidade de hidrogênio ou metano diária ou acumulada dividido pela massa de substrato utilizada. Expresso como NmL CH₄/g SV.

- **Produtividade volumétrica de H₂ e CH₄**

Para analisar a eficiência em reatores é necessário determinar a produtividade volumétrica. Esse parâmetro representa o volume de hidrogênio ou metano (mL) gerado em relação ao volume do reator (L) em um dado período de tempo (d) (FACHAGENTUR, 2009), expresso em mL H₂/L.d ou mL CH₄/L.d, conforme a Equação 3.

$$\text{Produtividade volumétrica} = \frac{V_{H_2 \text{ ou } V_{CH_4}}}{V_r} \text{ (Equação 3)}$$

- **Produtividade volumétrica específica de H₂ e CH₄**

A produtividade volumétrica específica representa a relação entre o volume de H₂ ou CH₄ produzido pela massa de SV em um dado período, sendo expresso em mL H₂/g SV.d ou mL CH₄/g SV.d, como apresenta a Equação 4.

$$\text{Produtividade volumétrica específica} = \frac{V_{H_2 \text{ ou } V_{CH_4}}}{\left(\frac{g_{SV}}{L} \times V\right) \times t} \text{ (Equação 4)}$$

4.7 Determinação do PBB e PBM

Após normalizar os volumes de biogás e metano gerados nos experimentos deste trabalho, determinou-se o PBB e PBM através da Equação 5, apresentado por Konrad et al. (2018).

$$PBB \text{ ou } PBM = \frac{V_s - V_b \times \frac{m_{SVis}}{m_{SVib}}}{m_{SVs}} \text{ (Equação 5)}$$

Onde:

Vs: Volume acumulado (biogás ou metano) do substrato com inóculo (amostra)

Vb: Volume acumulado (biogás ou metano) do substrato do branco (apenas inóculo)

mSVis: Massa de sólidos voláteis correspondentes ao inóculo na amostra

mSVib: Massa de sólidos voláteis correspondentes ao inóculo no branco

mSVs: Massa de sólidos voláteis correspondentes ao substrato na amostra

4.8 Detecção e quantificação de ácidos graxos voláteis (AGVs)

Para análise, as amostras dos reatores foram preservadas em solução de ácido fórmico concentrado em tubos Falcon de 15 mL e armazenadas em geladeira (1-7°C). As concentrações de AGVs foram monitoradas em cromatógrafo a gás modelo Master GC da DANI Instrument, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar GC Nukol 24107 com temperatura do forno de 105°C. O cromatógrafo estava equipado com amostrador automático o que permitiu fazer as leituras de todas as amostras de uma única vez.

Foram adotadas as condições cromatográficas descritas por Hoyos (2021): Temperatura do injetor 250°C; temperatura do forno 80°C; temperatura do Detector FID 250°C e amostra injetada com volume de 1µl.

4.9 Avaliação da concentração de D-limoneno

A concentração do composto D-limoneno foi determinada nos reatores semi-contínuos, de acordo com a metodologia empregada por Scott e Veldhuis (1966), através da utilização de co-destilação a vapor com álcool isoproílico e posterior acidificação por titulação com solução padrão de brometo-bromato (KBr-KBrO₃).

4.10 Análise da eficiência energética nos reatores semi-contínuos

Através da utilização dos dados de rendimento de H₂ e CH₄ obtidos nos reatores semi-contínuos, os rendimentos energéticos correspondentes a cada grama de SV adicionados aos reatores foram calculados. O cálculo da eficiência de energia foi baseado na densidade e no poder calorífico do H₂ e CH₄, isto é, 0,09 Kg/m³ e 0,72 Kg/m³ e 142 kJ/g e 55,6 kJ/g, respectivamente (PEIXOTO et al., 2012; SILVA et al., 2018)

4.11 Análise estatística

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados utilizando o software estatístico R, versão 4.3.0. Na Etapa 1, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para analisar as variáveis que seguiram distribuição normal. As variáveis não apresentaram distribuição normal e, portanto, as análises foram realizadas usando testes não paramétricos (Kruskal-Wallis seguido de Dunnett post hoc).

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar as oito amostras de biomassa ao grau de geração de biogás e metano durante o período de 20 dias de incubação. O teste de Dunnett post hoc foi usado para analisar as diferenças entre as amostras, duas a duas, e de acordo com o tipo de gás gerado. Além destes, foram realizados testes estatísticos descritivos como média e desvio padrão.

Na Etapa 2, foi avaliado se existe diferença significativa entre os dois sistemas de reatores (Estágio único e duplo estágio), de acordo com os volumes de biogás e metano, percentual de metano e volume com potencial energético (Hidrogênio e metano). O procedimento foi realizado em três etapas:

- Análises descritivas: Foram gerados gráficos de diferença entre os sistemas para checar se a série dessa diferença corre próxima ao 0, assim como se sua média também é um número próximo ao 0. Isso foi feito para indicar se existe alguma diferença entre as séries, mesmo que os testes aplicados não indiquem uma diferença estatisticamente significativa;
- Avaliação de tendência: Utilizou-se o teste de Cox-Stuart para avaliar se existe alguma tendência na diferença das séries, de acordo com o tempo envolvido;
- Avaliação da diferença: Através de um teste de Box-Pierce, foi avaliado se as diferenças entre os sistemas era um *white-noise*, ou seja, se sua média é 0 e sua variância é constante.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados e discussão da produção de biogás e análises físicas e químicas do conteúdo dos biodigestores das Etapas 1 e 2.

5.1 Caracterização física e química dos resíduos (RCL e GB) e inóculo

A caracterização física e química dos RCL e GB e do inóculo utilizados estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Caracterização física e química dos resíduos (RCL e GB) e inóculo

PARÂMETRO	RCL	GB	INÓCULO
pH	4,3	5,7	7,2
Densidade (Kg/m ³)	475	1.215	986
Sólidos Totais (%)	20 ± 4	85 ± 2	16 ± 1
Sólidos Totais Voláteis (%)	19 ± 4	81 ± 2	10 ± 1
Sólidos Totais Fixos (%)	0	4 ± 0	7
Umidade (%)	80 ± 4	15 ± 2	84 ± 1
DQO (g/L)	35 ± 5	1.169 ± 264	17 ± 5
NTK (mg/L)	1.633 ± 89	243 ± 20	1.916 ± 133
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	2.125 ± 254	2.190 ± 42	7.472
D-limoneno (g/Kg)	18	-	-

Fonte: Elaborado pela autora.

RCL: Resíduos de Casca de Laranja; GB: Glicerol Bruto; pH: Potencial Hidrogeniônico; DQO: Demanda Química de Oxigênio; NTK: Nitrogênio Total Kjeldahl.

O baixo valor de pH dos RCL e a elevada concentração de DQO do GB representam um desafio para o processo anaeróbio. Para contornar isso, escolheu-se um inóculo denso (986 kg/m³) e com alto teor de sólidos voláteis (cerca de 60%) para contribuir com a neutralização da acidez da casca da laranja e ajudar a manter um pH adequado para o crescimento dos microrganismos.

Ao avaliar os dados da Tabela 2 destacam-se o alto teor de sólidos voláteis dos resíduos, cerca de 95% de SV nos RCL e no GB, indicando elevado potencial biodegradável. Quanto maior a quantidade de SV na biomassa maior será a capacidade de produção de biogás, pois a matéria orgânica volátil é a fração que será convertida em biogás (HASAN et al., 2019).

Além disso, verifica-se que o teor de D-limoneno nos RCL é de 18 g/Kg, valor superior a concentração inibitória mínima que é estimada em cerca de 0,2 g/Kg (CALABRÓ et al., 2016; RUIZ & FLOTATS, 2016; CAMARGO et al., 2021).

5.2 Etapa 1: Testes em batelada em sistema de estágio único e duplo estágio

No sistema duplo estágio, após o período de incubação de 22h, os efluentes fermentados nos reatores acidogênicos foram utilizados como substrato em reatores metanogênicos. Além

desses conteúdos, utilizou-se RCL e GB separadamente e mixados, sem fermentação prévia, com intuito de determinar o PBB e PBM. Todos os reatores metanogênicos foram monitorados por 20 dias. A caracterização do inóculo e das amostras e o conteúdo dos biorreatores estão apresentadas nas Tabela 3 e Tabela 4, respectivamente.

Tabela 3: Caracterização do inóculo e das amostras.

CONTEÚDO	ST (%)	SV (%)	SF (%)
Inóculo	2,0 ± 0,6	46,4 ± 3,7	53,6 ± 3,7
CM	95,9 ± 0,1	99,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0
RCL	26,2 ± 0,9	96,3 ± 0,1	3,8 ± 0,1
GB	89,0 ± 2,1	95,2 ± 0,1	4,8 ± 0,1
Mix: RCL + GB	4,5 ± 0,4	95,7 ± 0,3	4,3 ± 0,3
Inóculo pt + RCL	1,9 ± 0,0	81,5 ± 0,8	18,5 ± 0,8
Inóculo pt + GB	1,0 ± 0,0	60,0 ± 1,1	40,0 ± 1,1
Inóculo pt + RCL + GB	3,3 ± 1,7	81,6 ± 8,6	18,4 ± 8,6

Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicam que as amostras fermentadas apresentam teor de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) menores do que as amostras brutas, sem fermentação. Assim, as amostras não fermentadas possuem potencial biodegradável maior devido a sua alta fração orgânica volátil (HASAN et al., 2019).

Tabela 4: Composição dos biorreatores.

QUINTUPLICATA	BIOMASSA	g BIOMASSA	g SV	pH
1	Inóculo	500	4,6	7,6 ± 0,0
2	Inóculo	497,6	4,6	7,8 ± 0,0
	CM	2,4	2,3	
3	Inóculo	491,1	4,5	7,7 ± 0,1
	RCL	8,9	2,2	
4	Inóculo	497,3	4,6	7,8 ± 0,1
	GB	2,7	2,2	
5	Inóculo	451,8	4,2	7,8 ± 0,1
	RCL + GB	48,2	2,0	
6 *	Inóculo	386,1	3,6	7,4 ± 0,2
	Inóculo pt + RCL	113,9	1,8	
7 *	Inóculo	290,8	2,7	7,4 ± 0,1
	Inóculo pt + GB	209,2	1,3	
8 *	Inóculo	427,0	4,0	7,7 ± 0,1
	Inóculo pt + RCL + GB	72,9	2,0	

Fonte: A autora.

CM: Celulose microcristalina; Inóculo pt: Inóculo pré-tratado.

*Conteúdo fermentado.

Na Tabela 4, em relação ao pH, verifica-se que todas as quintuplicatas estavam na faixa neutra, ideal para etapa metanogênica (CHERNICHARO, 2016).

5.2.1 PBB e PBM

Na Tabela 5 encontra-se o potencial específico de ($\text{m}^3 \cdot \text{gSV}^{-1}$), e o volume de biogás e metano por tonelada de biomassa ($\text{m}^3 \cdot \text{ton.biomassa}^{-1}$). O maior potencial de geração de biogás e metano foi obtida pela degradação anaeróbia de inóculo pt + GB (Q7), e corresponde a $1.597,8 \text{ m}^3 \text{ biogás} \cdot \text{tonSV}^{-1}$ e $997,0 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{tonSV}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 5: Valores de PBB, PBM e rendimentos de biogás e metano.

AMOSTRA	BIOMASSA	PBB ($\text{m}^3 \cdot \text{tonSV}^{-1}$)	PBM ($\text{m}^3 \cdot \text{tonSV}^{-1}$)	RENDIMENTO BIOGÁS ($\text{m}^3 \cdot \text{ton.biomassa}^{-1}$)	RENDIMENTO CH_4 ($\text{m}^3 \cdot \text{ton.biomassa}^{-1}$)
Q1	Inóculo	99,8	23,3	0,9	0,2
Q2	Inóculo + CM	508,7	260,4	487,6	249,6
Q3	Inóculo + RCL	284,7	160,5	71,8	40,5
Q4	Inóculo + GB	544,2	344,8	461,5	292,4
Q5	Inóculo + RCL + GB	1003,3	501,3	42,9	21,4
Q6 *	Inóculo pt + RCL	731,4	403,5	11,3	6,2
Q7 *	Inóculo pt + GB	1597,8	997,1	10,1	6,3
Q8 *	Inóculo pt + RCL + GB	515,5	329,3	14,2	9,0

Fonte: A autora.

*Conteúdo fermentado.

Nos subtópicos a seguir, os resultados apresentados na Tabela 5 são discutidos, em termos de PBB e PBM e de rendimentos de biogás e metano obtidos para os diferentes tipos de resíduos avaliados.

5.2.1.1 Resíduos não fermentados

Em relação ao PBB e PBM dos RCL, os valores obtidos foram de $284,7 \text{ m}^3 \text{ biogás} \cdot \text{tonSV}^{-1}$ e $160,5 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{tonSV}^{-1}$. Martín et al. (2010), ao realizarem pré-tratamento dos RCL com arraste a vapor, atingiram 70% de remoção do D-limoneno, e obtiveram PBM em temperatura mesofílica superior, igual a $230 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{tonSV}^{-1}$. Esse valor mais elevado pode ser devido à remoção de concentração considerável de D-limoneno, que possui potencial inibidor, assim, o pré-tratamento dos RCL contribuiu para um melhor desempenho do processo anaeróbio (MARTÍN et al., 2010; CALABRÓ et al., 2018; GUTIÉRREZ et al., 2022).

O PBB e o PBM encontrado para o GB foi de 544,2 m³ biogás. tonSV⁻¹ e 344,8 m³ CH₄. tonSV⁻¹, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por Neumann et al. (2015), que também avaliaram o PBM do GB e obtiveram um valor equivalente a 302,0 m³ CH₄. tonSV⁻¹. Já Martin et al. (2013), encontraram valor de PBM igual a 523,0 m³ CH₄. tonSV⁻¹ após submeter o glicerol a pré-tratamento complexo para eliminar compostos inibidores.

Ainda assim, mesmo não sendo realizado nenhum tipo de pré-tratamento no GB utilizado neste estudo, percebe-se que o PBB e o PBM do GB encontrado são cerca de 90% e 115%, respectivamente, maiores em relação ao PBB e PBM dos RCL. Dessa forma, os elevados resultados de PBB e PBM obtidos para o GB e seu alto nível de biodegradabilidade (SILES LÓPEZ et al., 2009), indicam que a utilização desse resíduo pode ser promissora para produção de energia (SILVA et al., 2017).

Os RCL e GB mixados obtiveram o segundo melhor potencial, igual a 1.003,3 m³. tonSV⁻¹ de biogás e 501,3 m³. tonSV⁻¹ de metano, sendo 252% e 212%, respectivamente, maior em relação ao PBB e PBM dos RCL. Os valores de PBB e PBM para os substratos mixados são 84% e 45% maiores, respectivamente, em relação ao PBB e PBM do GB. Calabro et al. (2016), ao avaliar a co-digestão anaeróbia de RCL e resíduos alimentares, encontram um PBM menor de 396,0 m³ CH₄. tonSV⁻¹. Assim, a utilização do GB pode favorecer a geração de biogás (HEAVEN et al., 2010; NARTKER et al., 2014).

Diferentemente dos resultados de PBB e PBM dos RCL e GB mixados, os rendimentos foram inferiores aos valores encontrados para os RCL e GB separadamente. No entanto, os valores de PBB e PBM indicam que a co-digestão desses resíduos parece ser bastante promissora para a estabilidade do processo anaeróbio, e conseqüentemente, para geração de biogás e metano (MARTÍN et al., 2013).

Além disso, na Tabela 5, destacam-se os altos rendimentos de biogás e metano da quintuplicata Q4, contendo inóculo + GB, em relação as demais amostras, que apresentou 461,5 m³.ton.biomassa⁻¹ de biogás e 292,4 m³.ton.biomassa⁻¹ de metano. Assim, esses resultados corroboram estudos que relatam que a co-digestão de GB tem o potencial de aumentar a produção de biogás tanto em testes para determinação de PBB e PBM, em batelada, como em testes CSTR (ASLTALS et al., 2011; NARTKER et al., 2014).

5.2.1.2 Resíduos fermentados

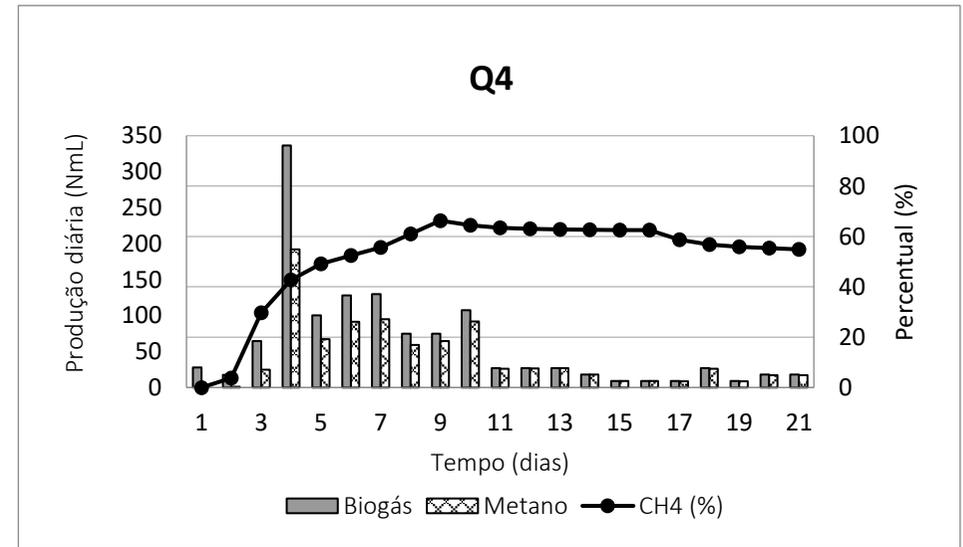
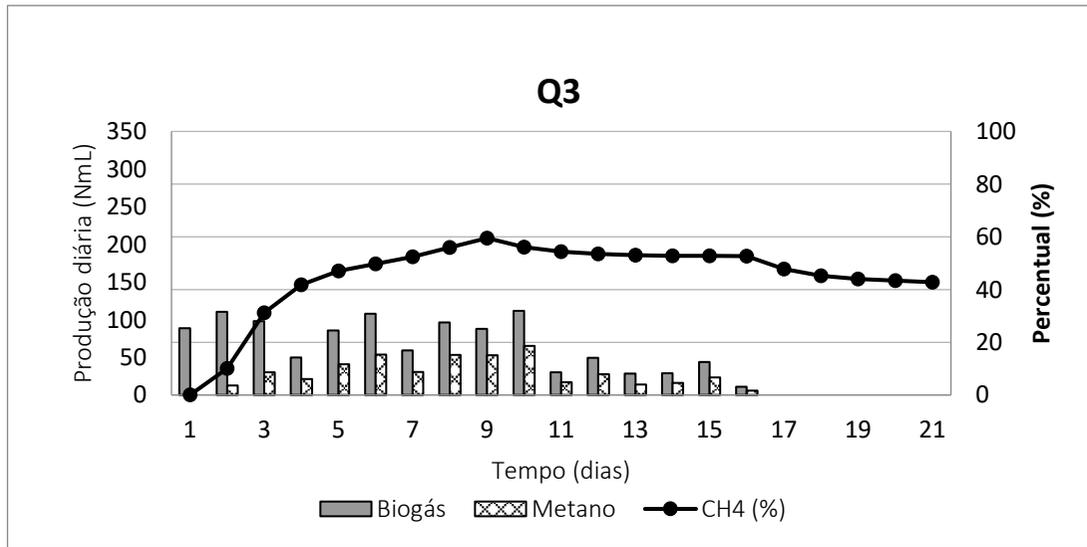
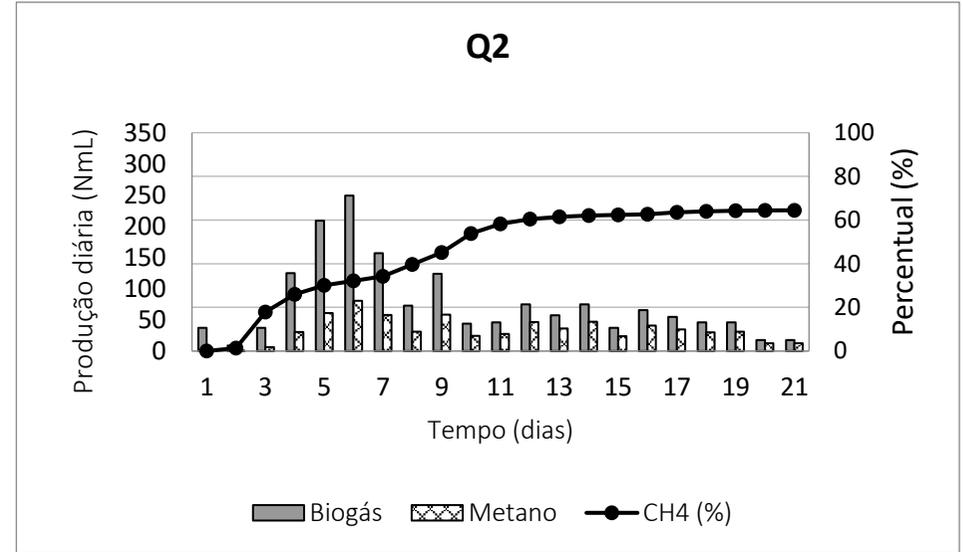
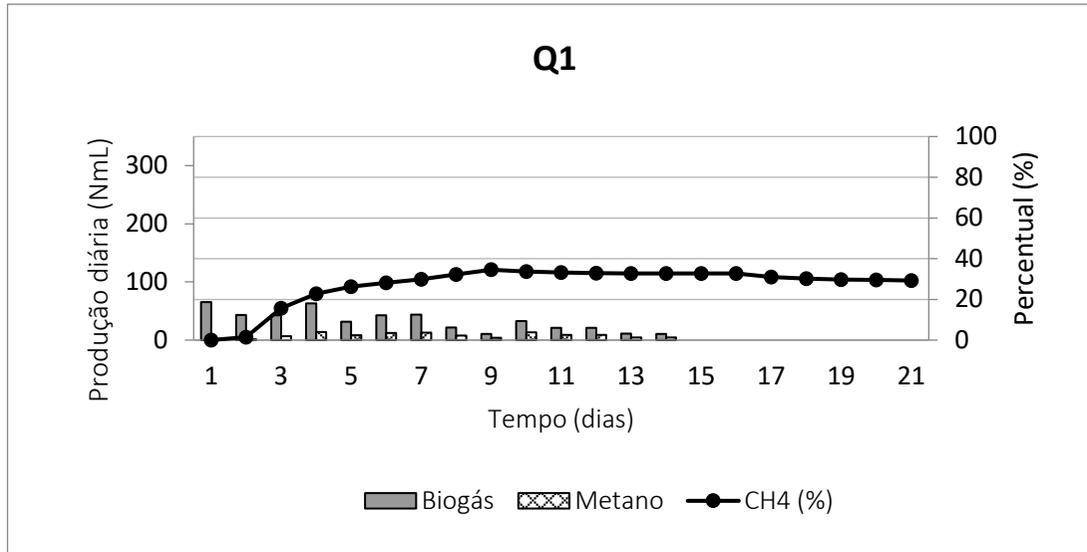
O PBB e PBM dos RCL fermentados foi 157% e 151%, respectivamente, maior do que os valores obtidos para os RCL sem fermentação. Realizando essa mesma comparação para o GB, o PBB e PBM do GB fermentado foram cerca de 190% maiores em relação aos valores obtidos para o GB sem fermentação. Apesar disso, esse aumento não foi verificado para RCL e GB mixados pós fermentação. O mix desses resíduos fermentados apresentaram PBB e PBM, 49% e 34% respectivamente, inferiores ao mix não fermentado.

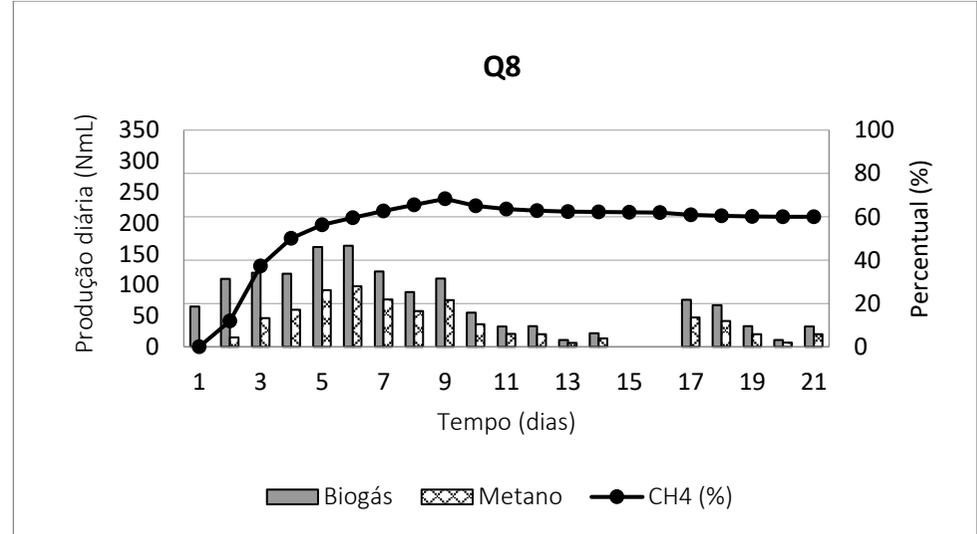
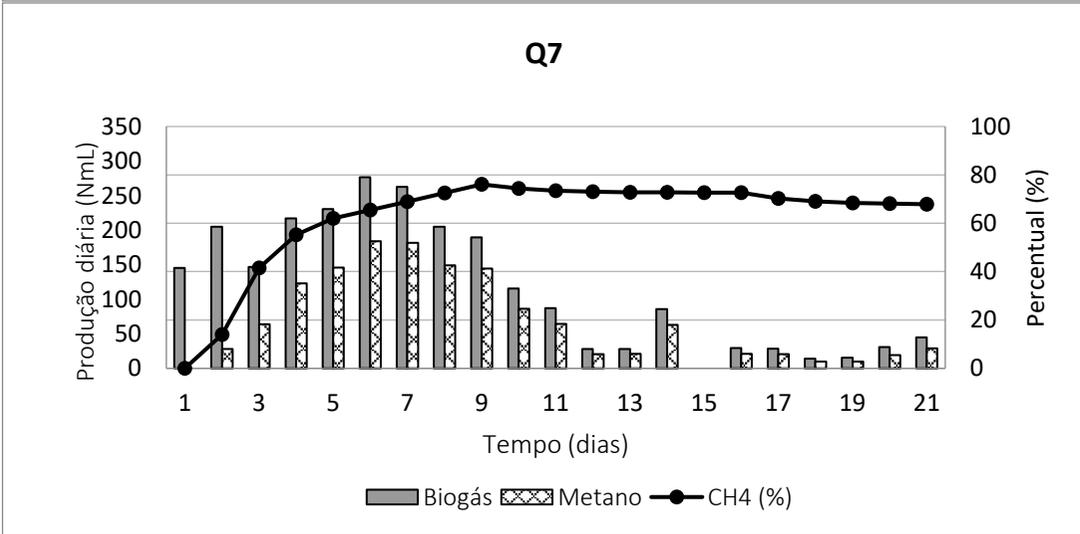
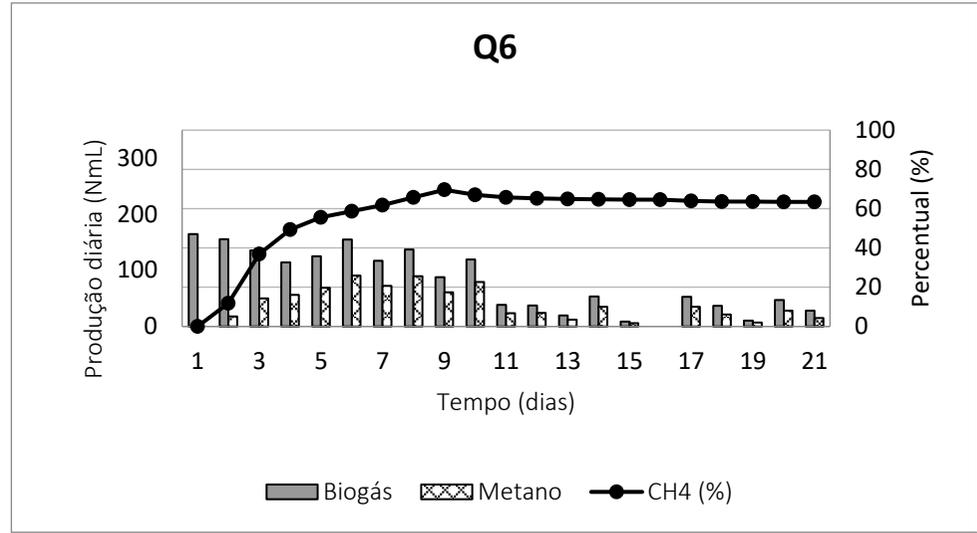
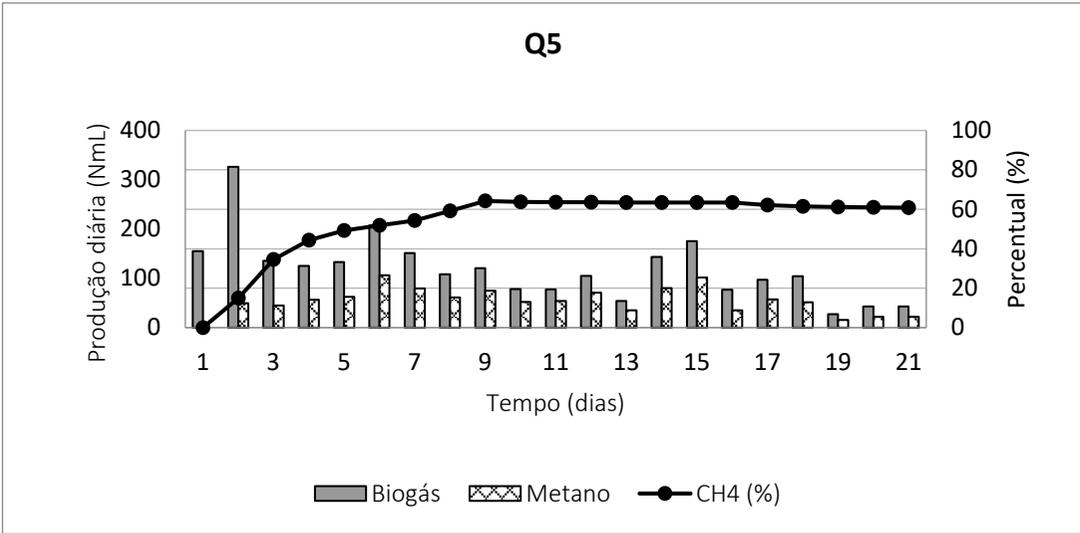
Em relação aos rendimentos de biogás e de metano, verifica-se que os valores para todas as quintuplicatas contendo resíduos fermentados foram menores do que os rendimentos para os resíduos sem fermentação. Esperava-se que os resíduos fermentados apresentassem rendimentos mais elevados, devido a hidrólise do resíduo na etapa acidogênica (CAMARGO, 2021). No entanto, diante dos resultados obtidos, e considerando a utilização de RCL + GB mixados, percebe-se que o mix sem fermentação prévia apresentou maior eficiência de geração de biogás e metano.

5.2.2 Produção de biogás e metano

As amostras foram monitoradas por um período de 20 dias e a geração diária de biogás e metano para todas as configurações podem ser visualizadas na Figura 12. Verifica-se que o período de maior vazão de geração de biogás e metano foi até o 6º dia de experimento, diminuindo gradativamente até cessar a produção, conforme os critérios estabelecidos.

Figura 12: Geração diária de biogás e metano e percentual de CH₄ na amostra de biogás.





Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 12 nota-se que nas quintuplicatas Q1 e Q3 a produção de biogás e metano foi cessada no 14° e 16° dia, respectivamente. Isso pode ter acontecido devido à baixa disponibilidade de matéria orgânica biodegradável presente nos reatores Q1 (GUERINI FILHO et al., 2018; HASAN et al., 2019), enquanto que nos reatores Q3, a produção pode ter sido inibida em virtude da presença do teor de D-limoneno dos RCL (CALABRÓ et al., 2016).

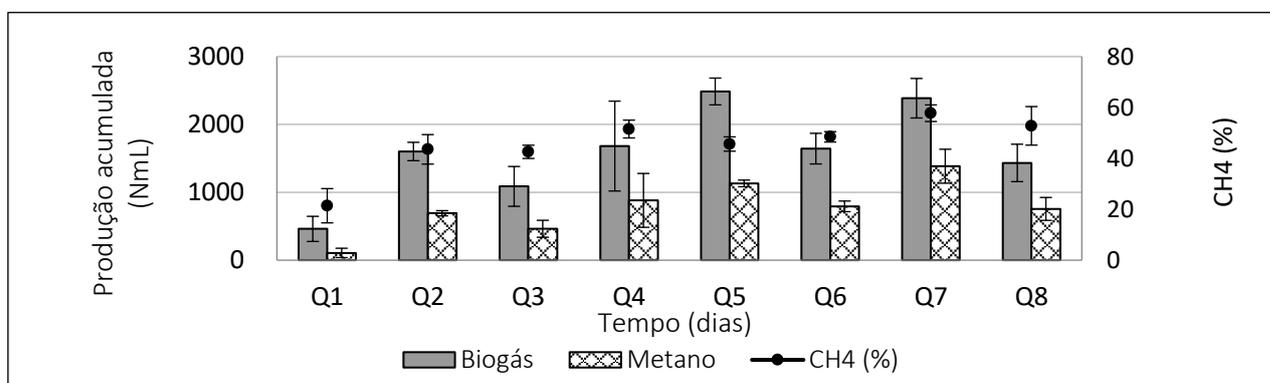
Percebe-se que houve uma produção diária de biogás e metano considerável nas quintuplicatas dos resíduos fermentados (Q6, Q7 e Q8) até por volta do 8° dia de experimento. Apesar disso, a produção da quintuplicata Q8 cessou nos dias 15 e 16, enquanto as quintuplicatas Q6 e Q7 tiveram a produção cessada no 16° e 15°, respetivamente, sendo retomada apenas no 17° dia e assim, a descontinuidade da geração de biogás indica certa instabilidade do processo anaeróbio.

Além disso, destaca-se que todas as amostras, com exceção da quintuplicata Q1, apresentaram percentuais médios diários de CH₄ elevados, entre 50-70%. As amostras avaliadas são satisfatórias para utilização como fonte de energia, uma vez que o biogás possui potencial para aproveitamento energético quando apresenta concentração média entre 50-65% de CH₄ (LI et al., 2017).

5.2.3 Efeito da fermentação dos RCL e GB, individualmente e mixados, para produção de biogás e metano

Na Figura 13 são apresentados os volumes acumulados de biogás e metano produzidos durante o período experimental em todas as amostras avaliadas.

Figura 13: Produção acumulada de biogás e metano e porcentagem de metano nas amostras *



Fonte: A autora.

*Metano e biogás são lidos no eixo do lado esquerdo, enquanto CH₄ no eixo do lado direito.

A quintuplicata Q1, conforme esperado, apresentou os volumes acumulados mais baixos de biogás e metano, $461,5 \pm 185,3$ NmL e $107,7 \pm 69,2$ NmL, respectivamente, representando cerca de apenas 23% de CH₄ no biogás. O baixo volume dos gases obtidos pode ser explicado pela quantidade limitada de matéria orgânica presente nos reatores, ou seja, baixo teor de sólidos voláteis em relação as demais quintuplicatas. Nessa configuração, não se adicionou substratos, servindo como tal apenas o resultante do decaimento endógeno do próprio inóculo.

Destaca-se os maiores volumes acumulados pela quintuplicata 5 (Q5), reator composto por inóculo, RCL e GB, que apresentou valores de biogás e metano iguais a $2.485,7 \pm 197,4$ NmL e $1.131,3 \pm 48,8$ NmL, respectivamente, representando cerca de 440% a mais de biogás e 950% a mais de metano em comparação a quintuplicata Q1, contendo apenas inóculo.

A Tabela 6 apresenta os dados estatísticos para os volumes acumulados de biogás e metano para as oito amostras avaliadas.

Tabela 6: Avaliação estatística dos volumes acumulados na produção de biogás e metano.

AMOSTRA	BIOMASSA	BIOGÁS (mL)	P ¹	CH ₄ (mL)	P ¹
Q1	Inóculo	461,5 (185.3) ^a	0.0023	107,7 (69.2) ^c	0.0020
Q2	Inóculo + CM	1.601,1 (134.9) ^{ab}		691,8 (38.5) ^{cd}	
Q3	Inóculo + RCL	1.087,7 (293.3) ^{ab}		463,5 (124.7) ^{cd}	
Q4	Inóculo + GB	1.681,2 (662.2) ^{ab}		881,6 (396.9) ^{cd}	
Q5	Inóculo + RCL + GB	2.485,7 (197.4) ^b		1.131,3 (48.8) ^d	
Q6*	Inóculo pt + RCL	1.643,5 (225.4) ^{ab}		793,2 (77.9) ^{cd}	
Q7*	Inóculo pt + GB	2.386,0 (290.9) ^b		1.384,1 (250.3) ^d	
Q8*	Inóculo pt + RCL + GB	1.432,8 (275.6) ^{ab}		755,53 (169.0) ^{cd}	

Fonte: Elaborada pela autora.

*Conteúdo fermentado.

Os valores são expressos em média e desvio padrão: Média e (DP). Nas colunas, as letras iguais indicam que não houve diferença estatisticamente significativa de Biogás e Metano no nível de probabilidade, de acordo como teste de Dunnett Post hoc.

¹ Teste de Kruskal Wallis para comparar as oito amostras (IC a 95%).

Os dados da Tabela 6 indicam que os valores amostrais das oito quintuplicatas diferiram significativamente com $p < 0,005$. Avaliando as amostras em pares, dois a dois, os testes mostram que as quintuplicatas Q3 (Inóculo + RCL) e Q5 (Inóculo + RCL + GB) não diferem significativamente. No entanto, ao analisar os dados da Figura 13, e fazendo uma comparação percentual entre Q3 e Q5, verifica-se que a geração de biogás e de metano pela Q5 foi 128% e 144%,

respectivamente, maior em relação à Q3. Esses valores indicam que a co-digestão do GB com RCL contribui para uma melhor estabilidade do processo, e conseqüentemente, para geração de biogás e metano (SILVA et al., 2017).

Ao realizar uma comparação entre os RCL não fermentados (Q3) e fermentados (Q6), percebe-se que a média do volume acumulado de biogás e de metano da quintuplicata Q6 (Inóculo pt + RCL) foi 51% e 71%, respectivamente, maior do que a quintuplicata Q3 (Inóculo + RCL). Apesar disso, ao avaliar as duas amostras em pares, dois a dois, considerando os volumes diários de biogás e metano, não foi verificada diferença estatística entre elas (Tabela 6).

Ao comparar a amostra de GB não fermentado (Q4) e fermentado (Q7), a quintuplicata Q7 apresentou uma diferença de 42% e 57% maior em relação a quintuplicata Q4, em termos de média do volume acumulado de biogás e de metano, respectivamente. No entanto, de acordo com a análise estatística da Tabela 6, ao avaliar as duas amostras, verifica-se que a amostra com GB não difere significativamente em relação a amostra de GB fermentado.

As médias dos volumes acumulados de biogás e metano dos RCL e GB mixados (Q5) foram cerca de 70% e 50%, respectivamente, maiores quando comparadas aos valores obtidos na quintuplicata Q8, preenchidos com os mesmos resíduos fermentados e mixados. Contudo, os volumes diários de biogás e metano das amostras Q5 e Q8 não são estatisticamente diferentes entre si.

Diante dos resultados das análises estatísticas, através do teste de Kruskal-Wallis os valores amostrais das oito quintuplicatas diferiram significativamente entre si em relação ao volume acumulado de biogás e metano. No entanto, a partir do teste de Dunnett Post hoc, verificou-se que os resíduos submetidos a fermentação prévia separadamente e mixados não diferem estatisticamente em relação aos resíduos sem fermentação. Dessa forma, percebe-se que a fermentação prévia não contribuiu para a maior geração de biogás e metano, quando comparado à utilização de resíduos na forma bruta.

5.3 Etapa 2: Sistema semi-contínuo formado por reatores de estágio único e duplo estágio

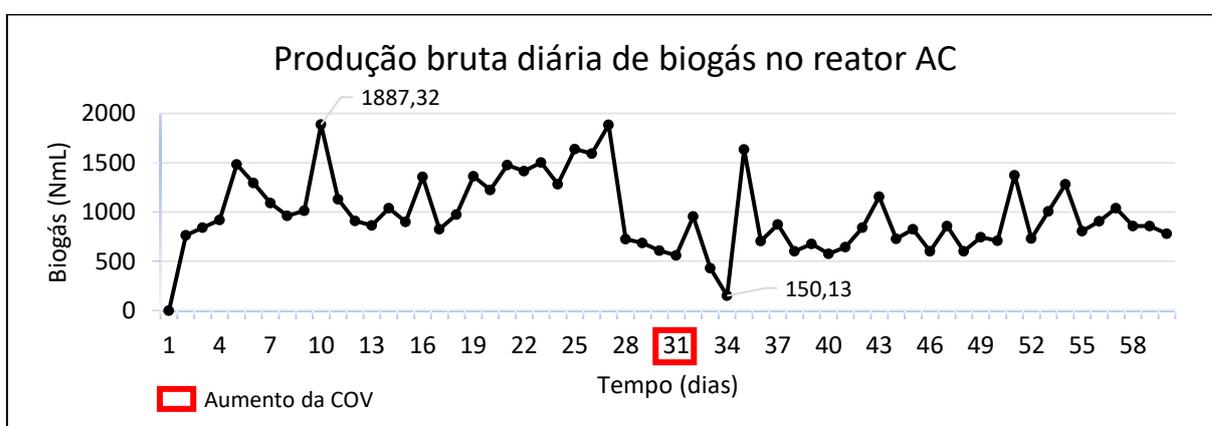
Nesse tópico foram elaboradas as curvas de produção bruta diária de biogás, hidrogênio e metano, curvas de evolução de percentual de metano, de rendimento específico de hidrogênio (Y_{H_2}) e metano (Y_{CH_4}), bem como a produtividade volumétrica e volumétrica específica para

os reatores. Além disso, estão apresentadas a caracterização física e química dos conteúdos dos reatores AC, M1 e M2 ao longo do período experimental.

5.3.1 Produção de biogás

A Figura 14 mostra o volume de biogás produzido (NmL) por dia (produção bruta diária) no reator acidogênico (AC).

Figura 14: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator acidogênico (AC).

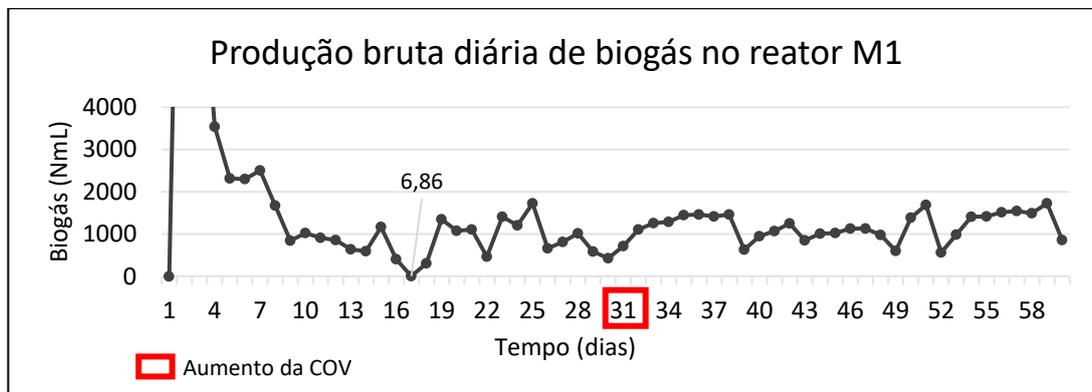


Fonte: A autora.

A produção média de biogás no reator AC foi igual a 985,6 NmL, sendo registrado o maior e menor volume, respectivamente, nos dias 7 e 34. O menor volume de biogás produzido foi de aproximadamente 150 NmL, após ser verificada queda na temperatura do sistema do reator AC, devido à interrupção no fornecimento de energia, e aumento da COV no dia 31. Provavelmente, isso pode ter ocorrido devido a um choque de carga. Após isso, os volumes registrados se estabilizaram e ficaram na faixa entre 700 e 1.000 NmL.

Nas Figuras Figura 15 e Figura 16 são apresentados os volumes de biogás produzidos (NmL) por dia (produção bruta diária) no reator de estágio único (M1) e metanogênico do sistema duplo estágio (M2), respectivamente.

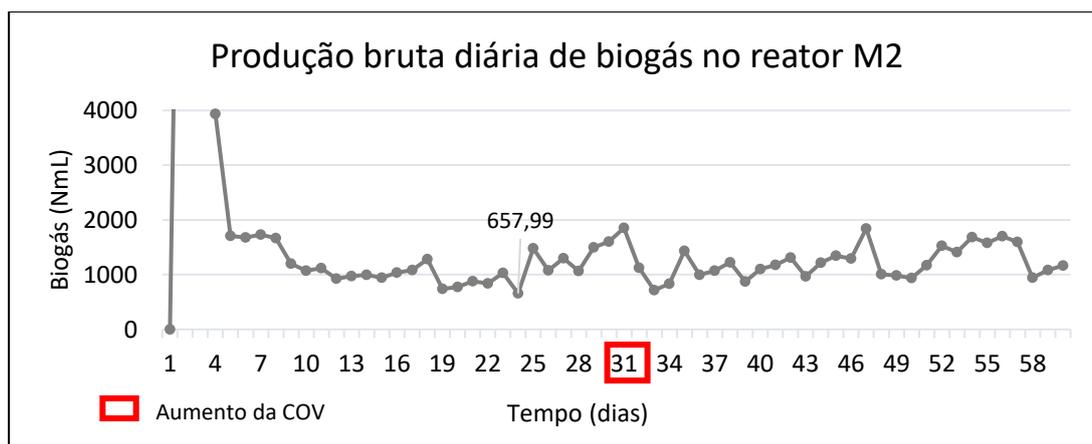
Figura 15: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator do sistema estágio único (M1)



Fonte: A autora.

Obs: Volumes dos dias 2 e 3 fora de escala.

Figura 16: Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo – Reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2)



Fonte: A autora.

Obs: Volumes dos dias 2 e 3 fora de escala.

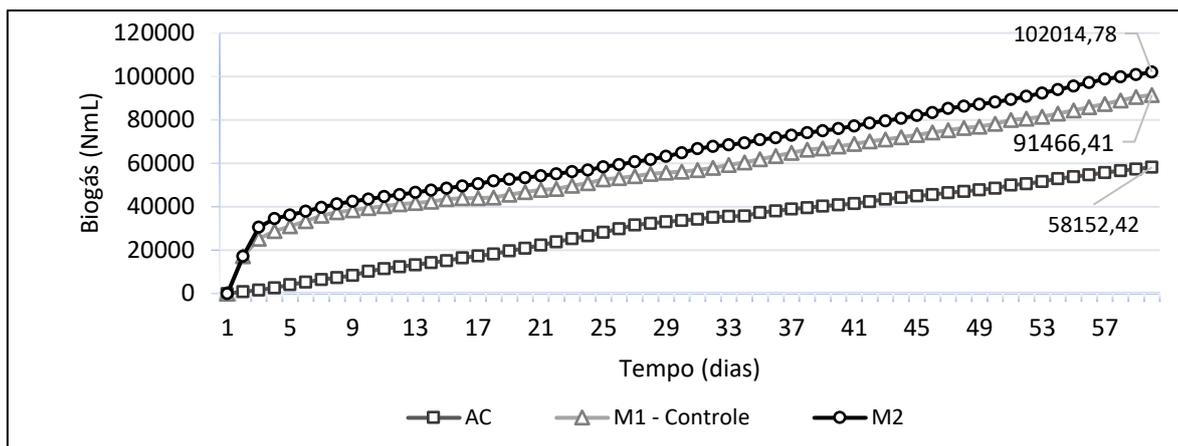
Observa-se que os reatores M1 e M2 apresentaram volumes diários de biogás semelhantes. Os dados dos dias 2, 3 e 4 superam o volume de 4.000 NmL. No 17º dia houve queda abrupta na produção do reator controle (M1), sendo registrado cerca de 7 NmL. Isso ocorreu em decorrência de problema operacional do sistema, uma vez que após esse episódio, a produção de biogás foi reestabelecida.

Ao utilizar o teste de Cox-Stewart para avaliar se existe alguma tendência na diferença entre os reatores M1 e M2, de acordo com o tempo envolvido, em termos de geração de volume de biogás, verificou-se que não existe tendência na diferença entre os reatores e pelo teste de

Box-Pierce, tem-se um p-valor igual a 0,1951, indicando que não há diferença estatística entre os reatores, considerando nível de significância a 5%.

A Figura 17 apresenta os valores crescentes da produção acumulada de biogás ao longo do tempo, sendo o valor mais elevado obtido para o reator M2, acima de 102 L.

Figura 17: Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo



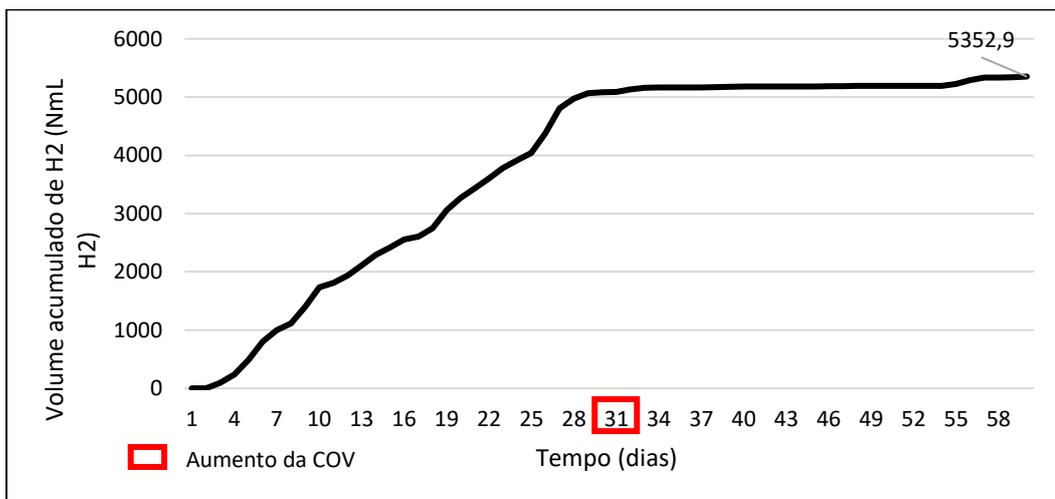
Fonte: A autora.

O reator que teve maior produção de biogás foi o M2, totalizando cerca de 102 L, seguido pelo reator M1 com 92 L e pelo reator acidogênico AC, 58 L. A soma do biogás gerado pelos reatores do sistema duplo estágio (AC e M2) totalizam 160 L, e excede o reator de estágio único (M1) em 43%.

5.3.2 Produção de hidrogênio e metano

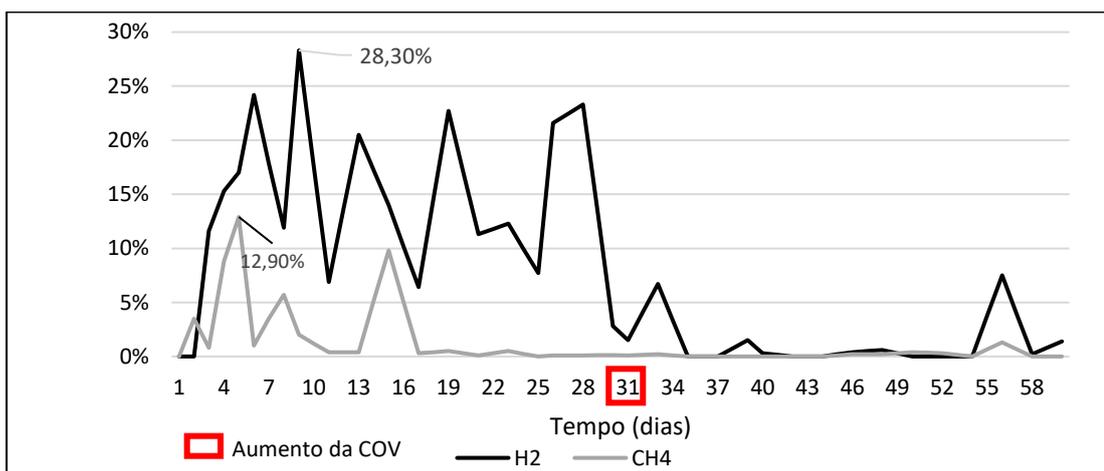
A Figura 18 apresenta o volume acumulado de hidrogênio, enquanto que na Figura 19 estão os percentuais diários de H₂ e CH₄ obtidos no reator acidogênico (AC) ao longo do tempo.

Figura 18: Volume acumulado de hidrogênio no reator AC ao longo do tempo



Fonte: A autora.

Figura 19: Percentuais de H₂ e CH₄ no reator AC ao longo do tempo



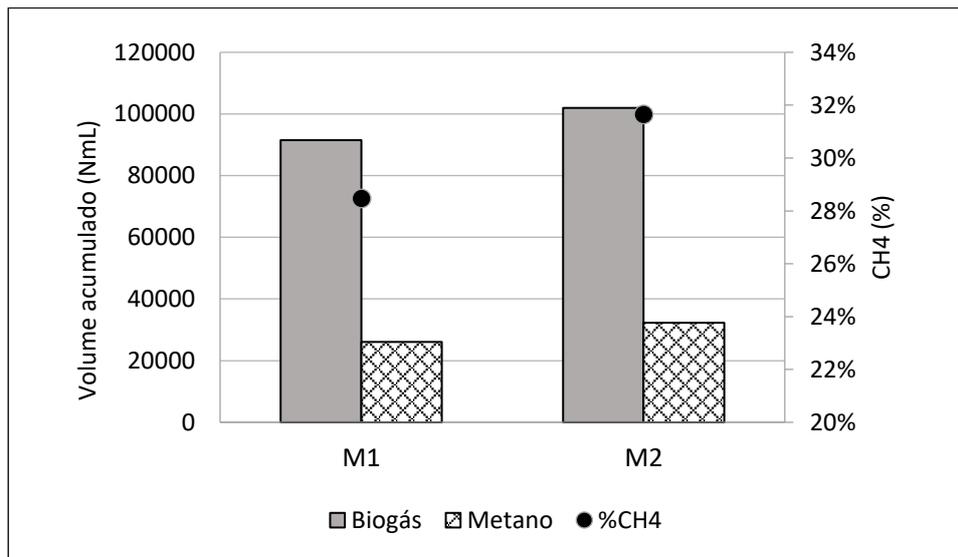
Fonte: A autora.

Nas Figura 18 e Figura 19, verifica-se que o volume acumulado de hidrogênio é superior a 5.300 NmL e que o percentual de H₂ ficou a maior parte do tempo entre 10-20%, tendo sido registrado um maior pico igual a 28,3%. Nos primeiros 30 dias de experimento, percebeu-se que o conteúdo do inóculo presente no reator já não se encontrava mais na forma de flocos, aspecto inicialmente inserido. Isso pode ter acontecido provavelmente, em decorrência da alteração na comunidade microbiana presente no reator proporcionada pelo aumento da COV (MARTINS, 2018), que possibilitou uma redução percentual de H₂ no biogás gerado.

Em relação as porcentagens de metano, a média foi equivalente a 1,2%, indicando que o pré-tratamento térmico do inóculo foi eficiente para enriquecer o consórcio dos microrganismos produtores de H₂ e reduzir os organismos metanogênicos (ROSSI et al., 2011).

A Figura 20 apresenta os valores acumulados da produção de biogás e metano nos reatores M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio). Destaca-se, que o volume acumulado de metano como o percentual de CH₄ na amostra de biogás do reator M2 são maiores do que para o reator M1.

Figura 20: Produção acumulada de biogás e metano e porcentagem de metano nas amostras M1 e M2 *



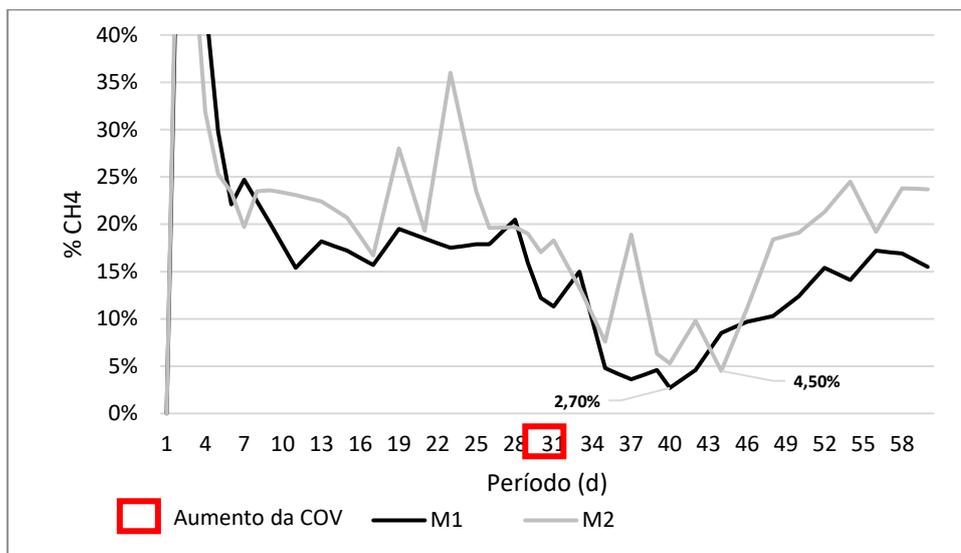
Fonte: A autora.

*Metano e biogás são lidos no eixo do lado esquerdo, enquanto CH₄ no eixo do lado direito.

O percentual médio de metano presente no biogás no reator M1 é de 28%, enquanto que para amostra M2, esse valor é ligeiramente maior, igual a 32%. O reator metanogênico de duplo estágio (M2) apresentou volume acumulado de metano cerca de 25% maior em relação ao reator de estágio único (M1). No entanto, ao utilizar o teste de Cox-Stuart para avaliar se existe alguma tendência na diferença entre os reatores M1 e M2, em termos de geração diária de volume de metano, verificou-se que não existe tendência na diferença entre eles e pelo teste de Box-Pierce, tem-se um p-valor igual a 0,0931. Esse valor indica que não há diferença estatística entre os reatores, considerando nível de significância de 5%.

A evolução da proporção de metano no biogás para os reatores M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio) podem ser visualizadas na Figura 21. Verifica-se que o reator M2 apresenta, para a maioria dos dias, percentuais ligeiramente mais altos em relação ao reator M1. No entanto, os reatores M1 e M2 não diferem estatisticamente entre si em relação ao percentual diário de metano.

Figura 21: Conteúdo de metano no biogás com relação ao tempo nos reatores M1 e M2.



Fonte: A autora.

Obs: Percentuais dos dias 2 e 3 fora de escala.

Ainda com relação aos percentuais de metano, verifica-se que os reatores M1 e M2 apresentaram percentuais de CH₄ variando entre 15-25%, na maior parte do tempo. Destacam-se as porcentagens nos dias 2 e 3 que superam 50% de metano no biogás, em ambos os reatores. O pico mais elevado e a média para o reator M1 foram iguais a 63% e 16%, respectivamente. Enquanto que para o reator M2, o maior pico registrado foi de 68% e a média foi equivalente a 20%.

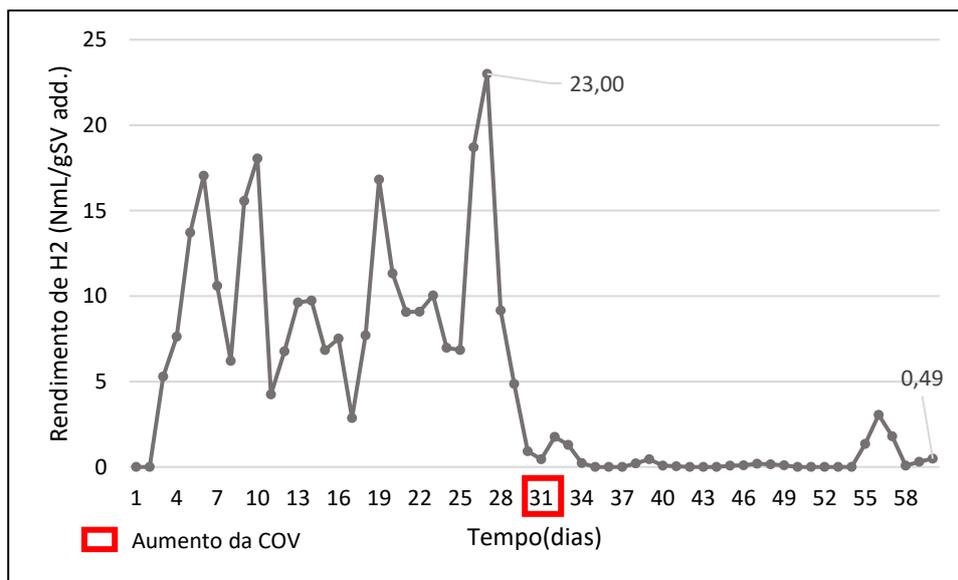
Nota-se que após o 5º dia de experimento, mesmo a COV de 1,48 gSV/L. d⁻¹ estando dentro da faixa recomendada por outros autores que utilizaram RCL e GB (MARTÍN et al., 2013) e RCL e estrume de aves (ZEMA et al., 2018), para evitar inibição do processo anaeróbio, os percentuais de metano reduziram e variaram entre 15-25% para o reator M1 e entre 20-35% para o reator M2.

Após o incremento de 20% da COV, no 31º dia de operação, os percentuais de metano diminuíram significativamente, sendo obtido para o reator M1, 2,7% e 4,5% de CH₄ para o reator M2. Além disso, cerca de 15 dias depois, houve ligeiro aumento da porcentagem de metano, indicando uma possível adaptação dos microrganismos a carga orgânica. No entanto, no último dia de experimento, os valores registrados para os reatores M1 e M2 foram iguais a 15,5% e 24%, e representam concentrações inferiores a faixa considerada ideal para aproveitamento energético (50-65% de CH₄) do biogás. (LI et al., 2017).

5.3.3 Rendimento de hidrogênio e metano

Na Figura 22 tem-se apresentada a curva de rendimento de hidrogênio (Y_{H_2}) para o reator acidogênico AC, referente ao volume H_2 (NmL H_2) por unidade de massa de substrato (g SV add.) adicionado ao reator.

Figura 22: Rendimento de hidrogênio do reator acidogênico (AC) com relação ao tempo



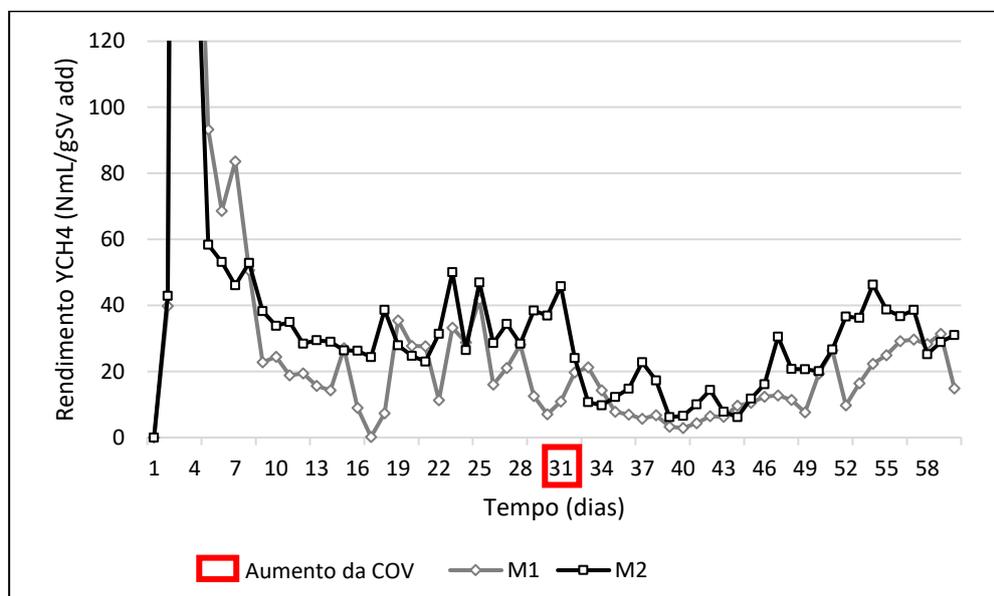
Fonte: A autora.

A partir da análise da Figura 22 pode-se visualizar o maior valor de rendimento no 23º dia de operação, equivalente a 23,00 NmL H_2 /gSV add. ao reator AC. No decorrer do experimento, houve grande variação dos valores e após o aumento da COV, no 31º dia, os valores do rendimento se estabilizaram, em consequência da baixa geração de hidrogênio nos últimos dias. Isso pode ter acontecido em decorrência do aumento da COV e consequentemente, da concentração de D-limoneno, conhecido como agente antimicrobiano. Então, percebe-se que essa COV utilizada gerou desequilíbrio do sistema e afetou a produtividade de geração de biogás (LIM et al. 2008).

Em relação ao rendimento específico considerando o volume acumulado de hidrogênio, o mesmo foi equivalente a 288,4 NmL H_2 /gSV. Silva et al. (2018) avaliaram a produção de H_2 em um sistema duplo estágio operando em batelada, utilizando como substratos resíduos alimentares, lodo e GB (1% e 3%), totalizando 50% de substrato e 50% de inóculo nos reatores. Os autores obtiveram rendimento máximo acumulado de hidrogênio para a mistura com 3% GB, equivalente a 179,3 mL H_2 /g SV e verificaram que a presença do GB aumentou a produção de hidrogênio em todas as condições testadas.

A Figura 23 apresenta o rendimento de metano (Y_{CH_4}) para os reatores de estágio único (M1) e metanogênico duplo estágio (M2), referente ao volume de metano (NmL CH_4) por unidade de massa de substrato adicionado ao reator (g SVadd.).

Figura 23: Rendimento de metano para o reator M1 e M2 com relação ao tempo



Fonte: A autora.

Obs: Rendimentos dos dias 2 e 3 fora de escala.

Ao analisar a Figura 23, verifica-se que foram obtidos rendimentos de CH_4 elevados nos primeiros 4 dias de experimento. Do 5º ao 31º dia, o rendimento dos reatores M1 e M2 reduziu, sendo obtidos valores entre 10-80 NmL/gSV para o reator M1 e entre 20-50 NmL/gSV para o reator M2. A partir do 7º dia de experimento, percebe-se que os rendimentos do reator M2 superam os rendimentos do reator M1, que fica próximo a zero posteriormente ao aumento da COV. O reator M1 apresenta média igual a cerca de 35 NmL CH_4 /gSV add, enquanto para o reator M2, esse valor é equivalente a 45 NmL CH_4 /gSV add.

Em relação ao rendimento considerando o volume acumulado de metano, o valor para o reator M1 foi igual a 2011,6 NmL CH_4 /gSV, enquanto que para o reator M2, foi equivalente a 2.702,9 NmL CH_4 /gSV..

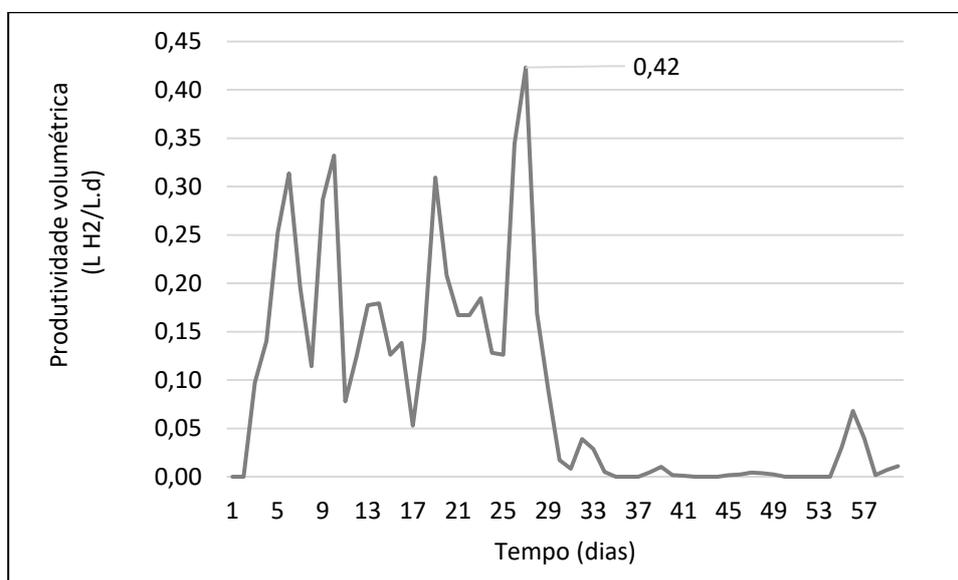
Jiménez-Castro et al. (2020) também obtiveram rendimento específico de metano para o reator metanogênico superior ao reator controle. No entanto, o resultado para o reator metanogênico foi igual a 790 NmL CH_4 /gSV e para o reator controle igual a 490 NmL CH_4 /gSV..

Assim, percebe-se que o GB adicionado nos reatores semi-contínuos deste presente estudo contribuíram para aumentar os rendimentos de metano.

5.3.4 Produtividade volumétrica

A produtividade volumétrica de hidrogênio (L H₂/L.d) obtida durante a operação do reator acidogênico (AC) pode ser visualizada na Figura 24. Verifica-se variação nos resultados, com tendência de diminuição dos valores, nos últimos 24 dias de teste.

Figura 24: Produtividade volumétrica do reator AC durante o experimento realizado.

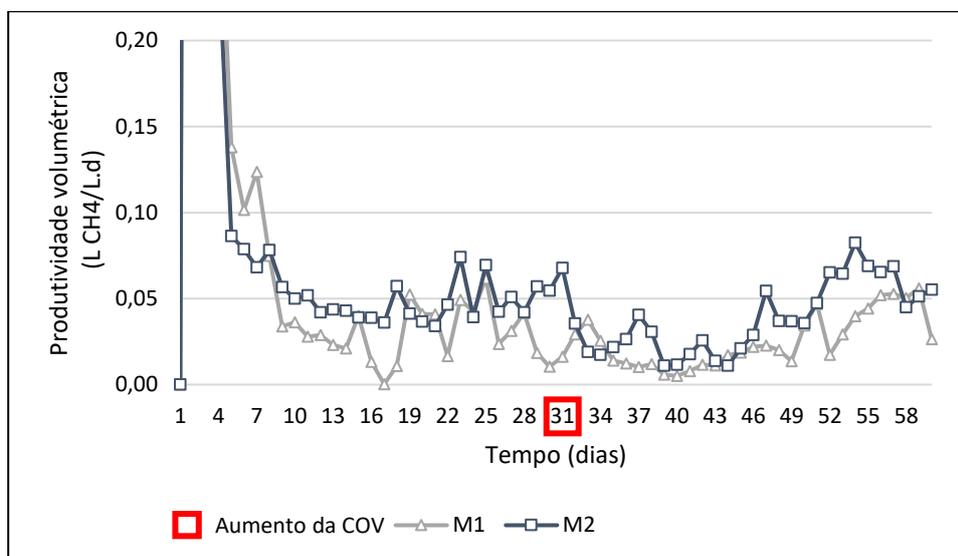


Fonte: A autora.

O valor máximo desse parâmetro foi encontrado no 27º dia de operação, igual a 0,42 L H₂/L.d. Verifica-se que ao aumentar a COV, houve redução da produtividade, inclusive com valores iguais a zero.

A produtividade volumétrica do reator de estágio único (M1) e duplo estágio (M2) está apresentada na Figura 25. O valor máximo encontrado, de 2,3 L CH₄/L.d foi no reator M2. Já no reator M1, esse valor foi de 2,2 L CH₄/L.d.

Figura 25: Produtividade volumétrica dos reatores M1 (Estágio único) e M2 (Duplo estágio) durante o experimento realizado.



Fonte: A autora.

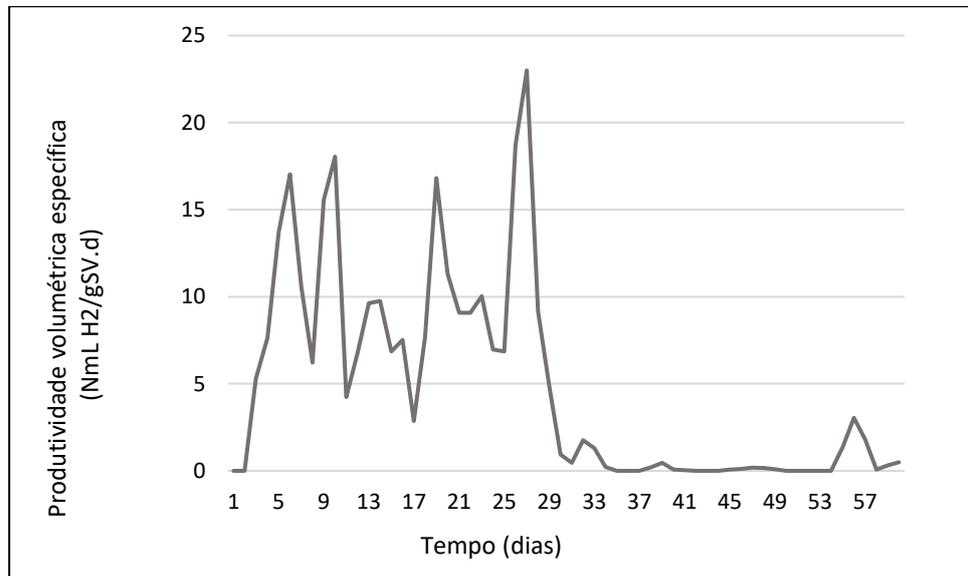
Obs: Produtividade volumétrica dos dias 2 e 3 fora de escala.

Nota-se que após o 5º dia de operação, a produtividade dos reatores M1 e M2 reduziram consideravelmente. A variação observada no reator M1 foi de 0,0 a 2,17 L CH₄/L.d, enquanto que para o reator M2 foi de 0,01 a 2,34 L CH₄/L.d. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Leite (2020), em que foi avaliada a digestão anaeróbia de resíduos de alimentos em distintas cargas orgânicas. Verificou-se grandes variações durante o ensaio de COV igual a 1,0: 0,8 a 13,4 L CH₄/L de 0,006 a 0,106 L CH₄/L.d. Isso pode estar relacionado à adaptação insuficiente dos microrganismos à carga orgânica (BRAGUGLIA et al., 2018).

5.3.5 Produtividade volumétrica específica

A Figura 26 apresenta a produtividade volumétrica específica, referente ao volume de hidrogênio produzido pela massa de STV, em um dado período de tempo, para o reator acidogênico (AC).

Figura 26: Produtividade volumétrica específica do reator acidogênico (AC) ao longo do tempo

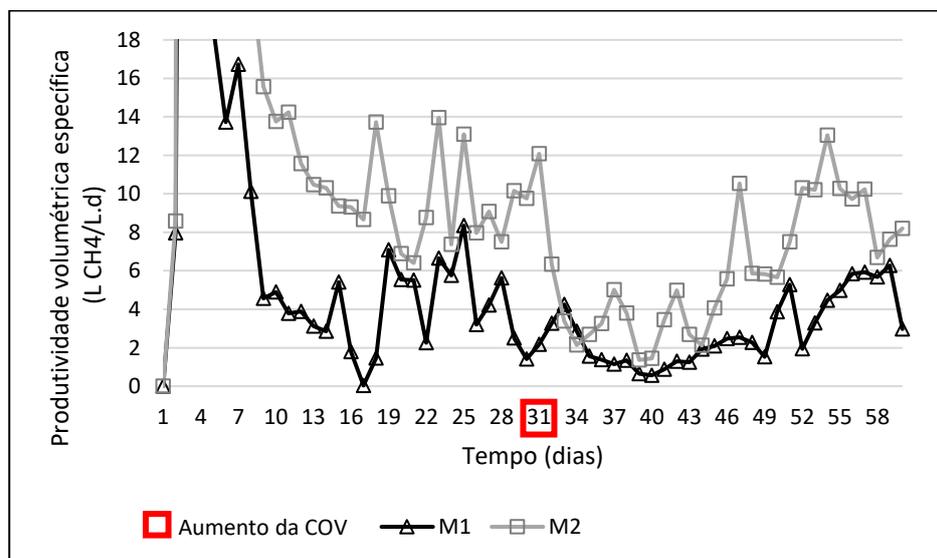


Fonte: A autora.

De modo semelhante ao observado para os resultados de rendimento específico de hidrogênio e de produtividade volumétrica, verifica-se que posteriormente ao aumento da COV, no 31º dia de experimento, os valores reduziram significativamente, em virtude da baixa geração de hidrogênio.

Na Figura 27 estão apresentados os valores referentes a produtividade volumétrica específica do reator de estágio único (M1) e duplo estágio (M2).

Figura 27: Produtividade volumétrica específica dos reatores M1 e M2 ao longo do tempo



Fonte: A autora.

Obs: Produtividade volumétrica específica dos reatores M1 e M2 nos dias 2 e 3 fora de escala.

Ao avaliar os dados da Figura 27, verifica-se comportamento semelhante aos resultados obtidos para os rendimentos específicos de metano em ambos os reatores. Do 7º dia em diante, percebe-se que os valores de produtividade volumétrica específica de metano para o reator M2 superam os dados para o reator M1. Além disso, após aumento da COV, no 31º dia de experimento, há uma tendência de crescimento nos valores de produtividade volumétrica específica no reator M2, indicando uma provável maior estabilidade em relação ao reator M1.

5.3.6 Análises físicas e químicas das amostras do sistema duplo-estágio

As análises físicas e químicas dos conteúdos dos reatores AC, M1 e M2 ao longo do período experimental são apresentadas a seguir.

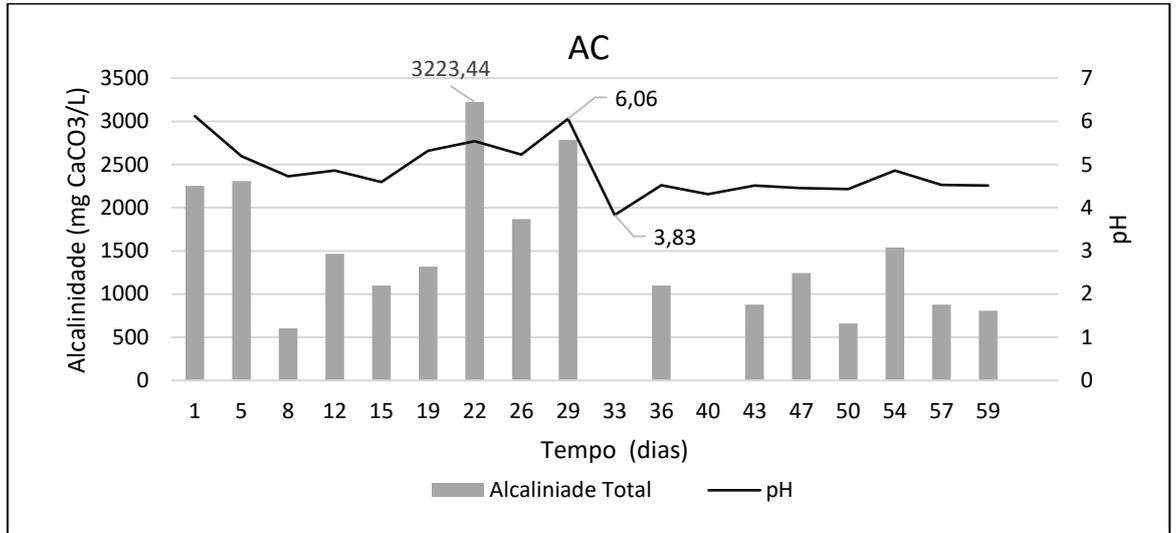
5.3.6.1 pH e alcalinidade

O pH do digestato é um parâmetro importante para o desempenho da DA, pois afeta tanto o crescimento microbiano quanto a solubilização da matéria orgânica (FENG et al., 2015). Assim, a operação na faixa adequada de pH para o reator acidogênico e metanogênico é ideal no sistema de DA em duplo estágio.

Além disso, a alcalinidade representa a capacidade do meio em neutralizar ácidos fracos o que significa que uma solução com baixa alcalinidade terá um pH reduzido continuamente por ácidos graxos voláteis que são formados na etapa acidogênica da DA.

Na Figura 28, tem-se apresentados a evolução do pH e da alcalinidade total no reator acidogênico (AC).

Figura 28: pH e alcalinidade total do reator acidogênico (AC).



Fonte: A autora.

O pH do reator acidogênico variou entre 4 e 6 ao longo do período experimental, exceto no dia 33, após ser verificado queda na temperatura interna do sistema do reator AC e aumento da COV. Para evitar esse efeito, aumentou-se a concentração de NaHCO_3 . A faixa ideal do pH para evitar a metanogênese e aumentar a geração de H_2 é entre 5 – 6 (GUO et al., 2010). No entanto, percebe-se que até o 26º dia de experimento, antes do aumento da carga orgânica, o pH estava mais próximo da faixa ideal e consequentemente, isso contribuiu para maior geração de hidrogênio. Do 33º dia em diante, o pH registrado em torno de 4,5. Assim, evidencia-se que quando o pH do meio é baixo, a atividade metabólica das bactérias acidogênicas é inibida, afetando a geração de H_2 (LIN et al., 2012).

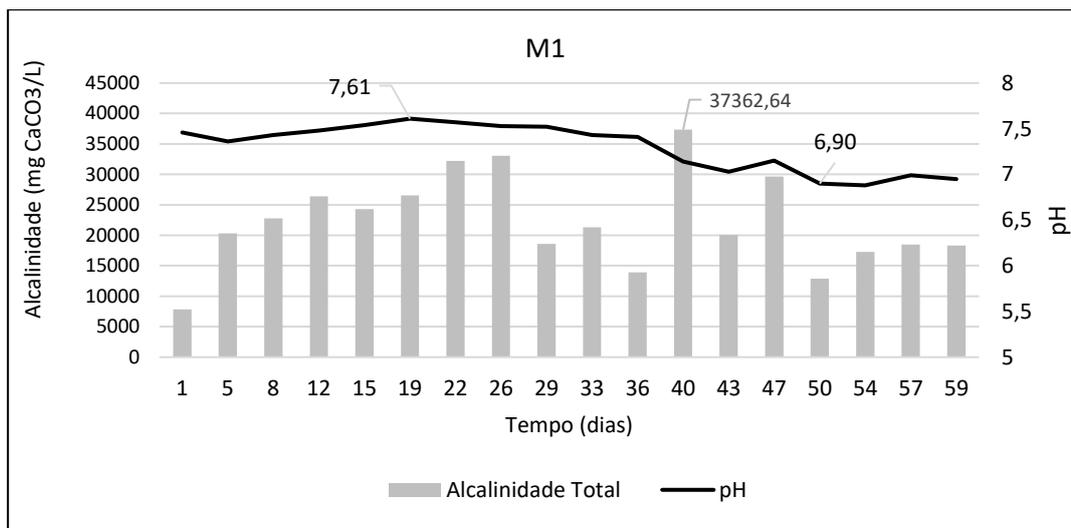
Silva et al. (2018) avaliaram a geração de hidrogênio e metano utilizando resíduos alimentares, lodo e GB em reatores em dois estágios e obtiveram valores de pH variando entre 5-6 no reator acidogênico. Nesse estudo, verificou-se que não houve variações bruscas de pH, demonstrando que o sistema acidogênico se manteve estável, favorecendo a atividade microbiana de microrganismos para produção de hidrogênio.

A alcalinidade total média do reator AC é igual a 1.335 mg CaCO_3/L , com pico máximo e igual a 3.223 mg CaCO_3/L e pico mínimo de 0 mg CaCO_3/L . Verificou-se que no 29º dia de operação, a alcalinidade estava superior a 2.700 mg CaCO_3/L e o pH em 6,06, então especificamente nesse dia, não se adicionou alcalinizante e no dia posterior, verificou-se redução abrupta do pH (3,83). Assim, optou-se por manter a dosagem de alcalinizante diariamente no reator. No estudo de Jiménez-Castro et al. (2020), em que foram utilizados RCL em duplo

estágio, a alcalinidade média para o reator acidogênico foi igual a 480 mg CaCO₃/L, uma vez que uma solução de NaOH 6N era adicionada ao reator apenas quando necessário para ajustar o pH (5-6).

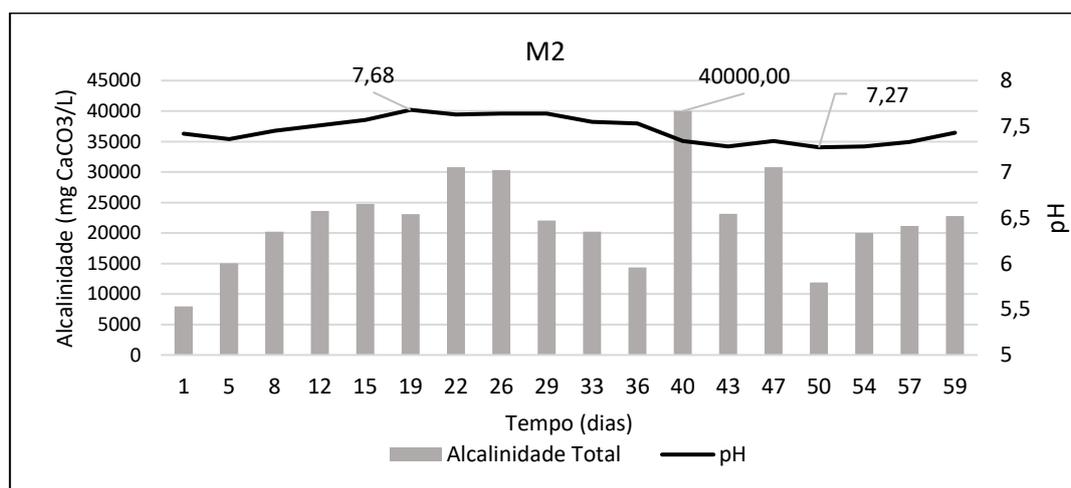
Nas Figura 29 e Figura 30 tem-se apresentados a evolução do pH e da alcalinidade total do reator de estágio único (M1) e duplo estágio (M2), respectivamente.

Figura 29: pH e da alcalinidade total no reator de estágio único (M1)



Fonte: A autora.

Figura 30: pH e da alcalinidade total no reator duplo estágio (M2)



Fonte: A autora.

Ao analisar as Figura 29 e Figura 30, percebe-se que ambos os reatores apresentam valores de pH e alcalinidade semelhantes e dentro da faixa ótima para etapa metanogênica (KUNZ et al., 2018). O reator M2 obteve valores de pH entre 7,3-7,7, enquanto que o reator M1

apresentou pH entre 6,9-7,6. Apesar do aumento da COV, o pH de ambos os reatores permaneceu estável. No entanto, destaca-se redução do pH do reator M1 nos últimos 10 dias de experimento.

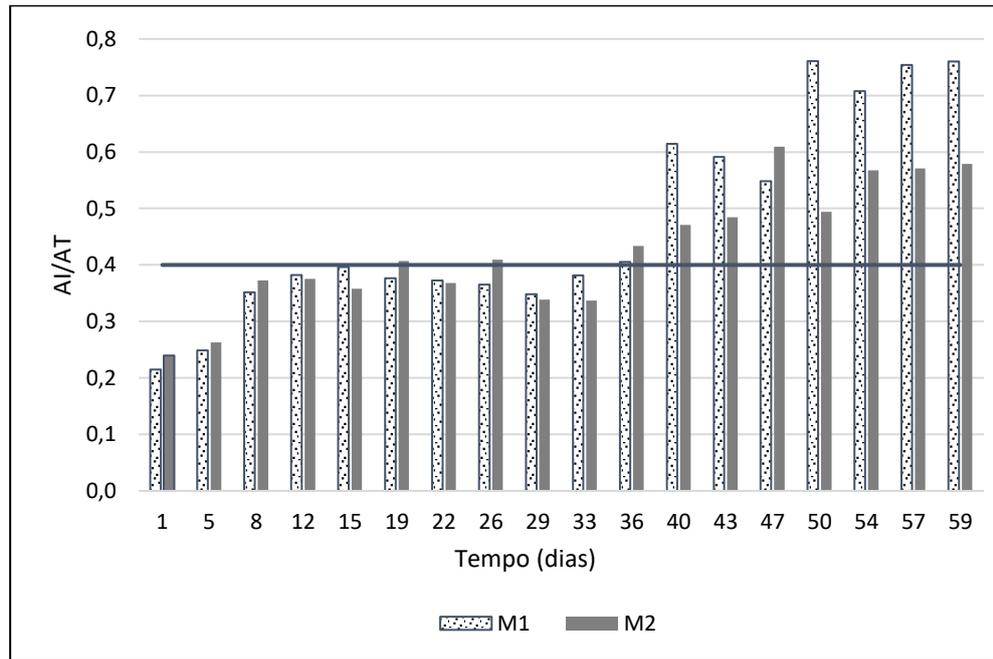
O reator do sistema duplo estágio (M2) apresentou melhor estabilidade em termos de pH, uma vez que o mesmo era alimentado com conteúdo efluente do reator acidogênico que também recebia NaHCO_3 para manter o pH entre 5-6. Isso contribuiu para aumentar ligeiramente o seu pH, e conseqüentemente, sua alcalinidade total.

Em relação a alcalinidade total dos reatores, percebe-se que ambos apresentaram variações ao longo do tempo, sendo o valor médio para o reator M1 e M2 igual a aproximadamente 22.300 mg CaCO_3/L . Esse valor de alcalinidade é superior à faixa normal para processos anaeróbios, que de acordo com Metcalf & Eddy (2016), varia de 1.000 a 5.000 CaCO_3/L . Jiménez-Castro et al. (2020), obtiveram concentrações de alcalinidade entre 1.200 e 2.700 mg CaCO_3/L , para os reatores controle e metanogênico, dentro da faixa normal.

As alcalinidades elevadas para os reatores M1 e M2 podem ser explicadas pela adição diária de alcalinizante para evitar queda no pH e conseqüentemente, desequilíbrio no processo anaeróbio. O processo anaeróbio é estável quando a relação AI/AT (Alcalinidade Intermediária/Alcalinidade Total) é < 0.4 (JENKINS et al., 1991; BRES et al. 2018; HOYOS, 2021).

A relação AI/AT para os reatores M1 e M2, estão apresentados na Figura 31. Para o reator AC a relação permaneceu igual a 1 durante todo o período experimental, já que a alcalinidade total desse reator se refere apenas a alcalinidade intermediária (AI), relacionada a presença de ácidos voláteis (COSTA, 2017).

Figura 31: Relação AI/AT para os reatores M1 e M2.



Fonte: A autora.

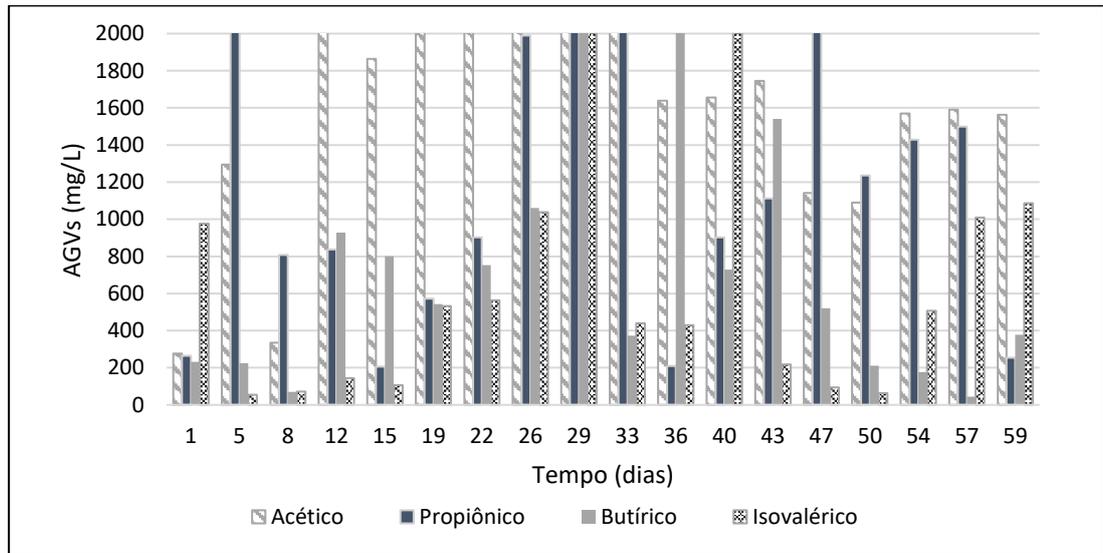
A relação AI/AT para ambos os reatores se manteve abaixo de 0,4 até o 33º dia de experimento. Logo após o aumento da carga orgânica, verificou-se aumento dessa relação, com destaque para o reator M1 que manteve valores superiores a 0,5, indicando desequilíbrio do processo anaeróbico. Apesar disso, o valor médio para os reatores M1 e M2 foram iguais a 0,48 e 0,43, respectivamente. Assim, percebe-se ainda, que o reator M2 em relação ao reator M1 apresentou maior estabilidade na operação.

Martín et al. (2013) utilizaram RCL e GB em sistema de estágio único na faixa mesofílica e verificaram que a relação AI/AT aumentou drasticamente ao aumentar a concentração de substrato devido ao acúmulo de ácidos voláteis no reator, atingindo valor final igual a 0,76.

5.3.6.2 AGVs

A instabilidade nos reatores pode estar associada a produção de AGVs, cuja acumulação pode diminuir o pH do meio (LIU et al., 2018). Os AGVs avaliados foram ácido acético, propiônico, butírico e valérico e a produção no reator AC, durante o período experimental, está apresentada na Figura 32.

Figura 32: Concentrações de AGVs no reator acidogênico (AC)



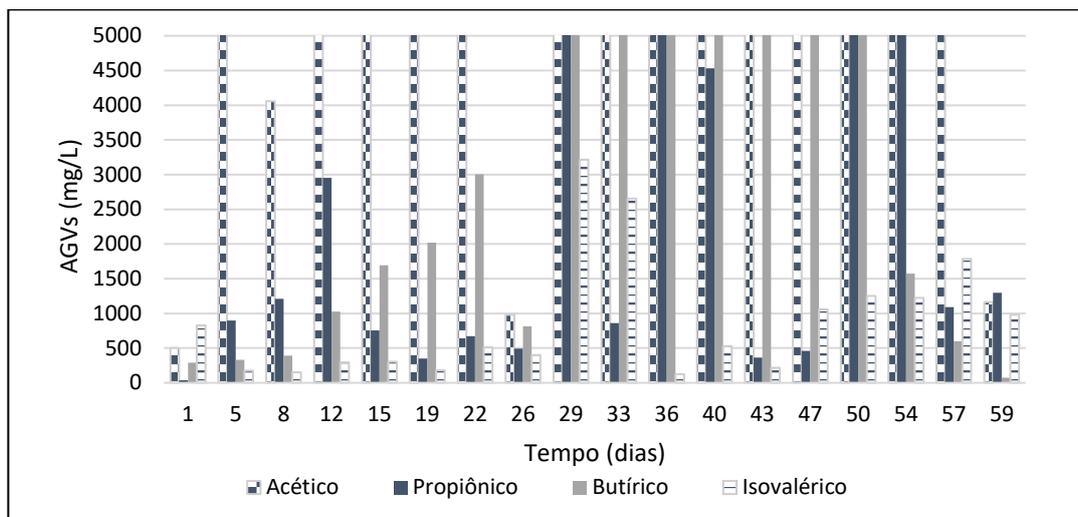
Fonte: A autora.

Obs: Concentrações de ácido acético e propiônico fora de escala.

Quando o objetivo principal do processo é a obtenção de H_2 , é desejado que se tenha como produtos finais de fermentação os ácidos acéticos e butírico (SILVA, 2017; CAMARGO, 2021). Avaliando os dados da Figura 32, destaca-se que a produção de ácido acético no reator acidogênico foi menor do que os outros reatores. O pico de maior concentração de ácido acético foi correspondente a 13.000 mg/L, no 29º dia de experimento, época em que houve uma produção elevada de H_2 . Ainda assim, a concentração média desse ácido foi de cerca de 2.500 mg/L. A produção reduzida de AGVs é relacionado ao pH mais baixo que favorece a etapa hidrolítica na qual os compostos químicos complexos não são totalmente convertidos em AGVs (JIMÉNEZ-CASTRO et al., 2020).

Nas Figura 33 e Figura 34 estão apresentadas as produções de AGVs para os reatores M2 (Sistema duplo estágio) e M1 (Estágio único), respectivamente, durante todo o período experimental.

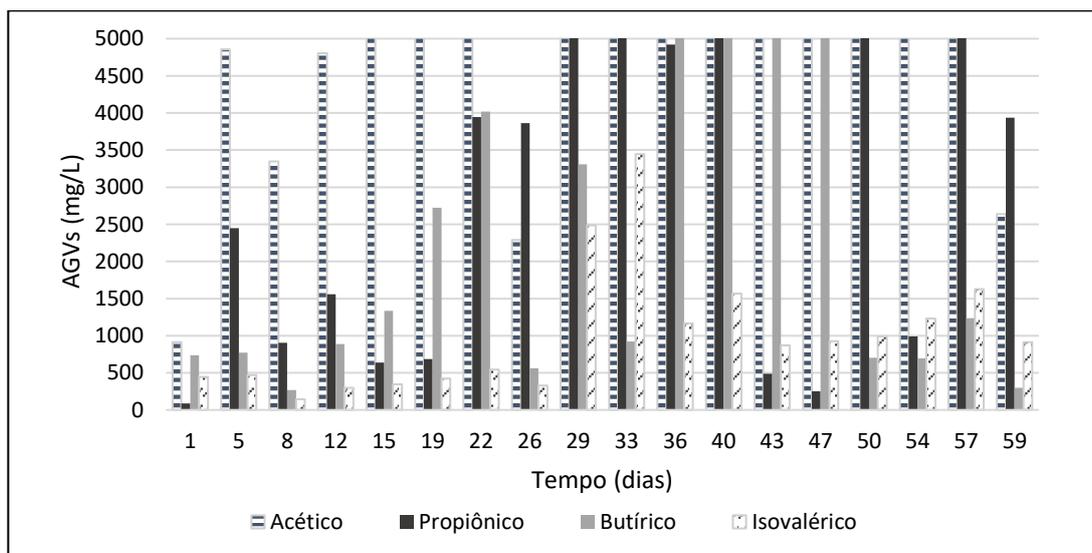
Figura 33: Concentrações de AGVs no reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2).



Fonte: A autora.

Obs: Concentrações de ácido acético e butírico fora de escala.

Figura 34: Concentrações de AGVs no reator de estágio único (M1)



Fonte: A autora.

Obs: Concentrações de ácido acético e butírico fora de escala.

Ao avaliar as Figuras Figura 33 e Figura 34, percebe-se que os reatores M1 e M2 apresentaram elevadas concentrações de ácido acético, propiônico e butírico. No 33º dia de experimento, ao aumentar a COV, os reatores M1 e M2 atingiram concentração de ácido acético equivalentes a 20.560 mg/L e 52.270 mg/L, respectivamente. Ambos os reatores apresentaram concentrações de ácido butírico superiores a 7.000 mg/L, em diversos dias de experimento e o reator M1 apresentou concentrações altas de ácido acético, variando entre 1.000 e 19.000 mg/L.

Os AGVs são intermediários necessários na produção de metano, mas o acúmulo excessivo pode levar à falha do processo. De acordo com Siegert e Banks (2005), em concentrações superiores a 6.000 mg/L ocorre diminuição considerável na produção de biogás. Além disso, a diminuição na produtividade de CH₄ e acumulação de ácido propiônico promove a eliminação da atividade metanogênicas no processo anaeróbio (WANG et al., 2009; HOYOS, 2021).

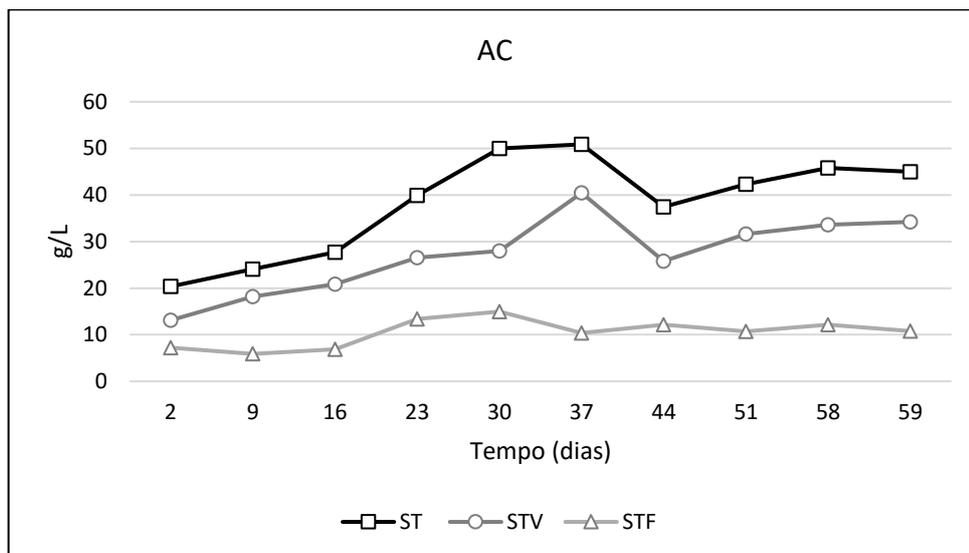
Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Jiménez-Castro et al. (2020), ao utilizarem RCL em sistema dois estágios. Os autores verificaram que a concentração de ácido acético no reator acidogênico foi menor do que nos reatores controle e metanogênico. Além disso, no reator metanogênico, uma concentração de ácido acético igual a 23.000 mg/L foi suficiente para inibir a metanogênese. Já no reator controle, foram observadas concentrações de ácido acético entre 1.000 e 14.000 mg/L.

Assim, diante da baixa produção de AGVs no reator acidogênico (AC), verifica-se que durante a etapa de fermentação, os compostos químicos não foram convertidos completamente em AGVs. Isso pode ter acontecido devido a elevada COV e, em virtude da alta produção de AGVs, principalmente de ácido acético, no reator do metanogênico do sistema duplo estágio (M2), a fermentação dos compostos, provavelmente, estava sendo completada nesse reator, o que pode ter interferido na metanogênese do processo anaeróbio e consequentemente, influenciado nos baixos percentuais de CH₄.

5.3.6.3 Sólidos

A degradação orgânica de um sistema anaeróbio retrata a eficiência da conversão da matéria orgânica pela comunidade microbiana e está relacionada à produção de biogás (ZHEN et al., 2016; SILVA, 2020). A Figura 35 apresenta os dados de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV) e sólidos totais fixos (STF) para o reator acidogênico (AC).

Figura 35: Concentrações de ST, STV e STF do reator acidogênico (AC) ao longo do tempo

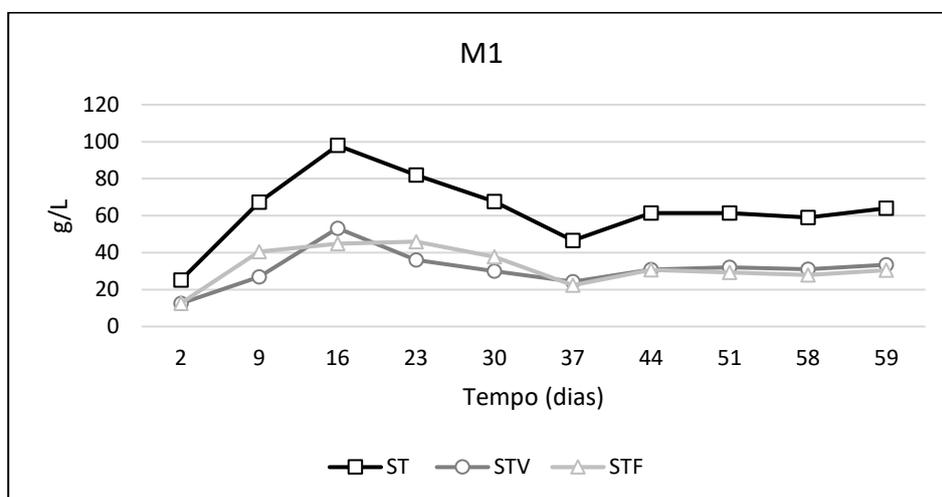


Fonte: A autora.

O conteúdo de ST do reator AC permanece relativamente estável nos primeiros 16 dias de experimento, com um valor entre 20-30 g/L. Pode ser verificado que a concentração de STV no início do experimento era de cerca de 13 g/L e ao final do processo, a concentração foi de 34,2 mg/L, valor 161% maior do que o inicial, provavelmente devido ao acúmulo de matéria orgânica.

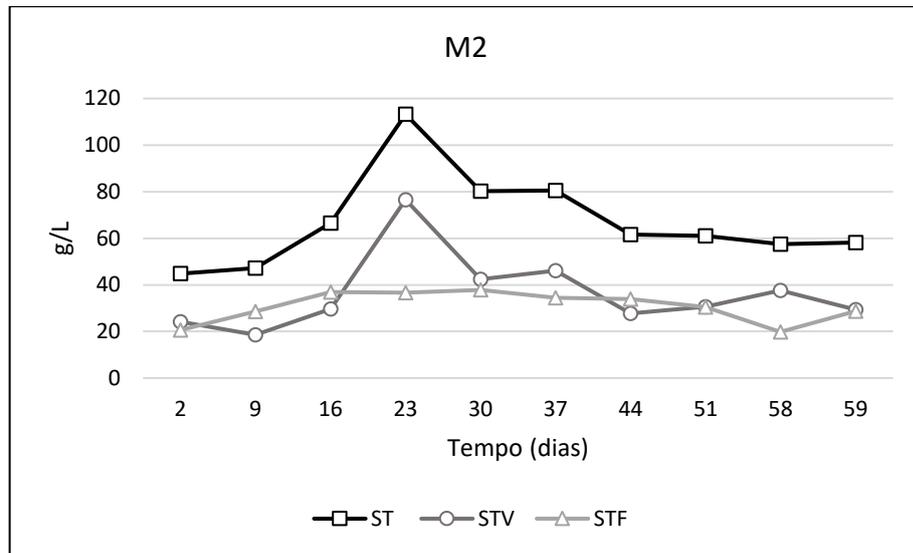
As Figura 36 e Figura 37 apresentam os dados de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV) e sólidos totais fixos (STF) para os reatores de estágio único (M1) e duplo estágio (M2), respectivamente.

Figura 36: Concentrações de ST, STV e STF do reator de estágio único (M1) ao longo do tempo



Fonte: A autora.

Figura 37: Concentrações de ST, STV e STF do reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2) ao longo do tempo



Fonte: A autora.

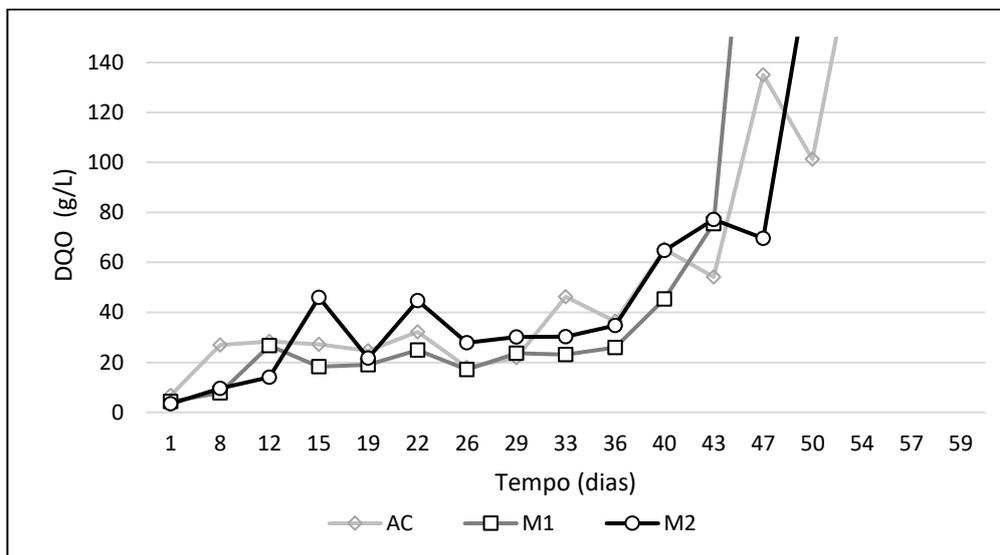
Verifica-se que a média de STV para o reator M2 é superior ao reator M1 e iguais a cerca de 31 g/L e 36 g/L, respectivamente. Houve redução nas concentrações de sólidos posteriormente ao 16º e 23º dia para os reatores M1 e M2, respectivamente. No reator M1, a redução de concentração de ST e STV ocorreu entre o 16º e 37º dia, já no reator M2, entre os dias 23 e 30, e 37 e 44 do experimento. Percebe-se que após o incremento de 20% na COV, as concentrações de ST e STV ficaram relativamente estáveis em ambos os reatores, indicando que não houve interferência na concentração de biomassa e no desenvolvimento dos microrganismos presentes. Além disso, destaca-se que o teor de STF foi superior ao teor de STV entre os dias 2-9 e 23-27 para o reator M1 e entre os dias 2-16 e 44-51 para o reator M2.

No estudo de Jiménez-Castro et al. (2020), foi constatada redução de concentração de STV igual a 46%, 50% e 74% para os reatores acidogênico, metanogênico e controle, respectivamente. De Gioanani et al. (2017) obtiveram uma eficiência de remoção de STV equivalente a 34,1% no reator acidogênico e 53,3% no metanogênico. Assim, percebe-se que nos reatores AC, M1 e M2 não houve eficiência de remoção de sólidos como esperado e verificou-se acúmulo de matéria orgânica em alguns momentos ao longo do experimento, que não foi biodegradada, principalmente após aumento da COV.

5.3.6.4 DQO

A Figura 38 apresenta a evolução das concentrações de DQO ao longo do período experimental para os reatores AC, M1 e M2.

Figura 38: Concentrações de DQO dos reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo



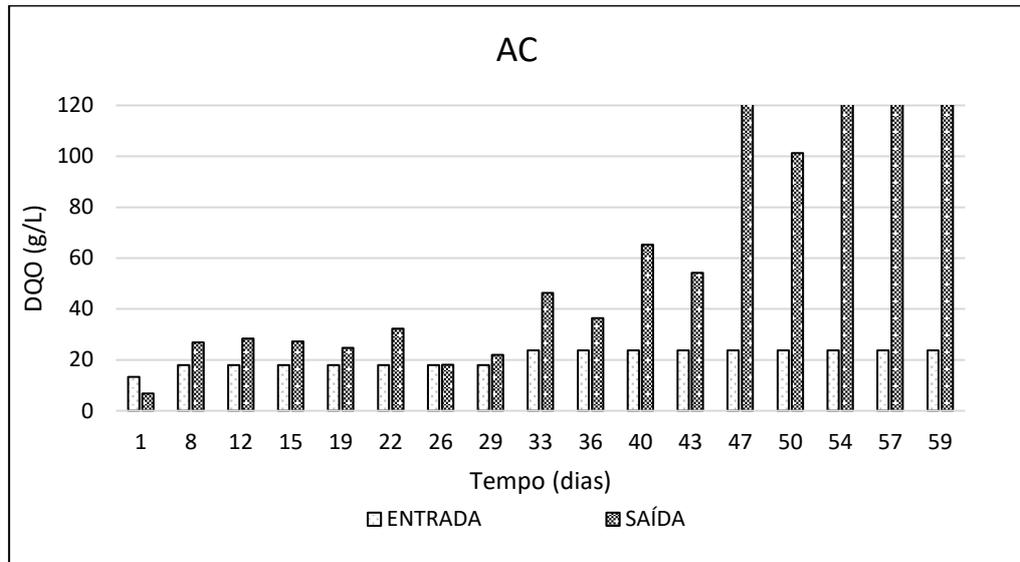
Fonte: A autora.

Obs: Concentrações de DQO do 43º dia em diante estão fora de escala.

Percebe-se que a DQO estava estável até o 33º dia para os reatores AC, M1 e M2. Após o aumento da COV, houve aumento das concentrações de DQO, sendo mais significativo após o 43º dia de experimento. A baixa redução de DQO é típica da fase de acidogênese, já que durante esta fase, os compostos são convertidos, principalmente, em produtos solúveis, como AGVs, que contribuem para DQO (COONEY et al., 2007).

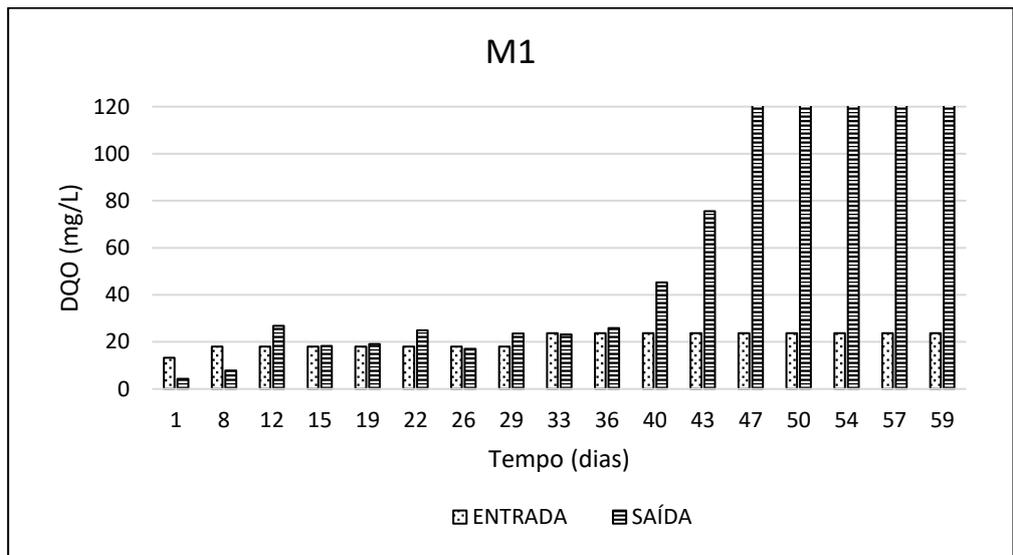
Para avaliar a porcentagem de remoção de DQO nos reatores, tem-se apresentado nas Figuras Figura 39, Figura 40 e Figura 41, as concentrações de DQO de entrada e de saída ao longo do período experimental para os reatores acidogênico (AC), metanogênico (M2) e reator de estágio único (M1), respectivamente.

Figura 39: DQO de entrada x DQO de saída no reator acidogênico (AC)



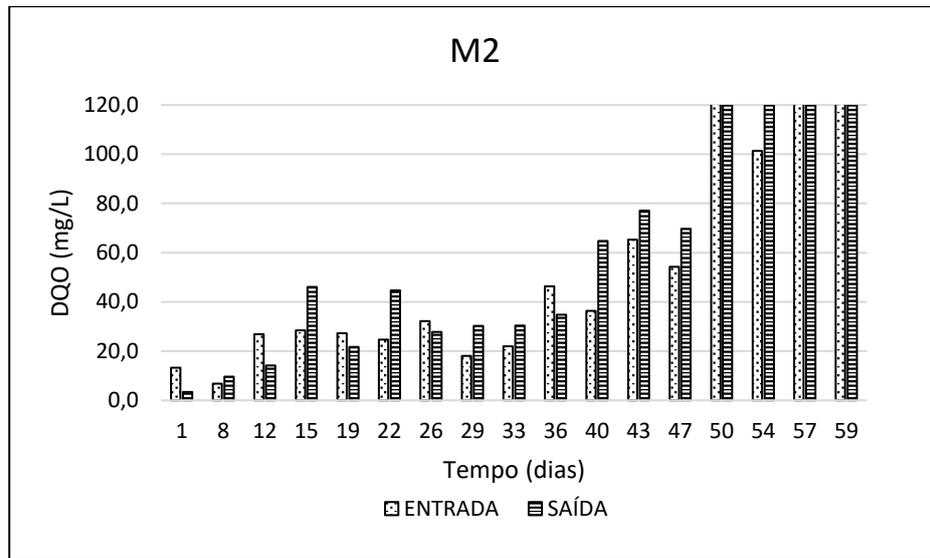
Fonte: A autora.

Figura 40: DQO de entrada x DQO de saída no reator de estágio único (M1)



Fonte: A autora.

Figura 41: DQO de entrada x DQO de saída no reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2)



Fonte: A autora.

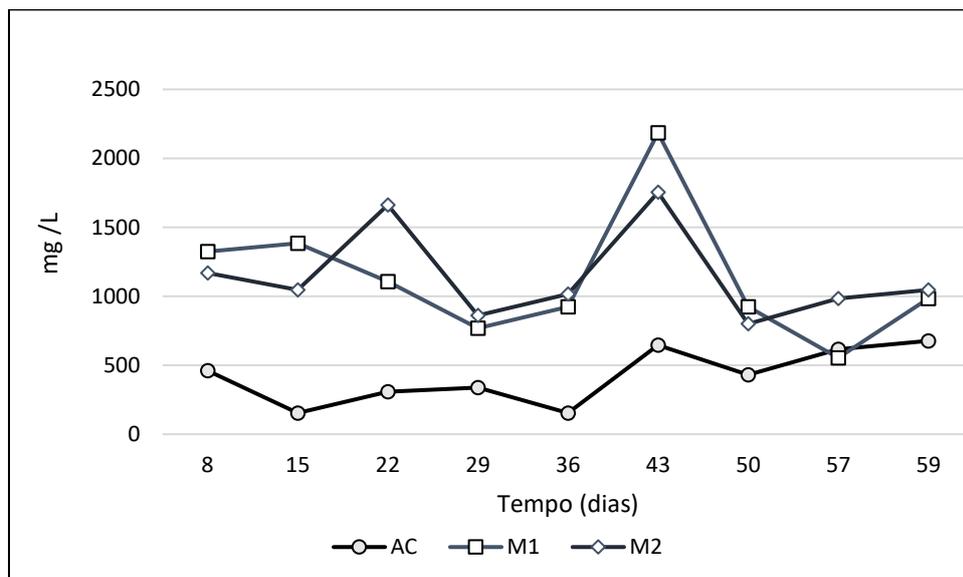
Como mostrado nas Figuras Figura 39, Figura 40 e Figura 41, foi possível verificar que a remoção de DQO no reator AC ocorreu apenas no primeiro dia do período experimental. Do 8º dia de experimento em diante, há aumento da DQO nesse reator, conforme esperado. Já para os reatores metanogênicos, o reator M1 apresentou redução de DQO acima de 55% nos dias 2 e 9 e inferior a 5% nos dias 27 e 34. Enquanto que no reator M2, observou-se redução da concentração de DQO nos dias 2, 13, 20, 27 e 37. No dia 2 teve-se a maior redução, equivalente a 74%, seguido do dia 13 com redução de cerca de 50% e nos dias 20, 27 e 27, a redução foi em média de 20%.

Destaca-se, nos reatores metanogênicos do estudo, que nos últimos 20 dias de experimento, a DQO de saída é superior a DQO de entrada. Esse aumento considerável registrado pode estar atrelado ao acúmulo de AGVs nos reatores metanogênicos, uma vez que contribuem diretamente para o aumento da DQO e reflete em uma condição de instabilidade para o sistema. Então, para uma melhor eficiência da DA, deve haver degradação e redução da concentração de tais metabólitos (MESQUITA et al., 2013). Diante disso, verifica-se que a DQO não estava sendo eficientemente removida no processo anaeróbio.

5.3.6.5 NTK

A Figura 42 apresenta a evolução das concentrações de NTK para os reatores AC, M1 e M2, ao longo do experimento. Destaca-se que os reatores apresentaram bastante variação nos 60 dias de experimento.

Figura 42: Concentrações de NTK para os reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo



Fonte: A autora.

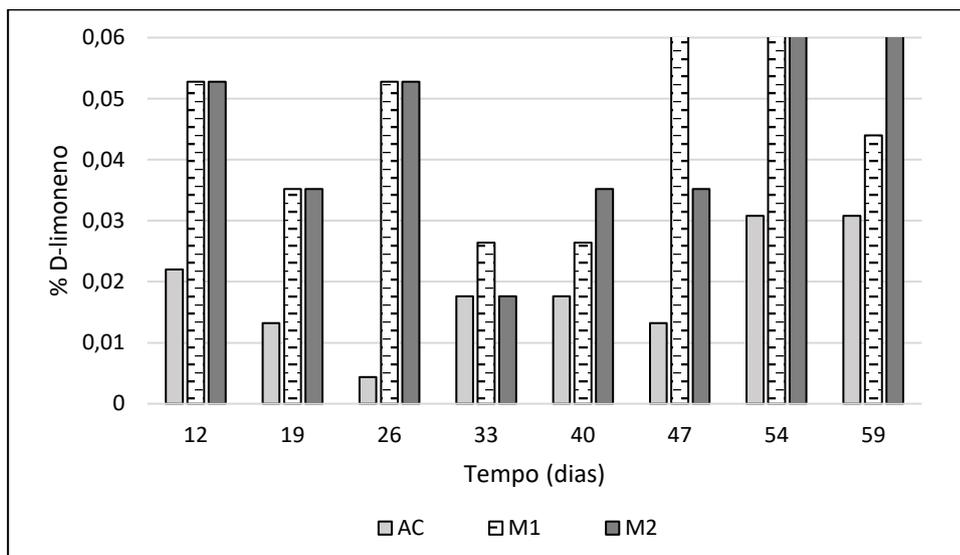
Diversos autores relatam na literatura que a faixa de concentração de nitrogênio amoniacal sem efeito tóxico para os processos anaeróbios é entre 200-1.000 mg/L (ANGELIDAKI & AHRING, 1994; HAMMAD et al. 1999; MATA-ALVAREZ et al. 2000). No entanto, o nitrogênio amoniacal como $\text{NH}_4\text{-N}$ pode ser tolerada em concentrações de 1.500-3.000 mg/L com pH acima de 7,4 (MCCARTY, 1964; MAHMOOD, 2008). Metcalf et al. (2004) destacam que concentrações acima de 3.000 mg/L podem inibir a atividade microbiana para qualquer valor de pH, e promover o desequilíbrio da DA (HAGOS et al., 2017).

A partir da análise da Figura 42, verifica-se que os reatores AC, M1 e M2 apresentam concentrações abaixo de 2.500 mg/L, e estão dentro da faixa sem potencial de inibição. Além disso, os reatores metanogênicos (M1 e M2) apresentam concentrações mais elevadas que o acidogênico (AC). Dessa forma, os baixos rendimentos de hidrogênio e metano após a primeira semana de experimento provavelmente não foram influenciados pelas concentrações de NTK, importante como nutriente para síntese de proteínas e reprodução celular (GIACON, 2019).

5.3.6.5 D-Limoneno

O teor de D-limoneno monitorado nos reatores AC, M1 e M2 ao longo do período experimental estão apresentados na Figura 43.

Figura 43: Percentuais de D-limoneno nos reatores AC, M1 e M2 ao longo do tempo



Fonte: A autora.

De acordo com alguns estudos da literatura, a concentração mínima de D-limoneno para inibição dos processos anaeróbios é igual a 0,2 g/Kg (0,0002%) (CALABRÓ et al.; RUIZ & FLOTATS, 2016). Ao avaliar a Figura 43, verifica-se que todas as concentrações de D-limoneno nos reatores excedem esse valor. A média da concentração de D-limoneno nos reatores AC, M1 e M2 foram, respectivamente, iguais a 0,019%, 0,051% e 0,058%. As concentrações do reator M2 superam em cerca de 300% as concentrações do reator AC, com exceção apenas do 33º dia que ambos os reatores apresentam concentrações iguais. Além disso, o reator M1 apresentou concentrações de D-limoneno 12% menores em relação ao reator M2, e assim, verifica-se que a fermentação no reator AC não possibilitou redução do D-limoneno no reator M2.

Percebe-se que o efeito inibitório no processo para produção de biogás, provavelmente, foi potencializado pela presença do D-limoneno, que é considerado um agente antimicrobiano e um dos principais obstáculos da DA, e conseqüentemente, para obtenção de biogás (MARTÍN et al., 2010; CALABRÓ et al., 2018; CAMARGO et al., 2020). Diante do acúmulo de D-limoneno nos reatores do sistema duplo estágio (AC e M2), e considerando que as concentrações observadas desse composto para o reator AC foi de 0,019% e para o reator M2 foi de 0,058%, sendo superiores a concentração mínima de inibição (0,0002%), verifica-se que o reator acidogênico (AC) do sistema semi-contínuo em dois estágios não funcionou como uma etapa de pré-tratamento, uma vez que não possibilitou a redução das concentrações de D-limoneno, e acumulou-se no reator (CALABRÓ et al., 2019).

5.3.7 Estabilidade operacional do sistema semi-contínuo

Diante dos resultados e das análises da produção bruta diária de biogás, hidrogênio e metano, e ainda da caracterização física e química dos conteúdos dos reatores, verificou-se após o 5º dia de experimento, baixos percentuais de hidrogênio e metano, em carga orgânica igual a 1,48 gSV/L. d⁻¹. Após o aumento da COV em 20%, 1,78 gSV/L. d⁻¹, no 31º dia de operação, os percentuais de metano diminuíram significativamente. As cargas orgânicas aplicadas estão dentro do limite de inibição relatados por alguns autores (MARTÍN et al., 2013; ZEMA et al., 2018).

Martín et al. (2013) aumentaram a COV gradativamente em reatores utilizando RCL e GB em apenas um estágio sob condições de temperatura mesofílica. A COV inicial foi de 0,62 g SV/L. d⁻¹. Os autores observaram que o maior rendimento de metano foi alcançado em COV igual a 1,20 g SV/L. d⁻¹. No entanto, a produção de metano diminuiu em carga orgânica superior a 2,10 g SV/L. d⁻¹ devido ao acúmulo de ácidos orgânicos voláteis no digestor.

Já no estudo de Zema et al. (2018), em que foram utilizados RCL e estrume de aves, e os autores verificaram um maior rendimento de metano diário alcançado com COV de 1,0 g SV/L. d⁻¹, e uma inibição parcial da DA foi detectada em COV igual a 1,98 g SVT/L. d⁻¹, sendo o processo interrompido quando a carga orgânica atingiu 2,5 g SVT/L. d⁻¹. Diante desses resultados, percebe-se que, provavelmente, houve choque de carga no sistema, levando a uma instabilidade operacional. Assim, para uma melhor estabilidade e adaptação dos microrganismos do processo, é ideal que a COV seja aumentada gradativamente e inicie abaixo de 1,0 g SV/L. d⁻¹.

Percebeu-se acúmulo de ácidos voláteis nos reatores metanogênicos (M1 e M2) e elevadas concentrações de alcalinidade, superiores a faixa recomendada. Verificou-se que o acúmulo de AGVs está relacionado com o aumento de DQO que contribuiu para a redução da produção de biogás. Além disso, o efeito inibitório no processo para produção de hidrogênio e metano, provavelmente, foi potencializado pela presença do D-limoneno, que é considerado um dos principais obstáculos do processo anaeróbico e todas as concentrações de D-limoneno nos reatores excedem o valor mínimo de inibição.

Diante desses resultados, percebe-se que a fermentação no reator acidogênico (AC) não é o pré-tratamento mais indicado para reduzir o efeito inibidor do D-limoneno e potencializar a geração de biogás e metano. Assim, para uma melhor estabilidade do processo anaeróbico

envolvendo RCL, a recuperação de óleo essencial para extração do D-Limoneno por meio de pré-tratamentos, pode contribuir para evitar a inibição microbiana e aumentar a produção de metano (GUTIÉRREZ et al., 2022). Dentre as opções de pré-tratamento, a explosão a vapor é bastante utilizada porque permite a recuperação do óleo essencial e pode ser facilmente acoplado a uma usina de biogás, além dos equipamentos serem de baixo custo, tornando o processo economicamente viável (MARTÍN et al., 2010; CALABRÓ et al., 2018).

5.3.8 Avaliação da recuperação de energia do sistema semi-contínuo

A eficiência de conversão de energia foi calculada com base na densidade e poder calorífico dos gases H₂ e CH₄, 0,09 kg/ m³ e 0,72 kg/m³ e 142 kJ/g e 55,6 kJ/g, respectivamente (PEIXOTO et al., 2012).

Utilizando os rendimentos de H₂ e CH₄ obtidos no sistema semi-contínuo, a recuperação de energia correspondentes a cada grama de SV adicionado foram calculados e estão apresentados na Tabela 7 . A eficiência energética do H₂ é consideravelmente menor do que de CH₄, não sendo competitiva com a geração de metano (SILVA et al., 2018).

Tabela 7: Comparação entre a recuperação total de energia no sistema de digestão anaeróbica de dois estágios e de estágio único

SISTEMA	PRODUÇÃO DE H ₂		PRODUÇÃO DE CH ₄	
	Y H ₂ (NmL/gSV)	Recuperação de energia (kJ/gSV)	Y CH ₄ (NmL/gSV)	Recuperação de energia (kJ/gSV)
Duplo estágio	288,4	3,7	2702,9	108,2
Estágio Único	-	-	2011,6	80,5

Fonte: Elaborada pela autora.

A recuperação de energia do sistema duplo estágio (AC e M2) é superior a recuperação de energia do reator de estágio único (M1). Os dados obtidos de recuperação energética não são suficientes para avaliar se existe diferença significativa entre os dois sistemas. Entretanto, como observado nas demais análises realizadas em termos de produção de biogás e metano, na Etapa 2 do estudo, muito provavelmente, a recuperação de energia do sistema duplo estágio não difere estatisticamente do reator de estágio único.

6. CONCLUSÕES

- O PBB e PBM obtidos para os RCL foram iguais a 284,7 m³ biogás. tonSV⁻¹ e 160,5 m³ CH₄. tonSV⁻¹, respectivamente. Para o GB, os valores foram superiores e iguais a 544,2 m³ biogás. tonSV⁻¹ para o PBB e 344,8 m³ CH₄. tonSV⁻¹, para o PBM.
- Os RCL e GB mixados obtiveram PBB e PBM mais elevado, em relação aos valores encontrados para os RCL e GB separadamente. Os RCL e GB mixados obtiveram 1.003,25 m³. tonSV⁻¹ de biogás e 501,34 m³. tonSV⁻¹ de metano, sendo 252% e 212%, respectivamente, maior em relação ao PBB e PBM dos RCL. Esses valores indicam que a utilização do GB como co-substrato pode favorecer a geração de biogás;
- Em relação a fermentação prévia de RCL e GB, separadamente e mixados, nos testes em batelada, ao avaliar estatisticamente os dados de volume de biogás e metano para as quintuplicatas, verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre os volumes para os resíduos fermentados e não fermentado. Assim, a fermentação prévia não contribuiu para o aumento da produção de biogás e metano, quando comparada a utilização de resíduos na forma bruta;
- No sistema semi-contínuo, também se percebeu que a fermentação prévia dos RCL e GB não contribuiu efetivamente para o aumento dos volumes de biogás e metano. As concentrações médias de D-limoneno nos reatores AC, M1 e M2 foram, respectivamente, iguais a 0,019%, 0,051% e 0,058, sendo superiores a concentração mínima de inibição (0,0002%) desse composto na DA. Dessa forma, a fermentação no reator acidogênico (AC) não funcionou como uma etapa de pré-tratamento, uma vez que não possibilitou a redução das concentrações de D-limoneno, que inclusive, acumulou-se no reator;
- Verificou-se acúmulo de AGVs nos reatores metanogênicos de estágio único (M1) e duplo estágio (M2), após aumento da COV, sendo atingidas concentrações de ácido acético que provocam redução considerável de produção de biogás, equivalentes a 20.560 mg/L no reator M1 e 52.270 mg/L, no reator M2. Verificou-se que a média das concentrações de alcalinidade obtidas nos reatores M1 e M2 foram cerca de 22.300 mg CaCO₃/L, valor superior à faixa normal para processos anaeróbios;
- Houve acúmulo de matéria orgânica não biodegradada e obteve-se baixos percentuais de hidrogênio no reator acidogênico (AC), variando entre 0-28,3%. Os reatores M1 e M2 apresentaram percentuais de metano variando entre 15-25%, na maior parte do

tempo, sendo esses valores inferiores a faixa considerada ideal para aproveitamento energético. Assim, percebeu-se que instabilidade na co-digestão anaeróbia de RCL e GB nos sistemas semi-contínuos. Essa instabilidade pode ter sido potencializada pela COV que não foi aumentada gradativamente e pelo acúmulo de D-limoneno;

- A recuperação de energia do sistema duplo estágio (AC e M2) foi superior a recuperação de energia do reator de estágio único (M1). No reator acidogênico (AC), a recuperação energética foi igual a 3,7 kJ/gSV, enquanto que para o reator de estágio único (M1), foi de 80,5 kJ/gSV e para o reator metanogênico do sistema duplo estágio (M2), o valor obtido foi de 108,2 kJ/gSV. Os dados obtidos de recuperação energética não são suficientes para avaliar se existe diferença significativa entre os dois sistemas. Entretanto, foi observado nas demais análises realizadas em termos de produção de biogás e metano, na Etapa 2 do estudo, que não há diferença estatística entre os dois reatores. Dessa forma, muito provavelmente, a recuperação de energia do sistema duplo estágio não difere estatisticamente do reator de estágio único.

7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Iniciar a alimentação com COV abaixo de 1 gSV/L.d, e aumentar gradativamente a carga orgânica e evitar instabilidade operacional, além de detectar o limite de inibição;
- Reduzir a quantidade de alcalinizante nos reatores, para que as concentrações de alcalinidade fiquem na faixa recomendada;
- Recuperar o óleo essencial dos RCL, produto de alto valor agregado, utilizando explosão a vapor, como pré-tratamento, porque é uma técnica que pode ser facilmente acoplado a uma usina de biogás, além dos equipamentos serem de baixo custo, tornando o processo economicamente viável. Posteriormente, os RCL pós tratamento podem ser empregados em DA para produção de biogás.

REFERÊNCIAS

- ACHINAS, S.; KROONEMAN, J.; EUVERINK, G. J. W. Enhanced Biogas Production from the Anaerobic Batch Treatment of Banana Peels. **Engineering**, v. 5, p. 970-978, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.036>.
- AHRING, B. K. Methanogenesis in thermophilic biogas reactors. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, p.91–102, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00872197>.
- ALGAPANI, D. E.; QIAO, W.; RICCI, M.; BIANCHI, D.; WANDERA, S. M.; ADANI, F.; DONG, R. Bio-hydrogen and bio-methane production from food waste in a two-stage anaerobic digestion process with digestate recirculation. **Renew. Energ.**, v. 130, p. 1108-1115, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.08.079>.
- ALMEIDA, P. S. **Produção de hidrogênio e metano a partir da co-digestão de soro de queijo e glicerol em reator anaeróbio de leite fluidizado**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2021.
- ALVES, I. R. F. S. **Avaliação da co-digestão na produção de biogás**. Tese de Doutorado. Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2016.
- AMARAL, C.M.C.; AMARAL, L.A.; LUCAS JÚNIOR, J.; NASCIMENTO, A.A.; FERREIRA, D.S.; MACHADO, M.R.F. Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, nov-dez, 2004.
- AMPESE, L. C.; ZIERO, H. D. D.; VELÁSQUEZ, J.; SGANZERLA, W. G.; MARTINS, G.; CARNEIRO, T. F. Apple pomace management by anaerobic digestion and composting: a life cycle assessment. **Biofpr.**, v. 17, n. 1, p. 29-45, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bbb.2446>.
- ANGELIDAKI, I.; AHRING, B.K. Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature. **Water Res.**, v. 28, n.3, p.727–731, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90153-8).
- ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Rev. Environ. Sci. BioTechnol.**, v. 3, p. 117–129, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- ANGELIDAKI, I., TREU, L., TSAPEKOS, P., LUO, G., CAMPANARO, S., WENZEL, H., & KOUGIAS, P. G. Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. **Biotechnol. Adv.**, v. 36, n.2, p. 452-466, 2018.
- ANGERIZ-CAMPOY, R.; ALVARÉZ-GALLEGO, J. C.; ROMERO-GARCÍA, L. I. Thermophilic anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with food waste (FW): Enhancement of bio-hydrogen production. **Bioresour. Technol**, v. 194, p. 291-296. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.011>.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th Ed., APHA/AWWA/WEF, 2012.
- ARRUDA, H. J. **Avaliação da viabilidade técnica e econômica da produção de biogás a partir de resíduo do processamento industrial de vegetais**. Dissertação de Mestrado.

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, 2020.

ASSEMANY, P. P. **Valorização energética de biomassa algal cultivada em águas residuárias via digestão anaeróbia**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2017.

ASTALS, S.; ARISO, M.; GALÍ, A.; MATA-ALVAREZ, J. Co-digestion of pig manure and glycerine: experimental and modelling study. **J. Environ. Manage**, v. 92, n. 4, p.1091– 1096, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.014>.

ATTARBACHI, T.; KINGSLEY, M. D.; SPALLINA, V. New trends on crude glycerol purification: A review. **Fuel**, v. 340, p. 127485, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.127485>.

AWASTHI, S.K.; JOSHI, R.; DHAR, H.; VERMA, S.; AWASTHI, M.K.; VARJANI, S.; SARSAIYA, S.; ZHANG, Z.; KUMAR, S. Improving methane yield and quality via co-digestion of cow dung mixed with food waste. **Bioresour. Technol**, v. 251, p.259–263, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.063>.

AZBAR, N.; CETINKAYA D. F. T.; KESKIN, T.; KORKMAZ, K. S.; SYED, H. M. Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions. **Int. J. of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 7441 – 7447, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.04.032>.

BACKES, G. M. **Avaliação do processo de digestão anaeróbia na geração de energia a partir de dejetos suínos e bovinos de leite com suplementação de glicerina residual bruta oriunda da produção de biodiesel**. Dissertação de Mestrado. Curso de ambiente e desenvolvimento - Universidade do Vale do Taquari, Lajeado - RS, 2011.

BALDI, F.; PECORINI, I.; IANNELLI, R. Comparison of single-stage and two-stage anaerobic Co-Digestion of food waste and activated sludge for hydrogen and methane production. **Renew. Energ.**, v. 143, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.122>.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIKADI, I. KALYUZHNYI, S.V.; PAVLOSTATHIS, S.G.; ROZZI, A.; SANDERS, W.T.M.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. **Anaerobic Digestion Model No.1 (ADM1)**. IWA Scientific and Technical Report No. 13, IWA Publishing, London, p. 77, 2002.

BAUMGUERTNER, M. M. **Valorização Energética de Resíduos de Kiwi por meio da Digestão Anaeróbia**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, 2018.

BENINI, G. L. **Análise de fluxo de massa de chumbo no tratamento esgoto sanitário em reator UASB**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia civil da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS. São Leopoldo - RS 2019.

BERGMANN, J. C.; TUPINAMBÁ, D. D.; COSTA, O. Y. A.; ALMEIDA, J. R. M.; BARRETO, C. C.; QUIRINO, B. F. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Rev.**, v. 21, p. 411-420, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.12.058>.

BHATNAGAR, N.; RYAN, D.; MURPHY, R.; ENRIGHT, A. M. A comprehensive review of green policy, anaerobic digestion of animal manure and chicken litter feedstock potential – Global and Irish perspective. **Renewable and Sustainable Energy Rev.**, v. 154, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111884>.

BORZANI, W. Fermentação Semi-contínua. In: SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Coord). **Engenharia Bioquímica**. 1a Ed., v. 2: Edgard Blücher, p. 219-222, 2001.

BRADDOCK, R. J.; TEMELLI, F.; CADWALLADER, K.R. Citrus essential oils – a dossier for material safety data sheets. **Food Technol.**, v.40, n. 11, p.114–116, 1986.

BRAGUGLIA, C. M.; GALLIPOLI, A.; GIANICO, A.; PAGLIACCIA, P. Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. **Bioresour. Technol.** v. 248, p. 37–56, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.145>.

BRASIL. **Fontes de energias renováveis representam 83% da matriz elétrica brasileira**. Governo do Brasil, 2021a. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-e-combustiveis/2020/01/fontes-de-energia-renovaveis-representam-83-da-matriz-eletrica-brasileira>.

BRASIL. **Energias renováveis chegam a quase 50% da matriz energética brasileira**. Governo do Brasil, 2021b. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-e-combustiveis/2021/08/energia-renovavel-chega-a-quase-50-da-matriz-eletrica-brasileira-1>.

BRASIL. **CNPE aprova aumento para 12% da mistura de biodiesel ao diesel a partir de abril**. Governo do Brasil. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/cnpe-aprova-aumento-para-12-da-mistura-de-biodiesel-ao-diesel-a-partir-de-abril>.

BRES, P.; BEILY, M. E.; YOUNG, B. J.; GASULLA, J.; BUTTI, M.; CRESPO, D.; CANDAL, R.; KOMILIS, D. Performance of semi-continuous anaerobic co-digestion of poultry manure with fruit and vegetable waste and analysis of digestate quality: A bench scale study. **J. Waste Manag.**, v. 82, p. 276-284, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.041>.

BUCK AL. Buck **Research Manual**, 1996.

CALABRÓ, P. S.; PORTONI, L.; PORQUEDDU, I.; GRECO, R.; PIROZZI, F.; MALPEI, F. Effect of the concentration of essential oil on orange peel waste biomethanization: Preliminary batch results. **J. Waste Manag.**, v. 48, p. 440-447, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.032>.

CALABRÓ, P. S.; PAONE, E.; KOMILLIS, D. Strategies for the sustainable management of orange peel waste through anaerobic digestion. **J. Environ. Manag.**, v. 212, p. 462-468, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.02.039>.

CALABRÓ, P. S.; FAZZINO, F.; FOLINO, A.; PAONE, E.; KOMILLIS, D. Semi-Continuous Anaerobic Digestion of Orange Peel Waste: Effect of Activated Carbon Addition and Alkaline Pretreatment on the Process. **Sustainability**, v. 11, n.12, p. 3386, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su11123386>.

CALDEREIRO, G. M. B. **Caracterização da digestão de resíduos agroindustriais em biodigestor de fluxo contínuo operado em escala real**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira - PR, 2015.

CALEGARI, R. P. **Produção de biogás a partir de vinhaça concentrada**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba – SP, 2017.

CAMARGO, F. P.; SAKAMOTO, I. K.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Influence of alkaline peroxide assisted and hydrothermal pretreatment on biodegradability and bio-hydrogen formation from citrus peel waste. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 44, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.011>.

CAMARGO, F. P.; SARTI, A.; ALÉCIO, A. C.; SABATINI, C. A.; ADORNO, M. A. P.; DUARTE, I. C. S.; VARESCHE, M. B. A. Limonene quantification by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS) and its effects on hydrogen and volatile fatty acids production in anaerobic reactors. **Quim. Nova**, v. 43, n. 7, p. 844-850, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170557>.

CAMARGO, F. P. **Caracterização taxonômica e funcional na comunidade microbiana envolvida na obtenção de biogás e outros compostos de interesse biotecnológico a partir de resíduos do processamento de citros/laranja**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2021.

CAMARGO, F. P.; SAKAMOTO, I. K.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Metataxonomic characterization of bacterial and archaeal community involved in hydrogen and methane production from citrus peel waste (*Citrus sinensis* L. Osbeck) in batch reactors. **Biomass and Bioenerg.**, v. 149, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106091>.

CANAL – BIOENERGIA. Retrospectiva canal: **O Potencial da produção de biogás**. Disponível em: <https://www.canalbioenergia.com.br/opcoes-de-materias-para-producao-de-biogas/>.

CARNEIRO, F. T. **Digestion anaerobia termofilica seca de residuos solidos urbanos: estudio de las variables del proceso en el arranque y estabilizacion del reactor**. Tese de doutorado. Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente, Universidad de Cádiz, Espanha, 2005.

CARVALHO, R. V. **Tratamento de Resíduos Sólidos Orgânicos: análise do potencial de geração de biogás proveniente da digestão anaeróbia da casca de tangerina**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Urbana e Ambiental - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2020.

CARVALHO, A.; FRAGOSO, R.; GOMINHO, J.; DUARTE, E. Effect of Minimizing d-Limonene Compound on Anaerobic Codigestion Feeding Mixtures to Improve Methane Yield. **Waste Biomass Valor.**, v. 10, p. 75-83, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0048-1>.

CHEN, Y.; CHENG, J.J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresour. Technol.** v. 99, n.10, p. 4044-4064, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>. Acesso em: 09 set. 2021.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores Anaeróbios – Princípios de Tratamento biológico de águas residuárias**. 2ª ed, Belo Horizonte – MG. Editora UFMG, 2016.

CHONG, M. L.; RAHIM, R. A.; SHIRAI, Y.; HASSAN, M. A. Biohydrogen production by *Clostridium butyricum* EB6 from palm oil mill effluent. **Int. J. of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 764-771, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.10.095>.

CONSOLI, S.; CAGGIA, C.; RUSSO, N. RANDAZZO, C. L. ; CONTINELLA, A. ; MODICA, G. ; CACCIOLA, S. O. ; FAINO, L. ; REVERBERI, M. ; BAGLIERI, A. ; PUGLISI, I. ; MILANI, M. ; MINNOLO, G. L. ; BARBAGALLO, S. Sustainable Use of Citrus Waste as Organic Amendment in Orange Orchards. **Sustainability**, v. 15, n. 3, p. 2482, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su15032482>.

CONTE, G. G. **Comparação entre os processos mesofílico e termofílico para digestão anaeróbia da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU)**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2019.

COSTA, T. B. **Produção de hidrogênio e metano a partir de glicerol bruto e cultura mista em reatores anaeróbios de leito fluidizado termofílicos**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos - SP, 2017.

COONEY, M. J.; MAYNARD, N.; CANNIZZARO, C.; BENEMANN, J. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen–methane mixtures. **Bioresour. Technol.**, v. 98, n. 14, p. 2641–2651, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.054>.

COURA, R. D. **Estudos de biodegradabilidade de efluentes agropecuários e agroindustriais em processos de co-digestão anaeróbia**. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, Portugal, 2015.

CREMONEZ, P.A.; CREMONEZ, S.C.; SAMPAIO, J. G.; TELEKEN, J. G.; MEIER, T. W.; FRIGO, E. P.; ROSSI, E.; SILVA, E.; ROSA, D. M. Effect of substrate concentrations on methane and hydrogen biogas production by anaerobic digestion of a cassava starch-based polymer. **Industrial Crops and Products**, v. 151, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112471>.

CRESPO, E. J. M. **Digestão Anaeróbia de resíduos agroalimentares: Reutilização das frações líquidas e sólidas (state-of-art)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2013.

DE GIOANNIS, G.; MUNTONI, A.; POLETTINI, A.; POMI, R.; SPIGA, D. Energy recovery from one-and two-stage anaerobic digestion of food waste. **J. Waste Manag.**, v. 68, p. 595-602, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.013>.

DEMICHELIS, F.; TOMMASI, T.; DEORSOLA, F. A.; MARCHISIO, D.; FINO, D. Effect of inoculum origin and substrate-inoculum ratio to enhance the anaerobic digestion of organic fraction municipal solid waste (OFMSW). **J. Clean. Prod.**, v. 351, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131539>.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: an introduction**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH, p. 550, 2011.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Padronização de uso das unidades de medida em processos de produção de biogás**. Comunicado Técnico. ISSN 0100-8862 Versão Eletrônica. Concórdia - SC, outubro, 2016.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética. **Matriz Energética e Elétrica**. 2021. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica>.

EPE - Empresa de Pesquisa Energética. **Plano Decenal de Expansão de Energia 2027**. Ministério de Minas e Energia / Empresa de Pesquisa Energética. Brasília: MME/EPE, 2018. Disponível em: https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/Documents/PDE%202027_aprovado_OFICIAL.pdf.

EPE - Empresa de Pesquisa Energética. **Mudanças climáticas e transição energética**. Ministério de Minas e Energia / Empresa de Pesquisa Energética. Brasília: MME/EPE, 2022. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/clima-e-energia>.

FAO. Citrus Fruit Statistical Compendium. Rome, 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/citrus/en/>.

FARHAT, A.; MILADI, B.; HAMDI, M.; BOULLAGUI, H. Fermentative hydrogen and methane co-production from anaerobic co-digestion of organic wastes at high loading rate coupling continuously and sequencing batch digesters. **ESPR**, p. 1-14, 2018.

FAVELA-HERNANDEZ, J. M.; GONZÁLEZ-SANTIAGO, O.; RAMÍREZ-CABRERA, M. A.; ESQUIVEL-FERRIÑO, P. C.; CAMACHO-CORONA, M. D. R. Chemistry and Pharmacology of Citrus sinensis. **Molecules**, v. 21, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21020247>.

FENG, L.; LUO, J.; CHEN, Y. Dilemma of sewage sludge treatment and disposal in China. **Environ. Sci. Tech.**, v.8, p.4781-4782, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01455>.

FERRAZ JÚNIOR. “**Série Energia**”: **Geração de energia através do biogás já representa 8,9% da matriz elétrica no Brasil**. Jornal da USP, 15. jul. 2022. Disponível em: <https://jornal.usp.br/?p=541075>.

FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. **Water**, v. 11, n. 5, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w11050921>.

FIELD, J.; SIERRA, R.; LETTINGA, G. **Ensayos anaerobios**. 4º Seminario de Depuración de Aguas Residuales. Espanha. 1988

FRANKE-WHITTLE, I. H.; WALTER, A.; EBNER, C.; INSAM, H. Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. **J. Waste Manag.**, v. 34, n. 11, p. 2080-2089, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.07.020>.

FRANQUETO, R.; SILVA, J. D.; STARICK, E. K.; JACINTO, C. F. S. Anaerobic codigestion of bovine manure and banana tree leaf: the effect of temperature variability on biogas yield in different proportions of waste. **J. Material Cycles Waste Manag.**, v. 22, p. 1444-1458, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10163-020-01033-2>.

FU, S. F.; LIU, R.; SUN, W-X.; ZHU, R.; ZOU, H.; ZHENG, Y.; WANG, Z-Y. Enhancing energy recovery from corn straw via two-stage anaerobic digestion with stepwise microaerobic hydrogen fermentation and methanogenesis. **J. Clean. Prod.**, v. 247, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119651>.

GIACON, M. F. **Valorização energética dos resíduos de kiwi e borra de vinho por meio de co-digestão anaeróbia**. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança, Departamento de Tecnologia Ambiental. Bragança, 2019.

GONÇALVES, B. C. **Eliminação/Valorização de Resíduos de Frutas (kiwi) por Digestão Anaeróbia**. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança - Departamento de Tecnologia Ambiental. Bragança, 2016.

GUERINI FILHO, M.; LUMI, M.; HASAN, C.; MARDER, M.; LEITE, L. C. S.; KONRAD, O. Energy recovery from wine sector wastes: a study about the biogas generation potential in a vineyard from Rio Grande do Sul, Brazil. **Sustain. Energy Technol. Assess.**, v. 29, p. 44-49, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.06.006>.

GUO, X. M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRÈRE, H.; STEYER, J. P. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. **Int. J. hydrog. energy**, v. 35, n. 19, p. 10660-10673, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.03.008>.

GUTIÉRREZ, M. C. ; SERRANO, A. ; ALONSO-FARIÑAS, B. ; SILES, J. A. ; MARTIN, M. A. Impact of D-Limonene in the technical and economic feasibility of the anaerobic digestion applied in biorefineries. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-12, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03685-6>.

HAIDER, M. R.; ZESHAN, Y. 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. **Bioresour Technol**, v. 190, p. 451–457, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.105>.

HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Rev.** v. 76, p. 1485-1496, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.184>.

HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. **Fundamentos de Física 2**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

HAMMAD, M.; BADARNEH, D.; TAHBOUB, K. Evaluating variable organic waste to produce methane. **Energy Conversion and Management**, v. 40, p.1463–1475, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0196-8904\(99\)00024-2](https://doi.org/10.1016/S0196-8904(99)00024-2).

HASAN, C.; FEITOSA, A. K.; SILVA, M. C. A.; MARDER, M.; KONRAD, O. Produção de Biogás a partir de Resíduos Agroindustriais: análise dos teores de sólidos totais, voláteis e fixos em amostras pré e pós Digestão Anaeróbia. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 8, p. 257-273, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/rber.v8i1.56321>.

HEAVEN, S.; SALTER, A.M.; BANKS, C.J. Integration of on-farm biodiesel production with anaerobic digestion to maximise energy yield and greenhouse gas savings from process and farm residues. **Bioresour. Technol.**, v. 102, n. 17, p.7784–7793, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.029>.

HEYDT, A. R.; CREMONEZ, P. A.; PARISOTTO, E. I. B.; MEIER, T. R. W.; TELEKEN, J. G. Biodigestão anaeróbia de resíduos líquidos de feccularia com adição de glicerol em fase termofílica. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, p. 498-514, 2015.

HOBBS, S. R.; LANDIS, A. E.; RITTMANN, B. E.; YOUNG, M. N.; PARAMESWARAN, P. Enhancing anaerobic digestion of food waste through biochemical methane potential assays at

different substrate: inoculum ratios. **Waste Management**, v. 71, p. 612-617, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.029>.

HOLLIGER, C.; LACLOS, H. F.; HACK, G. Methane Production of Full-Scale Anaerobic Digestion Plants Calculated from Substrate's Biomethane Potentials Compares Well with the One Measured On-Site. *Front. Energy Res.*, v. 5, n. 12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenrg.2017.00012>.

HOU, T.; ZAO, J.; LEI, Z.; SHIMIZU, K.; ZHANG, Z. Enhanced energy recovery via separate hydrogen and methane production from two-stage anaerobic digestion of food waste with nanobubble water supplementation. **Science of the Total Environment**, v. 761, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143234>.

HOU, H.; LU, W.; LIU, B.; HASSANEIN, Z.; MAHMOOD, H.; KHALID, S. Exploring the Role of Fossil Fuels and Renewable Energy in Determining Environmental Sustainability: Evidence from OECD Countries. **Sustainability**, v. 15, n. 3, p. 2048, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su15032048>.

HOYOS, N. L. M. **Co-digestão anaeróbia de macrófitas com excesso de lodo de reator UASB gerados no tratamento de efluentes domésticos**. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Porto Alegre - RS, 2021.

HÜLSEMANN, B.; ZHOU, L.; MERKLE, W.; HASSA, J.; MÜLLER, J.; OECHSNER, H. Biomethane Potential Test: Influence of Inoculum and the Digestion System. **Appl. Sci.**, v. 10, n. 7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app10072589>. Acesso em: 05 nov. 2021.

IEA – INTERNACIONAL ENERGY AGENCY. **Key Word energy statistics**, 2016. Disponível em: <https://www.ourenergypolicy.org/wp-content/uploads/2016/09/KeyWorld2016.pdf>.

IPEA – Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. **Transição energética e potencial de cooperação nos BRICS em energias renováveis e gás natural**. 2020. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/10712/6/TD_Transicao_energetica_oportunidades_Publicacao_Preliminar.pdf.

JENKINS, S. Rod; MORGAN, Joe M.; ZHANG, Xiao. Measuring the usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. **Research Journal of the Water Pollution Control Federation**, p. 28-34, 1991.

JIMÉNEZ-CASTRO, M.P.; BULLERA, L. S.; ZOFFREOB, A.; TIMBOK, M. T.; FORSTER-CARNEIRO, T. Two-stage anaerobic digestion of orange peel without pre-treatment: Experimental evaluation and application to São Paulo state. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104035>.

JUNG, K. W.; KIM, D.H.; SHIN, H.S. Continuous fermentative hydrogen production from coffee drink manufacturing wastewater by applying UASB reactor. **Int. J. of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 13370 - 13378, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.11.120>.

KANCHANASUTA, S.; SILLAPARASSAMEE, O. Enhancement of hydrogen and methane production from co-digestion of palm oil decanter cake and crude glycerol using two stage thermophilic and mesophilic fermentation. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 42, n. 5, p. 3440–3446, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.01.032>.

KAPARAJU, P. L. N.; RINTALA, J. A. Thermophilic Anaerobic Digestion of Industrial Orange Waste. **Environ. Technol.**, v. 27, n. 6, p.623-633, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09593332708618676>.

KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 569-582, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.09.015>.

KHAN, I.U.; OTHMAN, M. H. D.; HASHIM, H.; MATSUURA, T.; ISMAIL, A.F.; REZAEI-DASHTARZHANDI, M.; AZELEE, I. W. Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. **Energy Conversion and Management**, v. 150, p. 277 – 294, 2017.

KIM, J.; KIM, J.; LI, C. Anaerobic co-digestion of food waste, human feces, and toilet paper: Methane potential and synergistic effect. **Fuel**, v. 248, p. 189-195, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.03.081>.

KINYUA, M. N.; ROWSE, L. E.; ERGAS, S. J. Review of small-scale tubular anaerobic digesters treating livestock waste in the developing world. **Renewable and Sustainable Energy Rev.**, v. 58, p. 896–910, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.324>.

KOCH, K.; HAFNER, S. D.; WEINRICH, S.; ASTALS, S.; HOLLIGER, C. Power and Limitations of Biochemical Methane Potential (BMP) Tests. *Front. Energy Res.*, v. 23, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00063>.

KONRAD, O.; HEBERLE, A. N. A.; CASARIL, C. E.; KAUFMANN, G. V.; LUMI, M.; OGLIO, M. D.; SCHMITZ, M. Avaliação da produção de biogás e geração de metano a partir de lodo de estação de tratamento de efluentes e glicerina residual. **Revista Destaques acadêmicos**, v. 2, n. 4, 2010.

KONRAD, O.; HASAN, C.; HICKMANN, E. V.; MARDER, M.; FILHO, M. G.; SILVA, M. C. A. **Produção de biogás a partir de biomassas residuais provenientes do setor agroindustrial**. Boletim Técnico. Laboratório de Biorreatores Parque Científico e Tecnológico do Vale do Taquari – Tecnovates. Universidade do Vale do Taquari – Univates, 2018.

KOPPAR, A.; PULLAMMANAPPALLIL, P. Anaerobic digestion of peel waste and wastewater for on site energy generation in a citrus processing facility. **Energy**, v. 60, p. 62-68, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.08.007>.

KUNATSA, T.; XIA, X. A review on anaerobic digestion with focus on the role of biomass co-digestion, modelling and optimization on biogas production and enhancement. **Bioresour. Technol.**, v. 344, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126311>.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. **Fundamentos da Digestão Anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Editora Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, p. 209, 2019.

LAY, C.H.; WU J.H.; HSIAO C. L.; CHANG J.J.; CHEN, C.C.; LIN, C. Y. Biohydrogen production from soluble condensed molasses fermentation using anaerobic fermentation. **Int. J. of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 13445 – 13451, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.11.128>.

LEITE, J. G. B. S.; SANTOS, R. S.; LIMA, G. S.; SILVA, C. C.; ASSIS, F. G. V.; OLIVEIRA, E. A.; LEAL, P. L. Anaerobic co-digestion of manure, coffee husk and bovine manure: A study

to optimize the methanization process. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n.1, p. 1334 – 1355, 2021.

LEITE, N. P. **Digestão anaeróbia de resíduos de alimentos em distintas cargas orgânicas**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE, 2020.

LETTINGA, G., HULSHOFF, POL, L.W.; ZEEMAN, G. **Biological Wastewater Treatment. Part I: Anaerobic Wastewater Treatment**. Lecture notes. Wageningen Agricultural University, 1996.

LI, Y.; LIU, H.; YAN, F.; SU, D.; WANG, Y.; SHOU, H. High-calorific biogas production from anaerobic digestion of food waste using a two-phase pressurized biofilm (TPPB) system. **Bioresour. Technol.**, v. 224, p. 56-62, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.070>.

LI, Z.; WACHEMO, A. Z.; YUAN, H.; KORAI, R. M.; LI, X. Improving methane content and yield from rice straw by adding extra hydrogen into a two-stage anaerobic digestion system. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 45, p. 3739-3749, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.235>.

LI, Y.; NI, J.; CHENG, H.; ZHU, A.; GUO, G.; QIN, Y.; LI, Y-Y. Methanogenic performance and microbial community during thermophilic digestion of food waste and sewage sludge in a high-solid anaerobic membrane bioreactor. **Bioresour. Technol.**, v. 342, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125938>.

LI, B. Y.; XIA, Z. Y.; GOU, M.; SUN, Z. Y.; HUANG, Y. L.; JIAO, S. B.; DAI, W. Y.; TANG, Y. Q. Production of volatile fatty acid from fruit waste by anaerobic digestion at high organic loading rates: Performance and microbial community characteristics. **Bioresour. Technol.**, v. 346, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126648>.

LIM, S. J. et al. Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. **Bioresour. Technol.**, v. 99, n. 16, p. 7866-7874, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>. Acesso em: 19 jul. 2022.

LIMA, H. Q. **Determinação de parâmetros cinéticos do processo de digestão anaeróbia dos resíduos orgânicos de Santo André – SP por meio de testes do potencial bioquímico de metano**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do ABC, Tecnologia, Engenharia e Modelagem, Santo André – SP, 2016.

LIN, C. Y.; LAY, C. H.; SEM, B.; CHU, C. Y.; KUMAR, G.; CHEN, C. C.; CHANG, J. S. Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis. **Int. J. Hydrog., Energy**, v. 37, n. 20, p. 15632-15642, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.02.072>.

LIU, D.; LIU, D.; ZENG, R. J.; ANGELIDAKI, I. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Res.**, v. 40, n. 11, p. 2230-2236, 2006.

LIU, H.; HAN, P.; LIU, H.; ZHOU, G.; FU, B.; ZHENG, Z. FULL-scale production of VFAs from sewage sludge by anaerobic alkaline fermentation to improve biological nutrients removal in domestic wastewater. **Bioresour. Technol.**, v. 260, p. 105–114, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.105>.

LÓPEZ, J. A. S.; LI, Q; THOMPSON, I. P. Biorefinery of waste orange peel. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 30, n.1, p. 63-69, 2010.

LUKITAWESA; WIKANDARI, R.; MILLATI, R.; TAHERZADEH, M. J.; NIKLASSON, C. Effect of Effluent Recirculation on Biogas Production using Two-Stage Anaerobic Digestion of Citrus Waste. **Molecules**, v. 23, n. 12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23123380>.

LUKITAWESA; PATINVOH, R. J.; MILLATI, R.; SÁRVÁRI-HORVÁTH, L.; TAHERZADEH, M. J. Factors influencing volatile fatty acids production from food wastes via anaerobic digestion. **Bioengineered**, v. 11, n. 1, p. 39–52, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1703544>. Acesso em: 14 abr. 2023.

LUO, X.; GE, X.; CUI, S.; LI, Y. Value-added processing of crude glycerol into chemicals and polymers. **Bioresour. Technol.**, v. 215, p. 144–154, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.042>.

LV, Y.; CHANG, N.; LI, Y-Y.; LIU, J. Anaerobic co-digestion of food waste with municipal solid waste leachate: A review and prospective application with more benefits. **RCR Advances**, v. 174, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105832>.

MAHMOOD, T. Insights into the enhancement of the ASB benthal solids digestion rate. **Water Res.**, v. 42, p. 2411-2420, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.013>.

MALLMANN, P. S. **Avaliação do potencial metanogênico na codigestão de pó de tabaco com dejetos suíno**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, São Leopoldo - RS, 2019.

MALINA, J.F.; POHLAND, F.G. **Water quality management library**. Lancaster, EUA: Technomic Publishing Company, 1992.

MARTÍN, M. A.; SILES, J. A.; CHICA, A. F.; MARTÍN, A. Biomethanization of orange peel waste. **Bioresour. Technol.**, v. 101, p. 8993-8999, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.133>.

MARTÍN, M. A.; FÉRNANDEZ, R.; SERRANO, A.; SILES, J. A. Semi-continuous anaerobic co-digestion of orange peel waste and residual glycerol derived from biodiesel manufacturing. **J. Waste Manag.**, v. 33, p. 1633-1639, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.03.027>.

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**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Minas Gerais - MG, 2018.

MATA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S., LLABRÉS, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresour. Technol.**, v. 74, p.3–16, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7).

MATA-ALVAREZ, J., DOSTA, J.; ROMERO-GÜIZA, M.S.; FONOLL, X.; PECES, M.; ASTALS, S. A critical review on anaerobic codigestion achievements between 2010 and 2013. **J. Renew. Sustain. Ener.** v. 36, p. 412-427, 2014.

MAZARELI, R. C. S. **Co-digestão anaeróbia de resíduos vegetais e águas residuárias de suinocultura em reatores horizontais de leito fixo e alta taxa**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal – SP, 2015.

MCCARTY, P.L. **Anaerobic Waste Treatment Fundamentals**. *Public Works*, v. 95, p. 107-112.

MENDIOLA-RODRIGUEZ, T. A.; RICARDEZ-SANDOVAL, L. A. Integration of design and control for renewable energy systems with an application to anaerobic digestion: A deep deterministic policy gradient framework. *Energy*, v. 274, p. 127212, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2023.127212>.

MESQUITA, P. L.; AFONSO, R. J. C. F.; AQUINO, S. F.; LEITE, G. S. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, p. 295-302, 2013.

METCALF, L.; EDDY, H. P.; TCHOBANOGLIOUS, G. **Wastewater energy: treatment and reuse**, 4th ed. McGraw-Hill, New York, 2004.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. Tradução: Hespagnol, I; Mierzwa, J. C. 5ª ed., Porto Alegre: AMGH, 2016.

MILANEZ, A. Y.; GUIMARÃES, D.D.; MAIA, G. B. S.; SOUZA, J. A. P.; LEMOS, M. L. F. Biogás de resíduos agroindustriais: Panorama e Perspectivas. *BNDES Setorial*, v.47, p. 221-276, 2018.

MONTOYA, A. C. V.; MAZARELI, R. C. S.; DELFORNO, T. P.; CENTURION, V.M. B.; OLIVEIRA, V. M.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Optimization of key factors affecting hydrogen production from coffee waste using factorial design and metagenomic analysis of the microbial community. *Int. J. of Hydrogen Energy*, v. 45, p.4205–4222, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.12.062>.

MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A. A. Y.; NGAN, M. A.; FAKHRU'L-RAZI, A.; IYUKE, S. E.; BAKIR, A. M. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. *Int. J. Hydrog. Energy*, n. 29, p. 709 – 713, 2004.

NARTKER, S.; AMMERMAN, M.; AURANDT, J.; STOGSDIL, M.; HAYDEN, O.; ANTLE, C. Increasing biogas production from sewage sludge anaerobic co-digestion process by adding crude glycerol from biodiesel industry. *J. Waste Manag.*, v. 34, n. 12, p. 2567–2571, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.08.017>.

NEUMANN, P.; TORRES, A.; FERMOSE, F. G.; BORJA, R.; JEISON, D. Anaerobic codigestion of lipid-spent microalgae with waste activated sludge and glycerol in batch mode. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, v. 100, p. 85–88, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.020>.

NIH – National Library of Medicine: National Center for Biotechnology information. **D-limonene**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513608/>.

NGHIEM, L. D.; KOCH, K.; BOLZONELLA, D.; DREWES, J. E. Full scale co-digestion of wastewater sludge and food waste: bottlenecks and possibilities. *Renew. Sustain. Energy Ver.*, v. 72, p.354-363, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.062>.

NGUYEN, T. T.; CHU, C. Y.; OU, C. M. Pre-treatment study on two-stage biohydrogen and biomethane productions in a continuous codigestion process from a mixture of swine manure and pineapple waste. **Int. J. of Hydrogen Energy**, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.05.264>.

OLIVEIRA, R. P. **AnSBBR e AnSBR submetidos a diferentes condições de alimentação de água residuária da indústria de produtos de higiene pessoal**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2009.

ORTIZ, D. L.; BATUECAS, E.; ORREGO, C. E.; RODRIGUÉZ, L. J.; CAMELIN, E.; FINO, D. Sustainable management of peel waste in the small-scale orange juice industries: A Colombian case study. **J. Clean. Prod.**, v. 265, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121587>.

PACHECO, F. Energias Renováveis: Breves conceitos. **Conjuntura e Planejamento**, n.149, p.4-11, 2006. Disponível em: http://files.pet-quimica.webnode.com/200000109-5ab055bae2/Conceitos_Energias_renov%C3%A1veis.pdf.

PAULISTA, F.O. **Valorização energética do glicerol através da digestão anaeróbia**. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança, Departamento de Engenharia Química, Bragança, 2017.

PDE. **Plano Decenal de Expansão de Energia - 2029**. 2022. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dadosabertos/publicacoes/plano-decenal-de-expansao-de-energia-2030>. Brasília: MME/EPE.

PEIXOTO, G.; PANTOJA-FILHO, J. L. R.; AGNELI, J. A. B.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Hydrogen and methane production, energy recovery, and organic matter removal from effluents in a two-stage fermentative process. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 168, p. 651-671, 2012.

POTT, R. W.M.; HOWE, C. J.; DENNIS, J.S. The purification of crude glycerol derived from biodiesel manufacture and its use as a substrate by *Rhodospseudomonas palustris* to produce hydrogen. **Bioresour. Technol.**, v. 152, p. 464–470, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.094>Get rights and content.

QUEIROZ, C. G. R. **Produção de biogás por digestão anaeróbia de glicerol bruto**. Dissertação de Mestrado. Universidade Salvador e Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Bragança, Departamento de Engenharia Química, Bragança, 2020.

RAMBO, M. K, D.; SCHMIDT, F. L.; FERREIRA, M. M. C. Analysis of the lignocellulosic components of biomass residues for biorefinery opportunities. **Talanta**, v. 144, p. 696 - 703, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.045>.

RAVICHANDRAN, C.; BADGUJAR, P. C.; GUNDEV, P.; UPADHYAY, A. Review of toxicological assessment of D-limonene, a food and cosmetics additive. **FCT**, v. 120, p. 668-680, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.052>.

REIS, A. S. **Tratamento de resíduos sólidos orgânicos em biodigestor anaeróbio**. Dissertação de mestrado. Núcleo de Tecnologia, Universidade Federal de Pernambuco, Caruaru, 2012.

REIS, D. R.; NEGREIROS, E, M.; CAMPOS, G. A. M.; OLIVEIRA, L.; MORAES, M. J. Cienciometria do uso de fontes de energia renováveis no meio rural. **Braz. J. Dev.**, v. 7, n. 4, p. 37075- 37086, 2021.

RODRIGUES, A. A. L. S. **Co-Digestão Anaeróbia de Resíduos de Natureza Orgânica**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aviero, Departamento de Estão Ambiental, Materiais e Valorização de Resíduos, Aviero, 2005.

RODRIGUES, C. V. **Produção biotecnológica de hidrogênio a partir do glicerol, bioproduto da produção do biodiesel**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2016.

RODRIGUES, R. P.; RODRIGUES, D. P.; KLEPACZ-SMOLKA, R. C.; QUINA, M. J. Comparative analysis of methods and models for predicting biochemical methane potential of various organic substrates. **Sci. Total Environ.**, v. 649, p. 1599-1608, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.270>.

ROKAYA, B.; KERROUM, D.; HAYAT, Z.; PANICO, A.; OUAFA, A.; PIROZZI, F. Biogas production by an anaerobic digestion process from orange peel waste and its improvement by limonene leaching: Investigation of H₂O₂ pretreatment effect. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1692975>.

ROSSI, D. M.; COSTA, J. B.; SOUZA, E. A.; PERALBA, M. C. R.; SAMIOS, D.; AYUB, M. A. Z. Comparison of different pretreatment methods for hydrogen production using environmental microbial consortia on residual glycerol from biodiesel. **Int. J. Hydrogen Energy**, v. 36, n.8, p. 4814-4819, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.01.005>.

ROSSI, D. M., COSTA, J. B.; SOUZA, E. A.; PERALBA, M. C. R.; AYUB, M. A. Z. Bioconversion of residual glycerol from biodiesel synthesis into 1, 3-propanediol and ethanol by isolated bacteria from environmental consortia. **Renew. Energ.**, v. 39, n. 1, p. 223-227, 2012.

RUIZ, B.; FLOTATS, X. Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: An overview. **J. Waste Manag.**, v. 34, p. 263-279, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.06.026>.

SANJAYA, A. P.; CAHYANTO, M. N.; MILLATI, R. Mesophilic batch anaerobic digestion from fruit fragments. **Renew. Energ.**, v. 98, p. 135-141, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.059>.

SANTOS FILHO, E. N. **Produção de metano com resíduos de biotério utilizando fluido ruminal como inóculo**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo – AL, 2015.

SARMA, S. J.; MAITI, S.; BRAR, S. K.; BIHAN, Y. L.; BUELNA, G.; VERMA, M. Low-cost semi-continuous bioprocess and online monitoring of hydrogen production from crude glycerol. **RSC Advances**, v. 5, n. 109, p. 89809-89816, 2015.

SCOTT, W.C., VELDHUIS, M.K. Rapid estimation of recoverable oil in citrus juices by bromate titration. **J. Assoc. Off. Agric. Chem. Int.**, v. 49, p.628-633, 1966.

SGANZERLA, W. G.; BULLER, L. S.; MUSSATTO, S. I.; CARNEIRO, T. F. Techno-economic assessment of bioenergy and fertilizer production by anaerobic digestion of brewer's spent grains in a biorefinery concept. **J. Clean. Prod.**, v. 297, p. 126600, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126600>.

SGANZERLA, W. G.; ROSA, R. G.; BARROSO, T. L. C. T.; CASTRO, L. E. N.; CARNEIRO, T. F. Techno-Economic Assessment of On-Site Production of Biomethane, Bioenergy, and Fertilizer from Small-Scale Anaerobic Digestion of Jabuticaba By-Product. **Methane**, v. 2, n. 2, p. 113-128, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/methane2020009>.

SIEGERT, I.; BANKS, C. The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. **Process Biochem.**, v. 40, n. 11, p. 3412-3418, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.025>.

SIDDIQUI, S. A.; PAHMEYER, M. J.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Extraction and purification of D-limonene from orange peel wastes: Recent advances. **Ind. Crop. Prod.**, v. 177, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114484>.

SILES LOPEZ, J. A.; MARTÍN SANTOS, M. D. L. A.; CHICA PEREZ, A. F.; MARTÍN, A. M. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing, **Bioresour. Technol.**, v. 100, p. 5609-5615, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.017>.

SILVA, A. S. C. **Avaliação da codigestão de resíduos orgânicos visando a produção de metano**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE, 2020.

SILVA, J. P. **Geração de Biogás a partir da co-digestão de resíduos agroindustriais**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2015.

SILVA, M. C. A. **Avaliação do regime operacional semi-contínuo em fermentador anaeróbio para a produção de hidrogênio e ácidos graxos voláteis utilizando glicerol como substrato**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Porto Alegre - RS, 2017.

SILVA, F.M.S.; MAHLER, C.F.; OLIVEIRA, L.B.; BASSIN, J.P. Hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion system by co-digestion of food waste, sewage sludge and glycerol. **J. Waste Manag.**, v. 76, p.339–349, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.039>.

SILVA, M. C. A.; MONTEGGIA, L. O.; BARROSO JÚNIOR, J. C. A.; GRANADA, C. E.; GIONGO, A. Evaluation of semi-continuous operation to hydrogen and volatile fatty acids production using raw glycerol as substrate. **Renew. Energ.**, v. 153, p. 701-710, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.152>.

SILVEIRA, G. S. **Estudo de co-digestão anaeróbia de lamas domésticas com o efluente da indústria da fermentação da levedura do pão da empresa Mauri fermentos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa. Departamento de Energia e Bioenergia, Lisboa, 2009.

SIMON, F. W. **Valorização do digestato proveniente da digestão anaeróbia de resíduos alimentares**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Ambiental, Florianópolis – SC, 2020.

SINGH, V.; DAS, D. Potential of Hydrogen Production from Biomass. **Science and Engineering of Hydrogen-Based Energy Technologies**, p. 123–164, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814251-6.00003-4>.

SHUBEITA, F. M. **Análise e Modelagem de Sistema de Digestão Anaeróbica Monitorado para Previsão e Busca de Eficiência de Operação**. Tese de Doutorado. Pontifícia Universidade

Católica do Rio Grande do Sul, Departamento de Ciência da Computação, Porto Alegre – RS, 2016.

SOARES, L. A.; RABELO, C. A. B. S.; DELFORNO, T. P.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Experimental design and syntrophic microbial pathways for biofuel production from sugarcane bagasse under thermophilic condition. **Renew. Energ.**, v. 140, p. 852–861, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.103>.

SOUZA, F. M.; VIANA, E.; JAEGER, J. M. S.; CANDIANI, G.; SIMÕES, A. F.; FONSECA FILHO, H. Influência do inóculo na co-digestão anaeróbia de resíduos alimentares e grama. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.11, n.1, p.146-156, 2020. Disponível em: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0014>.

SRISOWMEYA, G.; CHAKRAVARTHY, M.; DEVI, G. N. Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review. **Renewable and Sustainable Energy Rev.**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109587>.

STEINMETZ, R. L. R. **Avaliação do efeito de drogas veterinárias na produção específica de biogás de substratos agropecuários**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em engenharia química - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2016.

SU, H.; TAN, F.; XU, Y. Enhancement of biogas and methanization of citrus waste via biodegradation pretreatment and subsequent optimized fermentation. **Fuel**, v. 181, p. 843-851, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.05.055>.

SUN, H.; YANG, M.; GAO, Z.; WANG, X.; WU, C.; WANG, Q.; GAO, M. Economic and environmental evaluation for a closed loop of crude glycerol bioconversion to biodiesel. **J. Biotechnol.**, v. 366, p. 65–71, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.03.001>.

TAVERA-RUIZ, C.; MARTÍ-HERRERO, J.; MENDIETA, O.; JAIME-ESTÉVEZ, J.; GUATHIER-MARADEI, P.; AZIMOV, U.; ESCALANTE, H.; CASTRO, L. Current understanding and perspectives on anaerobic digestion in developing countries: Colombia case study. **Renewable and Sustainable Energy Rev.**, v. 173, p. 113097, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113097>.

TREVISAN, V. **Proposta de metodologia para determinação de da atividade hidrogênica específica**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Porto Alegre – RS, 2010.

TSIGKOU, K.; ZAGKLIS, D.; TSAFRAKIDOU, P.; ZAFIRI, C.; KORNAROS, M. Composting of anaerobic sludge from the co-digestion of used disposable nappies and expired food products. **J. Waste Maneg.**, 118, p. 655-666, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.024>.

VEREINDEUTSCHER INGENIEURE - VDI 4630. **Fermentation of organic materials: Chacacterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests**. Normas Técnicas da Associação Alemã de Engenheiros. Germany, 2016.

VON SPERLING, M. **Princípios Básicos do tratamento de esgotos – Princípios do Tratamento biológico de águas residuárias**. 2ª ed., Belo Horizonte – MG. Editora UFMG, 2016.

WANG, Z.; ZHUGE, J.; FANG, H.; PRIOR, B. A. Glycerol production by microbial fermentation: a review. **Biotechnol Adv.**, v.19, n. 3, p. 201-223, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(01\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00060-X).

WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, J.; MENG, L. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. **Biomass and bioenergy**, v. 33, n. 5, p. 848-853, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.01.007>.

WIKANDARI, R.; YOUNGSUKKASEM, S.; MILLATI, R.; TAHERZADEH, M. J. Performance of semi-continuous membrane bioreactor in biogas production from toxic feedstock containing D-limonene, **Bioresour. Technol**, v. 170, p. 540-355, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.102>.

WIKANDARI, R.; NGUYEN, H.; MILLATI, R.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M. J. Improvement of Biogas Production from Orange Peel Waste by Leaching of Limonene. **BioMed Research International**, v. 215, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/494182>.

WILKINS, M. R.; SURYAWATI, L.; MANESS, N.O.; CHRZ, D. Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* in the presence of orange-peel oil. **World J. Microbiol. Biotechnol**, v. 23, p. 1161–1168, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9346-2>.

WU, L. J.; KOBAYASHI, T.; KURAMOCHI, H.; LI, Y. Y.; XU, K. Q. Improved biogas production from food waste by co-digestion with de-oiled grease trap waste. **Bioresour. Technol.**, v. 201, p. 237-244, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.061>.

WU, L. J.; KOBAYASHI, T.; KURAMOCHI, H.; LI, Y. Y.; XU, K. Q. Improved biogas production from food waste by co-digestion with de-oiled grease trap waste. **Bioresour. Technol.**, v. 201, p. 237–244, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.061>.

XIAO, B.; QIN, Y.; WU, J.; CHEN, H.; YU, P.; LIU, J.; LI, Y. Y. Comparison of single-stage and two-stage thermophilic anaerobic digestion of food waste: Performance, energy balance and reaction process. **Energy Convers. Manag.**, v. 156, p. 215 – 223, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.10.092>.

YANG, P.; ZHANG, R.; MCGARVEY, J. A.; BANEMANN J. R. Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. **Int. J. of Hydrogen Energy**, v. 32, p. 4761 – 4771, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.07.038>.

YAZDANI, S.S.; R. GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: A path to economic viability for the biofuels industry. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 18, p. 213–219, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.05.002>.

YENIGÜN, O.; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochem.**, v. 48, n. 5-6, p. 901–911, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.012>.

YUAN, T.; BIAN, S.; KO, J.H.; WU, H.; XU, Q. Enhancement of hydrogen production using untreated inoculum in two-stage food waste digestion. **Bioresour. Technol.**, v. 282, p. 189–196, 2019.

YUN, Y. M.; KIM, D. H.; CHO, S. K.; SHIN, H. S.; JUNG, K. W.; KIM, H. W. Mitigation of ammonia inhibition by internal dilution in high-rate anaerobic digestion of food waste leachate and evidences of microbial community response. **Biotechnol. Bioeng.**, v. 113, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bit.25968>.

ZEMA, D. A. FÓLINO, A.; ZAPPIA, G.; CALABRÓ, P. S.; TAMBURINO, V.; ZIMBONE, S. M. Anaerobic digestion of orange peel in a semi-continuous pilot plant: An environmentally sound way of citrus waste management in agro-ecosystems. **Sci. Total Environ.**, v. 630 p. 601-608, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.168>.

ZHANG, W.; WEI, Q.; WU, S.; QI, D.; LI, W.; ZUO, Z.; DONG, R. Batch anaerobic co-digestion of pig manure with dewatered sewage sludge under mesophilic conditions. **Appl Energy**, v. 128, p.175–183, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.04.071>.

ZHEN, G., LU, X., KOBAYASHI, T., KUMAR, G., XU, K. Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.) and food waste: Kinetic modeling and synergistic impact evaluation. **J. Chem. Eng.**, v. 299, p. 332-341. 2016.