



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

RAFAEL MOTA VERAS MARQUES

**BIOPROCESSO DE METANIZAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS
AGROINDUSTRIAIS**

FORTALEZA, CE

2019

RAFAEL MOTA VERAS MARQUES

BIOPROCESSO DE METANIZAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS
AGROINDUSTRIAIS

Monografia apresentada ao Curso de Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador técnico: Dr. Renato Carrhá Leitão

Orientadora pedagógica: Prof^ª. Dra. Márjory Lima Holanda Araújo

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M32b Marques, Rafael Mota Veras.
Bioprocesso de metanização de resíduos orgânicos agroindustriais / Rafael Mota Veras Marques. – 2019.
46 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Biotecnologia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Márjory Lima Holanda Araújo.

1. Biodegradabilidade. 2. Resíduos agroindustriais. 3. Biogás. 4. Bioprocesso. I. Título.

CDD 661

RAFAEL MOTA VERAS MARQUES

BIOPROCESSO DE METANIZAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS
AGROINDUSTRIAIS

Monografia apresentada ao Curso de Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovado em: 27 / 11 / 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dra. Márjory Lima Holanda Araújo (Orientadora pedagógica)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Renato Carrhá Leitão (Orientador técnico)

Embrapa Agroindústria Tropical (EMBRAPA)

Dr. Michael Barbosa Viana

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha mãe que sempre me ajudou e esteve presente durante o curso, ao meu pai pelo apoio dado ao longo de minha formação.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar saúde todos os dias para me dedicar a minha vida acadêmica.

À minha família pela confiança e que sempre esteve presente em todos os momentos durante minha formação.

Ao Supervisor e orientador técnico Dr. Renato Carrhá que me orientou durante meus experimentos e trabalhos na área.

À equipe do Laboratório de Tecnologia de Biomassa que tive a honra de trabalhar como colega e amigo.

À orientadora pedagógica Dra. Márjory Holanda que me aconselhou em todos os temas propostos na monografia e muitos durante o curso de Biotecnologia.

Aos apoiadores do trabalho que me instruíram ajudando na elaboração de técnicas e metodologias no trabalho.

A coordenação do curso de Biotecnologia que sempre esteve presente durante o período letivo.

A equipe de professores do DBBM por ter passado boa parte do conhecimento que armazenei durante o curso.

E a todos os profissionais que direta ou indiretamente me ajudaram ao longo dos cinco anos de formação.

O metano pode ser utilizado para a produção de energia elétrica, para queima em fogões, também é uma alternativa de combustível para motores de combustão interna e, quando produzido em grande escala é possível comercializar o metano que não foi lançado para a atmosfera no mercado de crédito de carbono. (HOLANDA, 2017, CORREIO BRAZILIENSE, pag. Ciência e Saúde).

RESUMO

O uso do bioprocesso de metanização anaeróbia de resíduos orgânicos está em crescente desenvolvimento no mundo nos últimos anos, especialmente no continente europeu e na China. Na Europa, políticas recentes de substituição de combustíveis fósseis presentes em sua matriz energética fizeram com que a tecnologia crescesse. Até recentemente, os sistemas de produção de biogás não eram viáveis economicamente no Brasil. Apenas empresas que eram obrigadas por órgãos ambientais a tratar seus efluentes líquidos construía reatores anaeróbios para produzir biogás e diminuir os custos de energia e disposição final dos resíduos. Além disto, o biogás proveniente de alguns aterros sanitários também está sendo aproveitado para produção de energia. O objetivo deste trabalho foi definir os parâmetros básicos da metanização seca de resíduos orgânicos da Companhia de Abastecimento do Ceará (CEASA-CE). Os experimentos para a produção de biogás a partir dos resíduos de frutas, verduras e legumes ocorrem em testes de biodegradabilidade baseados na carga orgânica do reator, demanda química de oxigênio do substrato e quantidades de nutrientes necessários para uma produção ideal de metano. Assim sendo, foram realizados experimentos preliminares utilizando cascas de banana e uma mistura de frutas e verduras (resíduo padrão), que representa o tipo de resíduo gerado diariamente pela CEASA-CE, para avaliar a biodegradabilidade e requisição nutricional para a produção do biogás a partir desses resíduos. Os testes de biodegradabilidade foram realizados usando como inóculo um lodo anaeróbio contendo o consórcio microbiano necessário para metabolizar os substratos. Testes de atividade metanogênica específica (AME) usando glicose como substrato e suplementação de nutrientes mostraram que a capacidade máxima de conversão de matéria orgânica em metano foi de $0,089 \text{gDQO}_{\text{CH}_4} \cdot (\text{gSV} \cdot \text{dia})^{-1}$. A biodegradabilidade do resíduo padrão da CEASA-CE chegou a 100% em 20 dias na ausência de qualquer suplementação de macro e micro nutrientes, resultando em um potencial de produção de metano (PPM) igual a $0,042 \text{m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{kg}_{\text{Substrato}})^{-1}$. Com estes resultados, estimou-se que as 20t diárias de resíduos orgânicos da CEASA-CE poderiam ser usadas para produção de aproximadamente $840 \text{m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{dia})^{-1}$ e geração de 7.560 kWh ou 320 kW, o que pode gerar uma recita em torno de R\$ 60.000,00 mensais.

Palavras-chave: Biodegradabilidade. Resíduos agroindustriais. Biogás. Bioprocesso.

ABSTRACT

The use of the methanisation anaerobic bioprocess of organic waste is growing in the world in recent years, especially in the European continent and in China. In Europe, recent policies to replace fossil fuels present in its energy matrix produced with increasing technology. Until recently, biogas production systems were not economically viable in Brazil. Only companies that were forced by environmental agencies to treat their liquid effluents built in their firms anaerobic reactors to produce biogas and lower energy costs and decrease final waste storage. In addition, the biogas produced from some landfills is being used for energy production. In this paper, we define the basic parameters of dry methanisation of organic waste from CEASA-CE. The experiments for the production of biogas from fruit, greenery and vegetable residues take place in biodegradability tests based of the organic charge, the chemical oxygen demand (COD) of the substrate and the amount of nutrients needed for optimal methane production. To obtain final parameters production of bioprocesses, were set two residues: the first one based on banana peel, in which preliminary results of biodegradability and nutrients; The second was selected mixture, a mix of fruit and vegetables that is more compatible with 20 tons of waste residues generated by the Companhia de Abastecimento do Ceará (CEASA-CE). The biodegradability test were performed using as an anaerobic microorganisms including the microbial pool needed to metabolize the substrates. Specific methanogenic activity testes using glucose as substrate and nutrient supplementation, showed the maximum production capacity of microorganisms used $(0.089\text{gCOD}_{\text{CH}_4}\cdot(\text{gSV}\cdot\text{day})^{-1})$. And biodegradable with the CEASA-CE residual standard has arrived at 100% in 20 days in the absence of any macro and micronutrient supplementation. the Methane Production Potential of this residue was $0.042\text{m}^3\cdot(\text{kg}_{\text{substrate}})^{-1}$ and the methanogenic activity of $0.056\text{gCOD}_{\text{CH}_4}\cdot(\text{gSV}\cdot\text{day})^{-1}$. With these results, estimated at 20t of organic waste used by CEASA-CE, they are used for the production of approximately $840\text{m}^3_{\text{CH}_4}\cdot(\text{day})^{-1}$ and generation of 7,560 kWh or 320 kW, which can generate a total revenue of R\$ 60,000 per month.

Keywords: Biodegradability. Agro industrial waste, Biogas, Bioprocess

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da digestão anaeróbia de matéria orgânica em um bioprocesso de metanização	7
Figura 2 - Pasta do resíduo padrão para uso nos biorreatores	11
Figura 3 - Efeito da pressão parcial de hidrogênio na variação de energia livre	12
Figura 4 - Biorreatores em anaerobiose produzindo biogás	14
Figura 5 - Esquema do aparato experimental para lavagem do biogás e medição do volume de metano produzido	14
Figura 6 - Produção de metano pelo AME em função do tempo	24
Figura 7 - Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à 5gDQO.L^{-1}	25
Figura 8 - Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$	26
Figura 9 - Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$	27
Figura 10 - Comparativo da biodegradabilidade dos resíduos de casca de banana com a glicose	28
Figura 11 - Comparativo da produção de biogás a partir do resíduo padrão CEASA-CE	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de componentes presentes no biogás	6
Tabela 2 - Composição das soluções de macro e micro nutrientes	8
Tabela 3 - Composição do resíduo padrão CEASA-CE	10
Tabela 4 - Concentração de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV) e sólidos totais fixos (STF) dos substratos sólidos orgânicos da CEASA-CE.	22
Tabela 5 - Demanda química de oxigênio dos substratos sólidos orgânicos da CEASA-CE	22
Tabela 6 - Dados de sólidos totais, voláteis e fixos do lodo anaeróbio proveniente da CAGECE	23
Tabela 7 - Quantidade de carga orgânica de substrato e inóculo adicionada aos biorreatores.....	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Metanização seca	4
3.2. Biogás	6
3.3. Nutrientes	8
4. MATERIAIS E METÓDOS	9
4.1. Obtenções dos resíduos orgânicos sólidos	9
4.2. Teste de Atividade Metanogênica Específica (AME)	11
4.3. Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano	13
4.4. Inóculo	15
4.5. Determinação e validação da DQO	16
4.5.1. Generalidades	16
4.5.2. Padronização do FAS	17
4.5.3. DQO de KHP	17
4.5.4. DQO de resíduos sólidos	18
4.6. Modelo matemático	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1. Caracterização de substratos	21

<i>5.1.1. Resíduos orgânicos agroindustriais</i>	21
<i>5.1.2. DQO</i>	22
5.2. Caracterização do inóculo	23
<i>5.2.1. Concentração de sólidos totais, fixos e voláteis</i>	23
<i>5.2.2. Atividade metanogênica específica</i>	23
5.3. Teste de biodegradabilidade anaeróbia	24
5.3.1. Resíduo de casca de banana	25
5.3.2. Resíduo padrão CEASA-CE	28
6. CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

Devido ao aumento populacional e a melhoria contínua da qualidade e da produção de alimentos para a crescente população mundial, houve um aumento da agroindústria em todos os países do globo resultando também em um incremento da produção de resíduos deste setor. Em países europeus e na China há uma busca de processos que diminuem o impacto socioambiental dos resíduos agroindustriais, para este fim esses utilizam técnicas de produção de bicompostíveis a partir de resíduos orgânicos tais como o esgoto doméstico/industrial e a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos e agroindustriais. Uma destas formas bem implementada na Europa é a digestão anaeróbia, em que se produz biogás (energia) e adubo orgânico de alta qualidade. Este processo é dependente de fatores como a temperatura, a concentração das bactérias e do substrato no reator.

O Brasil, que se tornou uma grande potência no setor agroindustrial após a Revolução Verde, quando na década de 70 houve a instalação de novas tecnologias agrícolas, estrear no país e que hoje exporta toneladas de produtos agrícolas para todos os continentes, tem uma grande produção de resíduos sólidos orgânicos em suas cidades, o que causa diversas vezes impactos socioambientais pela difícil e má gestão destes resíduos. Desta forma, o volume desses produtos no país é grande, e para a demanda interna, instituições como as centrais de abastecimento recebem toneladas de produtos agroindustriais por dia, sua geração de resíduos é bastante alta chegando a milhões de toneladas ao ano (Medeiros et. al., 2005), especificamente a CEASA-CE gera aproximadamente 20t de resíduos por dia. Pela legislação em vigor a disposição deste volume deve ocorrer em aterros sanitários e o custo diário para um volume grande se torna alto o suficiente para se iniciar estratégias usando novas tecnologias de metanização seca.

No atual estudo pretende-se desenvolver um processo de metanização seca para estes resíduos orgânicos. A CEASA-CE demonstrou interesse em utilizar esta tecnologia para produzir energia e adubo a partir dos resíduos orgânicos gerados diariamente. A companhia tem um custo em torno de R\$ 70.000,00 mensais para disposição adequada destes resíduos. O uso destes como substrato para a produção de energia e adubo orgânico reduziria os custos operacionais da CEASA-CE e aumentaria sua sustentabilidade ambiental tornando o processo possivelmente rentável e economicamente viável.

Portanto, a partir dos dados sobre a tecnologia de bioprocesso de metanização de resíduos orgânicos é possível inferir que o resíduo agroindustrial da CEASA-CE possa ser convertido em biogás para gerar energia diariamente, além de o reator poder funcionar na ausência de qualquer suplementação de macro e micro nutrientes partindo da hipótese que no substrato formado pela mistura de frutas, verduras e legumes haja a presença de nutrientes suficientes para manter o biorreator até a conversão de matéria orgânica em biogás. Para isso se torna necessário a realização de testes de biodegradabilidade para determinar a produção e produtividade de reatores montados a partir de dados do resíduo a ser utilizado.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Determinar os sólidos totais, fixos e voláteis e a Demanda Química de Oxigênio de substratos sólidos orgânicos da CEASA-CE por meio de testes de biodegradabilidade com a finalidade de avaliar a geração e produtividade do metano, além da potencial produção de energia.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os resíduos orgânicos sólidos da CEASA-CE, quantificação de sólidos totais, fixos e voláteis e demanda química de oxigênio.
- Definir a biodegradabilidade anaeróbia dos resíduos orgânicos da CEASA-CE;
- Definir a evolução de produção de metano na ausência de suplementação de nutrientes no biorreator.
- Determinação do potencial de produção de energia produzida diariamente a partir dos resíduos orgânicos da CEASA-CE.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Metanização seca

A digestão anaeróbia é um processo natural promovido por microrganismos anaeróbios, produzindo metano que pode ser usado para a geração de energia renovável (Coelho et. al., 2006). O termo “digestão anaeróbia da fase sólida” ou “metanização seca” é empregado quando este processo utiliza substrato com teores de sólidos totais (ST) superiores a 20% (Kothari, Pandey, et al., 2014), que é o caso de resíduos agroindustriais, culturas energéticas, resíduos agrícolas, restos de poda e jardins, e da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos. A metanização seca de resíduos orgânicos já vem sendo empregada principalmente na Europa, usando vários tipos de processos, podendo ser divididos segundo André, Pauss, et al., 2018:

1- Processos contínuos, como por exemplo: Dranco (processo de mistura fora do reator, e fluxo vertical forçado por gravidade), Valorga (processo usando recirculação do biogás para promover a mistura dentro do reator, e fluxo vertical forçado por gravidade), Kompostogas (processo de mistura dentro do reator usando um eixo horizontal com pás, e fluxo horizontal).

2 - Processos em batelada, como por exemplo: Digestor tipo saco ou vala coberta com geomembrana (sem processo de mistura, com longo tempo de retenção de sólidos, fluxo horizontal), digestores tipo silos (usando cobertura de geomembrana e com recirculação do lixiviado, sem mistura e sem fluxo), digestores tipo garagem (com recirculação e metanização do lixiviado em reator separado. O lixiviado é aspergido sobre o substrato sólido dentro da garagem. Não há processo de mistura).

Em geral, os processos em batelada operam com baixa taxa de carregamento, ou carga orgânica volumétrica (COV) menor que $10 \text{ kgDQO} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{dia})^{-1}$. Enquanto que os reatores contínuos citados anteriormente operam em alta taxa ($\text{COV} > 10 \text{ kgDQO} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{dia})^{-1}$) (Leitão et. al., 2009), o que resulta em reatores menores e, por consequência, menor custo de investimentos. No entanto, estes reatores de alta taxa exigem maior controle do processo para evitar acidificação do meio.

Embora reatores anaeróbios contínuos de alta taxa já sejam empregados no Europa, há falta de dados confiáveis na literatura científica. Por exemplo, a empresa Organic Waste Systems, que detém a tecnologia Dranco como segredo industrial, alega que este sistema tem eficiência de conversão da biomassa superior a 55%, produção volumétrica de metano de 2,8 a 4,4 $\text{m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{m}^3_{\text{reator}})^{-1}$, e carga orgânica volumétrica entre 14 e 18 $\text{kgDQO} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{dia})^{-1}$ (Sixand De Baere, 1992). Estes valores são muito elevados e poucas publicações estão disponíveis com dados que possam informar detalhes operacionais. Além disto, há algumas publicações que tratam especificamente deste sistema que contestam tais valores (Choi, Lee, et al., 2016). Sendo assim, alguns aspectos necessitam de esclarecimento: (i) estratégia de inoculação e partida do reator biológico; (ii) estratégias de pré-tratamento e controle da mistura de substratos para manutenção da relação carbono/nitrogênio; (iii) necessidade de adição de nutrientes necessários para metanização; (iv) mistura substrato com digestato; (v) estratégia de aumento e controle da carga orgânica volumétrica (COV), de forma a atingir eficiência de metanização e produção volumétrica de biogás elevadas; (vi) estratégia e controle da alcalinidade e inibição por amônia e ácidos graxos voláteis (Xu, Li, et al., 2018; Braguglia, Gallipoli, et al., 2018).

Até recentemente, os sistemas de produção de biogás não eram viáveis economicamente no Brasil (González et. al., 2017). Apenas empresas que eram obrigadas por órgãos ambientais a tratar seus efluentes líquidos, construíam reatores anaeróbios para produzir biogás e diminuir os custos de energia e disposição final dos resíduos. Já na Europa, houve um grande incentivo através de subsídios para compra de energia proveniente de fontes renováveis. No Brasil, não há este subsídio e apenas com o aumento do preço da energia elétrica e do custo de disposição de resíduos sólidos, as empresas passaram a buscar alternativas mais econômicas para os problemas citados. Mesmo assim, a viabilidade econômica depende do custo da logística relacionada com coleta e transporte dos resíduos. Até o momento poucas unidades produzem o biogás para ser aproveitado na produção de energia, em que os aterros sanitários são majoritários. Algumas poucas empresas aproveitam biogás proveniente de estações de tratamento de efluentes. No caso de resíduos sólidos orgânicos no Brasil, apenas uma planta de metanização seca foi construída e inaugurada recentemente pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sendo que a tecnologia utilizada (reator em batelada do tipo garagem com recirculação e metanização do lixiviado) tem baixa produção volumétrica de metano ($\sim 0,6 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{m}^3_{\text{reator}})^{-1}$) (Silveira Filho et. al., 2018). Reatores deste tipo são mais adequados para resíduos sólidos urbanos, que possuem

muitos materiais recalcitrantes. Já reatores contínuos de alta taxa podem atingir valores em torno de $3 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{m}^3_{\text{reator}})^{-1}$, o que implica em menor custo de investimentos. No entanto, estes reatores têm indicação mais específica, podendo ser usados para metanização de resíduos orgânicos bem selecionados, como é o caso de indústrias de alimentos, centrais de abastecimento e “packinghouses”.

3.2. Biogás

O biogás é produzido por um bioprocessamento em que microrganismos decompõem a matéria orgânica complexa, na ausência do gás oxigênio molecular (O_2) transformando-a em uma mistura gasosa de gás metano (CH_4) e gás carbônico (CO_2), com pequenas quantidades de outros gases, como o ácido sulfídrico (H_2S), O_2 , N_2 ... (Coelho et al., 2006). O biogás pode ser usado para aquecimento ou para o funcionamento de um motor de ciclo Otto. Neste bioprocessamento de metanização é considerado que a concentração de metano chegue a 75% (Leitão et al., 2009).

A produção de biogás depende diretamente dos microrganismos metanogênicos, mas para que estes possam executar seu metabolismo é necessária a presença de seus substratos no meio. Conforme a Figura 1 as arqueias metanogênicas podem metabolizar o acetato e hidrogênio em CH_4 , mas, para que isso ocorra, é preciso que os grupos dos fermentativos (bactérias hidrolíticas e bactérias acidogênicas) possam metabolizar seus substratos em ácidos orgânicos e acetato, destas vias metabólicas a mais rápida é aquela que se utiliza de monossacarídeos como a glicose, que é a utilizada em testes de produção e produtividade máxima para determinar fatores, por exemplo, a atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. A mais lenta é aquela a que hidrolisa compostos de matéria orgânica complexa, como proteínas, lipídeos e polissacarídeos (Aquino et al., 2007).

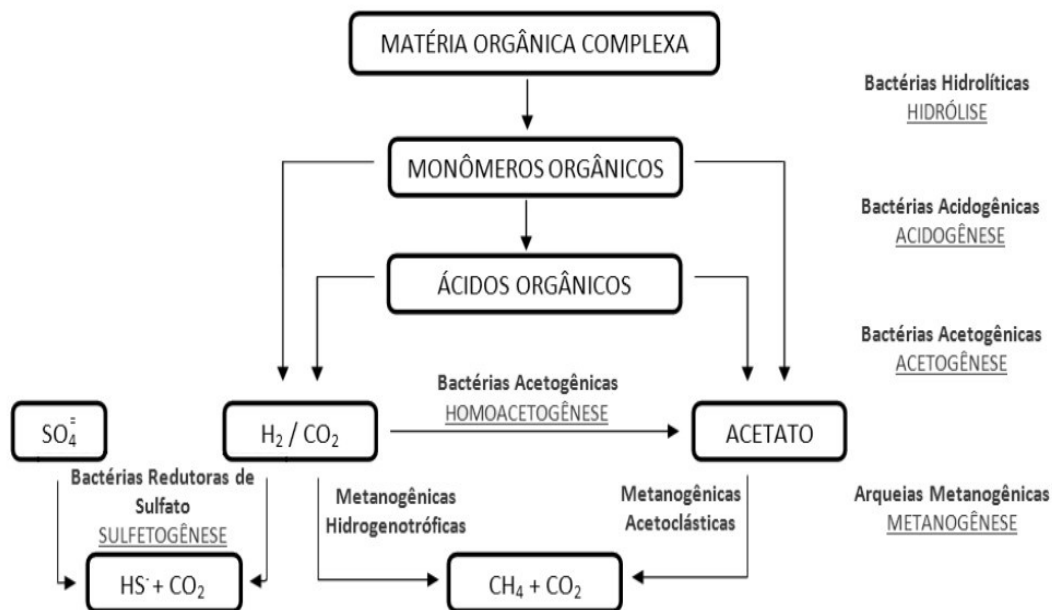
Há também uma via metabólica que ocorre no meio reacional quando a presença de enxofre, como demonstrado na Figura 1. Em virtude da quantidade de sulfato no meio e devido à ausência de elementos aceptores finais de elétrons, como o oxigênio, ocorrem reações de sulfetogênese, reduzindo o sulfato e promovendo a liberação de elétrons. Diante disso, estudos mostram uma previsão da concentração de H_2S deve estar no biogás como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações de componentes presentes no biogás.

Gás	%Vol ou PPM
Oxigênio (O ₂)	1,23%
Nitrogênio (N ₂)	15,5%
Dióxido de carbono (CO ₂)	4,75%
Metano (CH ₄)	75,8%
Sulfeto de hidrogênio (H ₂ S)	649ppm
Água (H ₂ O)	2,62%

Fonte: Yamashita et al., 2004

Figura 1. Esquema da digestão anaeróbia de matéria orgânica em um bioprocesso de metanização.



Fonte: Viana et al., 2011

A importância atual dada ao biogás se dá por ser possível gerar energia a partir do metano presente, e também pela política internacional de diminuição da dependência de combustíveis não renováveis. Essa conversão de energia química do gás em energia mecânica ocorre por meio de um processo controlado de combustão, que ativa um gerador e produz uma corrente alternada. Ligada à rede de abastecimento pode contribuir para suprir a demanda de energia elétrica de uma instalação ou de uma cidade. O biogás também pode ser usado em caldeiras por meio de sua queima direta para a geração de calor, usado principalmente em

países europeus durante o inverno para aquecer locais e casas nas cidades, esta técnica poderia ser usada no Brasil para aquecer instalações industriais ou pecuárias (González et. al., 2017).

3.3. Nutrientes

O bioprocesso de metanização anaeróbia necessita que os microrganismos presentes no reator em contato com o substrato, que é a fonte de energia e de carbono, tenham acesso a micro e macro nutrientes para que possam realizar suas atividades metabólicas (Singh et al., 1999) e evitar que haja uma relação desarmônica de competição por nutrientes limitados diminuindo a produtividade no reator.

A quantificação destes nutrientes deve ser calculada de maneira precisa para que no interior do sistema não ocorra inibição por falta ou excesso de nutrientes levando um desajuste metabólico no bioprocesso (Singh et al., 1999). Neste contexto, a parametrização dos nutrientes deve-se levar em conta a quantidade de gramas de sólidos totais voláteis (STV) do inóculo a ser adicionado no meio que é a quantidade de carga orgânica do lodo anaeróbio no reator. A quantidade de nutrientes no reator segue a razão de 40mL de solução estoque para 4g de carga orgânica do inóculo ou sólidos totais voláteis (Viana et al., 2012).

Tabela 2. Composição das soluções de macro e micro nutrientes.

Macro nutrientes (1L)	Massa (g)
NH ₄ Cl	2,800
K ₂ HPO ₄	2,500
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,000
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,100
Extrato de levedura	1,000
Micro Nutrientes	10mL
Micro Nutrientes (1L)	Massa (g)
FeCl ₂ .4H ₂ O	2,000
H ₃ BO ₃	0,050
ZnCl ₂	0,050
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,038
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,500
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,050
AlCl ₃ .6H ₂ O	0,090
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,000

4. MATERIAIS E METÓDOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da EMBRAPA agroindústria tropical sobre um projeto maior de metanização seca de resíduos agroindustriais sólidos da CEASA-CE com a ajuda da Companhia de Água e Esgoto do Estado do Ceará (CAGECE) que forneceu o inóculo do bioprocessos. A pesquisa é uma parte base do projeto em que se definiram parâmetros operacionais para fornecer os resultados de biodegradabilidade e de produtividade sobre a produção de metano, além da iniciativa de se diminuir custos nos processos.

4.1 Obtenções dos resíduos orgânicos sólidos

Os resíduos orgânicos presentes na CEASA são abrangentes e contém vários tipos de frutas, legumes e hortaliças, os quais pode haver substratos complexos que poderiam ser um obstáculo a pesquisa inicial. Desta forma, um substrato simples foi escolhido para as primeiras análises e testes, o resíduo sólido a partir do consumo da banana foi projetado para este fim, pela presença ser comum na CEASA e pela facilidade de obtenção do resíduo. Este foi adquirido no lixo doméstico, coletado e levado ao laboratório, em que foi triturado por um mixer, Delight V Oster 250W, até a mistura se homogeneizar. O resultado foi uma pasta com a presença de componentes sólidos derivados do pedúnculo da fruta, material fibroso com valores superiores a 15% de lignina (Emaga et. al., 2011). Este resíduo então foi analisado e testado em experimentos de biodegradabilidade. As amostras foram armazenadas em câmara fria (4°C).

Posteriormente aos testes com a casca da banana e devido à falta de dados na literatura sobre a composição e caracterização dos resíduos descartados diariamente na CEASA do Estado do Ceará, foi necessário usar dados quantitativos de resíduos de uma Central de Abastecimento do Estado do Rio Grande do Norte para o fim de se determinar a composição aproximada das amostras a serem utilizadas como substrato para os testes. Desta forma, estabeleceu-se um resíduo padrão, que foi baseado e adaptado pelo trabalho de Medeiros et al. (2005), definindo sua composição média, como pode ser visto na Tabela 3. Este resíduo padrão foi usado para a determinação da biodegradabilidade e do potencial de produção de metano.

Tabela 3. Composição do resíduo padrão CEASA-CE usado nos testes de biodegradabilidade e potencial de produção de metano.

Componente	Massa (Kg)	%
Acelga	0,065	1
Alface	0,193	4
Batata	0,361	7
Cenoura	0,691	14
Chuchu	0,509	10
Coentro	0,075	2
Couve	0,212	4
Jerimum	0,081	2
Mamão	0,834	17
Melão	0,610	12
Pimentão	0,475	9
Repolho	0,368	7
Tomate	0,525	11
Total	5,000	100

Preparou-se uma mistura com as proporções definidas na Tabela 3, que foi triturada em um liquidificador industrial Skynsen®, no qual se precisou adicionar 250 mL de água para uma boa homogeneização. O resíduo padrão foi elaborado em quantidades suficientes para a realização dos testes e armazenado em uma câmara fria a 4°C para estoque. Para o uso em experimentos de biodegradabilidade e análises, uma amostra de 250 g foi retirada para homogeneização em um dispersor Ika® T25 digital ULTRA-TURRAX® (1/min x 1000) e separada.

Antes das análises do resíduo padrão da CEASA-CE a amostra que foi posta por 24 horas em uma estufa de secagem com circulação de ar com a temperatura em 50°C, para uma maior perda de umidade do substrato antes dos demais testes serem feitos. Após esse tempo na estufa a amostra foi novamente homogeneizada e armazenada a 4°C e sua aparência é mostrada na Figura 2.

Figura 2. Pasta do resíduo padrão para uso nos biorreatores, composto na proporção da Tabela 3.



Fonte: Próprio autor.

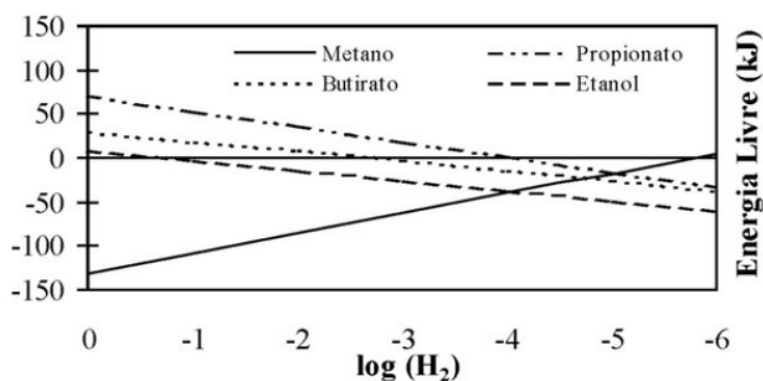
4.2. Teste de Atividade Metanogênica Específica (AME)

O teste de AME foi realizado a fim de acompanhar e validar a atividade metabólica das bactérias no consórcio microbiano, o modelo de reator foi o mesmo de todos os outros testes de biodegradabilidade deste trabalho e usado o mesmo lodo anaeróbio nos testes de AME. A coleta de dados ocorreu por meio da garrafa de Mariotte em que determina o volume de metano produzido no reator.

O reator foi montado de acordo com os testes ótimos realizados em trabalhos anteriores que descrevem o teste de AME a partir de Aquino et al (2007). O substrato utilizado foi a glicose, a fim de observar as atividades metabólicas dos três grupos no consórcio microbiano, a concentração dentro do reator de 300mL de volume total e de 200mL de volume útil foi de $2,5\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}$ e a razão com o lodo anaeróbio foi de $0,25\text{gDQO}\cdot(\text{gSV})^{-1}$. Para que o reator não perdesse eficiência por diminuição de pH, que é o aumento da acidez devido a produção de ácidos orgânicos no meio pelo grupo de microrganismos acidogênicos, foi então adicionado NaHCO_3 como tampão em uma razão de $1\text{gNaHCO}_3\cdot(\text{gDQO})^{-1}$. Os macro e micro nutrientes foram garantidos ao adicionar ao reator 40mL de solução estoque (Tabela 2) para 4g de SV ou carga orgânica de lodo anaeróbio posta no reator.

As coletas de dados ocorreram da forma de se evitar altos erros na medição do volume, o tempo entre as coletas foi posto como suficiente para que a pressão parcial de H_2 presente no reator nas primeiras horas do teste fosse convertida em CH_4 , pois manter uma pressão parcial de H_2 dentro do reator favorece a produção de metano como pode ser visto na Figura 3 de McCarty et al (1981). Devido à alta produção e atividade metabólica no início do processo, o gás hidrogênio é produzido e sua concentração aumenta antes de ser convertido majoritariamente em CH_4 , como o trabalho de Aquino et al (2007) também evidência. A partir da primeira coleta pode-se calcular a AME por derivada da função de produção pelo tempo, o resultado deve ficar em $gDQO_{CH_4} \cdot (gSV \cdot dia)^{-1}$;

Figura 3. Efeito da pressão parcial de hidrogênio na variação de energia livre para a degradação de propionato, butirato e etanol e formação de metano



Fonte: McCarty et al., 1981.

O teste de AME assim como os demais, teve uma etapa de retirar a atmosfera oxidante para a adição de uma anaeróbia no *headspace* do reator após todos os componentes adicionados e com os frascos fechados há um bombeamento de um gás com 100% de N_2 por 1 minuto com a saída da atmosfera aeróbia, ao terminar os frascos foram colocados em uma incubadora a $35^\circ C$, esperados 30 minutos até que a atmosfera do gás foi aberta momentaneamente (menos de 1 segundo) para que a pressão adicional causada pelo aumento da temperatura fosse nula. E a partir deste ponto se inicia o bioprocessamento com uma rotação orbital de 120 rpm usando em todos os experimentos a incubadora Tecnal® TE-420 sempre à $35^\circ C$. Por fim foi avaliado a capacidade máxima de o consórcio microbiano converter a DQO do substrato em CH_4 .

4.3. Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

O teste de biodegradabilidade determina o quanto à matéria orgânica pode ser degradado, formando metano. O potencial de produção de metano (PPM) é determinado paralelamente à biodegradabilidade, sendo um indicativo da quantidade máxima de metano (e energia) que é possível obter de um substrato específico. Estes testes são realizados após a definição de parâmetros como a concentração da solução tampão, concentração e determinação/caracterização do substrato, concentração do inóculo/lodo anaeróbio e concentração de nutrientes.

Foram três grupos no teste de biodegradabilidade usando o resíduo de banana como substrato, nesses três grupos haviam macro e micro nutrientes para auxiliar na atividade metabólica dos microrganismos. Os três grupos se diferenciaram pela concentração orgânica do substrato, 5gDQO.L^{-1} ; $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$ e $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$; e a razão da carga orgânica do lodo anaeróbio se mantém $0,25\text{gDQO.}(\text{gSV})^{-1}$ o mesmo do teste ótimo de biodegradabilidade de glicose, além disso as proporções de nutrientes e de tampão também são se mantêm.

Já o grupo de substrato resíduo padrão CEASA-CE foram montados sem a presença de nutrientes e com a razão do inóculo alterada. Para simular o processo de metanização seca, removeu-se parte da água que havia no reator, deixando mais concentrado. Além disso, a nova razão de 1g de sólidos totais de substrato para 10 gramas de sólidos totais de lodo anaeróbio formaram uma maior presença dos microrganismos metanogênicos no reator inicialmente, isso garante que apesar dos metanogênicos terem um tempo de geração menor que os microrganismos acidogênicos (Aquino et al., 2007), sua quantidade inicial no reator garante sua boa atividade no meio. A Figura 4 mostra como os biorreatores ficam dispostos na incubadora, cada grupo tem sua triplicata com um grupo controle, junto a esses está o grupo ótimo em triplicata da biodegradabilidade da glicose.

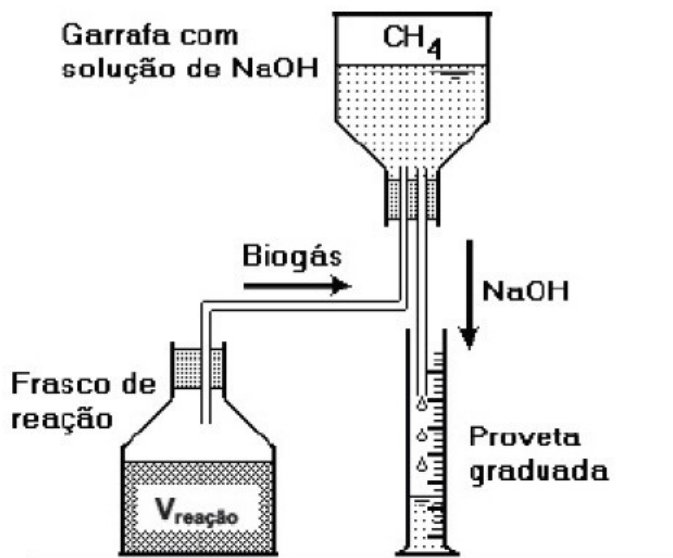
Figura 4. Biorreatores em anaerobiose produzindo biogás, volume total do frasco 300mL, volume útil (utilizado) 100mL. Teste de biodegradabilidade do resíduo padrão CEASA-CE.



Fonte: Próprio autor.

A coleta de dados ocorreu pelo método usando a solução de *Mariotte*. Como pode ser observado na Figura 5 o sistema funciona quando o biogás é transportado do reator anaeróbio sobre alta pressão para o frasco de Mariotte. Ao entrar em contato com uma solução de NaOH 15% todo o gás carbônico reage com o meio básico para transformar-se em Na_2CO_3 o qual se dissolve, o gás restante é o CH_4 que se expande no frasco e expulsa a solução para uma vidraria em que o volume de metano é aferido. (Aquino et al., 2007).

Figura 5. Esquema do aparato experimental para lavagem do biogás e medição do volume de metano produzido.



Fonte: Aquino et al., 2007.

Após a coleta de dados a biodegradabilidade foi calculada pela Equação I:

$$Bio = \frac{(DQO_{CH_4}^t - DQO_{CH_4, controle}^t)}{DQO_{Amostra}^0} \times 100 \quad (I)$$

Onde, “bio” é a biodegradabilidade em %, “t” é o tempo final do teste de biodegradabilidade e “DQO_{CH₄}” representa a quantidade de gramas de DQO de metano que no numerador significa que foi produzido e no denominador do que tinha inicialmente para produzir. Os dados coletados e mostrados nos resultados são de gás metano produzido durante as horas entre as coletas, os números foram subtraídos pelos resultados mostrados por fracos de controle em que só havia nutrientes, tampão e lodo anaeróbio, sem substrato (fonte de energia e carbono). Todos os resultados já são mostrados com a subtração da produção basal de gás metano pelo lodo anaeróbio.

E o potencial de produção de metano foi calculado pela equação II:

$$PPM = \frac{V_{CH_4}}{M_{amostra}} \quad (II)$$

Onde, “PPM” é o potencial de produção de metano, “V_{CH₄}” é o volume de metano produzido em m³ a partir do somatório das medições de volume da solução de *Mariotte* deslocada para o erlenmeyer subtraídos sempre pela produção basal do inóculo e “M_{amostra}” é a massa de substrato no biorreator em kg. Este valor mostra o quanto de biogás o substrato pode produzir, inferindo uma produção sobre um bioprocessos com a mesma amostra. A partir deste resultado foi inferida uma geração de energia e receita em reais a partir de dados obtidos no trabalho de Viana et. al., 2011 ao descrever o potencial energético de substratos em metanização anaeróbia.

4.4. Inóculo

Para que o bioprocessos de metanização de resíduos orgânicos ocorra é necessário que no inóculo haja três indispensáveis grupos de microrganismos, fermentativos (acidogênicos), sintróficos (acetogênicos) e metanogênicos. O inóculo utilizado neste experimento é o lodo de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e leito de lodo (UASB – Upflow Anaerobic Sludge

Blanket), que trata esgoto doméstico de Aracapé-CE, operado pela Companhia de Água e Esgotos do Ceará (CAGECE). Para que este fosse utilizado necessitava de que dados do lodo fossem conhecidos para a correta parametrização de proporções nos reatores anaeróbios. Os dados são relacionados aos sólidos totais e voláteis presentes no inóculo.

Para determinação de sólidos totais, foram coletados 20mL de lodo anaeróbio em triplicata, postos sobre cadinhos anteriormente calcinados e pesados; a triplicata foi à uma estufa de secagem com circulação de ar em 105°C por 1 dia. Após esse tempo os sólidos totais do lodo anaeróbio podem ser conhecidos pesando-os em balança analítica e subtraindo os valores do cadinho calcinado (550°C) e do que restou após a secagem do valor inicial após a adição dos 20mL de lodo. O lodo anaeróbio seco foi posto em uma mufla a 550°C por 2 horas. Após esse tempo são pesados em balança analítica e o que sobrou são os sólidos inorgânicos que não se volatilizaram com a altíssima temperatura, a diferença entre o que restou e o inicial é chamado de sólido total volátil, ou os sólidos orgânicos presentes na amostra, todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados servem de parâmetro na reprodutibilidade do bioprocessamento sobre resíduos orgânicos agroindustriais. Vale ressaltar que para a construção do reator anaeróbio o lodo deve ter no mínimo 20g.L⁻¹ de sólidos totais voláteis (Aquino et al., 2007).

4.5. Determinação e validação da DQO

4.5.1. Generalidades

O cálculo para a demanda química de oxigênio (DQO) necessita de dados sobre os sólidos totais presentes na amostra, retirando-se a umidade do substrato temos a quantidade de matéria sólida que podem ser oxidadas pelo agente oxidante. A análise de DQO parte de um protocolo desenvolvido na EMBRAPA que é uma adaptação do método descrito no Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. A adaptação ocorreu devido ao uso de substratos sólidos com alta DQO, em que se diminuiu a quantidade de amostra no método e aumentou a quantidade de agente oxidante e de solução catalítica para não ultrapassar a capacidade de medição da análise.

Para este fim faz-se o uso de uma solução digestora, na qual é uma solução padrão de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) a 0,168M ou 1N; de uma solução catalítica de sulfato de

prata (Ag_2SO_4) na concentração de 1% (1g/100mL) em ácido sulfúrico (H_2SO_4) PA; de uma solução indicadora de ferroína, que é 1,485g de 1,10-fenantrolina e de 0,695g de sulfato ferroso (FeSO_4) dissolvidos em 100mL (armazenado em frasco âmbar); e solução FAS 0,25M, no qual é 98,035g de sulfato de amônio e ferro ($(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 2.6\text{H}_2\text{O}$) e 20mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) PA dissolvidos em 1L (armazenado em frasco âmbar). O solvente utilizado em todos os casos é a água deionizada.

4.5.2. Padronização do FAS

Antes da análise é realizada uma padronização do FAS, que é a solução titulante. A padronização ocorre quando 10mL de solução digestora (no qual será titulado) são diluídos para 100mL, transferido para um erlenmeyer de 250mL e adicionado 25mL de ácido sulfúrico concentrado e frio, adicionado 3 gotas de indicador de ferroína e agitado por uma barra magnética. Esta solução será titulada pelo FAS com o auxílio de uma bureta de 25mL, com uma mudança do protocolo no ponto de viragem, pois a solução muda de uma cor verde-claro/azul para uma cor verde-escuro (opaco) na padronização. A Equação III foi utilizada para calcular a molaridade real do FAS.

$$M_{real} = \frac{V_{\text{Solução digestora}}}{V_{\text{FAS}}} \times N_{\text{Teórica da solução digestora}} \quad (\text{III})$$

Onde, “ $V_{\text{Solução digestora}}$ ” representa o volume da solução disgestora que foi posta para titulação e “ V_{FAS} ” representa o volume de FAS usado durante a titulação. No caso a molaridade e a normalidade do FAS são iguais.

4.5.3. DQO de KHP

Como uma forma de validar o experimento de quantificação da demanda química de oxigênio, foi realizado a análise de DQO de um composto cujo seu valor de DQO já foi bastante utilizado na literatura como aproximadamente $1,176 \text{ g.g}^{-1}$, o hidrogenoftalato de potássio ou biftalato de potássio. O procedimento segue igual para outras amostras sólidas,

ressaltando que para compostos líquidos o limite é 10mL, e para os sólidos o protocolo desenvolveu uma tabela para seguir a quantidade de sólidos totais da amostra.

O KHP é secado por 2 horas em uma estufa (105°C). O digestor é ligado 3 horas antes para se manter em 150°C. Após a secagem é pesado 0,1g de KHP, transferido para o balão de fundo chato de 250mL, somados com 20mL de água deionizada; 0,5g de sulfato de mercúrio (HgSO₄); 10 pérolas de vidro; 20 mL de solução digestora e por fim 40mL de solução catalítica; assim o balão é posto em duplicata, com o branco, no digestor por 2 horas a 150°C.

Após a digestão, o equipamento é desligado retirado os frascos até atingir a temperatura ambiente. O conteúdo é levado a um balão volumétrico de 250mL e completa-se com água deionizada, deste é pipetado 25mL e transferido a um erlenmeyer de 250mL, adicionado 75mL de água deionizada mais 3 gotas de indicador de ferroína que são agitados a uma barra magnética e titulado com a solução FAS com o auxílio de uma bureta de 25mL. A titulação termina quando a cor muda de verde para alaranjado, a Equação IV da DQO foi à mesma usada para os demais ensaios:

$$DQO = \frac{(V_{FAS\ branco} - V_{FAS\ amostra}) \times M_{FAS} \times 80}{Massa_{amostra} \times 1000} \quad (IV)$$

Onde “V_{FAS}” representa o volume gasto na titulação, “M_{FAS}” representa a molaridade do FAS padronizado e “Massa_{amostra}” representa a quantidade de amostra disposta no digestor.

4.5.4. DQO de resíduos sólidos

O protocolo estabeleceu para amostras sólidas uma tabela que quando foi seguida ocorreu um erro no método, a quantidade de dicromato de potássio, o qual é o agente oxidante, havia sido completamente reduzido e durante a titulação mostrou que a massa de 2,5g (recomendado na análise) estourou o limite da metodologia, além de 2,0g e 1,5g também estourarem. O primeiro resultado com a casca de banana foi obtido quando se usou 0,5g da amostra, evidenciando que a quantidade de matéria orgânica neste tipo de resíduo é maior que outros já testados como resíduos de esgoto doméstico e industrial por ser necessário reduzir 80% da massa para se ter um valor dentro da metodologia.

A mesma massa também foi utilizada no resíduo padrão CEASA-CE, neste caso o valor deu menor por haver uma concentração também menor de sólidos totais que o resíduo

de casca de banana. O resíduo orgânico da casca de banana é 1,6 vezes mais concentrado em sólidos totais e DQO que o resíduo padrão CEASA-CE, isso se deve, pois o resíduo padrão não formou componentes sólidos após a homogeneização por terem polpas de frutas em alguns componentes que ao serem homogeneizados não formaram componentes sólidos e sim algo similar a uma sopa. Por isso suas concentrações apresentam ser mais baixas que os resíduos de casca de banana.

O mesmo cálculo e a mesma sequência e partes da montagem do digestor na quantificação de KHP (4.5.3.) foi utilizada usando os resíduos agroindustriais.

4.6. Modelo matemático

O modelo matemático é usado para comparar as produções de metano em função do tempo. Para a análise e comparação dos biorreatores sobre a produção e produtividade, usando como substrato os resíduos orgânicos agroindustriais, o modelo segue o teste de biodegradabilidade de glicose que se comporta como substrato ideal. Após a primeira coleta de dados em que se definiu o AME o modelo segue um crescimento natural que leva em conta o primeiro dado coletado e o máximo que pode ser atingido pelo biorreator com a determinada DQO presente no meio contendo glicose como substrato. A função utilizada foi a da curva de *Gompertz* (Equação V) em que define inicialmente uma fase de crescimento exponencial seguida de uma fase estacionária, a equação é dada por:

$$CH_4(t) = a \times e^{b \times e^{c \times t}} \quad (V)$$

Onde “a” é a produção máxima de metano que o biorreator pode produzir com a quantidade de DQO determinada que seja adicionada no frasco, “b” é a taxa de crescimento até a assíntota superior calculada a partir do primeiro dado coletado, “c” é taxa de decréscimo a partir da segunda coleta de dados e “e” é o número natural. A partir dos dados experimentais da biodegradabilidade de glicose com 0,5g de DQO, a constante “b” é igual a -1,041 e a constante “c” igual a -0,013. Vale ressaltar que o modelo segue até o máximo, assíntota superior, teórico de produção de metano, desta forma para dados reais a margem de erro sempre será considerada nos gráficos.

A produção máxima teórica foi calculada usando conversões de dados (Equação VI), na CNTP 1 mol de gás equivale a 22,4L, no caso a temperatura na incubadora é de 35°C, logo:

$$P \times V = n \times R \times T \quad (\text{VI})$$

Para 1 atm e a 35°C, 1 mol de gás vale 25,268L. Onde na Equação VII mostra a oxidação completa do CH₄ para a determinação estequiométrica:



Logo, 1 mol de CH₄ é equivalente a 64 gramas de DQO. Ou para cada 1 grama de DQO tem-se 0,016 mol de CH₄; ou 1 grama de DQO equivale a 0,395L de CH₄. A partir disso 0,5g equivalem aproximadamente 197,4mL de metano teórico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização de substratos

5.1.1. Resíduos orgânicos agroindustriais

Para que o teste de biodegradabilidade ocorra é preciso ter dados como os de sólidos e os de DQO. As comparações entre os resíduos e substratos de reatores anaeróbios são primeiramente sobre esses dados, e na maioria das pesquisas estes dados são em g.L^{-1} , desta forma foi inferida a densidade dos dois substratos usados nos testes de biodegradabilidade, assim todos os resultados podem ser convertidos sobre a unidade de volume e comparados. O primeiro substrato, no qual é a casca de banana tem densidade aproximadamente igual a $1,22\text{g.mL}^{-1}$, já o resíduo padrão CEASA-CE tem densidade aproximadamente $1,14\text{g.mL}^{-1}$. A densidade mais baixa no resíduo padrão se deve ao fato de que diferentemente do resíduo de banana neste os componentes foram inteiros com a presença de casca, polpas e sementes assim como são descartados a maioria dos resíduos na instalação, as polpas por terem mais umidade diminuíram a densidade do resíduo padrão.

Os sólidos totais são a forma de se medir o quanto de matéria orgânica e inorgânica foram postos nos reatores, retirando-se a quantidade de água. Esses dados são importantes, pois se tem uma ideia da produtividade em relação à massa ou volume que realmente serão metabolizados no bioprocessamento, teoricamente quanto maior for a concentração de sólidos totais adicionados no reator maior será a produtividade, pois terá mais matéria orgânica a ser convertida em metano. Entretanto, para bioprocessos em que se necessita uma atividade metabólica alta para se ter uma alta produtividade vale ressaltar de que ao adicionar muita matéria orgânica pode ocorrer a acidificação do reator ou inibição pelo excesso de ácidos orgânicos ou amônia, reduzindo a atividade metanogênica (Aquino et al., 2007) pela falta de solvente disponível para dissolver os ácidos orgânicos produzidos pelo grupo de microrganismos fermentativos.

Para o substrato a base de casca de banana o valor de sólidos totais é de $0,128\text{g.g}^{-1}$, já para o resíduo padrão os sólidos totais são de $0,08\text{g.g}^{-1}$. Os resultados também mostram que a maioria dos sólidos totais presentes no resíduo são orgânicos (>85%) e podem em teoria serem biodegradados pelo lodo anaeróbio caso os microrganismos metabolizem este substrato

por completo, ou seja, que estejam biodisponíveis. A Tabela 4 mostra os resultados em g.g^{-1} e g.mL^{-1} para comparações.

Tabela 4. Concentração de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV) e sólidos totais fixos (STF) dos substratos sólidos orgânicos da CEASA-CE.

Unidade	Casca de banana			Resíduo padrão		
	ST	STV	STF	ST	STV	STF
g.g^{-1}	0,1281	0,1111	0,0171	0,08	0,074	0,006
g.mL^{-1}	0,1565	0,1357	0,0208	0,0912	0,083	0,008

5.1.2. DQO

Após a validação positiva da análise de DQO por refluxo aberto do protocolo da EMBRAPA, as análises obtiveram resultados positivos quando foram adicionados 0,5g de amostra dos dois substratos. O resultado foi de $0,156\text{g.g}^{-1}$ do substrato a base de casca de banana e de $0,098\text{g.g}^{-1}$ do resíduo padrão CEASA-CE, na Tabela 5 pode-se observar os valores de DQO obtidos e convertidos por meio da densidade aproximada para comparações com outros substratos. Estes resultados mostram que a DQO dos substratos utilizados tem cerca de 100-200 vezes mais matéria orgânica a ser convertida em metano que os substratos a base de esgoto doméstico (Raposo et. al., 2008). Entretanto o resultado dos testes de biodegradabilidades em biorreatores anaeróbios mostrou que apesar dos resíduos a base de casca de banana ter uma DQO maior que os substratos comuns em reatores anaeróbios, esses não conseguem superar 40% de biodegradabilidade, não conseguindo ser mais produtivo por produzir pouco biogás em relação ao resíduo padrão.

Tabela 5. Demanda química de oxigênio dos substratos sólidos orgânicos da CEASA-CE.

Unidade	Casca de banana	Resíduo padrão
g.g^{-1}	0,1564	0,0984
g.mL^{-1}	0,1911	0,1121

5.2. Caracterização do inóculo

5.2.1. Concentração de sólidos totais, fixos e voláteis

Para este lodo anaeróbio, os sólidos totais é de $36,030\text{g.L}^{-1}$; os sólidos totais voláteis é de $25,977\text{g.L}^{-1}$ ou 72% de carga orgânica; e os sólidos totais fixos é de $10,053\text{g.L}^{-1}$. Além disso, sua densidade é de aproximadamente $1,05\text{g.mL}^{-1}$ e para servir de comparação na Tabela 6 é apresentado os valores em g.mL^{-1} .

Tabela 6. Dados de sólidos totais, voláteis e fixos do lodo anaeróbio proveniente da CAGECE.

Lodo anaeróbio	ST	STV	STF
g.kg	36,0298	25,9766	10,0533
g.L^{-1}	37,8313	27,2754	10,556

5.2.2. Atividade metanogênica específica

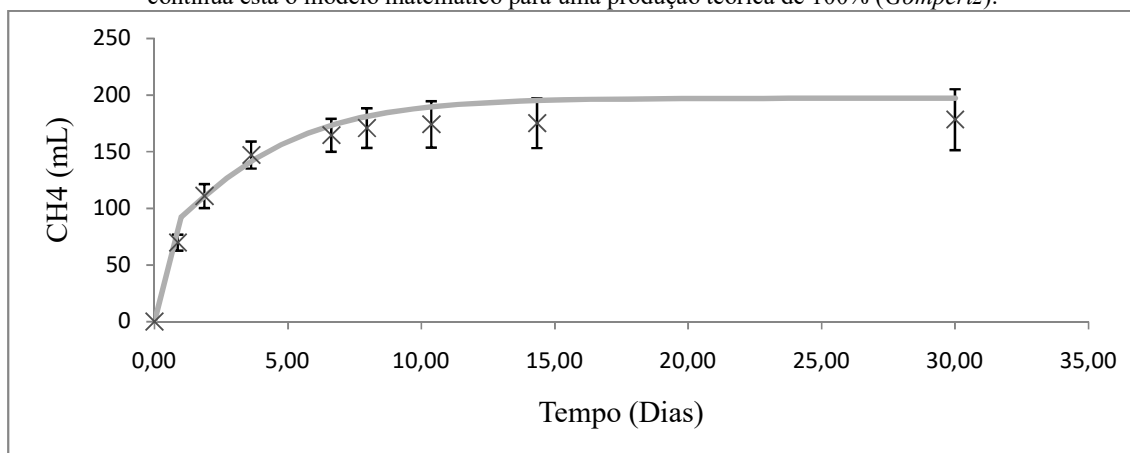
Os testes de atividade metanogênica específica (AME) ocorreram em paralelo aos ensaios de biodegradabilidade. O substrato usado foi a glicose, com adição de nutrientes, nos quais forneceram os dados para o modelo matemático de produtividade máxima e serviram para validar os testes de biodegradabilidade com o inóculo.

Os resultados do grupo da glicose mostraram uma reduzida fase de adaptação ao meio, que é a fase em que os microrganismos iniciam suas atividades metabólicas junto à multiplicação celular. Os microrganismos em menos de 24 horas já estavam na fase de produção do biogás, fase em que a produtividade é a mais alta por causa da maior quantidade de substrato no início do bioprocessamento, e no final já está começando a desacelerar a produção de metano por chegar próximo a conversão máxima e faltar substrato no meio, o que gera uma aproximação a fase de platô. Essa função de produção de metano sobre o tempo é a mais eficiente, em que teoricamente a produtividade é máxima e por isso serve de comparação aos outros testes de biodegradabilidade que não ocorreram com substratos perfeitos ou com nutrientes adicionados ao meio.

Em um dia de bioprocessamento é produzido $0,18\text{gDQO}_{\text{CH}_4}$ com a glicose, estes continham 2g de SV ou de carga orgânica total e uma concentração de $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$ em 200mL. A

atividade metanogênica específica deste lodo anaeróbio se calcula dividindo-se a quantidade de metano em DQO produzida pelo tempo decorrido e pela quantidade de carga orgânica de inóculo adicionado no frasco, assim o resultado fica $0,089\text{gDQO}_{\text{CH}_4}\cdot(\text{gSV}\cdot\text{d})^{-1}$. Na Figura 6 pode-se observar a evolução da produção de metano ao longo do tempo.

Figura 6. Produção de metano pelo AME em função do tempo. Margem de erro é o desvio padrão. Em linha contínua está o modelo matemático para uma produção teórica de 100% (*Gompertz*).



5.3. Teste de biodegradabilidade anaeróbia

Os testes de biodegradabilidade ocorreram com os dois substratos. Os testes que descreveram a biodegradabilidade dos resíduos a base de casca de banana foram realizados com diferentes concentrações de substrato: $1,0\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}$; $2,5\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}$; $5,0\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}$. Com o resíduo padrão CEASA-CE, os experimentos foram realizados com $0,5\text{g}$ de DQO em uma concentração de $5,0\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}$ devido a redução de água e de nutrientes no meio para simular a metanização seca. A tabela 7 mostra a relação e mudanças entre os dois substratos em relação a DQO e ao inóculo.

Tabela 7. Quantidade de carga orgânica de substrato e inóculo adicionada aos biorreatores. Nos grupos da casca de banana se adicionou água até atingir o volume útil.

Substratos	Volume útil (mL)	Cx DQO (gDQO.L ⁻¹)	DQO (g)	*Nutrientes	Inóculo (gSV)
Casca de Banana	200	5,0	1,0	Sim	4,0
	200	2,5	0,5	Sim	2,0
	200	1,0	0,2	Sim	0,8
Resíduo Padrão	100	5,0	0,5	Não	2,5

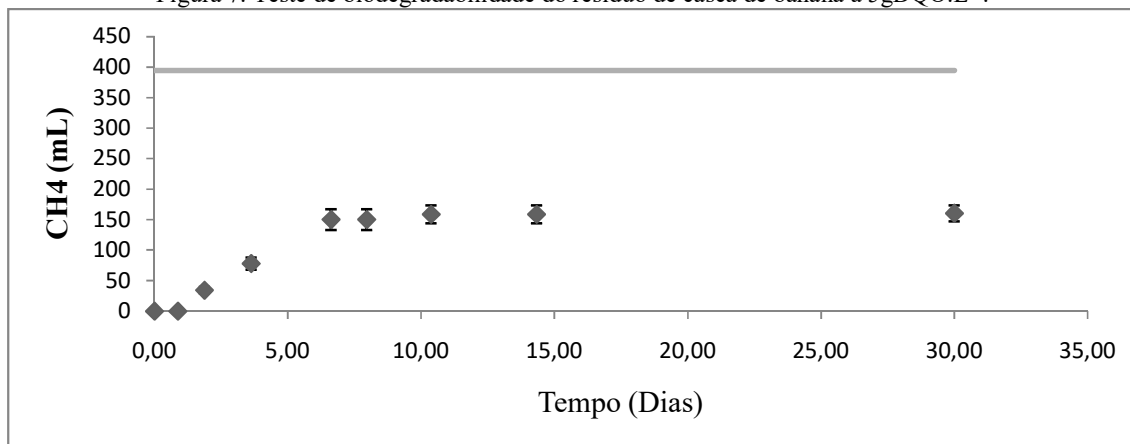
*Nutrientes refere-se suplementação do meio.

5.3.1. Resíduos de casca de banana

Diferentemente da evolução do biorreator com glicose ($2,5\text{gDQO.L}^{-1}$), nos resíduos agroindustriais a base de casca de banana há uma fase de adaptação nas primeiras 24 horas do teste. Após esta fase em que os microrganismos estão iniciando seu metabolismo com as diferentes moléculas presentes no substrato e com os nutrientes adicionados, os testes de 5gDQO.L^{-1} e $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$ começam a fase produção exponencial enquanto que o grupo de $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$ mantém uma baixa produção de biogás até parar em uma biodegradabilidade mais baixa que os outros dois.

Apesar de todos os grupos terem nutrientes, esses não foram capazes de elevar ao longo do experimento a biodegradabilidade do grupo, e os dois maiores ficaram em 40% de biodegradabilidade enquanto que o de menor concentração ficou em 22% de biodegradabilidade. Ou seja, a diferença entre o grupo de menor concentração e os dois outros grupos foi apenas em suas concentrações de carga orgânica, o que não foi ocupado nos frascos com substrato, inóculo e solução estoque (nutrientes) foi ocupado por água deionizada para que o volume dos reatores chegasse a 200mL, ou seja havia muito solvente entre os microrganismos e o substrato, a maior quantidade de água foi adicionada ao grupo de $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$ por ter menos volume de substrato e inóculo, impedindo-os que formassem grânulos de consórcio bacteriano com a mesma facilidade que os outros dois grupos tiveram. Desta forma, se tornou lenta a conversão de substrato complexo a acetato diminuindo a produtividade dos microrganismos metanogênicos no grupo de menor concentração e consequentemente determinando um limite menor de biodegradabilidade.

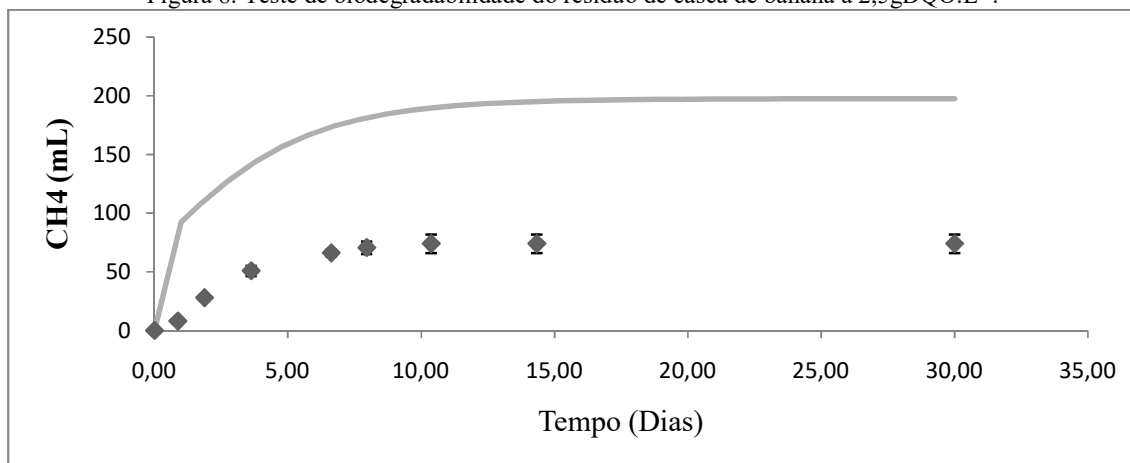
Figura 7. Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à 5gDQO.L^{-1} .



Legenda: A reta cinza representa 100% de conversão de DQO em CH_4 .

Neste experimento de 5gDQO.L^{-1} , observa-se a existência de uma fase de adaptação aos nutrientes e aos substratos presentes no meio, logo após uma fase de produção exponencial se inicia com boa produtividade e em seguida uma fase estacionária irreversível, platô, o que evidencia que só existia cerca de 40% desse substrato biodisponível para os microrganismos presentes neste inóculo.

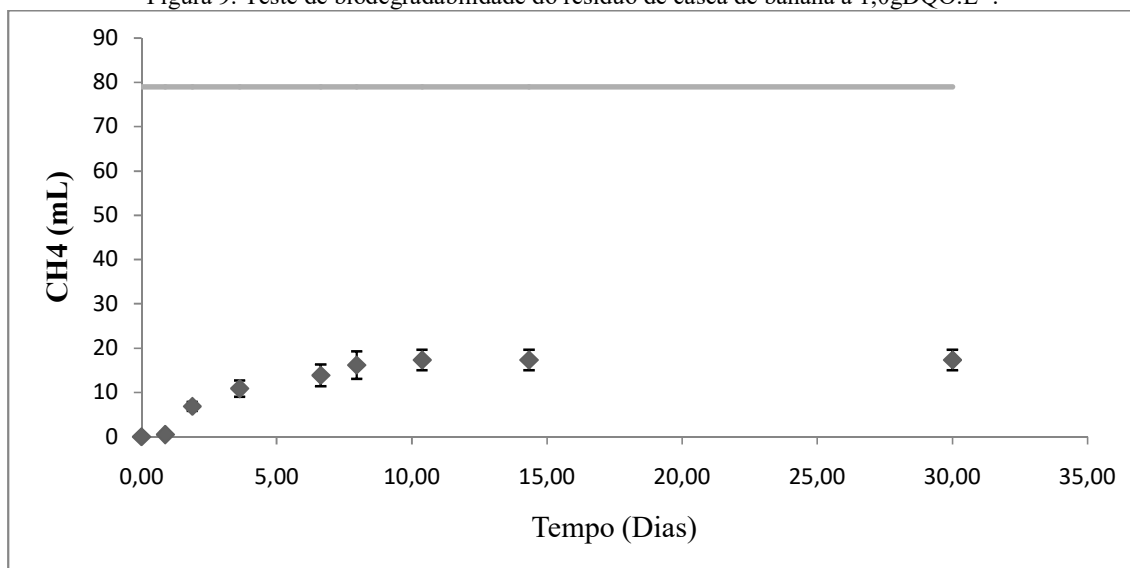
Figura 8. Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$.



Legenda: A função em cinza é o modelo da biodegradabilidade da glicose feito nas mesmas concentrações de nutrientes e substrato.

Nesse experimento de $2,5\text{gDQO.L}^{-1}$, observa-se quase que uma inexpressiva fase de adaptação seguida logo pela fase de produção exponencial até atingir um platô de nível semelhante ao platô dos experimentos de $5,0\text{gDQO.L}^{-1}$. Mostrando que a partir desta concentração o lodo anaeróbio consegue ter um bom contato com o substrato e que este pode ser metabolizado, entretanto com a biodegradabilidade de 38,15% que é semelhante ao outro experimento mesmo com a metade da concentração no reator.

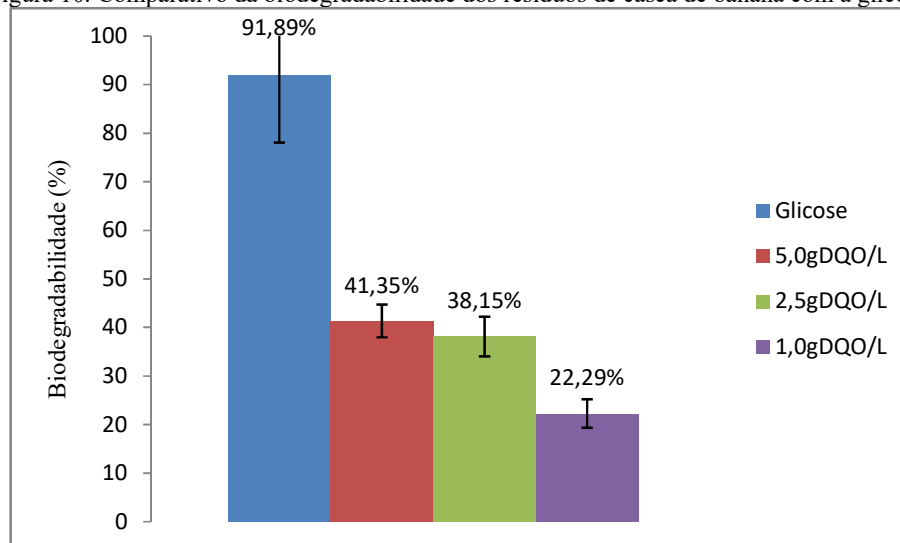
Por não existir mais matéria orgânica biodisponível para este consórcio microbiano, que estavam possivelmente presentes nos componentes sólidos, que são mais complexos e não metabolizáveis para o lodo anaeróbio utilizado, a biodegradabilidade ficou em 40% para este substrato. A questão principal está sobre a amostra, mais especificamente sobre as partes mais sólidas dos resíduos a base de casca de banana, pois nos testes com o resíduo padrão CEASA-CE o mesmo lodo anaeróbio foi utilizado e a biodegradabilidade atingiu 100%, logo o fator que difere dos grupos é a origem do substrato.

Figura 9. Teste de biodegradabilidade do resíduo de casca de banana à $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$.

Legenda: A reta cinza representa 100% de conversão de DQO em CH_4 .

Nesse experimento de $1,0\text{gDQO.L}^{-1}$, observa-se novamente uma fase de adaptação, mas após isso o reator não consegue ter uma fase de produção exponencial expressiva que eleve a biodegradabilidade ao patamar de 40%, seu platô ocorre na metade do bioprocessamento em comparação com os outros dois testes de maior concentração. Devido à baixa concentração de substrato e de lodo para o biorreator, os frascos foram preenchidos com água deionizada até que o volume interno fosse de 200mL, isso diminuiu a concentração no experimento e causou a perda da eficiência em se formar grânulos com os três grupos de microrganismos em volta do substrato (Rajeshwari et. al., 2000), mesmo que o problema da acidificação do meio estivesse resolvida pela baixa quantidade de matéria orgânica e alta quantidade de solvente para diminuir o choque próximo aos microrganismos fermentativos que produzem ácidos orgânicos em alta taxa no início do bioprocessamento por ser as reações mais termodinamicamente favoráveis no meio anaeróbico, o consórcio microbiano não mostrou a evolução de produção semelhante a outros grupos.

Figura 10. Comparativo da biodegradabilidade dos resíduos de casca de banana com a glicose.



No final de cada grupo foi verificado o pH do meio, todos os grupos estavam na faixa de pH 7, neutro, apenas o grupo de 5gDQO.L⁻¹ estava com um pH de 6,5; mas nesse valor o consórcio microbiano ainda mantém seu metabolismo, contudo o resultado serviu para mostrar um limite da faixa de pH neutro verificado para esse substrato. A partir destes dados ocorreu a montagem dos testes de biodegradabilidade de resíduos a base de uma mistura que se assemelhasse mais aos resíduos encontrados nas Centrais de Abastecimento. Seguindo os princípios de se aumentar o contato entre o lodo anaeróbico e o substrato, sem adição de água deionizada, diminuindo assim o volume útil de 200mL para 100mL sem ultrapassar a concentração em que o pH final alterou levemente para o meio ácido, novos testes de biodegradabilidade foram montados. Na Figura 10 pode-se observar uma comparação entre os três testes com o resíduo a base de casca de banana e o experimento de AME com substrato a base de glicose.

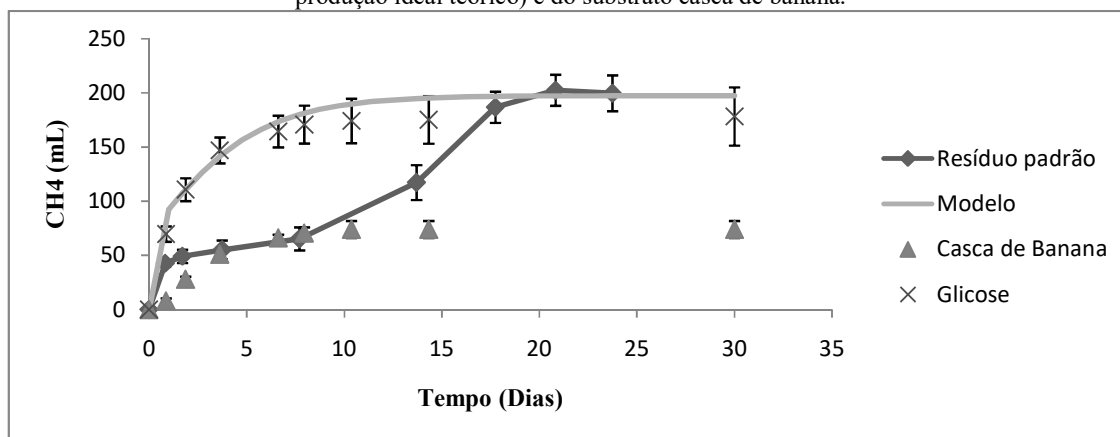
5.3.2. Resíduo padrão CEASA-CE

Os testes de biodegradabilidade usando como substrato a base de resíduos mais semelhantes aos que podem ser encontrados diariamente na Central de Abastecimento do Estado do Ceará (CEASA-CE) foram montados a partir dos resultados estabelecidos dos testes usando a casca de banana. Neste novo substrato, a quantidade de água deionizada no reator é zerada e para este fim o volume total nos frascos são modificados de 200mL para 100mL, dobrando a concentração que está presente no reator. Além disso, neste experimento

seguiu os resultados mais positivos do anterior, ao adicionar aproximadamente 0,5g de DQO, a mesma concentração dos frascos de biodegradabilidade de glicose, no biorreator no qual está há uma concentração de 5gDQO.L⁻¹ em que o meio fica levemente ácido (pH 6,5), mas não o suficiente para se reduzir a produtividade do consórcio microbiano sobre o aspecto de acidez do meio.

Por causa da variada mistura de frutas, legumes e hortaliças descrito na Tabela 3 foi retirado totalmente o uso de soluções nutrientes para este teste, pois se sabe que em uma mistura como esta os macro e micro nutrientes necessários para o desenvolvimento da vida microbiana devem existir. Isso também serviu como uma base de redução de custos visando a implementação de um biorreator na Central de Abastecimento, no qual os componentes restantes são o substrato e inóculo com uma nova razão de 1:10 sobre o valor de sólidos totais e o tampão NaHCO₃ que continua na mesma razão de 1gNaHCO₃:1gDQO. O teste se desenvolveu por 20 dias em que atingiu o platô um pouco acima da biodegradabilidade de 100%, mas isso se deve a, provavelmente, um erro na montagem dos biorreatores em relação à adição do lodo anaeróbico, pois o mesmo é bastante heterogêneo e uma simples diferença pode causar um erro contabilizado pela estatística ou por um desvio pequeno na quantificação da DQO visto que a recuperação do KHP foi de 92%.

Figura 11. Comparativo da produção de biogás a partir do resíduo padrão CEASA-CE, da glicose (modelo de produção ideal teórico) e do substrato casca de banana.



Legenda: Biorreatores com a mesma quantidade de DQO.

Os resultados usando substrato a base do resíduo padrão CEASA-CE (Figura 11), mostram que o substrato é bem assimilado pelo lodo anaeróbico no início do bioprocessamento, não há fase de adaptação, sua fase de produção exponencial se assemelha ao crescimento ideal e a produtividade de biogás é alta. Entretanto depois de 24 horas, os substratos de mais fácil

assimilação, como monossacarídeos, são consumidos, até a produção se estabilizar sobre o mesmo patamar já relatado anteriormente nos resíduos de casca de banana. O biorreator praticamente para de produzir biogás por cerca de 5 dias estando em aproximadamente 40% de biodegradabilidade, estabilizando-se sobre a mesma produção dos resíduos a base da casca de banana, mas com uma produtividade maior.

Entretanto, próximo ao 10º dia, a produção exponencial de biogás é reiniciada usando substratos mais complexos, que demoraram mais para serem metabolizados, hidrolisados, pelo consórcio microbiano. Em 20 dias, o biorreator usando a mistura do resíduo padrão CEASA-CE atingiu 100% de biodegradabilidade, o valor no gráfico ultrapassou do ideal (100%) por erro na montagem do reator devido as amostras serem muito heterogêneas e a parametrização destes ser algo aproximado, praticamente só 1 frasco ultrapassou este limite e elevou a média, desta forma os resultados se mostram confiáveis quando se leva em consideração o desvio padrão. Também há algumas vezes na função produção/tempo que a média no platô pode acabar diminuindo de quantidade em relação ao resultado anterior, isso é explicado devido ao erro não só dos grupos positivos, mas também do grupo negativo, vale lembrar que todos os resultados dos testes de biodegradabilidade expostos já estão sendo subtraídos pelo valor do controle negativo, em que não se tem a adição de substrato, desta forma, quando o bioprocessamento atinge o platô os grupos controles podem se elevar um pouco sobre a pequena produção dos grupos positivos, fazendo com que os dados caiam e o erro aumente.

6. Conclusões

Os resultados obtidos pelos testes de biodegradabilidade mostraram que o resíduo padrão CEASA-CE foi 100% biodegradável e podendo ser convertido em sua totalidade á CH_4 sobre reator de metanização anaeróbia na ausência de suplementação de nutrientes e em escala de bancada. Vale ressaltar que outras pesquisas devem ser realizadas com o aumento da massa e volume de substratos em biorreatores. Os resultados mostram um PPM de $0,042\text{m}^3_{\text{CH}_4}(\text{kg}_{\text{Substrato}})$, que é 17,6 vezes maior que o encontrado com o substrato de resíduos sólidos urbanos e 6,25 vezes maior que o encontrado com um substrato de resíduos sólidos orgânicos agroindustriais. A partir deste PPM é previsto uma produção de $840\text{m}^3_{\text{CH}_4} \cdot (\text{dia})^{-1}$ e uma geração de energia de 7.560 kWh ou de uma potência de 320 kW, o que pode gerar uma recita em torno de R\$ 60.000,00 mensais, além da redução dos custos para a disposição adequada dos resíduos.

Ao identificar a carga orgânica presente e a DQO é possível afirmar que o substrato padrão CEASA-CE tem 200 vezes mais matéria orgânica por ml que o substrato de esgoto doméstico e por isso tende a produzir mais biogás que bioprocessos que utilizam este resíduo como substrato.

REFERÊNCIAS

Medeiros, P. V. D. D. (2005). Reaproveitamento e caracterização dos resíduos orgânicos provenientes do Programa MESA DA SOLIDARIEDADE da CEASA/RN (Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte).

MIDDLETON, A. C.; & LAWRENCE, A. W. Kinetics of microbial sulfate reduction. *Water Pollution Control Federation*, v. 49, n. 7, p. 1659-1670, 1977.

JENSEN, A. B.; WEBB, C. Treatment of H₂S-containing gases: A review of microbiological alternatives. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 17, p. 2-10, 1995.

COELHO, Suani Teixeira et al. Geração de energia elétrica a partir do biogás proveniente do tratamento de esgoto. *Proceedings of the 6. Encontro de Energia no Meio Rural*, 2006.

YAMASHITA, T. Relatório de Ensaio - “Certificado de Análise da Composição do Biogás – PUREFA”. São Paulo. WHITE MARTINS, 2004.

ANGELIDAKI, Irini et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water science and technology*, v. 59, n. 5, p. 927-934, 2009.

AQUINO, Sergio Francisco de et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. 2007.

RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V. V. N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 4, p.135-156, 2000.

SINGH, R.; KUMAR, S.; OJHA, C.S.P. Nutrient requirement for UASB process: a review. *Biochemical Engineering Journal*, v. 3, n. 1, p. 35-54, 1999.

VIANA, M. B. et al. Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. *Water Science and Technology*, v. 66, n. 10, p. 2217-2222, 2012.

VIANA, Michael, et al. Anaerobic biodegradability, methane production potential and toxicity of the glycerol generated... In *Oficina e Seminário Latino Americano de Digestão Anaeróbia (DAAL)* [online], 10, Ouro Preto, 2011. Ouro Preto : Universidade Federal de Minas Gerais / Universidade Federal de Ouro Preto, 2011. [acesso 2011-11-28].

PABÓN PEREIRA, C. P. Anaerobic digestion in sustainable biomass chains, 2009. 262f. Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2009.

AHRING, B. K.; ALATRISTE-MONDRAGON, F.; WESTERMANN, P.; MAH, R. A. Effects of cations on *Methanosarcina thermophila* TM-1 growing on moderate concentrations of acetate: production of single cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 35, p. 686-689, 1991.

LEITÃO, R. C.; ARAÚJO, A. M.; FREITAS-NETO, M. A.; ROSA, M. F.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic treatment of coconut husk liquor for biogas production. *Water science and technology*, v. 59, n. 9, p. 1841-6, 2009.

Raposo, F., De la Rubia, M. A., Borja, R., & Alaiz, M. (2008). Assessment of a modified and optimised method for determining chemical oxygen demand of solid substrates and solutions with high suspended solid content. *Talanta*, 76(2), 448-453.

Freire, A. P. A., ARAÚJO, A., Gomes, G. M. F., Bittar, C. M. M., & Rogério, M. C. P. (2011). Composição química e digestibilidade in vitro do pedúnculo de caju. In *Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: ENCONTRO DE PESQUISA

E PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ, 6., 2011, Sobral.[Anais...]. Sobral: UVA, 2011. 6 f..

DEMIRER, G. N.; DURAN, M.; ERGÜDER, T. H.; GÜVEN, E; UGURLU, Ö; ULAS, T. Anaerobic treatability and biogas production potential studies of different agroindustrial wastewaters in Turkey. *Biodegradation*, v. 11, p. 401-405, 2000.

McCARTY, P. L. History and overview of anaerobic digestion, In: SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION, 1981.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21.ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

Kirkwood, T. B. (2015). Deciphering death: a commentary on Gompertz (1825)'On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies'. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1666), 20140379.

AHRING, B. K.; SANDBERG, M.; ANGELIDAKI, I. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 43, n. 3, p. 559-565, 1995.

SILVEIRA FILHO, Agnelo Sebastião Lima, et al. DIMENSIONAMENTO DE UM REATOR UASB PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMESTICOS E RECUPERAÇÃO DO BIOGÁS PARA PRODUÇÃO ENERGÉTICA: UM ESTUDO DE CASO EM POUSO ALEGRE (MG). *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, 2018, 7.1.

EMAGA, Thomas Happi, et al. Ripening influences banana and plantain peels composition and energy content. *Tropical animal health and production*, 2011, 43.1: 171-177.

SCHLUB, Angela Cristina Mélo, et al. Resíduos sólidos urbanos: potencial fonte de carbono para degradação microbiana e produção de biogás/Urban solid waste: potential carbon source

for microbial degradation and biogas production. Brazilian Journal of Development, 2019, 5.8: 11927-11942.

DOS SANTOS FILHO, Derovil Antonio, et al. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS E GLICERINA RESIDUAL. BIOFIX Scientific Journal, 2018, 3.2: 260-266.

González, Rafael et. al. AGROENERGIA NO DESENVOLVIMENTO REGIONAL. Modelo de negócios – BIOGÁS; CIBiogás; Concórdia, Santa Catarina; 2017.