INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA, VIDA E NATUREZA (ILACVN)

BIOTECNOLOGIA

Análise da geração de biogás a partir da digestão anaeróbia de permeado de soro de leite bovino pré tratado e dejetos animais

HEVELI DOS SANTOS RODRIGUES

Foz do Iguaçu
2025

INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA, VIDA E NATUREZA (ILACVN)

BIOTECNOLOGIA

Análise da geração de biogás a partir da digestão anaeróbia de permeado de soro de leite bovino pré-tratado e dejetos animais

HEVELI DOS SANTOS RODRIGUES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciência, Vida e Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.
Orientadora: Profa. Dra. Nathalia Correa Chagas de Souza.
Corientadora: Dra. Franciele Natividade Luiz.

Foz do Iguaçu
2025

HEVELI DOS SANTOS RODRIGUES

Análise da geração de biogás a partir da digestão anaeróbia de permeado de soro de leite bovino pré tratado e dejetos animais

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciência, Vida e Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.
Orientadora: Profa. Dra. Nathalia Correa Chagas de Souza.
Corientadora: Dra. Franciele Natividade Luiz.

BANCA EXAMINADORA

_____
Orientadora: Profa. Dra. Nathalia Correa Chagas de Souza
UNILA

_____
Corientadora: Dra. Franciele Natividade Luiz
UNILA

_____
Profa. Dra. Márcia Regina Becker
UNILA

_____
Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos
UNILA

Foz do Iguaçu, 13 de março de 2025.

Dedico este trabalho à minha família, pelo apoio incondicional, aconselhamentos e colo nos momentos difíceis. Os amo infinitamente.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, às divindades e à espiritualidade, que sempre me trouxeram alívio, clareza e fé ao longo dessa jornada.

À minha orientadora Nathalia, pela orientação, amizade e paciência, além da constante orientação e apoio na construção deste trabalho, mas, acima de tudo, pela sua amizade e paciência. Sou grata por cada momento de apoio e pelos direcionamentos que ultrapassaram os limites da vida acadêmica, você é uma pessoa inspiradora!

À minha coorienadora Franciele, por todo o apoio, paciência e direcionamento também sempre disponível na construção desse trabalho, e segue muito presente e influente na minha construção enquanto profissional. Fran, você não é só um exemplo gigante de profissional e líder, mas também de ser humano, de gentileza e tato. Obrigada por tanto, e, por toda a paciência.

Ao CIBiogás e sua equipe pela oportunidade de poder desenvolver esse trabalho juntamente à sua infraestrutura e a essa equipe incrível, em especial a equipe do laboratório Rafaela, Giovanna, Ana Caroline, Carmelo e João Victor, pela colaboração e inspiração. Vocês foram fundamentais para a construção deste trabalho. Obrigada por me darem a oportunidade de aprender cotidianamente com vocês para a construção desse trabalho, e também na minha construção enquanto profissional.

Aos professores da UNILA, que me guiaram e ampliaram meus horizontes, e aos técnicos do Delaben, pelo suporte constante. Aos psicólogos e assistentes sociais, em especial Rodrigo Trevizan e Roseane, pelo acolhimento nos momentos difíceis.

Aos motoristas do intercampi, pelos momentos de diálogo e pela compreensão em sempre esperar a gente no ponto (risos), todos vocês são uma parte fundamental da nossa trajetória.

Aos meus colegas de curso, por cada momento que nos reunimos para estudar juntos, pela disponibilidade, pela parceria, pelos inúmeros momentos de diálogo, apoio e risadas em frente ao Delaben e em tantos outros lugares. Em especial a Kauana, Lia, João Victor, Kauanny, Gustavo, Isabella, Laura, Maria Catalan, Aline, Leo, Ghadir, Daiane, Samuel, Thaynara, Bernie, Lucas, Jamilly e todos que compuseram as turmas pelas quais passei. Com vocês me diverti,

aprendi, chorei, me desesperei, chutei o balde, busquei o balde, chorei dentro do balde e o baile seguiu, obrigada por tanto, amigos!

À minhas amigas que já fizeram parte do meu cotidiano acadêmico, como Sarinha e Lira. Vocês duas são as amizades que eu levo em meu coração todos os dias. Obrigada pelo apoio sempre, na vida profissional e pessoal. Vocês são pessoas sem igual, que por meio do apoio, do diálogo, de risadas, abraços, lágrimas e cházinhos da tarde, me fizeram recuperar a fé no processo e ter a confiança e a determinação de dar mais um passo nessa jornada. Eu as amo demais.

À minha família, que em todo esse tempo me deu o amparo necessário para estar aqui. Isso tudo é por vocês. Em especial minha mãe, meus avós, Anne, meus tios, e minha bisa Leolina. Obrigada por tanto, isso tudo é por vocês.

Ao meu companheiro, João Victor, que divide comigo não apenas o curso e a profissão, mas também a vida. Agradeço por todo o apoio, amor, pelas trocas de ideias, pelas risadas compartilhadas ao longo dessa jornada e, principalmente, pela paciência. Te amo.

À minha gatinha, Janaína, pelos inúmeros momentos de apoio emocional que você me concedeu e concede, aos momentos de divertimento e descontração. Te amo minha pituquinha.

Se o tolo não persistisse em sua tolice, ele não se tornaria sábio.
William Blake

RESUMO

Diante da busca por combustíveis renováveis e do cenário crítico que o planeta passa atualmente em relação às mudanças climáticas, torna-se essencial adotar medidas mitigadoras. A gestão sustentável de resíduos agroindustriais, aliada ao potencial de produção de biogás, surge como uma solução promissora, convertendo desafios ambientais da pecuária em oportunidades para a geração de energia limpa e renovável. Nesse contexto, o presente estudo investigou a viabilidade da produção de biogás via digestão anaeróbia do permeado de soro de leite e dejetos animais, visando valorizar energeticamente resíduos agroindustriais e reduzir seu impacto ambiental. Para isso, buscou-se esterilizar o permeado por tratamento térmico, mantendo os dejetos como única fonte de inóculo, a fim de controlar parâmetros como acidificação do sistema e produção de H_2S. O estudo foi dividido em duas fases: a primeira consistiu na caracterização das amostras e no estabelecimento de parâmetros, incluindo a definição das condições de tratamento térmico; na segunda fase, os parâmetros pré-definidos foram aplicados e novas avaliações foram realizadas. Para isso, o permeado de soro de leite bovino foi submetido a tratamento térmico em banho-maria a 80°C e 95°C, seguido de plaqueamento em meio nutritivo ágar nutriente e ágar leite, com incubação a 37°C por 14 dias. Além disso, foram avaliados fatores físico-químicos e determinou-se a produção do biogás e metano de forma quantitativa e qualitativa. Os tratamentos térmicos demonstraram eficácia na redução da microbiota do efluente avaliado, sendo mais expressivos a 95°C. As análises físico-químicas indicaram uma redução nos sólidos voláteis (entre 88,46% e 88,73%) e no teor de sulfato (de 208 a 178 mg/L). Os níveis de DQO reduziram na amostra tratada a 80°C (131.525 mgO_2/L), mas aumentaram na a 95°C (142.925 mgO_2/L) em relação ao branco (141.925 mgO_2/L). Quanto à neutralização das amostras tratadas à 80°C e 95°C, estas ficaram nas faixas de 9 e 8,7, respectivamente. O potencial de produção de biogás variou de 741 ± 11,79 a 770 ± 4,76 LN kg^{-1} SV, com incrementos de 0,54% e 4,48% nas amostras tratadas a 80°C e 95°C, respectivamente. Os teores de metano, superiores a 50%, apresentaram aumento de 6,95% na amostra tratada a 80°C e de 11,5% na tratada a 95°C. No entanto, a produção de H_2S também se intensificou, com elevação de 36% na amostra a 80°C e de 83,7% na a 95°C, atingindo picos de 1473,5 e 1990,5 ppm, respectivamente, de modo que esse aumento representa um desafio para a viabilidade da geração de biogás a partir do permeado de soro de leite bovino. Dessa forma, as intervenções propostas neste estudo resultaram em melhorias nos teores de biogás e metano, embora também tenham elevado os níveis de H_2S. Esse aumento pode estar relacionado à composição do substrato utilizado, rico em compostos sulfurados. Assim, reforça-se a necessidade de pesquisas contínuas para mitigar esse efeito indesejado, ao mesmo tempo em que se valoriza os resíduos agroindustriais como uma fonte energética sustentável.

Palavras-chave: Biogás; permeado do soro do leite; dejetos animais; tratamento térmico; gestão de resíduos

RESUMEN

Ante la búsqueda de combustibles renovables y el escenario crítico que atraviesa actualmente el planeta en relación con el cambio climático, se vuelve esencial adoptar medidas mitigadoras. La gestión sostenible de residuos agroindustriales, aliada al potencial de producción de biogás, surge como una solución prometedora, convirtiendo desafíos ambientales de la ganadería en oportunidades para la generación de energía limpia y renovable. En este contexto, el presente estudio investigó la viabilidad de la producción de biogás vía digestión anaeróbica del permeado de suero de leche y desechos animales, buscando valorizar energéticamente residuos agroindustriales y reducir su impacto ambiental. Para esto, se buscó esterilizar el permeado por tratamiento térmico, manteniendo los desechos como única fuente de inóculo, a fin de controlar parámetros como acidificación del sistema y producción de H_2S. El estudio se dividió en dos fases: la primera consistió en la caracterización de las muestras y el establecimiento de parámetros, incluyendo la definición de las condiciones de tratamiento térmico; en la segunda fase, los parámetros predefinidos fueron aplicados y se realizaron nuevas evaluaciones. Para esto, el permeado de suero de leche bovino fue sometido a tratamiento térmico en baño maría a 80°C y 95°C, seguido de plaqueo en medio nutritivo agar nutriente y agar leche, con incubación a 37°C durante 14 días. Además, se evaluaron factores físico-químicos y se determinó la producción de biogás y metano de forma cuantitativa y cualitativa. Los tratamientos térmicos demostraron eficacia en la reducción de la microbiota del efluente evaluado, siendo más expresivos a 95°C. Los análisis físico-químicos indicaron una reducción en los sólidos volátiles (entre 88,46% y 88,73%) y en el contenido de sulfato (de 208 a 178 mg/L). Los niveles de DQO se redujeron en la muestra tratada a 80°C (131.525 mgO_2/L), pero aumentaron en la de 95°C (142.925 mgO_2/L) en relación con el blanco (141.925 mgO_2/L). En cuanto a la neutralización de las muestras tratadas a 80°C y 95°C, estas quedaron en los rangos de 9 y 8,7, respectivamente. El potencial de producción de biogás varió de 741 ± 11,79 a 770 ± 4,76 LN kg^{-1} SV, con incrementos de 0,54% y 4,48% en las muestras tratadas a 80°C y 95°C, respectivamente. Los contenidos de metano, superiores al 50%, presentaron un aumento del 6,95% en la muestra tratada a 80°C y del 11,5% en la tratada a 95°C. Sin embargo, la producción de H_2S también se intensificó, con un aumento del 36% en la muestra a 80°C y del 83,7% en la a 95°C, alcanzando picos de 1473,5 y 1990,5 ppm, respectivamente, de modo que este aumento representa un desafío para la viabilidad de la generación de biogás a partir del permeado de suero de leche bovino. De esta forma, las intervenciones propuestas en este estudio resultaron en mejoras en los contenidos de biogás y metano, aunque también elevaron los niveles de H_2S. Este aumento puede estar relacionado con la composición del sustrato utilizado, rico en compuestos sulfurados. Así, se refuerza la necesidad de investigaciones continuas para mitigar este efecto indeseado, al mismo tiempo que se valorizan los residuos agroindustriales como una fuente energética sostenible.

Palabras clave: Biogás; permeado de suero de leche; desechos animales; tratamiento térmico; gestión de residuos.

ABSTRACT

In the face of the search for renewable fuels and the critical scenario that the planet is currently going through in relation to climate change, it becomes essential to adopt mitigating measures. The sustainable management of agro-industrial waste, combined with the biogas production potential, emerges as a promising solution, converting environmental challenges of livestock into opportunities for the generation of clean and renewable energy. In this context, the present study investigated the feasibility of biogas production via anaerobic digestion of whey permeate and animal waste, aiming to energetically valorize agro-industrial waste and reduce its environmental impact. For this, we sought to sterilize the permeate by thermal treatment, maintaining the waste as the sole source of inoculum, in order to control parameters such as system acidification and H_2S production. The study was divided into two phases: the first consisted of the characterization of the samples and the establishment of parameters, including the definition of thermal treatment conditions; in the second phase, the pre-defined parameters were applied and new evaluations were carried out. For this, bovine whey permeate was subjected to thermal treatment in a water bath at 80°C and 95°C, followed by plating on nutrient agar and milk agar, with incubation at 37°C for 14 days. In addition, physical-chemical factors were evaluated and the production of biogas and methane was determined quantitatively and qualitatively. The heat treatments demonstrated effectiveness in reducing the microbiota of the evaluated effluent, being more expressive at 95°C. The physical-chemical analyzes indicated a reduction in volatile solids (between 88.46% and 88.73%) and in the sulfate content (from 208 to 178 mg/L). COD levels decreased in the sample treated at 80°C (131,525 mgO_2/L), but increased in the sample at 95°C (142,925 mgO_2/L) in relation to the blank (141,925 mgO_2/L). Regarding the neutralization of the samples treated at 80°C and 95°C, they were in the ranges of 9 and 8.7, respectively. The biogas production potential ranged from 741 ± 11.79 to 770 ± 4.76 LN kg^{-1} SV, with increases of 0.54% and 4.48% in the samples treated at 80°C and 95°C, respectively. Methane contents, above 50%, showed an increase of 6.95% in the sample treated at 80°C and 11.5% in the sample treated at 95°C. However, the production of H_2S also intensified, with an increase of 36% in the sample at 80°C and 83.7% in the sample at 95°C, reaching peaks of 1473.5 and 1990.5 ppm, respectively, so that this increase represents a challenge for the viability of biogas generation from bovine whey permeate. In this way, the interventions proposed in this study resulted in improvements in biogas and methane contents, although they also raised the levels of H_2S. This increase may be related to the composition of the substrate used, rich in sulfur compounds. Thus, the need for continuous research is reinforced to mitigate this undesirable effect, while at the same time valuing agro-industrial waste as a sustainable energy source.

Keywords: Biogas; whey permeate; animal waste; heat treatment; waste management.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura. 1. Objetivos do Desenvolvimento Sustentável..... 24
Figura 2. Esquema de ultrafiltração para obtenção do permeado de soro..... 36
Figura 3. Reator anaeróbio destinado ao cultivo do inóculo..... 40
Figura 4. Sistema de análise do ensaio de PBM.....45
Figura 5. Mensuração do Potencial Bioquímico de Metano (PBM).....46
Figura 6. Desenho experimental do tratamento térmico do permeado de soro de leite..... 48
Figura 7: Fluxograma dos ensaios efetuados na fase 1..... 50
Figura 8: Fluxograma dos ensaios realizados na fase 2.....52
Figura 9: Permeado de soro de leite in natura mantido à temperatura ambiente por oito dias..... 54
Figura 10. Coloração de Gram da microbiota presente no Permeado de Leite de soro de leite..... 55
Figura 11. Controles positivos..... 65
Figura 12. Plaqueamento do efluente tratado à 70°C..... 65
Figura 13. Tratamento térmico do permeado de soro de leite..... 66
Figura 14. Tratamento térmico a 80°C..... 72
Figura 15. Incidência microbiana em meio NA do efluente tratado à 80°C.....72
Figura 16. Incidência microbiana em meio AL do efluente tratado à 80°C..... 73
Figura 17. Tratamento térmico a 95°C..... 73
Figura 18. Plaqueamento do efluente tratado à 95°C..... 74
Figura 19. Incidência microbiana no plaqueamento em meio de cultura AL, do efluente tratado à 95°C..... 74
Figura 20. Amostras tratadas termicamente com pH básico.....75

TABELAS

Tabela 1: Composição média de gases presentes no Biogás.....29
Tabela 2. Ensaios efetuados ao longo do estudo.....40
Tabela 3. Tratamento Térmico de amostras do Permeado de Soro de Leite.....47
Tabela 4: Tamponamento das amostras tratadas.....49
Tabela 5. Desenho experimental do Tratamento Térmico do Permeado de Soro de Leite..... 50
Tabela 6: pH do Permeado de soro de leite ao longo do tempo..... 52
Tabela 7. Sólidos das amostras de Permeado de Soro de leite bovino analisadas... 55
Tabela 8. Potencial Bioquímico de Metano das amostras preliminares..... 58
Tabela 9. Resultados observados do tratamento térmico..... 66
Tabela 10: Físico Químicos - Testes Preliminares.....70
Tabela 11. Sólidos das amostras de Permeado de Soro analisadas..... 75
Tabela 12: Características Físico-Químicas do efluente tratado a 80°C e a 95°C..... 77
Tabela 13. Potencial Bioquímico de Metano das amostras.....78

GRÁFICOS

Gráfico 1: pH do Permeado de soro de leite bovino ao longo do tempo.....52
Gráfico 2. Produção de Biogás acumulada das amostras de permeado de soro de leite analisadas.....61
Gráfico 3. Produção de Metano acumulada das amostras de permeado de soro de leite analisadas.....62
Gráfico 4. Curva Cinética da produção de Biogás das amostras tratadas X Branco. 78
Gráfico 5. Curva Cinética da produção de Metano das amostras tratadas X Branco.... 81
Gráfico 6. Produção acumulada de Metano das amostras tratadas X Branco..... 81
Gráfico 7: Produção de Sulfeto de Hidrogênio entre as amostras tratadas..... 82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag_2SO_4: Sulfato de prata

AGV's - Ácidos Graxos Voláteis

AL - Ágar Leite

β-LG - β-lactoglobulina

CIBiogás - Centro Internacional de Energias Renováveis

DA - Digestão Anaeróbia

DQO - Demanda Química de Oxigênio

GEE - Gases do Efeito Estufa

$HgSO_4$: Sulfato de mercúrio (II)

H_2SO_4: Ácido sulfúrico

$K_2Cr_2O_7$: Dicromato de potássio

NA - Ágar Nutriente

ODS - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

PBM - Potencial Bioquímico de Metano

ST - Sólidos Totais

SF - Sólidos Fixos

SV - Sólidos Voláteis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 16
2. OBJETIVOS..... 18
2.1. Objetivo Geral..... 18
2.2 Objetivos Específicos..... 18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 19
3.1. Resíduos Industriais e Agropecuários..... 19
3.2. Impactos ambientais dos agentes contaminantes provenientes da indústria e agropecuária..... 23
3.3. Uso e aproveitamento dos resíduos na economia..... 26
3.4. Biogás..... 27
3.5. Geração de Biogás..... 28
3.5.1. Hidrólise..... 29
3.5.2. Acidogênese..... 29
3.5.3. Acetogênese..... 30
3.5.4. Metanogênese..... 30
3.6. Fatores interferentes na biodigestão anaeróbia..... 31
3.6.1. Qualidade do biogás..... 34
3.7. Permeado de Soro de Leite Bovino..... 34
4 METODOLOGIA..... 37
4.1 - Substrato e inóculo utilizados nos ensaios..... 37
4.2. Determinação do pH e neutralização do permeado de soro de leite bovino. 39
4.3. Determinação de sólidos totais e de sólidos fixos do permeado de soro de leite bovino..... 39
4.3.1. Determinação de Sólidos Voláteis..... 40
4.4. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)..... 41
4.5. Potencial Bioquímico de Metano (PBM)..... 42
4.6. Tratamento Térmico do Permeado de Soro de Leite..... 44
4.6.1. Avaliação do Crescimento Microbiano..... 45
4.7. Correção de pH..... 47
4.8. Determinação de Sulfato..... 48
4.9. Ensaios de fase 2..... 49
4.9.1. Tratamento térmico do Permeado de Soro de Leite..... 49
4.9.2. Correção de pH..... 49
4.9.3. Caracterização das amostras tratadas termicamente..... 50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 51
5.1. Fase 1..... 51
5.1.1. Determinação de pH e neutralização do Permeado de soro de leite

bovino..... 51
5.1.2. Sólidos totais, fixos e voláteis.....54
5.1.3. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO).....55
5.1.4. Potencial Bioquímico de Biogás e Metano..... 56
5.1.5. Tratamento Térmico..... 62
5.1.6. Ajuste do pH..... 67
5.1.7. Determinação de Sulfato..... 68
5.2. Ensaios de fase 2.....69
5.2.1. Tratamento térmico do Permeado de Soro de Leite.....69
5.2.2. Correção de pH..... 73
5.2.3. Sólidos Totais, Fixos e Voláteis..... 75
5.2.4. Determinação de Demanda Química de Oxigênio..... 76
5.2.5. Determinação de Sulfato..... 76
5.2.6. Potencial Bioquímico de Biogás e Metano das amostras tratadas..... 77
5.2.7. Qualidade do Biogás..... 82
CONCLUSÃO..... 87
REFERÊNCIAS..... 88

1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas, intensificadas por atividades humanas como o uso de combustíveis fósseis e a industrialização acelerada, representam um dos maiores desafios globais, impactando o meio ambiente, a economia e a sociedade (Shindell; Smith, 2019). A vista disso, a transição energética e o investimento em fontes renováveis são essenciais para mitigar esses efeitos.

Entre as alternativas, o biogás e o biometano se destacam como soluções biotecnológicas promissoras, permitindo a conversão de resíduos em energia limpa (Lins *et al.*, 2022). O biometano, em particular, apresenta uma das menores taxas de emissão de carbono quando comparado a outras fontes energéticas (RCGGI, 2017).

Em acréscimo, seu aproveitamento em diferentes escalas também favorece a redução de impactos ambientais e custos produtivos, a partir do emprego de resíduos sólidos e líquidos urbanos e de efluentes industriais (Lima, 2024).

É possível destacar ainda que a fonte de energia advinda do aproveitamento de resíduos apresenta benefícios como a promoção de uma economia circular, através da utilização desse meio para a obtenção de energia e para o tratamento de resíduos, podendo, tal tecnologia, ser implementada até mesmo em pequenas comunidades. Isso gera retorno financeiro pelo uso direto da energia gerada e/ou pela venda para a rede geral de energia (Kapoor *et al*., 2020).

De acordo com Ita Porto, coordenadora de projetos da Diaconia (2024), biodigestores vêm sendo construídos em áreas rurais, como no semiárido nordestino, beneficiando inúmeras famílias por meio do fomento ao tratamento de resíduos para a obtenção de energia e adubo para as áreas de plantio, promovendo redução de custos, segurança alimentar e conservação ambiental (Lima, 2024). Nesse contexto, pode-se perceber o potencial de se complementar a geração do biogás, um ativo energético, com a produção de digestato, resíduo oriundo desse processo, convertendo-o em um produto nutritivo, aplicável na agricultura para fertilizar o solo e promover o crescimento saudável e produtivo de culturas alimentares e de interesse.

O Brasil, por ser um grande produtor agropecuário, possui significativo potencial na produção desse meio energético, uma vez que resíduos de origem animal têm se mostrado fontes interessantes para a produção de biogás (Marcucci *et al*., 2025.). Dentre eles o permeado do soro de leite, considerado um subproduto

na produção leiteira, e os próprios dejetos animais, resíduo de destaque pela quantidade e impactos ambientais, podem servir como fonte para a geração de biogás e biometano. Frente a significativa geração de resíduos na cadeia produtiva agrícola, essas aplicações são muito pertinentes para o impulsionamento de práticas mais sustentáveis (Embrapa, 2024).

Desta forma, diante da expansão da produção de biogás e biometano no Brasil, aliada à necessidade da transição energética, e considerando o cenário produtivo de estados como o Paraná, que buscam soluções sustentáveis para o manejo de resíduos agroindustriais, este trabalho buscou analisar o potencial de geração de biogás e metano a partir da fermentação anaeróbica de permeado de soro de leite e dejetos animais. Para isso, levou-se em consideração desafios técnicos e ambientais para a viabilidade do processo verificados previamente, como a formação de sulfeto de hidrogênio (H_2S) e a acidificação verificada em poucos dias de interação do substrato com o inóculo. A pesquisa visou avaliar as melhores práticas de pré-tratamento e operação para maximizar a recuperação energética desses resíduos e, ao mesmo tempo, minimizar seu impacto ambiental.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar, de forma qualitativa e quantitativa, a produção de biogás a partir da associação do permeado de soro de leite com dejetos animais.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar amostras de permeado de soro quanto as suas características de Sólidos Totais (ST), Sólidos Fixos (SF) e Sólidos Voláteis (SV), Potencial Bioquímico de Metano (PBM) e pH;
- Analisar a possível influência da microbiota do permeado do soro em características que possam comprometer o processo, como a acidificação e a alta produção de H_2S;
- Determinar métodos de esterilização do permeado de soro, considerando as características atuais da planta de biogás disponível e os componentes do permeado;
- Avaliar possíveis alterações no permeado de soro em função dos métodos aplicados;
- Realizar a determinação do PBM nas amostras tratadas e observar a variação da produção dos gases como metano e sulfeto de hidrogênio nos substratos utilizados;
- Avaliar a quantidade de biogás e metano produzidos e a sua qualidade entre as amostras *in natura* e as termicamente tratadas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Resíduos Industriais e Agropecuários

Na América Latina, o processo de industrialização começou tardiamente em comparação com outras regiões do mundo, sendo intensificado apenas após a Segunda Guerra Mundial. Isso fez com que muitos países dessa localidade ficassem em desvantagem em relação às nações já desenvolvidas (Bem, 2005). Porém, vale ressaltar que o processo de industrialização tardio não trouxe somente o desenvolvimento econômico e profissional para a nossa região, mas também trouxe consigo diversas questões, como a geração de resíduos poluentes.

Dentre eles podemos citar óleos, corantes, pesticidas, detergentes, desinfetantes, metais tóxicos, poluentes orgânicos emergentes (Rodriguez *et al.*, 2020), hormônios, plastificantes, retardadores de chama, microplásticos, aditivos como bromato e perclorato, drogas ilícitas e elementos de terras raras (Souza *et al.*, 2024), além de dejetos animais, que causam um intenso desequilíbrio no meio ambiente a depender da sua carga orgânica e da sua destinação (Cardoso; Oyamada; Silva, 2015).

De acordo com Sauvé e Desrosiers (2014), poluentes emergentes podem ser oriundos de fontes químicas ou naturais, podendo ser produzidos pelo homem ou disponíveis de forma natural no meio ambiente, de modo que sua toxicidade e/ou persistência pode causar alterações significativas ao metabolismo de seres vivos e desequilíbrios ecológicos expressivos. Portanto, tais compostos, a depender de sua origem, podem apresentar uma gama vasta de contaminantes que devem ser tratados antes de serem destinados à natureza.

Relativo à sua carga, os efluentes industriais podem ser definidos como biodegradáveis, não biodegradáveis, químicos, tóxicos e perigosos (Ingrassia *et al.*, 2024). Já os efluentes industriais líquidos, contém uma gama extensiva de possíveis componentes, sendo os principais: sólidos suspensos, orgânicos biodegradáveis, nutrientes, poluentes recalcitrantes, metais pesados e inorgânicos dissolvidos (Metcalf & Eddy, 2014). Cavalcanti (2016) acrescenta que compostos potencialmente presentes nesses efluentes são sólidos totais dissolvidos, gases dissolvidos ionizáveis, compostos orgânicos dissolvidos, além de bactérias e vírus.

No contexto Latino-Americano, diversas são as fontes de poluentes emergentes, como a indústria farmacêutica, cosméticos, produtos de higiene pessoal, têxtil, alimentícia, polímeros, química, mineração, agrícola e pecuária (Souza *et al.*, 2024; Eslabão, 2022). Mas vale ressaltar que a indústria que mais gera resíduos é a petrolífera, entretanto, os grandes impactos na América Latina são gerados pela indústria pecuária e agrícola, devido a sua dependência de agroquímicos e emissões de gases que provocam o efeito estufa (Peña-Guzmán *et al.*, 2019).

No contexto pecuário, os modelos utilizados na produção de proteína animal estão voltados aos produtos nobres, deixando de lado os resíduos gerados ao longo do processo, como os dejetos dos diversos sistemas de produção animal, como camas de aviário, dejetos bovinos e efluentes suínos (Brito; Melo; Guiongo, 2010; Cardoso; Oyamada; Silva, 2015), além dos efluentes industriais oriundos da indústria de alimentos, principalmente do setor de laticínios (Santos *et al.,* 2022).

De acordo com o censo de 2023, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil detém um montante expressivo de animais produzidos pela indústria pecuária, sendo eles 238,6 milhões de bovinos, 42,9 milhões de suínos, 1,5 bilhão de galináceos, 21,7 milhões de ovinos, 15,3 milhões de codornas, 12,8 milhões de caprinos, 5,7 milhões de equinos e 1,6 milhão de bubalinos (PPM, 2023).

Convém acrescentar que a alimentação compõe de 60% a 70% dos custos da produção animal, de modo que a digestibilidade destes varia de 40% a 70%, dependendo da espécie, condições fisiológicas, tipo e qualidade dos alimentos. Entre 18% e 48% do capital investido na alimentação, que não é metabolizado pelo animal, é eliminado como urina e fezes (Brito; Melo; Guiongo, 2010). De acordo com Silva (2023), no caso de bovinos, a cada 100 kg de matéria seca consumida é absorvido 66,7 kg e excretado 33,3 kg.

A respeito do total de dejetos produzidos no Brasil, é contabilizado um alto volume de biomassa residual correspondente a 1.703.773.970 toneladas/ano, incluindo dejetos de aves de postura, frango de corte, bovinos de corte e vacas de leite, sendo 20.379.732 toneladas/ano só de dejetos provenientes de suínos (Schneider *et al.*, 2012).

Uma porção significativa destes dejetos ficam dispostos em pastagens, dado que a maioria dos modelos de criação são do tipo extensivo, dificultando o

aproveitamento destes (Albuquerque *et al.*, 2022), além de subestimar o potencial de recuperação energética dos resíduos gerados.

O último levantamento realizado pelo Ministério do Meio Ambiente em conjunto com a Secretaria de Qualidade Ambiental (2022) não considerou os dejetos animais nas estimativas de aproveitamento energético em função da sua disposição no ambiente, o que pode ter levado a uma avaliação incompleta do verdadeiro potencial dessas fontes de energia. Já no âmbito da criação intensiva foram calculados em 365 milhões de toneladas de dejetos, sendo 70% dispostos de forma inadequada no meio ambiente, gerando impactos ambientais negativos (Carleial *et al.*, 2010).

No que se trata dos impactos dos dejetos animais no solo onde esses resíduos são largamente encontrados, os nutrientes presentes acabam sendo depositados de maneira excessiva no solo, de modo que eles acabam sendo carreados posteriormente para corpos d'água, causando desequilíbrios significativos, como a eutrofização (Albuquerque *et al.*, 2022), devido ao excesso de componentes como fósforo, nitrogênio e potássio.

No caso do fósforo por exemplo, os seus limiares são baseados de acordo com o seu quantitativo disponível no solo e é assumido que à medida em que os seus níveis aumentam, ocorre um ponto de mudança de modo que o solo começa a fornecer grandes quantidades desse nutriente aos corpos d'água, devido à saturação deste elemento (Gatiboni *et al.*, 2015; Albuquerque *et al.*, 2022). Esse princípio também se aplica aos demais nutrientes depositados no solo por meio dos dejetos animais.

Um outro ponto relevante é a poluição olfativa, que ocorre principalmente por meio da produção de suínos, devido à evaporação de determinados compostos, como amônia, metano, ácidos graxos voláteis (AGV's) oriundos da decomposição da matéria orgânica (Silva *et al.*, 2020), dada a composição do efluente suíno, que contém fezes, urina, a água utilizada para a lavagem das instalações e demais impurezas (Silva, 1996) que causam prejuízo ao bem-estar humano e animal.

Trazendo a atenção para o sul do Brasil, esse é um ponto focal da produção de diversos segmentos industriais, dentre eles o agropecuário e a indústria de laticínios. Ademais, o ranking dos 100 maiores produtores de leite do Brasil, promovido pela MilkPoint (2024), a região Sul ocupa a segunda posição em número de propriedades leiteiras. O estado do Paraná se destaca no ranking, com três

fazendas entre as principais produtoras de leite, ocupando as 2ª, 6ª e 9ª posições, respectivamente.

De acordo com a Associação Brasileira dos Produtores de Leite (ABRALEITE, 2024) no último levantamento foi identificado que a produção leiteira cresceu em 5%, contando com mais de 9 bilhões de litros captados pelas maiores empresas desse setor. A ABRALEITE informa também o dado de que houve uma redução no número de produtores, entretanto notou-se um aumento no volume médio obtido, o que indica uma tendência de atuação de maior escala e eficiência nas operações leiteiras a nível industrial (Vasconcelos, 2024). Ademais, o ranking dos maiores produtores de leite do Brasil, promovido pela MilkPoint (2024), a região Sul ocupa a segunda posição em número de propriedades leiteiras.

Vale salientar que as indústrias de laticínios são consideradas, entre as indústrias alimentícias, as mais poluentes, em razão do seu elevado consumo de água e geração de efluentes líquidos, que por sua vez constituem a principal fonte de poluição dessa tipologia de indústria (Azzolini; Fabro, 2013).

No caso do Paraná, pode-se notar que este é um grande produtor pecuário que atua tanto no setor leiteiro e de derivados (MilkPoint, 2024), quanto na suinocultura, gerando inúmeros resíduos poluentes como o permeado de soro de leite e o efluente suíno. Esses resíduos podem ser aproveitados energeticamente através da digestão anaeróbia (DA) e de tecnologias como biorreatores e carecerem de manejo e tratamento antes da destinação final, pois apresentam risco ambiental substancial devido ao seu impacto em potencial no solo, água e atmosfera.

Diante dessa problemática, o tratamento das águas residuais industriais na América Latina tem sido um desafio persistente, especialmente devido ao descarte incorreto dos dejetos e efluentes industriais não tratados. De acordo com Hutton e Varughese (2016), o investimento necessário para recuperação desses efluentes iria variar entre US$ 3,4 e US$ 11,8 bilhões por ano, ao longo do período de 2016 a 2030, para que os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU referente ao saneamento básico fossem atendidos (Hutton; Varughese, 2016).

De acordo com o objetivo 6.3 da ODS (Figura 1), até 2030, é necessário que a qualidade da água seja melhorada por meio da redução da poluição, eliminação do despejo de produtos químicos e materiais perigosos reduzindo, assim, pela metade a razão de águas residuais não tratadas, aumentando de forma significativa a sua reciclagem e reutilização segura globalmente (IPEA, 2019). Ademais, a destinação

dos efluentes industriais e dejetos animais à produção de energias renováveis, não só atenderiam ao objetivo 6 da ODS, mas também atenderia aos seguintes objetivos:

- 7 - Energia limpa e acessível;
- 11 - Cidades e comunidades sustentáveis;
- 12 - Consumo e produção responsáveis e
- 13 - Ação contra a mudança global do clima, por meio da destinação destes resíduos à produção de biogás (Lins *et al.*, 2022).

Desta forma, investimentos que levem ao atendimento dos objetivos propostos, possuem uma importância expressiva e devem ser priorizados.

Figura. 1. Objetivos do Desenvolvimento Sustentável.

Fonte: Instituto Carlos Roberto Hansen, 2021.

3.2. Impactos ambientais dos agentes contaminantes provenientes da indústria e agropecuária

Diante da magnitude da distribuição, alcance e proporção que esses agentes poluidores podem assumir, com o passar do tempo a preocupação com essa temática é expandida. Só no âmbito agropecuário, o descarte indevido dos resíduos oriundos dessa indústria possui uma expressiva ação contaminante no meio ambiente, causando eutrofização dos corpos d'água e lixiviação, principalmente de nitrato (Trombetta *et al*, 2020), devido à composição de dejetos, como esterco e

resíduos da suinocultura, ricos em uréia e amônia. Durante o processo de mineralização e nitrificação, esses compostos são convertidos à nitrato pelos microrganismos presentes no solo; além do fato desse íon ser extremamente solúvel em água e não ser facilmente retido pelas partículas do solo, o que facilita o seu carreamento e a poluição de corpos d'água (Bruno; Furlan; Araújo, 2023).

A emissão de gases de efeito estufa, como dióxido de carbono, metano e óxido nitroso, também merece destaque. O metano e o óxido nitroso, por exemplo, possuem vida média na atmosfera de cerca de 10 a 20 anos e 114 anos, respectivamente, o que os torna particularmente relevantes no aquecimento global, tanto a curto quanto a longo prazo (US EPA, 2015). Esses gases são os principais componentes do conjunto de gases de efeito estufa liberados na atmosfera pela pecuária, conforme apontado por Khan *et al.*, (2014).

Conforme Potenza *et al.,* (2023), mais de 70% das emissões de gases de efeito estufa no Brasil estão associadas às mudanças no uso do solo e às atividades agropecuárias. Isso porque áreas antes cobertas por vegetação nativa estão sendo convertidas em pastagens e áreas agrícolas, alterando a dinâmica da matéria orgânica do solo e resultando na liberação de carbono na forma de dióxido de carbono (CO_2), anteriormente armazenado no solo.

O setor pecuário influencia de forma negativa no reabastecimento dos lençóis freáticos, devido a compactação do solo, que diminui a infiltração da água, além de provocar a degradação das margens dos corpos hídricos (Souza, 2010). Assim, dejetos provenientes do setor pecuário, quando dispostos de forma inadequada, afetam negativamente as águas superficiais e subterrâneas, fazendo-se necessária a bioestabilização desses dejetos antes de destiná-los à natureza, para que não ocorra a emanação de maus odores e a proliferação de insetos (Stival; Errera; Aisse, 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, os dejetos de animais são responsáveis por mais de 100 tipos de doenças infecciosas e parasitárias (Krivtsova *et al.*, 2014), causando impactos negativos à saúde humana (Carleial *et al.*, 2010).

Ademais, é importante ressaltar que no interior do Brasil, grande parte dos resíduos gerados no campo recebem destinação final não adequada, como a queima, disposição à céu aberto ou escavação, como ocorre no interior do Tocantins (Nazareno *et al.*, 2024). Porém, deve-se destacar que a destinação correta destes resíduos traz benefícios ao meio ambiente e ajuda na obtenção de energias

renováveis (Krivtsova *et al.*, 2014), além do uso como adubo orgânico (Carleial *et al.*, 2010).

Desta forma,, no contexto dos Gases do Efeito Estufa (GEE), pesquisas buscam diminuir a emissão destes, como a integração de sistemas de cultivo e manejo de plantas e animais, através de lavoura-silvicultura, pecuária-silvicultura, lavoura-pecuária-silvicultura e agrofloresta multiestratos, relatados por Bieluczyk *et al.,* (2024). Outro exemplo é o projeto Pecuária conSCiente Carbono Zero, desenvolvido pelo governo de Santa Catarina juntamente com a Epagri (2022), que visa a redução das emissões de Gases do Efeito Estufa (GEE) provenientes da produção de bovinos por meio do mantenimento do pasto no campo, tendo como foco a recaptação de carbono emitida pelos gases gerados pela pecuária.

Além das medidas abordadas quanto aos GEE, a mitigação dos dejetos animais também vem sendo estudada para favorecer os proprietários rurais e a população de modo geral. Como por meio da utilização de diversos métodos de reaproveitamento dos dejetos que geram esses poluentes, através da utilização de esterqueiras, compostagem e o uso de biodigestores como um maneira mais eficiente no tratamento, aproveitamento, controle dos dejetos animais (Oliveira *et al.,* 2017). Em acréscimo, empresas integradoras recebem um incentivo financeiro para cada tonelada de carbono que é retida, denominado crédito de carbono, de modo que os recursos financeiros adquiridos serão aplicados na redução ou mitigação dos gases por meio da remoção de carbono da atmosfera (Rocha, 2003).

De acordo com a Contribuição Nacionalmente Determinada (NDC), um compromisso firmado por cada país signatário do acordo de Paris com o objetivo de reduzir as emissões de GEE, o Brasil se comprometeu a reduzir as suas emissões em 48% até 2025 e em 53% até 2030, em relação às emissões de 2005 que foram de 2,34 bilhões de toneladas de CO_2 equivalente. Dessa forma, o Brasil firmou um acordo com metas graduais mais robustas de redução de emissões com vistas a alcançar a emissão líquida zero em 2050.

De acordo com o Sistema de Estimativas de Emissões de Gases de Efeito Estufa (Seeg), o Brasil emitiu 2,3 bilhões de toneladas de gás carbônico equivalente em 2023, registrando uma redução de 12% em relação a 2022. Essa queda foi a maior dos últimos 15 anos, impulsionada principalmente pela diminuição do desmatamento na Amazônia (Tsai *et al.*, 2024). No entanto, de acordo com o último levantamento efetuado pelo Climate Watch em 2021, o país continua sendo o quinto

maior emissor de GEE no mundo, o que demonstra a necessidade de avanços contínuos para mitigar as emissões e fortalecer o combate às mudanças climáticas (Climate Watch, 2025).

3.3. Uso e aproveitamento dos resíduos na economia

Continuando no contexto das águas residuais, conforme descrito no relatório das Práticas Globais de Água do Banco Mundial (2017) a respeito da infraestrutura na América Latina, a valorização desse efluente como parte de um processo de economia circular, pode cooperar para uma eficiência nos investimentos, dada a necessidade da região investir estrategicamente nas águas residuais e outras infraestruturas de saneamento para conseguir atingir benefícios de saúde pública e as metas ambientais (Rodriguez *et al.*, 2020).

De acordo com Ellen McArthur Foundation (2014), a economia circular visa diminuir o desperdício e a poluição, por meio do mantenimento dos produtos e materiais em uso, além da regeneração dos sistemas naturais. Em outras palavras, substitui a definição do fim da vida útil pela restauração, eliminando o uso de produtos químicos tóxicos que causam prejuízos a reutilização e ao retorno desses efluentes a biosfera, gerando assim, energias renováveis, além de visar a eliminação de resíduos através do design superior de materiais, produtos, sistemas e modelos de negócio.

Atualmente, o tratamento de águas residuais e industriais ainda é largamente pensado de forma linear onde, primordialmente, ocorre o planejamento do abastecimento de água, depois o planejamento dos sistemas de esgoto e, por fim, os insumos de energia para o suprimento de ambos são ponderados somente quando os sistemas anteriormente citados são projetados e construídos (Rodriguez *et al.*, 2020). Isso evidencia a falta de preparo para um planejamento completo de toda a cadeia por onde esse efluente irá percorrer e das intervenções e tratamentos pertinentes a serem feitos, no intuito de aproveitá-los da melhor maneira possível.

Para alterar esse *modus operandi* é preciso haver uma mudança de paradigma, onde as águas residuais e efluentes industriais, de maneira geral, não devem ser pensados pelo estado e pela sociedade como um fardo, mas como uma oportunidade econômica que pode ser uma fonte de um recurso valioso.

Um exemplo de aplicação é a geração de bioenergia a partir do biogás produzido por processos microbiológicos anaeróbios. Esse gás pode ser convertido em energia elétrica, como ocorre na Alemanha, onde, em 2017, o biogás representou 23,42% da eletricidade gerada a partir de biomassa (IEA, 2020). Além disso, a produção de biogás tem promovido a diversificação das fontes de renda para muitos agricultores, facilitando a adoção dessa tecnologia e impulsionando seu crescimento no setor agrícola (Yang *et al.*, 2021).

Já na América Latina e caribe, temos os exemplos de Santiago - Chile e de Cuba, de modo que no Chile a produção de biogás transformou o tratamento de esgoto ao reduzir desperdícios por meio da conversão de resíduos em recursos valiosos, por meio do aumento da eficiência do saneamento através da utilização do biogás para aquecer biodigestores e abastecer a fábrica de gás da Metrogas, gerando um lucro de 1 milhão de dólares para a Aguas Andinas em 2017, salientando a viabilidade econômica da iniciativa (World Bank, 2019).

Já quanto à Cuba, o país possui um potencial estimado de aproximadamente 370 milhões de metros cúbicos de biogás anualmente, oriundo de dejetos de gado, incluindo bovinos (75%), suínos (15%) e aves (10%) (Suarez *et al.*, 2016). Contudo, a implementação e a expansão desse recurso ainda enfrentam desafios técnicos, financeiros e administrativos (Käkönen *et al.*, 2014).

Quanto ao Brasil, a Central de Bioenergia em Toledo / Paraná, atua na geração de biogás que é convertida à energia elétrica, suprindo parte da demanda energética da central (CIBiogás, 2024).

Nesse contexto, a geração de biogás surge como uma alternativa viável e eficiente para o tratamento de diversos efluentes poluentes, tais como águas residuais e efluentes industriais. Seu potencial de aplicação abrange diversos setores, incluindo a indústria têxtil, o saneamento e a agroindústria, destacando-se no tratamento de efluentes de laticínios e na gestão de dejetos animais.

3.4. Biogás

O biogás é composto por uma mistura gasosa resultante do processo de biodigestão anaeróbia, que ocorre de maneira natural, porém, com os avanços da tecnologia é possível conduzir a produção desse biocombustível. Na sua geração ocorre a biodegradação de substratos por meio da microbiota presente no inóculo,

resultando na produção de metabólitos gasosos, tais como CO_2 e CH_4, sendo esses alguns dos produtos de seus processos metabólicos.

Tabela 1: Composição média de gases presentes no Biogás.

Gases	Proporção %
Metano (CH_4)	50 - 70
Dióxido de Carbono (CO_2)	30 - 45
Hidrogênio (H_2)	1 - 2
Amônia (NH_4)	1 - 2
Ácido Sulfídrico (H_2S)	1 - 2
Nitrogênio (N_2)	Traço
Oxigênio (O_2)	Traço
Monóxido de Carbono (CO)	Traço

Adaptado de Matheri; Sethunya; Belaid; Muzenda, 2018.

Por meio da purificação do biogás, é possível obter o biometano, um gás com um alto poder calorífico, possuindo uma composição entre 95% e 99% de metano, podendo este ser uma alternativa ao uso do gás natural, oriundo de uma fonte não renovável fóssil. Em comparação com a gasolina por exemplo, o biometano consegue reduzir em até 90% das emissões de poluentes, tendo também a possibilidade de ser 30% mais eficiente que o etanol (CIBiogás, 2024).

De acordo com a ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), através do programa RenovaBio criado em 2017, 117 milhões de toneladas de CO_2 foram evitadas até janeiro de 2024.

3.5. Geração de Biogás

A geração de biogás se dá por meio da digestão anaeróbia (DA), um processo regido pelos microrganismos presentes no inóculo que atuam de modo sintrófico degradando o substrato presente no meio em partes menores e mais

digestíveis para serem consumidas ao longo do processo (Prabhu *et al.,* 2020). Em complemento, de acordo com Mir (2016), a digestão anaeróbica é o processo biológico em que a biodegradação e estabilização de matéria orgânica complexa em anaerobiose com um consórcio microbiano, levam à formação de biogás rico em energia.

3.5.1. Hidrólise

Nesta fase os compostos de alta massa molecular, tais como polissacarídeos, lipídios e proteínas são degradados a monômeros, partes menores e mais solúveis, sendo essa fase crucial para a velocidade do processo metabólico. Tais modificações são possíveis devido à presença de enzimas hidrolíticas extracelulares secretadas pelos microrganismos presentes no meio, tais como *Bacillus, Bacteroides e Eubacterium*, por meio da secreção de amilases, proteases, ligninases, por exemplo (Soares *et al.*, 2017).

De acordo com Kunz, (2022), a hidrólise é a responsável pelo tempo global da DA, justamente pela sua capacidade de tornar os nutrientes mais biodisponíveis para os demais microrganismos das próximas fases do processo; de modo que esse tempo pode variar dependendo das condições de pH, tamanho, distribuição das partículas, temperatura e tempo de retenção hidráulica. De modo que com carboidratos, por exemplo, essa fase pode ocorrer em horas, já se tratando de lipídeos, proteínas e materiais ligno-celulósicos, esse processamento pode levar alguns dias para a sua completa hidrolização.

3.5.2. Acidogênese

Após o substrato ser hidrolisado, os produtos dessa fase são absorvidos e utilizados por diversos microrganismos anaeróbios e facultativos, sendo esses processados na fase acidogênica e transformados em ácidos orgânicos de cadeia curta, ou AGV'S, como ácido butírico, propiônico e acético, além de álcoois, óxidos de nitrogênio, sulfeto de hidrogênio, hidrogênio e dióxido de carbono (Kunz, 2022).

Contudo, a presença de nitratos e oxigênio é considerada danosa ao processo anaeróbio, devido à alteração química do ambiente onde os microrganismos operam por meio de seus metabolismos para produzir o biogás. Dessa forma, a existência de bactérias removedoras de O_2 (anaeróbias facultativas) é crucial para a remoção deste componente e para a manutenção da anaerobiose

do meio, de modo que elas permitem o desenvolvimento de anaeróbios obrigatórios, tais como *Micrococcus, Pseudomonas* e *clostridium* (Ali Shah, 2014; Mir, 2016).

Também vale citar que caso sejam formadas grandes quantidades de ácidos, isso poderá afetar negativamente os microrganismos metanogênicos, o que dificulta a sintetização do produto de interesse (Induchoodan, 2022).

3.5.3. Acetogênese

Nesta fase, os produtos da acidogênese, como AGV's, lactato e etanol, são convertidos em ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono pela ação das acetobactérias. Essas bactérias atuam de forma sintrófica com as homoacetogênicas e as arqueias metanogênicas, estabelecendo um equilíbrio metabólico essencial para o processo (Zamboni, 2020).

Durante essa etapa, ácidos de cadeia longa são degradados em compostos menores, como ácido acético e ácido fórmico, com a concomitante liberação de hidrogênio e dióxido de carbono (Kunz, 2020). As bactérias homoacetogênicas desempenham um papel fundamental no balanço desses gases, convertendo hidrogênio e gás carbônico em acetato. Além disso, para que a produção de ácidos de cadeia curta ocorra de maneira estável, é essencial que o hidrogênio gasoso seja consumido pelas arqueias metanogênicas, promovendo a continuidade da biodigestão (Kunz, 2020).

3.5.4. Metanogênese

A metanogênese ocorre sob um ambiente exclusivamente anaeróbio, viabilizado por arqueias, podendo elas ser acetoclásticas e hidrogenotróficas, de modo que as acetoclásticas, heterótrofas, tais como *Methanosarcina sp* e *Methanothrix sp* utilizam o acetato produzido na fase anterior na produção de CO_2 e metano; já as hidrogenotróficas, autortrófas, tais como *Methanobacterium sp, Methanobrevibacter sp* e *Methanospirillum sp* reduzem o CO2 a metano e utilizam hidrogênio como doador de elétrons (Reis, 2012).

Uma das particularidades do processo é que as arqueias acetoclásticas são sensíveis às variações de pH, de modo que quando essa condição se faz uma realidade, o acetato é convertido a H_2 e CO_2 para que as arqueias hidrogenotróficas sigam com o processo de geração do metano (Kunz, 2022).

3.6. Fatores interferentes na biodigestão anaeróbia

Uma particularidade que permeia todas as rotas bioquímicas delineadas pelos microrganismos presentes no processo de biodigestão, são as condições ideais para o mantenimento e para que as reações de conversão da matéria orgânica possam ocorrer. Diante disso, diversos fatores como operacionais, assim como abióticos, tais como concentração de sólidos, temperatura, pH, alcalinidade, relação C:N:P:S, concentração de matéria seca, elementos traços e potencial redox específicos (Kunz *et al.*, 2022). Vale salientar que cada um desses fatores, podem variar de acordo com o tipo de substrato e o inóculo empregado (Induchoodan, 2022).

No caso da temperatura, esse é um importante fator ambiental na DA, pois esta afeta os processos biológicos de diversas formas, tais como a influência na produção de AGV'S, na concentração de nitrogênio amoniacal, na taxa de utilização dos substratos, assim como também nas taxas de reações enzimáticas e na desnaturação dessas enzimas, além da capacidade dos microrganismos em produzi-las, de modo que tais interferências afetam a eficiência do processo de processamento do material orgânico (Reis, 2012; Yadav, Singh, 2018).

No contexto da biodigestão anaeróbia, os tipos de microrganismos quanto a temperatura mais empregados nesse campo são da faixa mesófila (25°C - 40°C) e termófila (50°C - 65°C), de modo que os microrganismos da faixa termófila apresentam uma grande eficiência na produção de biogás, entretanto também atuam fortemente na produção de ácidos graxos voláteis, o que pode ocasionar um desbalanceamento entre a produção e o consumo desses ácidos, que não pode ser superior à 200 mg/L (Chernicaro, 1997), além de causar distúrbios nas arqueias metanogênicas, que possuem um crescimento mais lento em relação às bactérias hidrolíticas e fermentativas. Já na faixa mesofílica, Kunz (2022) indica que a temperatura ótima de desenvolvimento microbiano está na faixa de 37 ± 2 ºC.

No que se refere à medida da concentração de íons H^+, ou pH, esse fator desempenha um papel equivalente ao da temperatura, no que se refere à atividade enzimática. As enzimas são sensíveis a variações de pH, podendo ser ativadas ou inativadas dentro de uma faixa específica e limitada, o que impacta significativamente a velocidade das reações (Lay *et al.*, 1997, *apud* Reis, 2012). A literatura indica que, para cada fase do metabolismo na rota bioquímica da biodigestão, é necessário um intervalo adequado de pH. Por exemplo, na hidrólise e

acidogênese, a faixa ideal varia entre 5,5 e 6,5 (Kim *et al.*, 2011). Já na metanogênese, o pH ótimo é em torno de 7,0, podendo variar entre 6,5 e 8,0 (Lee *et al.*, 2009).

Um conceito que permeia o equilíbrio desse fator, é a alcalinidade, de modo que uma alta alcalinidade promove estabilidade para o sistema, por evitar flutuações de pH (Zamboni, 2021). Esse estado é resultante da presença de determinados compostos no sistema, tais como carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, que atuam no tamponamento do sistema (Edwiges, 2017). A importância desse fator é tamanha, de modo que um pH abaixo de 6,3 por exemplo, pode ocasionar uma fermentação ácida no sistema em relação à metanogênese, aumentando a concentração de ácidos graxos voláteis, causando assim um desequilíbrio no sistema, além de afetar o mantenimento dos microrganismos responsáveis por esta fase da rota metabólica. Mas vale ressaltar, que o aumento dessa faixa também não é saudável para o sistema, visto que um pH acima de 8,3 pode inibir a manutenção dos microrganismos geradores de metano. De acordo com Hao *et al.,* (2013) uma faixa de pH acima de 7,5 pode inibir a metanogênese acetoclástica, além de ocasionar mudanças na comunidade microbiana, permitindo que somente grupos mais tolerantes permaneçam no meio, tais como bactérias oxidantes de acetato sintróficas e metanogênicos hidrogenotróficos.

Quanto à carga orgânica inserida no sistema, o seu aumento pode ocasionar uma maior geração de biogás a depender da capacidade de processamento dos microrganismos presentes, entretanto, a sua sobrecarga pode ocasionar o acúmulo de AGV’s no meio, levando a uma perda de eficiência na produção de metano, devido ao desbalanço que ocorrerá entre os microrganismos presentes na hidrólise/acidogênese em relação à metanogênese (Edwiges, 2017).

Tanto o excesso quanto a falta nesse contexto são pontos sensíveis, dessa forma, o balanço orgânico entre os nutrientes presentes no meio também é essencial, como a relação entre carbono e nitrogênio (C/N). De acordo com a literatura, a relação ideal entre esses dois agentes seria numa proporção que varia entre 10-45 na hidrólise e de 20:35 na metanogênese (Wellinger *et al.*, 2013, *apud*, Kunz, 2022). Índices abaixo desta faixa, indicam substratos ricos em proteína e em um processo de biodigestão anaeróbia, resultam na liberação de elevados teores de amônia livre, de maneira que o pH do meio afeta a proporção entre amônia livre (NH_3) e íon amônio (NH_4^+), pois um pH mais alcalino pode favorecer a presença de

amônia livre, e por conseguinte uma acidificação do meio que pode ser tóxica para os microrganismos (Edwiges, 2017).

Referente aos microrganismos envolvidos no processo de biodigestão, esses são compostos por 12% de nitrogênio, 2% de fósforo e 1% de enxofre de matéria seca, de modo que esses nutrientes precisam ser disponibilizados para que ocorra a manutenção da microbiota. Já para o processo anaeróbio ser viabilizado, é essencial que a proporção de 700:5:1 de O_2, N e P sejam fornecidos (Kunz, 2022). Em complemento, a quantidade de nitrogênio e fósforo, em relação à matéria orgânica presente, está diretamente relacionada à capacidade de processamento dos microrganismos em obter energia para a síntese, por meio das reações bioquímicas de oxidação do substrato orgânico (Louzada, 2006 *apud*, Soares *et al.*, 2017).

Quanto aos íons enxofre, potássio, cálcio, magnésio, cloro e sulfato, são fundamentais para o pleno funcionamento da DA. Já os elementos traço são cruciais para o desenvolvimento celular, tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, molibdênio e vanádio (Kunz, 2022). Tal importância se dá pois apesar de serem necessários em pequenas quantidades, estes são essenciais para a realização de funções vitais como a produção de energia, síntese de biomoléculas e defesa antioxidante; além de serem indispensáveis na catalisação de reações enzimáticas e para o funcionamento de processos celulares (Myszograj *et al.*, 2018). Quanto à carga orgânica, de acordo com Deublein D. (2008 apud, Myszograj *et al.*, 2018) a proporção de C:N:P:S = (500-1000):(15-20):5:3.

Referente ao potencial redox, esse fator é crucial para a digestão anaeróbia, devido a viabilização de transferência de elétrons, atuando na melhora da metanogênese e estabilizando o processo. Nesse contexto, a alteração desse parâmetro afeta a capacidade de redução ou oxidação da DA (Vu *et al.*, 2022), assim como a utilização de materiais redox-ativos e seu monitoramento podem melhorar a eficiência e estabilidade desses sistemas (Wang *et al.*, 2016).

Um outro fator relevante é a demanda química de oxigênio (DQO), parâmetro que consegue averiguar o teor de matéria orgânica a ser degradada pela microbiota dentro do contexto da DA. Dessa forma, valores altos de DQO podem indicar que tal material a ser degradado tem um alto potencial em ser convertido em biogás e metano (Kumar *et al.*, 2020). Contudo, a sua concentração deve ser condizente com a capacidade de processamento do inóculo, pois altos teores de DQO podem

ocasionar a inibição da atividade metanotrófica, afetando assim a digestibilidade do substrato e a produção de metano (Bishoff *et al.*, 2021).

3.6.1. Qualidade do biogás

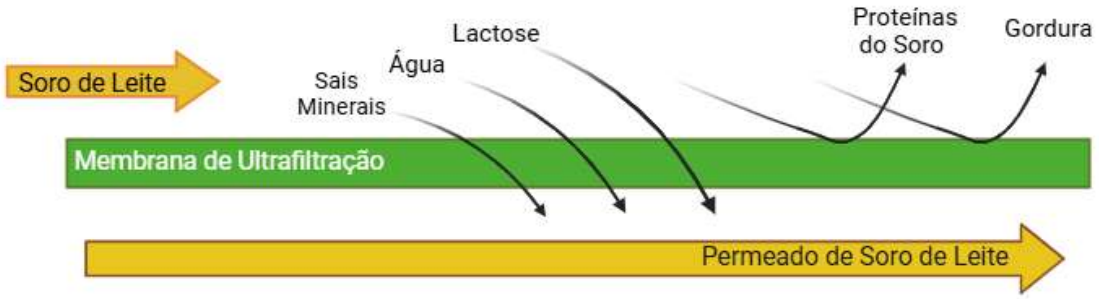
O biogás possui em sua composição diversos gases, tendo como majoritários o metano (CH_4) e o dióxido de carbono (CO_2) (Tabela 1). Quanto aos demais gases, geralmente eles se apresentam em baixos percentuais. Contudo, nem todo biogás gerado possui em sua constituição essas proporções, o que afeta a qualidade do combustível gerado. A depender do substrato utilizado para a alimentação do sistema da DA, diversos gases para além do CH_4 e CO_2 podem ser gerados, tais como H_2S, NH_4^+, O_2, H_2, gases esses que em teores desbalanceados podem prejudicar a performance da microbiota na digestibilidade do substrato contido no meio.

Um exemplo seria a utilização de silagem e sorgo como substrato, pois esses acabam ocasionando o aumento da produção de H_2S, podendo ser prejudicial para o sistema (Tauš *et al.,* 2020). Em acréscimo, substratos ricos em proteínas apesar de possuírem um alto potencial na produção de biogás, podem acarretar o acúmulo de amônia e H_2S, fazendo necessário um monitoramento e controle rigoroso de todo o processo (Kovács *et al.*, 2013). Outros substratos, como o permeado de soro de leite, associam as características de alta produção pela indústria, desta forma, estando disponíveis em grande quantidade, com a riqueza de proteínas e, portanto, apresentam potencial considerável de produção energética.

3.7. Permeado de Soro de Leite Bovino

O permeado de soro de leite bovino é um subproduto obtido a partir da ultrafiltração do soro de leite, processo que visa reter as proteínas e gorduras para serem utilizadas em outras aplicações, como na produção de produtos ricos em proteínas, tais como suplementos alimentícios. Após a ultrafiltração, o efluente resultante apresenta uma composição com elevados teores de lactose, água e sais minerais (Figura 2), caracterizando-se como um resíduo industrial com potencial para aproveitamento.

Figura 2. Esquema de ultrafiltração para obtenção do permeado de soro.



Fonte: Adaptado de Carvalho, Hahn, 2018; Araújo, 2018 - Criado no Bio Render.

Por se tratar de um concentrado a partir do soro de leite, ele detém grande parte dos açúcares contidos nesse efluente industrial. Em um estudo efetuado por Zempulski *et al.* (2014), a respeito da capacidade do permeado de soro de queijo produzir AGVs, foi detectado que esse efluente contém em média 150 g L^{-1} de lactose, o que corresponderia a 150 g L^{-1} de açúcares redutores, de modo que este valor corresponde quase a totalidade da DQO (150000 mg L^{-1}) presente no permeado.

No mesmo estudo, também foi analisada a capacidade da manipueira de produzir AGVs. Embora tenha apresentado um teor menor de DQO, a manipueira demonstrou uma conversão mais eficiente para AGVs em comparação ao permeado, resultando em uma maior produtividade. O trabalho relaciona esse desempenho ao menor teor de DQO da manipueira e ao fato de que seu pico de produção de AGVs ter sido alcançado em um tempo reduzido (Zempulski *et al.,* 2014).

O permeado de soro de queijo é fonte de sais minerais, compostos nitrogenados, eletrólitos, água e principalmente lactose (15%). Assim, acredita-se que esses constituintes, além da DQO elevada, também podem ter contribuído para a alta produção de AGV's (Zempulski *et al.,* 2014). Nesse sentido, a alta produção de AGV's no contexto da produção de biogás é um ponto delicado, pois o seu acúmulo está relacionado a alterações em outros parâmetros, como o pH, a Demanda Química de Oxigênio (DQO), e a alcalinidade, que são fundamentais para controlar a percentagem de produção de metano e garantir a sanidade do processo de digestão anaeróbia (Araújo, 2022).

Quanto à fonte do permeado de soro de leite bovino, ele advém do soro de leite, um substrato rico em compostos orgânicos e inorgânicos, apresentando uma

coloração verde-amarelada devido à riboflavina (vitamina B2) (Booher, 1938; Fedorovych, 2024). Sua composição é majoritariamente aquosa (93-94%), contendo lactose, proteínas solúveis, gorduras, ácidos orgânicos e sais minerais (Delaney, 1976; Tsermoula *et al.*, 2021; Nishanthi *et al.*, 2017).

O soro de leite também é caracterizado por uma alta carga orgânica principalmente devido ao seu teor de lactose, que pode representar até 90% da carga orgânica total. Os teores de gordura e proteína no soro variam significativamente, contribuindo para o seu impacto ambiental e potencial para conversão de produtos de valor agregado (Albuquerque *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2015).

Os índices de DBO e DQO situam-se entre 27-60 kg/m³ e 50-102 kg/m³ (equivalentes a 50.000-102.000 mg/L O_2), com uma razão DBO/DQO geralmente superior a 0,5, favorecendo processos biológicos (Prazeres *et al*., 2012). A presença de sais minerais, principalmente NaCl, KCl e fosfatos de cálcio, contribui para a contaminação inorgânica (Backus *et al.*, 1988), enquanto o pH, que varia entre 3,8 e 6,5, pode influenciar a estabilidade dos processos biotecnológicos, favorecendo a acidificação rápida e o crescimento de biomassa filamentosa (Prazeres *et al.*, 2012).

Quanto a microbiota incidente no permeado, algumas espécies são citadas pela literatura. De acordo com Paveleva *et al.* (2023), a microbiota característica do permeado de soro é composta por microrganismos lácticos e bacteriófagos. Ele destaca que essa microflora apresenta uma resistência considerável às condições naturais desse efluente, possuindo, então, uma capacidade de adaptação rápida a fatores ambientais, como altas temperaturas e mudanças de acidez.

Marcus *et al.* (2021) acrescenta que diversas espécies de leveduras e fungos são capazes de fermentar o permeado de soro de leite, e por essa capacidade podem ser incidentes nesse efluente. Dentre eles as espécies *Kluyveromyces marxianus* e *K. lactis* são reconhecidas por sua eficiência na metabolização da lactose, enquanto *Dekkera anomala*, *Brettanomyces claussenii* e *B. bruxellensis* possuem aplicações na fermentação de bebidas e podem ser empregadas no soro de leite. Já entre os fungos, o artigo relata *Mucor genevensis* e *Aureobasidium pullulans*, onde o último se destaca por atuar na decomposição de lactose.

4 METODOLOGIA

4.1 - Substrato e inóculo utilizados nos ensaios

No presente trabalho, avaliou-se diferentes características e condições relativas ao permeado de soro de leite bovino, além da influência deste substrato na produção de biogás. As amostras foram fornecidas pelo Centro Internacional de Energias Renováveis - CIBiogás, situado no Itaipu Parquetec - ITAIPU, em Foz do Iguaçu - PR. Elas foram coletadas em uma agroindústria do oeste do Paraná, sendo estas oriundas do processo de ultrafiltração, gerando um permeado na faixa de 2,5% a 18% de sólidos totais, e permaneceram acondicionadas sob refrigeração (0ºC a 6ºC) no período que antecedeu a realização das análises.

Para a produção de biogás foi utilizado ainda um inóculo, também doado pelo CIBiogás, composto da mistura de lodo de digestores, isto é, resíduos de processos de digestão anaeróbia, que contém a microbiota ainda ativa e uma base de nutrientes, juntamente com uma proporção de 1:1 de efluente de suinocultura e bovinocultura, podendo ser mesclado com dejeto bovino fresco. Quanto ao seu regime de alimentação, ele passou por incrementos periódicos de efluente suíno e dejeto bovino em uma proporção de 7:1, respectivamente, além de receber uma alimentação balanceada cotidiana tendo como base lipídios, carboidratos e proteínas, em quantidades que variam de 0,3 a 0,5 g de sólidos voláteis (SV), por litro de inóculo. Quanto às condições de acondicionamento do inóculo, ele foi mantido na temperatura mesofílica de 37±2°C e com agitação lenta, para manutenção da sua homogeneidade (Figura 3).

Para efeito de caracterização inicial do permeado de soro e determinação das condições ideais para avaliações posteriores, dividiu-se a metodologia em duas fases: na primeira, os parâmetros principais da amostra como pH, sólidos fixos (SF), sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV), demanda química de oxigênio (DQO), sulfato e potencial bioquímico de metano (PBM) foram avaliados. Além disso, devido ao fato de se acreditar que a microbiota do permeado do soro de leite pudesse contribuir para a acidificação do processo e a alta produção de H_2S (dados do CIBiogás não disponíveis), buscou-se, através de tratamento térmico do permeado, a temperatura ideal para a obtenção da esterilidade das amostras, como uma forma de haver maior controle do processo de obtenção de biogás. Na segunda fase, os

parâmetros previamente definidos foram aplicados e novos ensaios, para a caracterização qualitativa e quantitativa do biogás produzido, foram realizados. As avaliações realizadas e respectivas técnicas empregadas estão sumarizadas na Tabela 2.

Figura 3. Reator anaeróbio destinado ao cultivo do inóculo.

Fonte: A autora.

Tabela 2. Ensaios efetuados ao longo do estudo.

PARÂMETRO	UNIDADE	MÉTODOS UTILIZADOS
pH	upH	Potenciométrico SMEWW método 4500 - H^+
Sólidos Totais, Fixos e Voláteis	%	Gravimétrico Adaptado de SMEWW método 2540
Potencial Bioquímico de Metano	LN de biogás/ kg de SV LN metano/ kg de SV	Fermentativo VDI 4630: 2016 DIN 38414 Part 8
Demanda Química de Oxigênio	mg/L O_2	EPA 410.4, APHA 5220 D, e ASTM D12252-06 B
Sulfato	mg/L	EPA 375.4, APHA 4500-SO_4^{2-} E, e ASTM D516-11
Qualidade do biogás	% (mol/mol) de CO_2, CH4, O_2 ppm (µmol/mol) de H_2S e CO	Eletroquímico e Infravermelho VDI 4630: 2016 ABNT NBR 14903:2014

Fonte: A autora.

4.2. Determinação do pH e neutralização do permeado de soro de leite bovino

Foram separadas sete alíquotas de 70 mL da amostra do permeado de soro de leite bovino, elas foram fracionadas por meio da utilização de proveta e reservadas em temperatura ambiente ao longo de oito dias. Nesse período, o pH das amostras foi avaliado por meio do pHmetro Metrohm 848 Titrino Plus.

Ao término deste acompanhamento, foi efetuada a neutralização da amostra *in natura* previamente acondicionada sob refrigeração até o pH de 7,8, utilizando hidróxido de sódio 1 mol/L e foi observado se o pH sofreria variações ao longo de oito dias, em temperatura ambiente.

4.3. Determinação de sólidos totais e de sólidos fixos do permeado de soro de leite bovino

O ensaio de sólidos totais, que visa identificar o teor de sólidos orgânicos e inorgânicos da amostra, foi conduzido por meio da secagem da amostra em estufa a 104°C ao longo de quatro horas e, posteriormente, a 104°C por 60 minutos, sendo a análise conduzida em duplicata, de modo que as massas foram registradas ao término de cada fase do ensaio, tendo como objetivo que a redução da massa alcançasse no máximo 0,0500 g entre as pesagens

O ensaio de sólidos fixos, que visa identificar a parcela inorgânica da amostra, foi conduzido por meio da calcinação da amostra previamente seca, a 550°C por quatro horas e depois a 550°C por uma hora. Entre cada fase do ensaio, as massas das duplicatas foram aferidas, tendo como objetivo que a redução da massa alcançasse no máximo 0,0500 g entre as pesagens. A sua determinação ocorreu por meio das equações descritas abaixo, de modo que a média das replicatas necessita apresentar um desvio padrão relativo inferior a 10%.

Determinação do percentual de sólidos voláteis:

$$(ST) = \left(\frac{(P2 - P1)}{PA}\right) * 100 \quad (1)$$

$$(SFBS) = \left(\frac{(P3 - P1)}{P2 - P1}\right) * 100 \quad (2)$$

$$(SFBU) = \left(\frac{(P3 - P1)}{(PA)}\right) * 100 \quad (3)$$

Onde:

ST=Sólidos Totais
SFBS=Sólidos Fixos em Base Seca
SFBU=Sólidos Fixos em Base úmida

4.3.1. Determinação de Sólidos Voláteis

Os sólidos voláteis, isto é, o conteúdo orgânico que foi volatilizado através da calcinação dos sólidos fixos, foram avaliados por meio de uma adaptação do método 2540 E descrito no Standard Methods (APHA, 2023). A sua determinação ocorreu por meio das equações descritas abaixo, de modo que a média das replicatas necessita apresentar um desvio padrão relativo inferior a 10%.

Determinação do percentual de sólidos voláteis:

$$(SVBS) = \left(\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)}\right) * 100 \quad (4)$$

$$(SVBU) = \left(\frac{(P2 - P3)}{(PA)}\right) * 100 \quad (5)$$

Onde:

SVBS=Sólidos Voláteis em Base Seca
SVBU=Sólidos Voláteis em Base úmida
P_1 = massa cápsula ou cadinho vazio;
P_A = massa da amostra;
P_2 = massa da cápsula ou cadinho + sólidos totais da amostra;
P_3 = massa da cápsula ou cadinho + sólidos fixos.

Determinação do percentual de sólidos voláteis em grama por quilograma de permeado de soro de leite bovino (g/kg):

$$(ST) = \left(\frac{(P2 - P1)}{PA}\right) * 1000 \quad (6)$$

$$(SFBS) = \left(\frac{(P3 - P1)}{P2 - P1}\right) * 1000 \quad (7)$$

$$(SVBS) = \left(\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)}\right) * 1000 \quad (8)$$

$$(SFBU) = \left(\frac{(P3 - P1)}{(PA)}\right) * 1000 \quad (9)$$

$$(SVBU) = \left(\frac{(P2 - P3)}{(PA)}\right) * 1000 \quad (10)$$

Onde:

ST=Sólidos Totais
SFBS=Sólidos Fixos em Base Seca
SVBS=Sólidos Voláteis em Base Seca
SVBU=Sólidos Voláteis em Base úmida
P_1 = massa cápsula ou cadinho vazio;
P_A = massa da amostra;
P_2 = massa da cápsula ou cadinho + sólidos totais da amostra;
P_3 = massa da cápsula ou cadinho + sólidos totais fixos.

4.4. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

O permeado de soro de leite *in natura*, previamente armazenado em geladeira, foi homogeneizado em temperatura ambiente, teve o pH aferido por meio de uma fita colorimétrica, e prosseguiu-se para uma diluição de 50 vezes em água destilada, por meio de uma pipeta volumétrica e balão volumétrico calibrados. Para isso, foi adicionado 1 mL da amostra previamente diluída na cubeta disponível no kit do ensaio de Demanda Química de Oxigênio (DQO) - Merck, com um intervalo de medida de 500 - 9000 (mgO_2/L). O método é análogo ao EPA 410.4, APHA 5220 D, e ASTM D12252-06 B.

A solução foi agitada manualmente de forma vigorosa e a sua digestão foi efetuada por meio do aquecimento no bloco termoreator Biothec BT 750 durante 120 minutos a 150°C.

Após a digestão, foram aguardados 10 minutos, a cubeta foi novamente agitada e foi aguardado o completo resfriamento da solução até a temperatura ambiente.

Após esse processo, por meio do espectrofotômetro UV/VIS marca Merck - modelo Pharo 300, foi efetuada a leitura da amostra previamente preparada. O branco utilizado consistiu no composto formado por K_2Cr2O_7, H_2SO_4, Ag_2SO_4, $HgSO_4$ e água destilada, sendo o branco aferido antes e depois de cada amostra. As leituras foram efetuadas tomando cuidado para que o tubo não fosse agitado nessa fase para manter a estabilidade da solução. A leitura foi realizada em duplicata para garantir a precisão dos resultados.

4.5. Potencial Bioquímico de Metano (PBM)

Para a determinação do PBM, as amostras foram incubadas em duplicata na proporção de 96% de inóculo e 4% de amostra de permeado de soro, seguindo a proporção de SV de 1:3 (1 SV de amostras para 3 SV de inóculo), como descrito na norma da VDI 4630 (2016). Nesse ensaio, utilizou-se como um padrão para mensurar a atividade biológica do inóculo, a celulose, e sua recuperação indica que o inóculo está apto para consumir matéria orgânica (VDI 4630, 2016; DIN 38414-8).

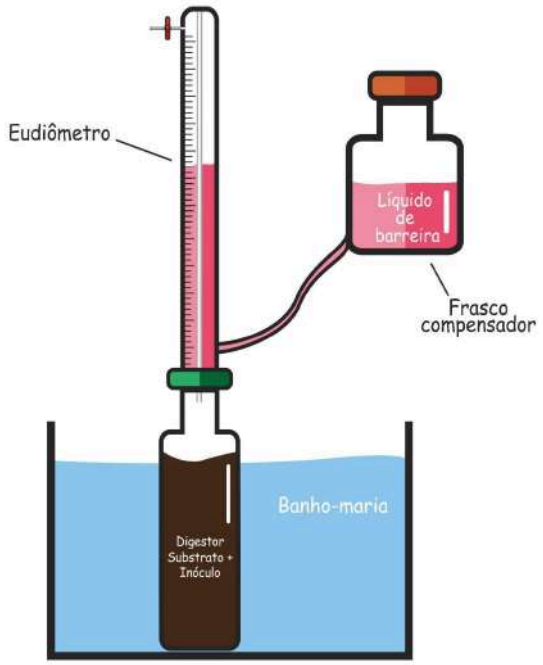
Referente ao inóculo, ele possui uma composição oriunda da mistura de lodo de outros digestores, juntamente com uma proporção de 1:1 de efluente de suinocultura e bovinocultura, podendo ser mesclado com dejeto bovino fresco. A respeito do seu perfil microbiano, um estudo efetuado por Ottoni *et al.,* (2022) identificou diversos filos, tais como Firmicutes, Bacteroidota, Chloroflexi, Synergistota e representantes dos filos metanogênicos Halobacterota e Euryarchaeota. Vale também acrescentar que foram identificados por meio de isolamento os filos Actinobacteria e Proteobacteria, sendo os dois últimos envolvidos no metabolismo de açúcares e no processo de produção de metano anaeróbico.

Quanto ao seu regime de alimentação, o inóculo passa por incrementos espaçados de modo periódico de efluente suíno e dejeto bovino em uma proporção de 7:1, respectivamente, além de receber uma alimentação balanceada cotidiana tendo como base lipídios, carboidratos e proteínas, em quantidades que variam de (0,3 a 0,5) gramas de sólidos voláteis, por litro de inóculo. Quanto às condições de

acondicionamento do inóculo, ele é mantido na temperatura mesofílica (37±2)°C e em agitação lenta, para manutenção da sua homogeneidade.

Para a incubação, o inóculo e o permeado de soro de leite *in natura* foram adicionados a um frasco digestor que foi posteriormente acoplado a um eudiômetro, uma vidraria volumétrica e calibrada responsável por quantificar a produção de biogás ao longo do ensaio e um frasco Mariotte (frasco de compensação), interligados por uma mangueira, contendo uma solução saturada de ácido sulfúrico (H_2SO_4), sulfato de sódio decahidratado ($Na_2SO_4.10.H_2O$) e alaranjado de metila, para que os volumes de produção do gás pudessem ser aferidos cotidianamente (Figura 3 e 4).

Figura 4. Sistema de análise do ensaio de PBM.



Fonte: Adaptado de VDI 4630 (2016).

O digestor acoplado a esse sistema foi mantido em banho maria a 37,0 (±2,0) ºC, durante o período de incubação, que nesse estudo foi 29 dias.

Ao longo do experimento, foram analisados os gases produzidos, como CH_4 e H_2S por meio de um analisador de gás Landtec – GA 5000 - Portátil. A leitura foi efetuada por meio da inserção de uma agulha (ligada a uma mangueira e ao equipamento) no septo localizado no topo do eudiômetro, para que o gás pudesse ser coletado pelo equipamento e analisado (Figura 4).

Figura 5. Mensuração do Potencial Bioquímico de Metano (PBM).

Legenda: (a) Leitura de gás produzido ao longo do ensaio pelo analisador de gás. (b) Proporção dos gases analisados. Fonte: A autora.

4.6. Tratamento Térmico do Permeado de Soro de Leite.

A seguir, amostras de permeado foram preparadas para o tratamento térmico, com o intuito de se obter a esterilidade, porém, sem que as estruturas dos componentes do substrato (especialmente proteínas e açúcares) fossem alteradas. Essa fase do experimento foi conduzida nos laboratórios do Departamento de Laboratórios de Ensino (DELABEN), da Universidade Federal da Integração Latino Americana (UNILA). Desta forma, o permeado foi aliquotado em ambiente estéril por meio de pipeta volumétrica 45 mL e, em seguida, adicionado à Erlenmeyers de 50 mL, sendo esses vedados com tampões de algodão e papel filtro, estando todos os materiais utilizados estéreis.

O ensaio foi executado em 3 faixas de temperatura distintas, sendo elas 70°C, 95°C e 120°C, conforme a tabela 3. O tratamento foi executado em triplicata e um dos recipientes serviu como controle de temperatura, por meio da inserção de um termômetro tipo espeto, vedado com filme plástico de parafina (Parafilm M®), previamente higienizados com álcool 70% e esterilizados em luz UV por 15 minutos (Figura 6).

Nos tratamentos à 70°C e 95°C, quando chegou a metade do período de tratamento (Tabela 3), as amostras foram retiradas do banho maria, de modo que

um dos recipientes foi refrigerado com banho de gelo até a temperatura ambiente e o outro chegou à temperatura ambiente naturalmente, para que fosse possível avaliar se a diminuição forçada da temperatura auxiliaria na conservação das estruturas presentes na amostra. Após o completo resfriamento, as amostras retornaram ao banho maria para finalizar o tratamento térmico.

Quanto ao tratamento a 120°C, as amostras foram submetidas à autoclave vertical analógica com pedal 150 litros Prismatec por 20 minutos. Após este período, uma das triplicatas foi submetida ao banho de gelo e a outra resfriou de forma natural.

A respeito do período de tratamento em cada faixa de temperatura, a faixa inicial foi baseada na metodologia que já é utilizada na Central de Bioenergia de Toledo, que opera na sanitização de carcaças de porcos por 2 horas a 80°C (Michailidou *et al.*, 2024).

No estudo aqui realizado, por se tratar de permeado de soro de leite bovino, em função das reações de Maillard (Francisquini *et al.*, 2017) e dos objetivos do estudo, optou-se por testar as faixas de temperatura e tempo de tratamento descritos na tabela 3.

Tabela 3. Tratamento Térmico de amostras do Permeado de Soro de Leite.

Identificação	Tratamento Térmico à Quente	Tratamento (tempo e técnica)
P1	70°C	60 minutos em Banho Maria*
P2	95°C	30 minutos em Banho Maria*
P3	120°C	20 minutos em Autoclave

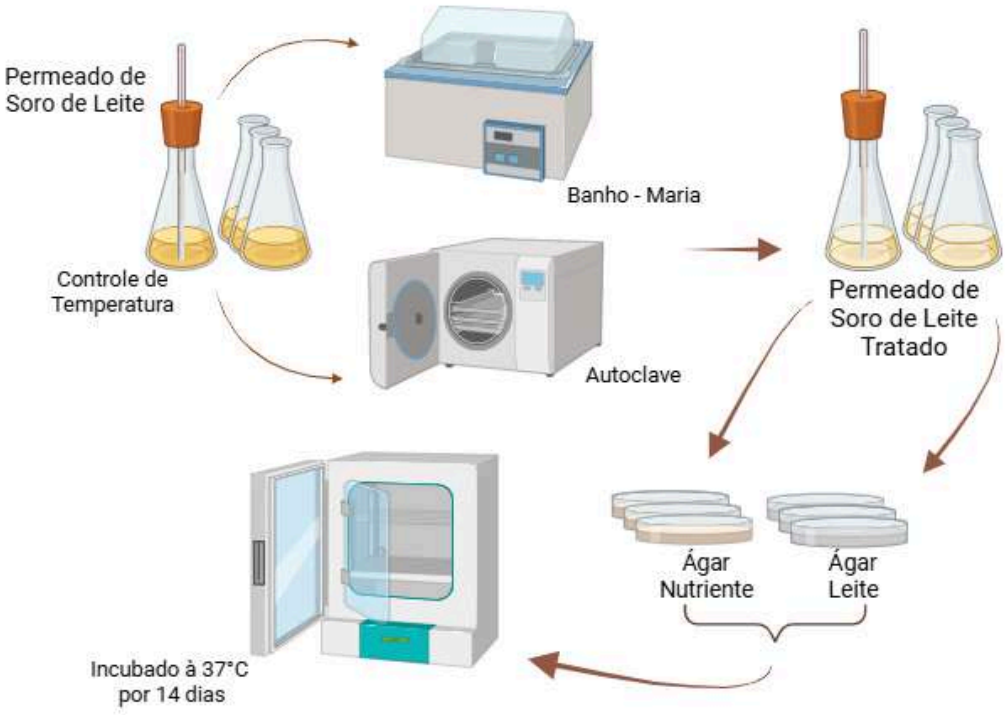
*As amostras foram submetidas a resfriamento na metade do tempo do tratamento, em banho de gelo e temperatura ambiente.
Legenda: P1, P2 e P3 indicam os tratamentos a 70°C, 95°C e 120 °C respectivamente. Fonte: A autora.

4.6.1. Avaliação do Crescimento Microbiano

Para uma avaliação prévia da microbiota presente nas amostras de permeado de soro de leite, 100 µL do permeado foram plaqueados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Nutriente (NA), composto por 28g do meio ágar nutriente em pó em 1 litro de água destilada, e placas contendo meio de cultura Ágar Leite (AL), preparado a partir do meio NA previamente elaborado e com a inserção de 1g/L de leite desnatado Molico®, previamente diluído em água destilada (em 10% do volume total do meio NA) e autoclavado por 10 minutos à 110°C para evitar a reação entre os açúcares e os aminoácidos presentes no leite, pela reação de Maillard. Não foi utilizado antifúngicos para que fosse possível verificar a capacidade de mitigação da microbiota do permeado somente com a metodologia descrita no tópico 4.6.

Para atestar a efetividade do tratamento, foram plaqueados 100 µL de cada amostra tratada em AL e NA em ambiente estéril; além de controle positivo onde foi plaqueado o permeado *in natura* e negativo, em triplicata, de modo que foram incubados em estufa a 37°C por 14 dias (Figura 6).

Figura 6. Desenho experimental do tratamento térmico do permeado de soro de leite.



Fonte: Criado com BioRender.com pela autora.

4.7. Correção de pH

A partir das amostras tratadas termicamente, inicialmente foi fracionada em fluxo laminar previamente esterilizado com álcool 70% e luz UV ao longo de 15 minutos uma alíquota das amostras tratadas a 70°C, 95°C e 120°C para que posteriormente tivesse o pH ajustado com NaOH 1 mol/L, através da verificação do pH por meio do pHmetro de bancada mPA-210 Bivolt - Tecnopon, de modo que essa fase foi conduzida nos laboratórios do Departamento de Laboratórios de Ensino (DELABEN).

A partir do dado obtido e o volume de cada uma das amostras, o valor para tamponar as demais amostras foi estimado por meio da fórmula 11.

$$X = P1/P2 = Na1/Na2 \quad (11)$$

Onde:

- P1: Volume de Permeado Utilizado
- P2: Volume de Permeado a ser neutralizado
- Na1: Volume de NaOH 1 mol/L utilizado
- Na2: Volume de NaOH 1 mol/L a ser utilizado

Para o ajuste de pH da amostra, ocorreu a adição do NaOH 1 mol/L à amostra, sob agitação, até o seu ajuste da neutralidade.

Tabela 4: Tamponamento das amostras tratadas.

Amostra	Volume da amostra	Volume médio de NaOH 1 mol/L
Branco	20 mL	9,25 mL
P1*	20mL	6,33 mL
P2*	20mL	6,77 mL
P3*	20mL	7,86 mL

*P1: Permeado tratado à 70°C; P2: Permeado tratado à 95°C; P3: Permeado tratado à 120°C. Fonte: A autora.

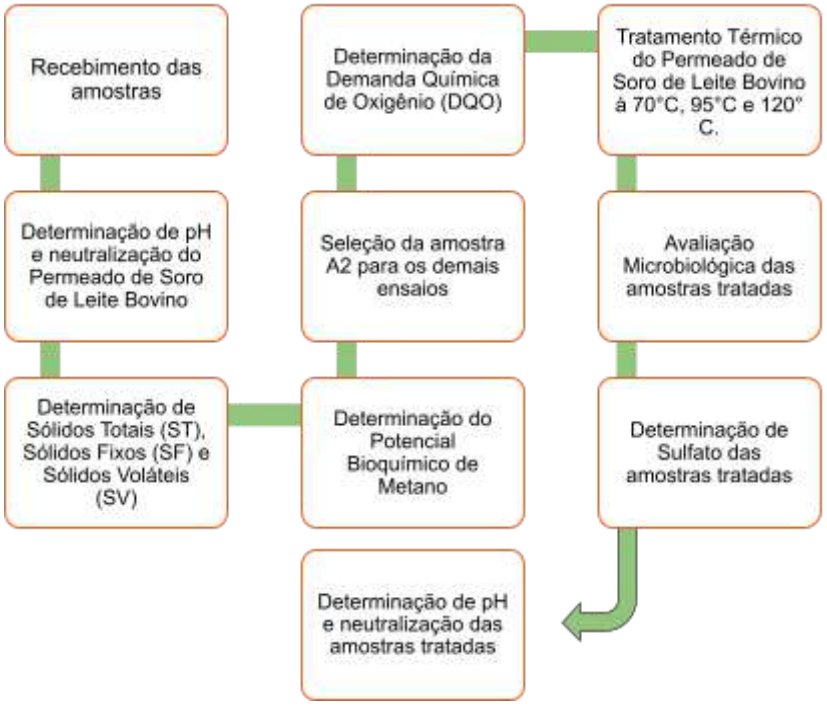
4.8. Determinação de Sulfato

O permeado de soro de leite *in natura*, previamente refrigerado, passou por um processo de homogeneização, diluição em 2 vezes em água destilada com auxílio de uma micropipeta e balão volumétrico calibrados, seguido de filtração.

Da amostra filtrada foram adicionados, com micropipeta, 2 mL na cubeta do Kit de determinação de Sulfato - Merck em uma faixa de temperatura entre 20°C e 30°C e com o pH entre 2 e 10, medido em fita colorimétrica. Em seguida, foi adicionada uma medida nivelada do reagente SO_4^{-1} K no tubo e agitou-se até a dissolução do reagente, seguido de 2 minutos de espera para que a reação pudesse ocorrer.

O ensaio foi realizado pelo método de sulfato (50-500 mg/L SO_4^{2-}), iniciando-se com a leitura do branco, composto pelo conteúdo da cubeta e amostra, seguida da sua leitura. Para garantir a precisão dos resultados, o branco foi aferido antes de cada medição. O método é análogo ao EPA 375.4, APHA 4500-SO_4^{2-} E, e ASTM D516-11.

Figura 7: Fluxograma dos ensaios efetuados na fase 1.



Legenda: A amostra A2 foi selecionada em função do seu perfil de sólidos e da produção de biogás e metano observadas em detrimento da amostra A3. Fonte: A autora.

4.9. Ensaios de fase 2

A segunda fase teve início com o tratamento das amostras de permeado de soro de leite, para a obtenção da esterilidade deste substrato, seguido de posteriores análises como ST, SF, SV, DQO, Sulfato e Potencial Bioquímico de Metano (PBM), como descrito nos tópicos 4.3., 4.3.1., 4.4., 4.8. e 4.5., respectivamente.

4.9.1. Tratamento térmico do Permeado de Soro de Leite.

Para o tratamento térmico nessa fase, foram utilizadas as faixas de 80°C e 95°C ao longo de 30 minutos, de modo que não ocorreu refrigeração das amostras ao longo do tratamento (Tabela 5). No tratamento à 95°C, optou-se por aumentar o período de tratamento para garantir a esterilidade do processo.

Tabela 5. Desenho experimental do Tratamento Térmico do Permeado de Soro de Leite.

Identificação	Tratamento	Tempo de Tratamento
T1	80°C	30 minutos em Banho Maria
T2	95°C	30 minutos em Banho Maria

Fonte: A autora.

Para atestar a efetividade do tratamento, foram adicionados 100 µL de cada amostra tratada em placas de Petri contendo ágar leite ou ágar nutriente em fluxo laminar estéril; além dos controles positivo, onde foi inserido o permeado *in natura* e negativo, para atestar a esterilidade do meio, em triplicata, e, em seguida, foram incubados em estufa a 37°C por 14 dias, para que a manutenção da esterilidade fosse acompanhada.

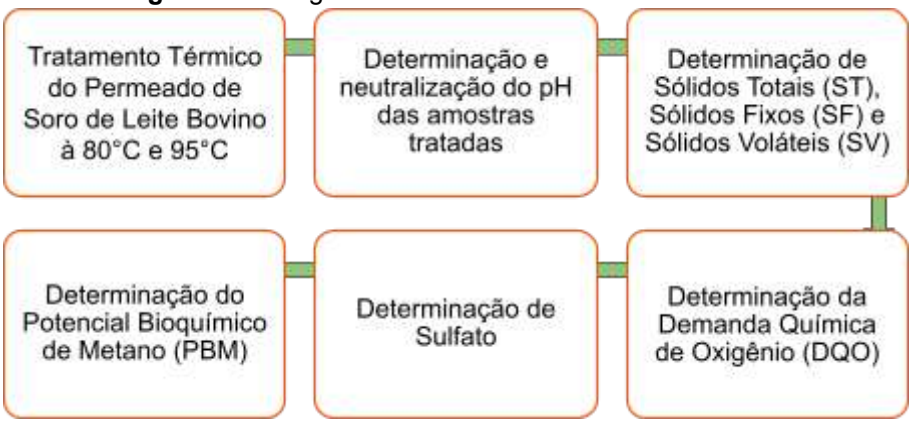
4.9.2. Correção de pH

A partir das amostras tratadas termicamente (T1 e T2), no intuito de otimizar o processo, optou-se por efetuar o ajuste de pH das amostras em fluxo laminar por meio da utilização da solução de NaOH (1 mol/L) estéril e fitas para detecção de pH autoclavadas. A neutralização ocorreu sob agitação manual.

4.9.3. Caracterização das amostras tratadas termicamente

Após os tratamentos térmicos e tamponamento de pH descritos acima, foram realizados os ensaios de sólidos totais e fixos (conforme descrito em 4.1.2), sólidos voláteis (conforme descrito em 4.1.3.), DQO (conforme descrito em 4.1.4.) e sulfato (conforme descrito em 4.1.8.), para comparações entre a amostra *in natura* e as amostras tratadas termicamente (Figura 8).

Figura 8: Fluxograma dos ensaios realizados na fase 2.



Fonte: A autora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fase 1

5.1.1. Determinação de pH e neutralização do Permeado de soro de leite bovino

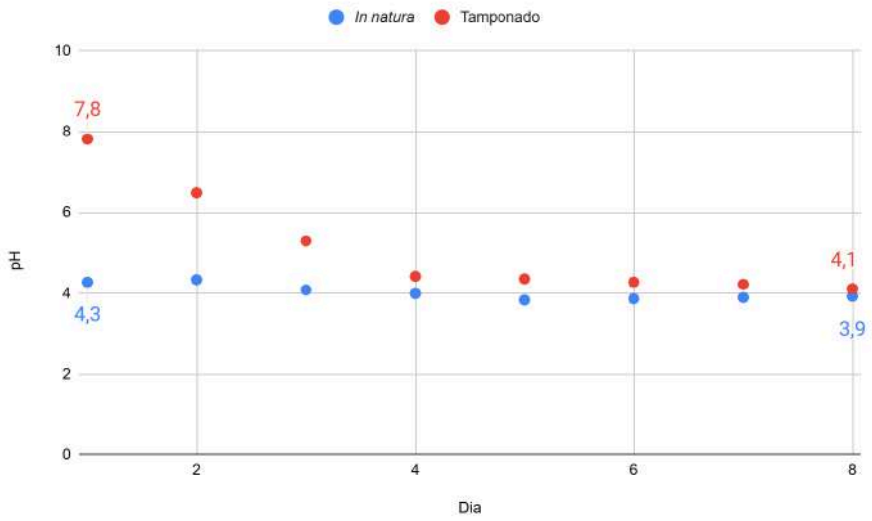
Nos ensaios conduzidos, observou-se uma acidificação do permeado de soro de leite tanto *in natura* quanto neutralizado, ao longo do período de análise. Foi observada uma variação de pH de 4,3 a 3,9 ao longo de oito dias na amostra *in natura* e a neutralizada seguiu o mesmo perfil de acidificação, partindo do pH 7,8 no 1° dia, após o tamponamento, e chegando ao pH 4,1 no oitavo dia (Tabela 6 e Gráfico 1). Isso demonstra que apesar do substrato ter sido neutralizado, algum agente acidificante atuou no mesmo ao longo desse tempo, pois este voltou a ter um teor ácido, um comportamento similar a amostra *in natura.*

Tabela 6: pH do Permeado de soro de leite ao longo do tempo.

Dia	Amostra *in natura*	Amostra Tamponada
1	4,3	7,8*
2	4,3	6,5
3	4,1	5,3
4	3,9	4,4
5	3,8	4,3
6	3,8	4,3
7	3,8	4,2
8	3,9	4,1

* o pH inicial da amostra antes da neutralização, era 3,8. Fonte: A autora.

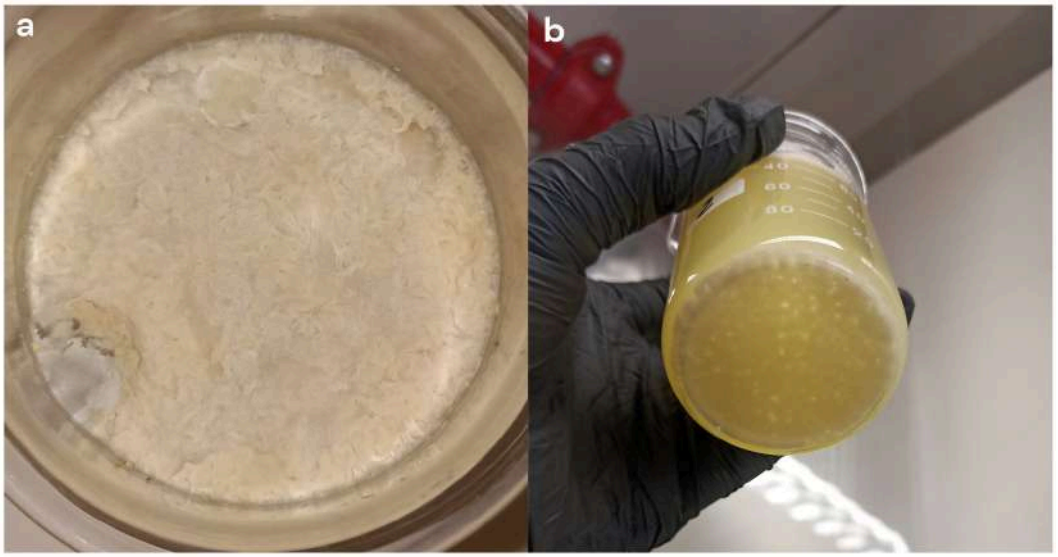
Gráfico 1: pH do Permeado de soro de leite bovino ao longo do tempo



Fonte: A autora.

Durante a produção de derivados do leite, são frequentemente adicionados agentes coagulantes e acidificantes para promover a coagulação e a fermentação do produto, tais como ácido clorídrico ou quimosina (Renina). Como consequência, os efluentes gerados apresentam elevada acidez, conforme demonstrado na caracterização da amostra. Além disso, devido ao alto teor de lactose existente nesses resíduos, há um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos ácido-tolerantes, como diversas espécies de *Lactobacillus*, que naturalmente proliferam nessas condições, o que corrobora para a produção de um ambiente ácido (Fox *et al.,* 2015).

Figura 9**:** Permeado de soro de leite in natura mantido à temperatura ambiente por oito dias.

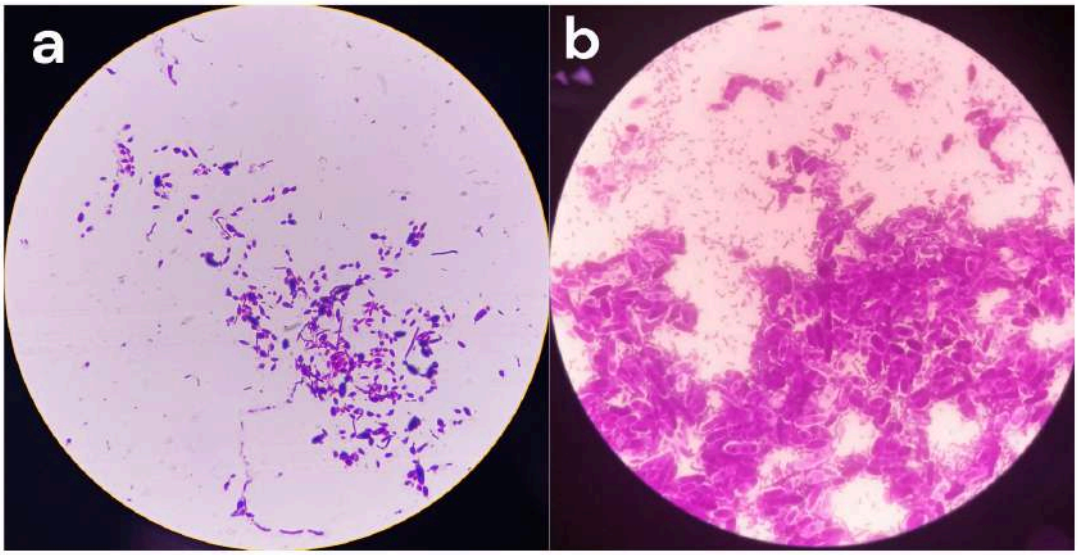


Legenda: (a) Formação de biofilme na superfície do substrato. (b) Deposição de biomassa no fundo do recipiente visualizada após um período de oito dias. Fonte: A autora.

Durante esse período, também foi observada a formação de um biofilme espesso na superfície dos béqueres, com formação de bolhas e uma biomassa no fundo do recipiente (Figura 9), o que sugere a capacidade do substrato de prover os nutrientes necessários para esse perfil microbiano prosperar.

Foi efetuada a coloração de Gram para a identificação dos microrganismos contidos no efluente, segundo características morfológicas, de arranjo microbiano e definição do grupo Gram (Martins *et al*., 1997). Através dessa técnica detectou-se bactérias Gram positivas, com formatos ovalados e de bastonetes, se assemelhando às bactérias do gênero *Bacillus*, por exemplo, mas que também podem ser organismos leveduriformes (Figura 10).

Figura 10. Coloração de Gram da microbiota presente no Permeado de Leite de soro de leite.



Legenda: (a). Microbiota presente no permeado de soro, aumento de 100 vezes. (b). Microbiota presente na formação do biofilme da superfície do permeado, aumento de 40 vezes. Fonte: A autora.

Quanto à formação de gás, esse é um indicativo da presença de microrganismos fermentativos (Marcus *et al*., 2021), o que pode condizer com os identificados por microscopia, porém, apenas o acréscimo de outros tipos de avaliações, como a definição do tipo de substrato utilizado pelos microrganismos e a avaliação da produção de gases ao longo do tempo, poderá confirmar tais relações.

Estas análises permitiram confirmar a presença e a capacidade de desenvolvimento de microrganismos nas amostras de permeado de soro de leite.

5.1.2. Sólidos totais, fixos e voláteis

De acordo com a base de dados do CIBiogás, podemos notar algumas distinções no teor de sólidos totais, fixos e voláteis nessa análise preliminar (Tabela 7).

Tabela 7. Sólidos das amostras de Permeado de Soro de leite bovino analisadas.

Amostra[1]	% ST	% SV	% SF	% SV Bu	% CV ST	% CV SV	% CV SF	% CV SVBu
A1	9,07 ± 0,04	93,66 ± 0,00	6,34 ± 0,00	8,49 ± 0,66	0,47	0,00	0,00	0,52
A2	16,37 ± 0,07	91,37 ± 0,01	8,63 ± 0,02	14,96 ± 6,08	0,42	0,21	0,02	0,41
A3	15,96 ± 0,07	93,97 ± 0,01	6,03 ± 0,01	15,00 ± 6,50	0,45	0,17	0,02	0,43

[1] As amostras analisadas referem-se a amostras distintas de soro de leite. Fonte: Acervo CIBiogás.Legenda: A1: Dados de amostra do banco de dados do CIBiogás. A2 e A3: Permeado de soro de leite bovino ensaiados em laboratório, conforme descrito na metodologia. ST: Sólidos Totais; SV: Sólidos Voláteis; SF: Sólidos Fixos; CV: Coeficiente de Variância.

Ao longo do ensaio por meio da secagem da amostra, é possível determinar quais são os sólidos totais; já por meio da calcinação são detectados os sólidos presentes na amostra que são capazes de volatilizar, ou seja, os sólidos orgânicos que são passíveis de conversão à biogás por meio do inóculo utilizado; restando apenas os compostos inorgânicos da amostra ao final do ensaio.

Vale salientar, que os sólidos voláteis em base úmida possuem uma importância significativa, pois a umidade influencia diretamente da biodisponibilidade dos sólidos voláteis para a produção de biogás; sendo esse um fator que influencia todo o processo da biodigestão anaeróbia, pois refere-se à biodisponibilidade do substrato para que os microrganismos possam consumi-los, se desenvolver e prover estabilidade para o processo (Kunz, 2022).

A distinção de perfil de ST, SF e SV observada entre as amostras pode ser atribuída ao fato do permeado de soro ao ser produzido passar por processos de filtração, como a vácuo ou ultrafiltração. É possível atribuir a essa característica do processo a distinção de sólidos entre as amostras, além da fornecedora da amostra produzir um permeado que pode variar de 2,5% a 18% de sólidos totais, isso indica a possibilidade de haver fases ao longo do tratamento desse efluente onde o

permeado adquire teores de sólidos distintos ou pode depender da característica do soro a ser filtrado.

Tais variações foram visualizadas ao longo de todo o trabalho, em todas as amostras analisadas, sendo necessário, então, efetuar a caracterização de cada amostra perfil de ST, SF e SV e promover uma padronização, no intuito de que os ensaios ocorressem com substratos com teores menores que 20%, dado que acima desse teor não é possível obter uma boa eficiência de conversão dos substratos em biogás (Zouaghi *et al.*, 2020). Outro fator a ser considerado é o tempo de armazenamento do permeado de soro de leite, que pode ter favorecido a sua degradação por meio da metabolização dos nutrientes presentes no efluente através dos microrganismos ali existentes, o que pode ter contribuído para estas diferenças.

Vale salientar que os sólidos voláteis em base úmida possuem uma importância significativa, pois a umidade influencia diretamente da biodisponibilidade dos SV para a produção de biogás; sendo esse um fator que interfere em todo o processo da biodigestão anaeróbia, pois refere-se à biodisponibilidade do substrato para que os microrganismos possam consumi-los, se desenvolver e prover estabilidade para o processo (Kunz, 2022).

Por fim, cada permeado de soro de leite, por possuir características distintas, também seguirá com esse perfil quanto a qualidade de seus nutrientes para as aplicações aqui destinadas.

5.1.3. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Quanto aos ensaios físico-químicos efetuados na primeira fase dos experimentos, optou-se por averiguar a Demanda Química de Oxigênio (DQO) presente na amostra para que fosse identificado o teor de oxigênio que seria necessário para degradar os componentes orgânicos da amostra (He *et al.,* 2012), sendo para os ensaios escolhida a amostra A2.

A partir da análise dessa amostra, foi identificado um teor de 170.200 mg/L O_2, o que indica um alto teor poluente. Quanto aos dados de DQO na literatura do permeado de soro de leite, é relatado um nível de 150.000 mg/L O2, sendo esse teor muito correlacionado com os dados do soro de leite, visto que o permeado de soro acaba retendo 70% dos sólidos totais após os processos de ultrafiltração, além de apresentar questões semelhantes de disposição em relação ao soro de leite

(Guimarães *et al.,* 2010; Kisielewska, *et al.*, 2011; Prazeres *et al*., 2012; Zempulski *et al.,* 2014).

O aumento do valor observado em comparação com os dados da literatura pode estar associado ao tempo de armazenamento da amostra, à ação da microbiota natural no processamento do permeado ao longo desse período, à fase do processo industrial e ao ponto específico de coleta da amostra.

Sob o olhar da geração de biogás, uma alta taxa de DQO pode indicar que o substrato em questão possui um alto potencial de produção de biogás, contudo, isso pode acarretar uma sobrecarga no sistema, a depender da capacidade de processamento do inóculo. Em acréscimo, de acordo com a Resolução CEMA 070/09 – Anexo 7, que estabelece as condições e padrões para o lançamento de efluentes líquidos industriais, os resíduos industriais provenientes de laticínios devem apresentar uma DQO de, no máximo, 200 mg/L O_2 para que seu descarte na natureza, seja direto ou indireto, esteja em conformidade com a legislação vigente (IAP, 2009).

5.1.4. Potencial Bioquímico de Biogás e Metano

Referente à produção de biogás, os dados da amostra A1 foram fornecidos pela base de dados do CIBiogás, já as amostras A2 e A3 foram conduzidas no mínimo em duplicata, por se tratar de uma análise preliminar. Como anteriormente citado, a atividade biológica do inóculo é mensurada por meio de um padrão positivo, apresentando um valor teórico de Biogás: 745 LN kg^{-1} SV e Metano: 373 LN kg^{-1} SV. De acordo com a VDI 4630 e a DIN 38414-8, a recuperação mínima da celulose deve ser de 80% dos valores teóricos para biogás e metano. A recuperação da amostra de celulose foi superior à 80% para biogás e metano, atendendo assim à norma vigente.

Nesse contexto, os dados levantados fornecem um panorama favorável para a produção de biogás, dado os volumes observados que variaram de 532 a 725 LN kg^{-1} SV, variando de 45 a 108 m^3/tonelada. Comparando com a produção de biogás a partir da vinhaça, um resíduo igualmente ácido oriundo da indústria sucroalcoleira, chegou a produzir de 10 a 26,4 metros cúbicos de biogás (Parsaee *et al.*, 2019), o que indica que o permeado de soro de leite bovino possui um alto potencial na produção desse biocombustível.

Por um outro viés, Tarapata *et al.* (2022) relata a produção de 69% de metano dentro do montante total de biogás produzido a partir de permeados de ultrafiltração (UFP) e diafiltração (DFP), o que indica que esse efluente industrial além de possuir um grande potencial na produção de biogás, também pode produzir um biocombustível com uma alta capacidade de aproveitamento.

A respeito dos volumes de biogás gerados, a diferença nos dados de produção observada na amostra A2 em comparação com A1 e A3 (Tabela 8) influenciou diretamente o desvio padrão da A2, que foi de 725 ± 30,88 LN kg^{-1} SV, um valor relativamente elevado. Essa dispersão pode estar associada tanto à heterogeneidade do substrato quanto ao número reduzido de réplicas.

Quanto à produção de metano, variou de 313 a 398 LN kg^{-1} SV, obteve-se valores acima de 50% de metano. Contudo, dada a produção total de biogás na amostra A1 frente à produção da amostra A2, a produção de metano da primeira amostra foi bem mais elevada que a última citada. Tais resultados podem estar relacionados com a composição nutricional do substrato, tais como quantidade de açúcares, proteínas, balanço C/N, a adição de produtos com efeito inibitório e pelo tempo pregresso de armazenamento do soro antes da realização dos testes.

Observando os dados dos sólidos (Tabela 7), é possível observar que os SV da amostra A1 foram 2,23% a mais em relação à amostra A2; já os SV em base úmida foram um pouco distintos, tendo uma variação de 6,47% entre a amostra A2 e A1. Quanto ao perfil de produção de metano da amostra A1 foi de 58,83%, enquanto da A2 foi de 54,90%.

Tabela 8. Potencial Bioquímico de Metano das amostras preliminares.

Amostra	Média massa amostra	Média massa inóculo	% do permeado no digestor	Biogás (LN kg^{-1} SV)	Metano (LN kg^{-1} SV)	% Metano	Biogás m^3/ tonelada de substrato	Metano m^3/ tonelada de substrato
A1	47,16	202,84	18,86	532± 2,91	313± 6,25	59	45	27
A2	8,81	200,04	4,22	725± 30,88	398 ± 16,80	55	108	60
A3	8,78	200,29	4,20	721± 4,82	380± 1,52	53	108	57

Fonte: Acervo CIBiogás.

Os dados apresentam divergência, pois a amostra A2 teve uma produção total de biogás maior do que a A1. No entanto, a produção de metano foi ligeiramente mais expressiva na amostra A1, devido à maior proporção de metano na totalidade de biogás gerado por essa amostra em comparação com as demais. Essas particularidades também podem estar relacionadas à produção dos demais gases que compõem a totalidade do biogás, tais como CO_2, H_2S e outros gases.

No caso do dióxido de carbono (CO_2), a sua produção ao longo do processo de biodigestão anaeróbia é esperada, assim como o seu consumo pelos microrganismos presentes no inóculo. Contudo, a sua persistência afeta a eficiência da continuidade da metabolização do substrato e a sua conversão em um biogás de qualidade, dado que o seu acúmulo no sistema pode ocasionar uma certa competição por alcalinidade com as arquéias metanogênicas, acúmulo de ácidos voláteis, reduzindo a capacidade tampão do sistema (Gueri *et al.,* 2018), e a alteração do equilíbrio ácido-base, visto que o CO_2 pode se dissolver na fase líquida formando ácido carbônico (H_2CO_3) (Braga *et al.*, 2021), contribuindo para a redução do pH e inviabilizando um meio ideal para o mantenimento e proliferação das arqueias metanogênicas (Machado, 2023).

Quanto ao sulfeto de hidrogênio (H_2S), esse é um gás produzido por bactérias redutoras de sulfato, tais como bactérias proteolíticas a partir de substratos ricos em precursores de enxofre, como efluentes industriais, resíduos de abatedouros, curtumes e indústria de laticínios; resíduos agropecuários, como dejeto bovino e cama de aviário (Vu *et al.,* 2022), e lodo de esgoto, que possui altas taxas de sulfatos.

As características desses resíduos justificam os altos teores de H_2S produzidos ao longo dos processos de biodigestão aqui analisados, que atingiram picos de 2.098 ppm na amostra A1, já A2 e A3 registraram 89 ppm e 115 ppm, respectivamente. No caso do permeado de soro de leite, a sua composição é rica em compostos sulfurados como a partir de possíveis resquícios de caseína (responsável por 80% das proteínas do leite), cisteína e metionina, que ao passarem pelo processamento de bactérias proteolíticas, metabólitos como sulfetos (S_2-) e sulfato (SO_4^{2-}) são gerados e convertidos à H_2S pelas bactérias redutoras de sulfato (Zayed *et al.*, 2000).

Quanto a esse fator, o pH também é um forte influente, pois faixas ácidas de pH contribuem para a formação de H_2S, devido às bactérias redutoras de sulfato

(SRB) serem mais ativas em condições ácidas (Yan *et al.*, 2018) uma vez que essas convertem sulfatos em sulfeto, que posteriormente se transforma em H_2S, o que vai de encontro com os dados aqui levantados.

Algo a se destacar é a possibilidade do permeado de soro de leite possuir em sua composição sulfato de cálcio, muito utilizado para a coagulação de proteínas para a produção de queijos; além do possível acréscimo de sulfitos e sulfatos que compõe aditivos conservantes e a água de lavagem que pode conter sulfatos dissolvidos. Já os dejetos animais são também ricos em compostos sulfurados devido ao regime de alimentação desses animais, composta por grãos, farelos e suplementos proteicos, que também possuem em sua composição aminoácidos sulfurados. Dessa forma, havendo uma grande disponibilidade de precursores de enxofre, a via metabólica tenderá à sulfetogênese ao invés da metanogênese (Fuess, 2017).

Naturalmente ocorre uma competição por elétrons entre os microrganismos responsáveis pela sulfetogênese e a metanogênese, de modo que na presença de um alto teor de precursores de enxofre, as bactérias redutoras de sulfato acabam predominando sobre as arqueias metanogênicas e convertem a matéria orgânica em H_2S (Costa; Filho; Giordano, 2014). Vale salientar que o pH de um sistema estável que está na faixa da alcalinidade e possui um baixo potencial redox, favorece a atividade das bactérias redutoras de sulfato (Bernárdez *et al.*, 2011).

A sulfetogênese por sua vez ocorre através do sulfato atuando como um aceptor final de elétrons (Baldacin; Pinto, 2015). A partir da degradação do substrato rico em precursores primários de enxofre, o sulfato presente é convertido ao precursor intermediário sulfito, por meio da adenosina 5 - fosfosulfato. O sulfito é então reduzido a sulfeto (precursor final) por meio de sulfito redutases que reagem com íons H^+ no meio, formando H_2S gasoso (Amaral, 2013; Wójcik-Augustyn; Johansson; Borowski, 2021).

O alto teor de H_2S nesse contexto atua inibindo a produção de metano, devido à sua alta toxicidade às arqueas metanogênicas (Kunz, 2022), o que ocasiona uma redução na eficiência da conversão de ácidos graxos voláteis em metano, além de competirem com elas por elétrons e pelos mesmos substratos, tais como H_2 e acetato. Dessa forma, a rota metabólica acaba favorecendo a sulfetogênese, de modo que o H_2S dissolvido na fase líquida acaba sendo convertido em ácido sulfúrico, reduzindo assim o pH do sistema e a sua capacidade

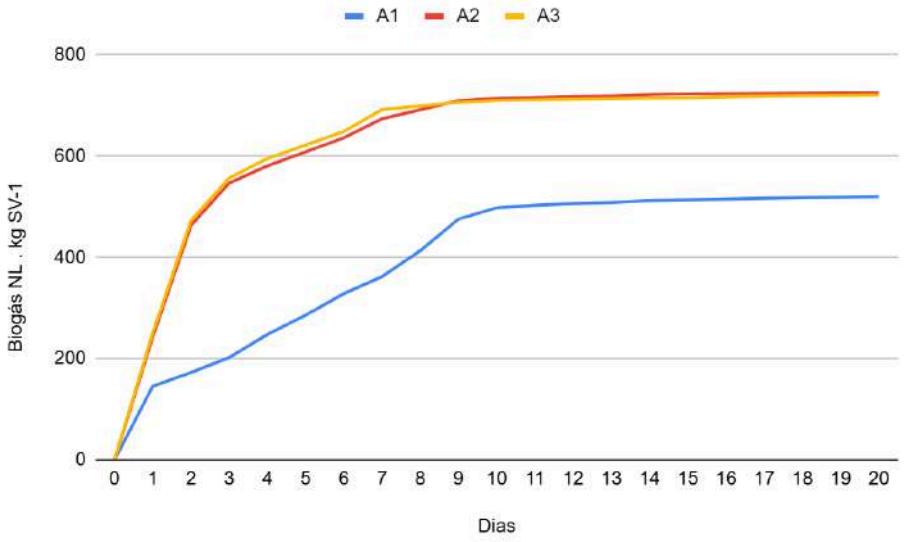
tampão, afetando o mantenimento dos microrganismos metanogênicos devido à impossibilidade destes de se manterem em uma faixa de pH abaixo de 6,5 (Amaral; Steinmetz; Kunz, 2022).

As altas concentrações de gases de baixa qualidade, produzidos junto ao metano e ao biogás, podem também estar associadas à microbiota presente no permeado de soro de leite, além disso, estudos demonstram que o permeado de soro pode ser utilizado como fonte de energia em processos microbianos (Szczerba *et al.*, 2020), desta forma, ao emprego de processos de esterilização desse substrato podem favorecer as vias corretas para a geração dos produtos desejados, enquanto beneficia nutricionalmente o inóculo.

A respeito da curva cinética da produção de biogás entre as amostras aqui analisadas (Gráfico 2), nota-se uma distinção significativa entre a amostra A1 das demais, de modo que o pico de produção de biogás se deu no primeiro dia com um volume de 140 mL de biogás, já das demais amostras este pico ocorreu por volta do segundo dia, com volumes de 463 mL (A2) e 473 mL (A3). Isso pode ser justificado devido a distinção de sólidos totais entre as amostras, citada anteriormente na tabela 7, e pela possível distinção nutricional delas.

Já entre as amostras A2 e A3, o perfil da curva foi bem similar, com algumas pequenas variações, que podemos atribuir a possíveis variações na temperatura de aclimatação do ensaio. Contudo, o ponto de estabilização da curva entre as três amostras analisadas coincidiu em torno do nono dia, o que indica uma finalização da disponibilidade de recursos e nutrientes no meio para que o perfil da curva continuasse crescendo de maneira exponencial. Um outro ponto relevante é a produção total acumulada entre as amostras, de modo que a A1 apresentou uma menor produção acumulada final de 532 LN kg^{-1} SV em comparação a A2 e A3, que produziram 725 e 721 LN kg^{-1} SV , respectivamente, citada anteriormente na tabela 8.

Gráfico 2. Produção de Biogás acumulada das amostras de permeado de soro de leite analisadas.

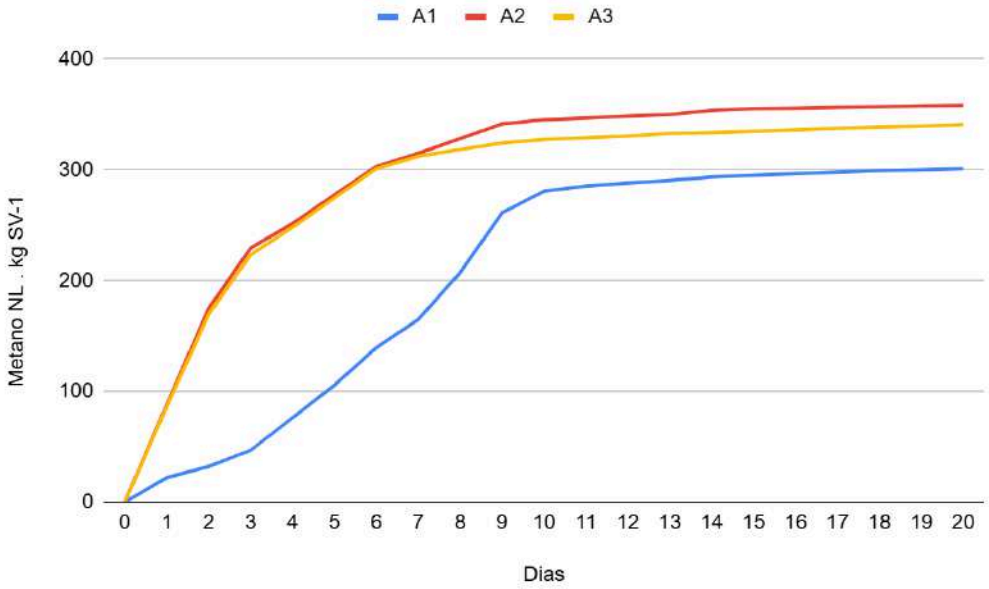


Fonte: A autora.

Quanto às curvas cinéticas da produção de metano, essas se mostraram similares à de produção do biogás, com uma distinção no perfil da curva da amostra A2, que se mostrou mais expressiva em relação às demais na produção de metano (Gráfico 3), de modo que a amostra A1 produziu 313± 6,25 LN kg^{-1} SV, A2 produziu 398 ± 16,80 LN kg^{-1} SV e A3 produziu 380 ± 1,52 LN kg^{-1} SV (Tabela 8).

Tais distinções podem ocorrer por diversos fatores, como a composição do substrato, o perfil de produção de metabólitos ao longo da biodigestão que podem atuar na inibição da via da metanogênese, como o acúmulo de ácidos graxos voláteis no meio, desvio da via para a sulfetogênese inibindo assim a metanogênese, o excesso de CO_2 e H_2S no sistema, além do possível excesso de outros gases que compõem o biogás, como a amônia que é tóxico para as arqueias metanogênicas (Kunz, 2022).

Gráfico 3. Produção de Metano acumulada das amostras de permeado de soro de leite analisadas.



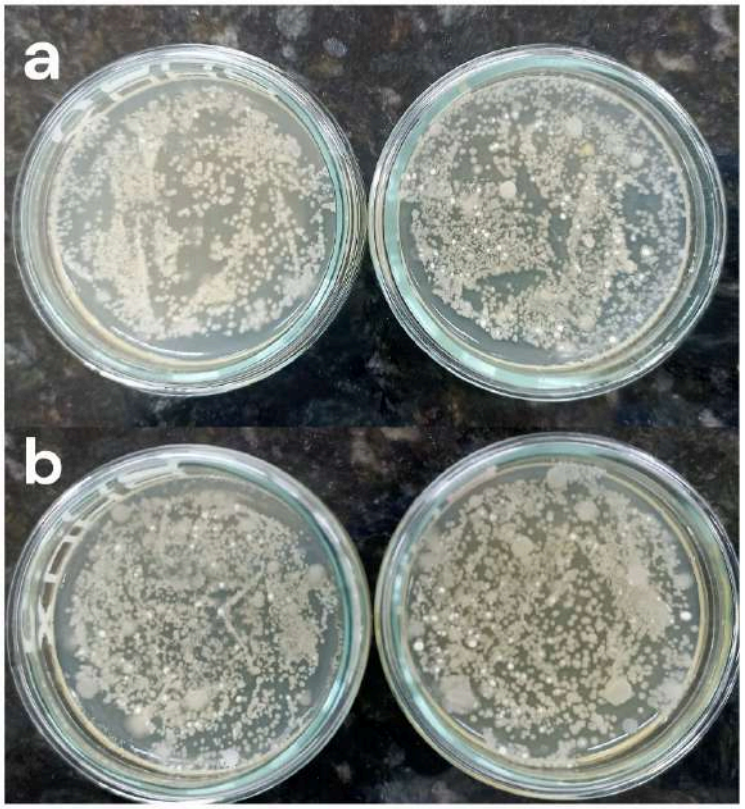
Fonte: A autora.

5.1.5. Tratamento Térmico

O tratamento térmico foi efetuado no intuito de aplicá-lo posteriormente em campo a partir dos resultados obtidos, devido ao arranjo tecnológico que já é empregado na planta de produção de biogás no Central de Bioenergia de Toledo, através do sistema de pasteurização aplicado a alguns resíduos como, carcaças de animais mortos não abatidos, produtos cárneos oriundos de apreensão de agentes fiscalizadores e qualquer produto que possa acarretar risco sanitário (Michailidou *et al.*, 2024).

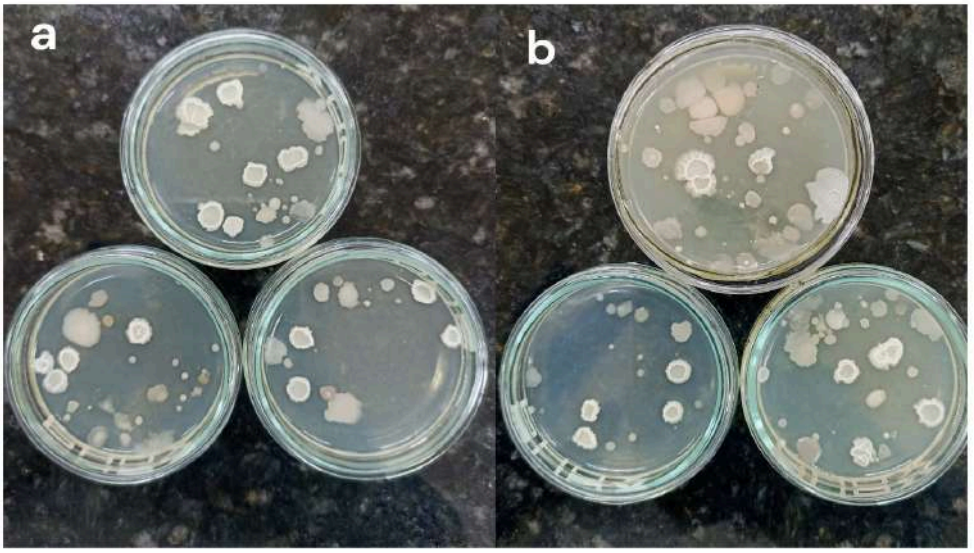
Neste estudo, o tratamento térmico efetuado à 70°C não foi o suficiente para atingir a esterilidade, uma vez que crescimento microbiano foi observado em ambos os meios de cultura utilizados, com uma menor incidência em relação ao controle positivo (Figura 11), mas ainda assim se apresentou de maneira expressiva (Figura 12).

Figura 11. Controles positivos.



Legenda: (a) Controle positivo em meio nutritivo Ágar Nutriente. (b) Controle positivo em meio nutritivo Ágar Leite. Fonte: A autora.

Figura 12. Plaqueamento do efluente tratado à 70°C.



Legenda: (a) Plaqueamento em meio de cultura ágar nutriente. (b). Plaqueamento em meio de cultura ágar leite. Fonte: A autora.

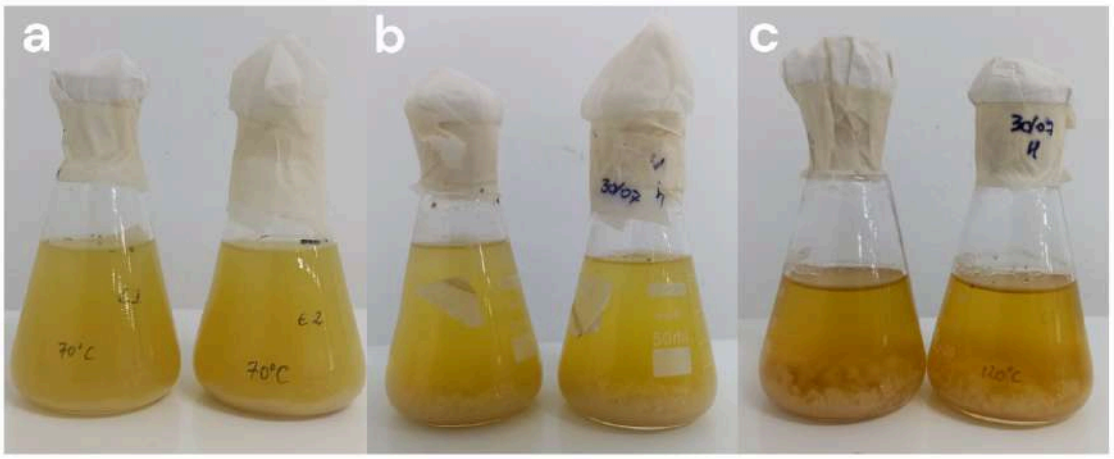
Já no tratamento à 95°C, obtivemos um resultado promissor com nenhuma incidência microbiana em ambos os meios de cultivo. Porém, no tratamento efetuado

à 120°C, por 15 minutos, em autoclave, observarmos contaminação em meio NA, o que sinaliza que a contaminação pode ter ocorrido ao longo do plaqueamento, pois, nessa faixa de temperatura, deveria ocorrer a esterilização do substrato. Isso foi observado no controle negativo, contaminação em meio NA em uma das duplicatas.

Tais resultados nos indicaram que o tratamento térmico, no que se refere à eliminação, ou ao menos à diminuição, da microbiota natural do permeado de soro de leite, foram promissores, apesar de necessitarem de ajustes de protocolo que impedissem a contaminação durante o processo, o que ocorreu na segunda fase dos tratamentos e será demonstrado adiante.

Quanto à estabilidade das moléculas do efluente, foram observadas alterações na coloração dos efluentes tratados, mais destacadas no tratamento a 120ºC, o que indica a possibilidade de caramelização e alteração das moléculas presentes nas amostras tratadas, além da deposição de um precipitado no fundo do recipiente, mais proeminente em maiores temperaturas de tratamento (Figura 13).

Figura 13. Tratamento térmico do permeado de soro de leite.



Legenda: (a). Efluente tratado à 70°C. (b). Efluente tratado à 95°C. (c). Efluente tratado à 120°C.
Fonte: A autora.

Tabela 9. Resultados observados do tratamento térmico.

Amostra*	Coloração	Aspecto	Coagulação	Sedimentação
B	Amarelo	Turvo	Não	Não
B1	Amarelo	Turvo	Não	Sim
B2	Amarelo	Levemente turvo	Sim	Sim
B3	Amarelo âmbar	Límpido	Sim	Sim

*B: Branco, Permeado *in natura*; B1: Permeado tratado à 70°C; B2: Permeado tratado à 95°C; B3: Permeado tratado à 120°C. Fonte: A autora

A reação de Maillard, em função da composição do permeado de soro, justifica o escurecimento observado entre as amostras, devido às moléculas de açúcares que, ao passarem por aquecimento, sofrem rearranjos químicos junto aos grupamentos amínicos, como os presentes em aminoácidos. Os açúcares redutores presentes, como glicose e lactose, reagem com resíduos de aminoácidos dando origem a compostos intermediários conhecidos como produtos de Amadori. Tais compostos passam por uma série de reações, de modo que os produtos produzidos nessa fase reagem com aminoácidos por meio de polimerização, originando assim as melanoidinas, um pigmento de cor marrom, responsável pelo escurecimento e alteração de sabor dos alimentos que passam por esse processo (Trevizan, 2015).

No contexto aqui discutido, as reações de Maillard ao alterarem a configuração e conformação desses açúcares podem tornar esses nutrientes mais ou menos biodisponíveis para os microrganismos presentes no inóculo. Diante dessa possibilidade, optou-se por resfriar as amostras no meio do tratamento térmico a quente, em função da estabilização das moléculas presentes no permeado de soro de leite bovino.

Quanto à deposição de coagulados no fundo dos Erlenmeyer, isso pode ser atribuído à mudança na conformação das proteínas residuais no permeado de soro de leite ao ser submetido aos tratamentos térmicos. Apesar do permeado ser um resíduo desproteinado, alguns resíduos de β-lactoglobulina e α-lactoalbumina, principais proteínas constituintes do soro de leite, podem não ter sido retidos pela ultrafiltração.

De acordo com Iltchenco *et al.*, (2018), dados eletroforéticos revelam sinais

fracos de β-lactoglobulina (β-Lg) e α-lactalbumina (α-La) no concentrado, indicando que essas proteínas permanecem em quantidades reduzidas mesmo após a filtração com uma membrana de 10 kDa. Além disso, a presença de outras bandas proteicas menores e variações conformacionais sugere que frações de proteínas conseguem atravessar a membrana, evidenciando que a separação não é completamente seletiva.

A β-lactoglobulina (β-LG), por exemplo, é altamente sensível a temperaturas acima de 65°C, formando agregados insolúveis, principalmente quando há interação com íons cálcio, devido a estabilização de sua estrutura nativa, contribuindo para a formação de pontes covalentes entre monômeros e agregados, auxiliando na criação de uma estrutura mais robusta (Dumitraşcu *et al.*, 2019). Além do papel do cálcio em catalisar a agregação de β-LG, diminuindo a repulsão Coulombiana entre as espécies reativas carregadas negativamente, resultando na ligação dessas proteínas (Petit *et al.*, 2011), o que pode justificar a deposição de matéria mesmo à 70°C, a menor faixa de temperatura utilizada.

Quanto à α-lactalbumina (α-LA), esta também pode sofrer desnaturação térmica, no entanto ela geralmente é mais estável que a β-LG em temperaturas até 65°C. Contudo em temperaturas acima de 75°C ela também passa pelo processo de desnaturação e agregação. De acordo com Wang *et al.,* (2016), quando submetida a temperaturas a partir de 75°C, tanto a β-LG quanto α-LA passam por processos de agregação entre si, sendo esse comportamento atribuído às ligações dissulfeto quando aquecidas entre 75°C e 85°C.

Em temperaturas mais altas, como a 95°C e 120°C, além das ligações dissulfeto, outras interações não covalentes, como interações hidrofóbicas, podem se tornar mais latentes (Wang *et al.*, 2016). Essas interações contribuem para a formação de agregados maiores e mais estáveis, que podem sedimentar no fundo do recipiente.

Em acréscimo, no estudo de Lamothe *et al.* (2025) foi observado que o pH e intensidade do tratamento térmico possuem um papel relevante na estabilidade do cálcio presente no permeado de soro de leite. Foi observado que a redução do pH de 6,2 para 6,0 reduziu a quantidade de cálcio precipitante em 40% durante o aquecimento à 80°C (Brule *et al.*, 1978), indicando que temperaturas mais altas combinadas com o pH natural do permeado influenciam diretamente na quantidade de cálcio que pode vir a precipitar sob tais condições, o que reflete a importância do

controle dessas variáveis.

No contexto dos dados observados a partir do nosso estudo, o pH pode ter sido um importante agente no mantenimento do cálcio precipitante no permeado de soro de leite. Contudo, dada a alta expressividade de coagulados observados no permeado tratado à 120°C, há a possibilidade de que nessa condição os íons cálcio tenham contribuído de maneira significativa para tais resultados, pois a precipitação está ligada à redução da solubilidade do fosfato de cálcio com o aumento da temperatura, o que afeta o equilíbrio mineral no permeado após o resfriamento (Nieuwenhuijse & Huppertz, 2022).

Nesse contexto, a amostra de 95°C foi escolhida como um referencial, dado que, nessa faixa, conseguimos ter bons resultados quanto à esterilidade e não ocorreram tantas alterações visuais no efluente, apesar da presença de coagulados. Em contrapartida, na amostra de 70°C não conseguimos obter uma boa redução da microbiota e a 120°C o permeado de soro de leite apresentou características de alteração das moléculas, demonstradas através da sedimentação expressiva de coagulados e a alteração da coloração da amostra.

5.1.6. Ajuste do pH

Devido à tendência à acidificação ter sido observada, mesmo após a neutralização nas amostras de permeado *in natura*, procedeu-se uma nova avaliação, desta vez nos substratos tratados termicamente. Assim, após o tamponamento dos permeados tratados, foi possível observar que todas as amostras ficaram dentro da neutralidade dentro do período de oito dias em que foi analisado, e apresentaram um aumento da turbidez ao longo do tamponamento, visível a olho nu.

Tal comportamento pode ser justificado por meio da mudança de pH do meio, pois alterações na concentração de prótons causam modificações na estrutura das proteínas que estavam anteriormente aglutinadas, devido a ação da temperatura e do pH do permeado que estava na faixa da acidez (Wang; Nema; Teagarden, 2010), um comportamento também observado por Lamothe *et al.* (2025), contudo, da amostra tratada termicamente cujo o pH era 6, em vez de ocorrer ao longo da neutralização, o que indica de maneira prática que o pH exerce um importante papel na repulsão eletrostática das proteínas e íons presentes no permeado de soro de

leite.

As proteínas são compostas por cadeias polipeptídicas, formadas por aminoácidos, os quais possuem um grupamento amino e um grupamento carboxila. Quando é dissolvido um aminoácido em meio aquoso, ele apresenta a sua estrutura de íon híbrido, com dois grupamentos ionizáveis; sendo a ionização dos grupamentos modificada pelo pH do meio, de modo que ao pH do meio se tornar igual ao pK de um dos grupamentos, encontraremos 50% do grupamento na forma ionizada e 50% na forma não ionizada (Oliveira; Rosa, s/d).

Tal condição pode explicar a alteração de aspecto das amostras neutralizadas, pois a ionização de parte dos grupamentos altera a conformação das proteínas que anteriormente estavam coaguladas, permitindo assim a sua redistribuição no meio e aumentando a turbidez (Wang; Nema; Teagarden, 2010).

A importância do ajuste desse fator se dá principalmente em função da influência que o pH possui na estabilidade do processo da biodigestão, e em específico na formação de H_2S, já que pH mais alcalinos tendem a reduzir a volatilização desse gás (Kunz, 2022).

5.1.7. Determinação de Sulfato.

A análise dos teores de sulfato ocorreu principalmente para que pudéssemos quantificar o teor de SO_4^{2-} livres nas amostras, no intuito de compreender o comportamento de produção de gases que apresentou níveis expressivos de H_2S e dada a sua alta expressividade nos testes preliminares. Com isso, esses ensaios forneceram dados que evidenciaram uma leve redução nas amostras tratadas termicamente em comparação ao permeado *in natura* (400 mg/L). A diminuição mais expressiva foi observada na amostra tratada a 95°C (340 mg/L), enquanto os tratamentos a 70°C e 120°C demonstraram teores intermediários (394 mg/L e 369 mg/L, respectivamente).

Os dados indicam que o aquecimento não promoveu uma degradação química significativa do sulfato, além disso, não há relatos na literatura que sustentem essa hipótese dentro das condições experimentais aplicadas. No entanto, a interação entre temperatura e pH pode ter modificado a conformação das proteínas presentes no permeado, auxiliando na adsorção do sulfato a essas estruturas (Tian *et al*., 2020). Essa hipótese é reforçada pela coagulação e

sedimentação observadas nas amostras tratadas, sugerindo que parte do sulfato pode ter sido removida da fase líquida por mecanismos físico-químicos.

Um aspecto relevante foi o comportamento do permeado tratado a 120°C, que apresentou um teor levemente acima da tendência que se apresentou nos demais tratamentos. Esse resultado pode estar relacionado à diferença no método de aquecimento, já que essa amostra foi tratada em autoclave, enquanto as demais foram submetidas a banho-maria. Essa variação no processo pode ter influenciado tanto a redistribuição dos componentes na matriz do permeado quanto a possível reatividade dos compostos proteicos com os íons sulfato. Além disso, a possibilidade de erros experimentais na manipulação das amostras não pode ser descartada, tais como no processo de diluição para a total homogeneização das amostras.

Diante do exposto, os resultados sugerem que a diminuição do sulfato pode estar mais relacionada à interação com proteínas desnaturadas e à sedimentação do que a um efeito térmico direto sobre sua degradação. Para confirmar essa hipótese, investigações complementares, como análises de turbidez, espectrofotometria UV-Vis para sulfato em solução e experimentos de fracionamento proteico, poderiam fornecer mais informações sobre os mecanismos envolvidos.

Tabela 10: Físico Químicos - Testes Preliminares.

Amostras	Sulfato	pH
Permeado *in Natura*	400 mg/L	4,0
70°C	394 mg/L	7,0
95°C	340 mg/L	7,7
120°C	369 mg/L	7,3

Fonte: A autora.

5.2. Ensaios de fase 2

5.2.1. Tratamento térmico do Permeado de Soro de Leite.

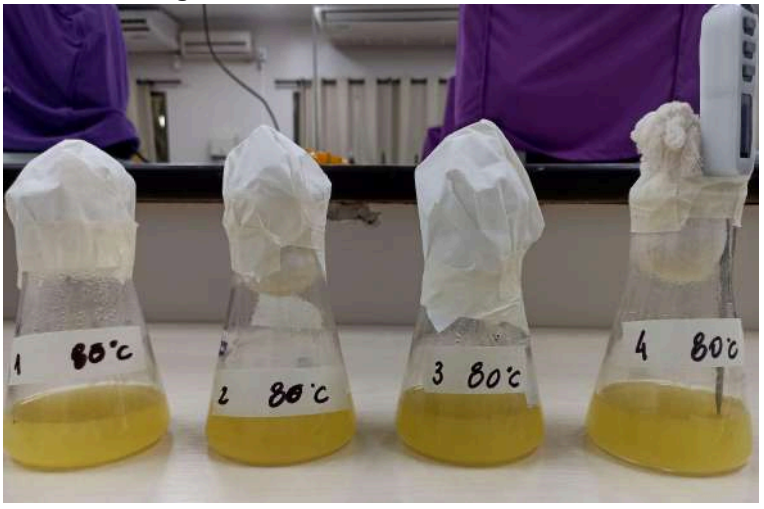
A partir dos resultados observados na primeira fase, onde o permeado de soro foi tratado à 70°C, 95°C e 120°C, com resfriamento da amostra no meio do tratamento térmico a quente, foram escolhidas as temperaturas de tratamento

térmico a serem aplicadas nesta segunda fase, 80ºC e 95ºC. Em acréscimo, também se optou por descontinuar o resfriamento das amostras em função de dificuldades operacionais ao longo dos experimentos. Contudo, é notável o impacto positivo de tal medida para mitigar os efeitos da reação de Maillard em efluentes oriundos da indústria de laticínios (Lamothe *et al.*, 2025)

Ao efetuar o tratamento a 80°C, foi possível observar que o permeado de soro de leite não apresentou diferenças notáveis a olho nu em relação a coloração e a deposição de matéria no fundo do Erlenmeyer (Figura 12), comparável à amostra tratada previamente à 70°C. Isso provavelmente se deve ao tempo que o permeado tratado à 80°C foi submetido ao banho-maria em relação ao tratamento de 70°C (Tratamento à 70°C - 1 hora; tratamento à 80°C - 30 minutos - Tabela 3 e 5). Porém, Brule *et al.* (1978). acrescenta que o tratamento térmico a 80°C é considerado uma condição que pode causar precipitação de minerais e afetar a qualidade sensorial do permeado, o que pode vir a alterar as propriedades do substrato.

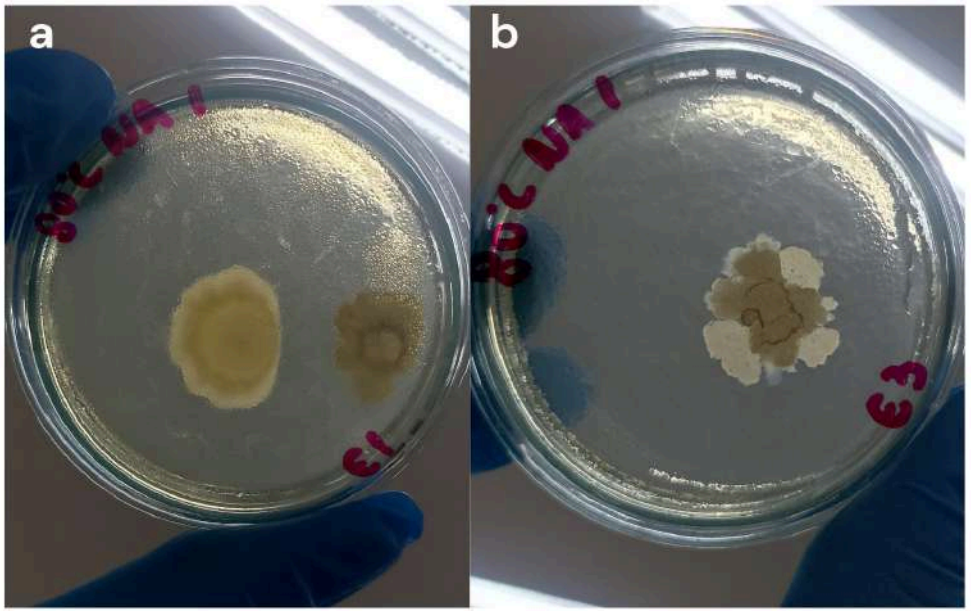
Contudo, há diferenças notáveis ao observarmos os plaqueamentos entre os tratamentos (Figuras 12, 15 e 16), de modo que no tratamento à 70°C, foi observada uma maior riqueza e abundância de tipos de culturas em relação ao tratamento efetuado à 80°C, principalmente no meio NA. No meio AL, é perceptível a alteração entre os tratamentos, principalmente no que se trata de riqueza de espécies, pois no tratamento a 80°C não ocorreu a incidência de grupos bacterianos distintos a olho nu, além do fato da incidência microbiana ter confluído ambas as placas, o que sugere que ao eliminar determinados grupos bacterianos no tratamento á 80°C, os grupos resistentes puderam se proliferar sem o advento da competição.

Figura 14. Tratamento térmico a 80°C.



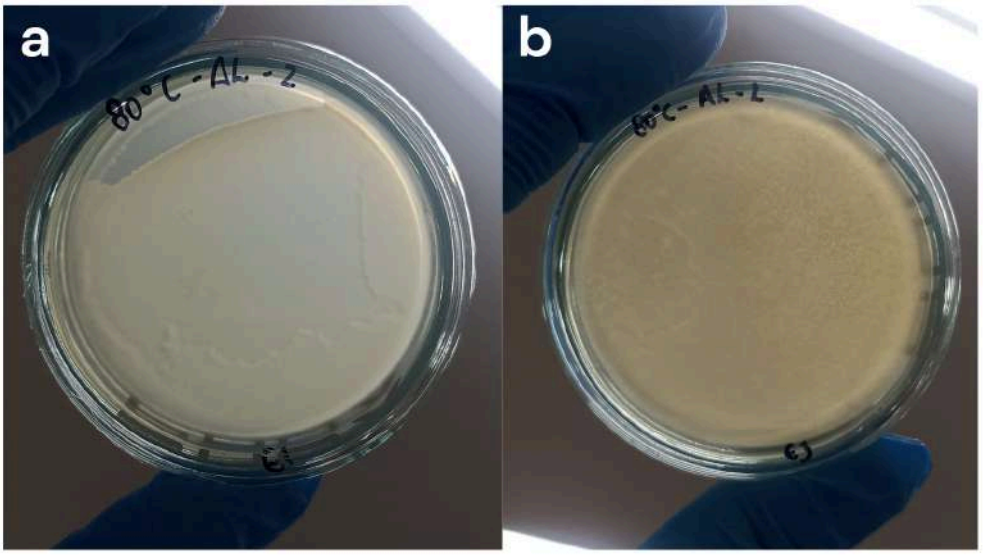
Fonte: A autora.

Figura 15. Incidência microbiana em meio NA do efluente tratado à 80°C.



Legenda: (A) Incidência de duas colônias separadas e de coloração distinta. (B). Incidência de uma colônia com borda de franja. Fonte: A autora.

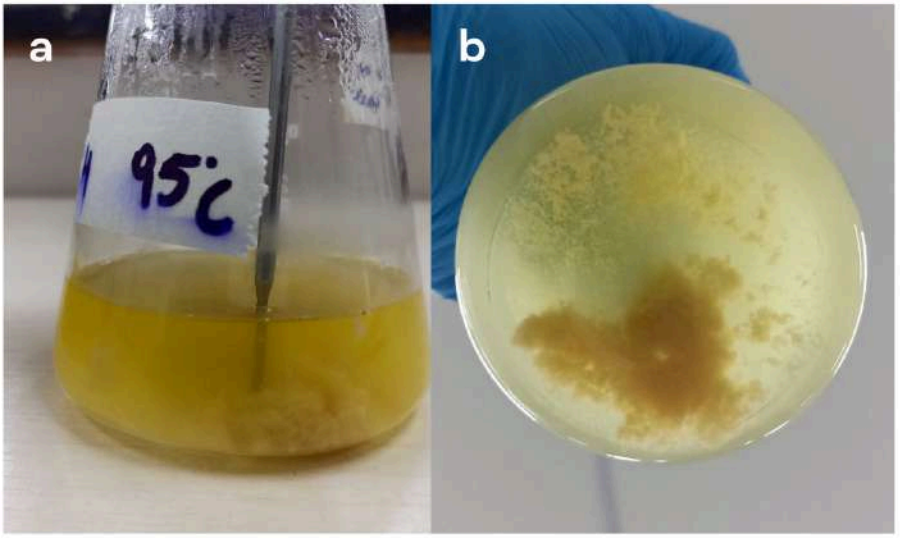
Figura 16. Incidência microbiana em meio AL do efluente tratado à 80°C.



Legenda: (A) Incidência microbiana em quase toda placa. (B) Incidência microbiana de forma confluente. Fonte: A autora.

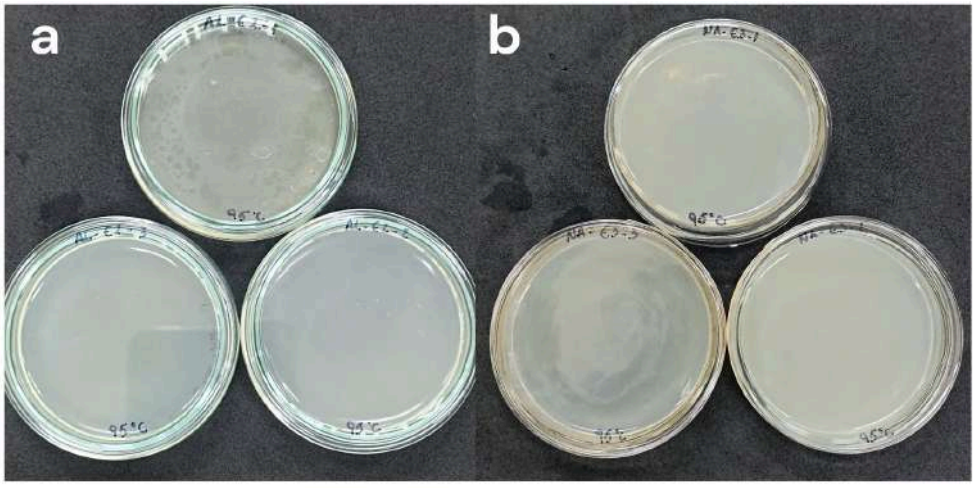
A respeito do tratamento à 95°C, foi possível observar que o permeado de soro de leite não apresentou diferenças notáveis a olho nu em relação a coloração e a deposição de matéria no fundo do Erlenmeyer (Figura 17).

Figura 17. Tratamento térmico a 95°C.



Legenda: (a). Visualização aproximada do efluente tratado. (b). Visualização da aglutinação de proteínas residuais do efluente tratado. Fonte: A autora.

Figura 18. Plaqueamento do efluente tratado à 95°C.



Legenda: (A). Meio de cultura ágar leite. (B). Meio de cultura ágar nutriente. Fonte: A autora.

Quanto ao tratamento à 95°C, esse se mostrou promissor em relação a esterilidade do permeado de soro de leite submetido à essa condição, de modo que a incidência microbiana nesse caso se deu de forma isolada, como o retratado na figura 19, onde ocorreu a incidência em uma das triplicatas, que podemos inferir ser uma contaminação, ou possivelmente a persistência de algum grupo microbiano específico que pode ter sido resistente às condições de tratamento em que o permeado foi submetido.

Figura 19. Incidência microbiana no plaqueamento em meio de cultura AL, do efluente tratado à 95°C.

Fonte: A autora.

5.2.2. Correção de pH

A respeito da correção de pH, essa foi conduzida em condições máximas de esterilidade, em fluxo laminar com NaOH previamente filtrado com microfiltro. Contudo, houve uma falha no acréscimo de NaOH 1 mol/L, fazendo com que elas ficassem com um perfil básico e não neutro.

Quanto ao aspecto da amostra após o tamponamento, essa deixava de apresentar um perfil levemente límpido e se tornou turva (Figura 20), o que sugere que possíveis proteínas residuais, complexos proteicos, lactose, íons como cálcio ou sólidos suspensos coagulados tornavam-se dispersos no meio novamente.

A escolha desse agente regulador de pH se deu em função de ser amplamente utilizado na indústria e por sua disponibilidade no acervo nos laboratórios da universidade e do CIBiogás. Porém, uma alternativa igualmente eficaz, que possui as mesmas aplicações e que também pode ser utilizada, é o carbonato de sódio (Na_2CO_3). Contudo, a utilização de ambos os agentes deve ser efetuada com cautela, pois a sua combinação, além de atuar positivamente na regulação do pH, também demonstrou um aumento de AGV's na digestão anaeróbia de resíduos de alimentos, ao longo da acidogênese (Dahiya *et al.*, 2022), o que pode ser benéfico para a produção de biogás, mas também pode acidificar o meio em demasia.

Figura 20. Amostras tratadas termicamente com pH básico.

Fonte: A autora.

Tal fenômeno pode ser explicado pela desnaturação térmica que ocorre quando proteínas como as do soro são submetidas a temperaturas elevadas, assim essas podem ser levadas à desnaturação, perdendo a sua estrutura terciária e se agregando entre si (Dumitraşcu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2016). Já o retorno do aspecto turvo nas amostras, tal fenômeno pode ocorrer devido a reversão da precipitação de tais compostos, por meio da alteração da carga das proteínas e de outros compostos, fazendo com que os aglomerados e precipitados voltem ao seu estado natural de forma parcial.

De acordo com Das *et al.* (2024), o ponto isoelétrico das proteínas é o fator determinante para a alteração de sua conformação, de modo que a compactação ocorre quando as propriedades eletrostáticas das proteínas estão equilibradas, onde ao sair desse limiar, elas tendem a se descompactar devido à repulsão eletrostática. Quanto ao ponto isoelétrico das proteínas β-LG e α-LA, essas estão na faixa de 5,2 - 5,4 e 4,2 e 4,8 respectivamente (Michel *et al.*, 2015). Diante disso, ao as amostras serem tamponadas para um pH de 9 e 8,7 (Tabela 13), respectivamente, justifica o alto teor de turbidez dos permeados após o tamponamento, como observado na amostra tratada à 80°C e 95°C (Figura 18).

O pH das amostras tamponadas foram verificados 8 dias após a sua correção e notou-se um mantenimento fora da faixa da acidez. Contudo, as amostras apresentavam teores básicos. Tal comportamento pode ser justificado devido ao tamponamento ter sido efetuado em fluxo laminar com fitas colorimétricas, o que

pode ter aumentado a faixa de incerteza e erro da medição do nível hidrogeniônico das amostras.

5.2.3. Sólidos Totais, Fixos e Voláteis

Nessa fase do estudo, os sólidos totais, fixos e voláteis apresentaram um teor de sólidos distintos em relação ao levantamento anterior efetuado, o que é justificado por se tratar de amostras distintas. O permeado de soro de leite *in natura* aqui apresentou um teor de ST de 12,75%, SV de 93,04%, SF de 11,86% e SV em base úmida de 11,86% (Tabela 11). Na amostra T1 (tratada a 80ºC), em relação ao branco, as reduções foram de 8,86% em ST, 4,92% em SV, 2,70% em SF e 13,32% em SV em base úmida. Já na amostra T2 (tratada a 95ºC), as perdas foram ligeiramente mais expressivas, registrando 9,41% em ST, 4,60% em SV, 4,97% em SF e 13,58% em SV em base úmida.

Contudo, Lamothe *et al.* (2025) relatou um aumento significativo ($p < 0,05$) de compostos voláteis a partir de soro e permeado de soro de leite, principalmente relacionados à compostos sulfurados, principalmente nas amostras esterilizadas à 110°C por 6 minutos.

Tabela 11. Sólidos das amostras de Permeado de Soro analisadas.

Amostra[1]	% ST	% SV	% SF	% SV Bu	% CV ST	% CV SV	% CV SF	% CV SVBu
Branco	12,75 ± 0,00	93,04 ± 0,23	11,86 ± 0,23	11,86 ± 2,77	0,02	3,35	0,25	0,23
T1	11,62 ± 0,10	88,46 ± 0,19	11,54 ± 0,18	10,28 ± 10,97	0,86	1,63	0,21	1,07
T2	11,55 ± 0,14	88,73 ± 0,35	11,27 ± 0,35	10,25 ± 16,16	1,18	3,11	0,40	1,58

Fonte: A autora.

Quanto à disponibilidade de SV em base úmida, tais dados podem ser justificados pela metodologia de tratamento das amostras adotadas, pois por mais que os permeados tenham sido tratados em sistema fechado, o que isolava esse sistema era um tampão de algodão, o que poderia reter uma certa umidade que fosse sendo evaporada ao longo do processo; além da distinção entre os SV, fator

que impacta diretamente na produção de biogás.

5.2.4. Determinação de Demanda Química de Oxigênio

A respeito desse parâmetro, foram verificados valores abaixo dos relatados na literatura, mas ainda com teores expressivos (Tabela 12), porém distintos em relação ao primeiro dado obtido. Tal comportamento se dá principalmente por se tratar de amostras distintas, contudo, o tempo de armazenamento, ponto de coleta e fase do processo industrial atuam como variáveis pertinentes na análise de parâmetros para a geração de biogás a partir desse efluente industrial.

Nesse contexto, as amostras tratadas nessa fase, apresentaram valores diferentes em relação ao branco, de modo que a T1 apresentou um teor 7,61% a menos em relação ao branco. Já a amostra T2 se mostrou 0,0702% maior que o branco, o que indica uma discrepância em relação a T1 (Tabela 12).

Podemos inferir que essas distinções ocorreram por uma série de fatores, como a formação de compostos refratários na T2 em relação a T1 e ao branco, onde a degradação de proteínas, lactose e demais elementos presentes no permeado de soro podem ter tornado outros compostos difíceis de degradar, como as melanoidinas e pelo processo de caramelização. A conformação das proteínas residuais pode torná-las mais ou menos biodisponíveis para a degradação, o que influencia nesse parâmetro (Hocaoglu. Orhon, 2010. Wang *et al.*, 2023); a solubilidade de proteínas, além da possibilidade de haver microbiota residual nas amostras tratadas, o que levaria a geração de metabólitos nas amostras afetando assim a DQO (Orhon *et al.*, 1999).

Um outro fator é a possibilidade de haver contaminações, pois apesar do tratamento térmico ter se mostrado promissor quanto a esterilidade na faixa de 95°C, não é relatado na literatura que essa faixa de temperatura poderia esterilizar de maneira ampla uma amostra, mas somente alguns grupos microbianos (Li *et al.*, 2021).

5.2.5. Determinação de Sulfato

A respeito desse fator, foi observada uma diminuição gradual do teor de sulfato em relação à temperatura em que o permeado de soro de leite foi submetido

ao longo dos tratamentos térmicos (Tabela 12). Tal comportamento pode ser justificado pela possibilidade do calor e a alteração do pH ter promovido a adsorção de sulfato junto aos agregados de proteínas, fazendo com que as moléculas de sulfato tenham migrado para a fase semissólida do permeado, tornando-os bioindisponíveis na fase sólida.

Tabela 12: Características Físico-Químicas do efluente tratado a 80°C e a 95°C.

Amostras*	DQO	Sulfato	pH
T	141.925 mgO^2/L	208 mg/L	3,8
T1	131.525 mgO^2/L	184 mg/L	9,0
T2	142.925 mgO^2/L	178 mg/L	8,7

*T: Branco; T1: Permeado de soro de leite tratado à 80°C; T2: Permeado de soro de leite tratado à 95°C. Fonte: A autora.

5.2.6. Potencial Bioquímico de Biogás e Metano das amostras tratadas

A partir da digestão das amostras aqui analisadas foi possível observar a geração de índices de biogás e metano na faixa de 741 a 770 LN kg^{-1} SV de biogás e 400 a 417 LN kg^{-1} SV de metano entre as amostras tratadas, respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13. Potencial Bioquímico de Metano das amostras.

Amostra	Média massa amostra	Média massa inóculo	% do permeado no digestor	Biogás (LN kg^{-1} SV)	Metano (LN kg^{-1} SV)	% Metano	Biogás m^3/ tonelada de substrato	Metano m^3/ tonelada de substrato
Branco	9,16	201,29	5,72	737 ±10,6	374 ± 5,03	51	87	44
T1	9,53	200,57	4,54	741± 11,79	400± 10,81	52	76	41
T2	9,48	202,51	4,47	770± 4,76	417± 1,46	51	79	43

Fonte: A autora.

Em relação aos tratamentos na produção de biogás, a amostra T1, tratada a 80°C apresentou um aumento de 0,54% em relação ao branco, já a amostra T2, tratada a 95°C apresentou um teor de aumento na produção de 4,48%. Quanto à produção de metano, a amostra T1 apresentou uma melhora de 6,95% e a T2 demonstrou uma melhora de 11,5% em relação ao branco.

Tais resultados indicam uma tendência de aumento da produção do biogás à medida em que a temperatura de tratamento foi elevada, apesar do teor de sólidos voláteis de ambas as amostras tratadas terem diminuído em relação ao branco. A respeito da produção de metano, a melhora nesse sentido é notável, pois apresentou percentuais melhores, demonstrando um panorama mais promissor nesse sentido.

Quanto ao percentual total de metano produzido dentro do valor do biogás, obtivemos um melhor teor com a amostra tratada à 80°C, apresentando um montante de 52%, frente a 51% produzido na T2 e no branco (Gráfico 6). Esses resultados indicam que o permeado que foi submetido a condições caloríficas menores obteve um melhor rendimento na produção acumulada de metano, o que está alinhado com os resultados obtidos por Brule *et al.* (1978).

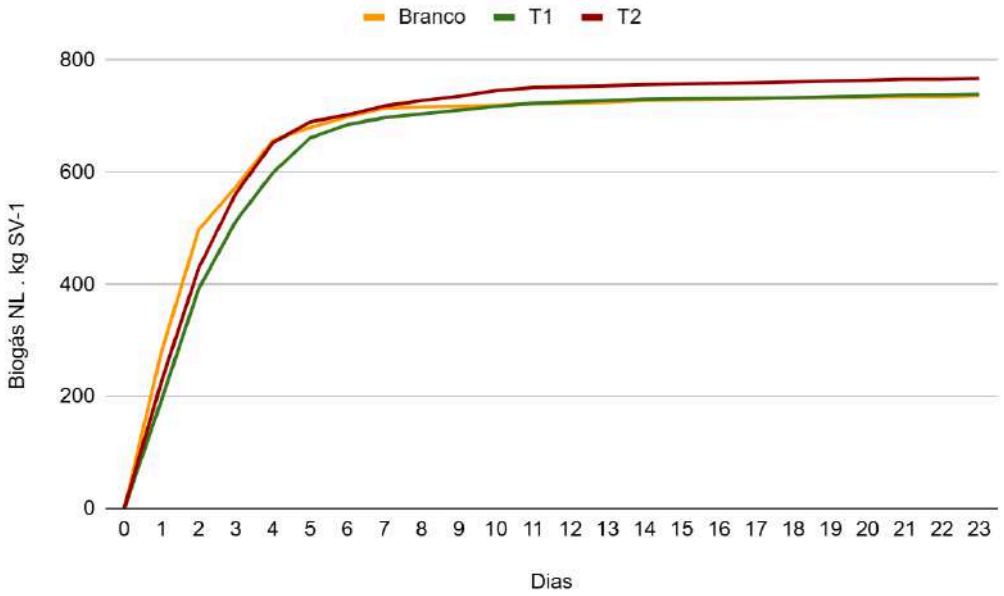
Isso sugere que o tratamento térmico conduzido à 95°C teve um maior impacto sobre as moléculas dos nutrientes que viriam a ser utilizadas pela microbiota do inóculo, indicando que o calor afeta a configuração destes (Zhang *et al.*, 2021), o que pode influenciar a microbiota a tomar uma rota metabólica distinta da metanogênese, como a sulfetogênese.

Como observado por Lamothe *et al.* (2025), ocorreu um aumento nos níveis de compostos voláteis sulfurados, em específico dimetil dissulfeto (DMDS) e dimetil trisulfeto (DMTS) nas amostras de permeado de soro de leite a partir do tratamento térmico de 110°C por 6 minutos de modo que tais evidências vão de encontro com os dados levantados a partir do permeado de soro de leite tratado à 95°C por 30 minutos.

Além disso, podemos inferir que a ausência do resfriamento adotada na fase 1 pode ter influenciado na geração dos metabólitos ao longo do processo, dado que a velocidade da reação de Maillard é lenta a temperaturas mais baixas e que, em geral, a reação se intensifica com o aumento da temperatura (Francisquini *et al.*, 2017).

Quanto à curva cinética da produção de biogás, notou-se que o pico de produção das três amostras ocorreu por volta do dia 2, com volumes de biogás distintos, sendo branco: 497,77; T1: 392,3 e T2: 428,9 litros normais de biogás (Gráfico 4).

Gráfico 4. Curva Cinética da produção de Biogás das amostras tratadas X Branco.



Fonte: A autora.

Esse comportamento cinético entre o branco e a T1 sugere que o calor afeta a biodisponibilidade dos nutrientes presentes no permeado por meio da desnaturação dos compostos proteicos residuais e a caramelização parcial dos açúcares do meio, reduzindo assim a sua digestibilidade, dada a diminuição na produção de biogás entre as duas amostras.

Em acréscimo, podemos inferir que a microbiota presente no permeado *in natura* pode ter um importante papel ao longo do processo fermentativo, principalmente na fase da hidrólise que pode ter atuado liberando substratos de maneira mais ágil para as fases seguintes das rotas metabólicas, dadas as diferenças observadas. Com o tratamento efetuado a 80°C, essa microbiota foi parcialmente eliminada, mas não o suficiente para tornar indisponíveis todas as moléculas dos nutrientes do meio para a microbiota residual do permeado e do inóculo, o que pode justificar a redução da eficiência inicial da digestão e um menor pico na produção de biogás.

Em contrapartida, há um aumento notável entre a produção de biogás da T2 e T1, o que denota que apesar da menor presença da microbiota natural do permeado tratado a 95°C, essa condição de tratamento pode ter promovido uma maior quebra térmica dos compostos orgânicos contidos no substrato. Dessa forma, os nutrientes menos acessíveis no tratamento a 80°C, se tornam mais biodisponíveis no tratamento a 95ºC, justificando assim o aumento nos níveis da produção de biogás.

Vale ainda ressaltar que a microbiota natural do permeado *in natura* pode incluir microrganismos mais adaptados a processar e fermentar de maneira mais ágil os compostos desse substrato, enquanto os tratamentos térmicos atuaram na redução dessa população, afetando a produção de biogás. Tarapata *et al.* (2022) elucidam que o pré tratamento através da diafiltração de permeados ultrafiltrados e a adaptação do inóculo às particularidades do substrato, foram essenciais na obtenção de altos níveis de metano na produção total de biogás. Esse resultado sinaliza a importância de uma comunidade microbiana bem ajustada à degradação do substrato e às condições específicas que ele impõe ao meio.

Por um outro viés, a DQO identificada nas amostras aqui analisadas pode estar diretamente relacionada à distinção de produção do biogás entre as amostras. Na amostra T1, foi identificado um nível de 131.525 mgO_2/L, o que indica que o tratamento térmico a 80°C pode ter ocasionado uma retenção de compostos orgânicos em formas menos disponíveis para o processo de digestão em relação ao branco, o que corrobora para teoria de que a caramelização parcial dos açúcares e a coagulação das proteínas podem ter dificultado a biodegradabilidade, justificando assim o menor pico da produção de biogás.

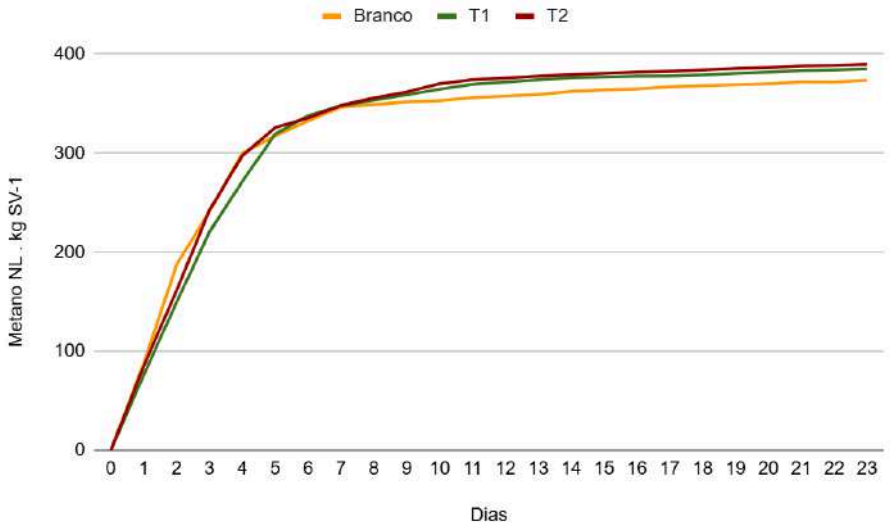
Já na amostra T2, foi observada uma DQO similar à do permeado *in natura* - branco. Esses dados corroboram com a hipótese de que esse tratamento auxiliou na solubilização da matéria orgânica por meio de degradação térmica, justificando assim o pico de produção de biogás em relação à T1. Apesar da DQO da T2 ser um pouco maior em relação ao branco, esse dado também vai de encontro a possibilidade da microbiota natural do permeado ter um papel fundamental na rápida conversão de matéria orgânica em biogás.

Quanto à estabilização da produção, essa se deu por volta do décimo dia nas três amostras, o que corresponde a finalização da disponibilidade de nutrientes passíveis de serem degradados pelo inóculo utilizado.

A respeito da curva cinética da produção de metano, observou-se uma

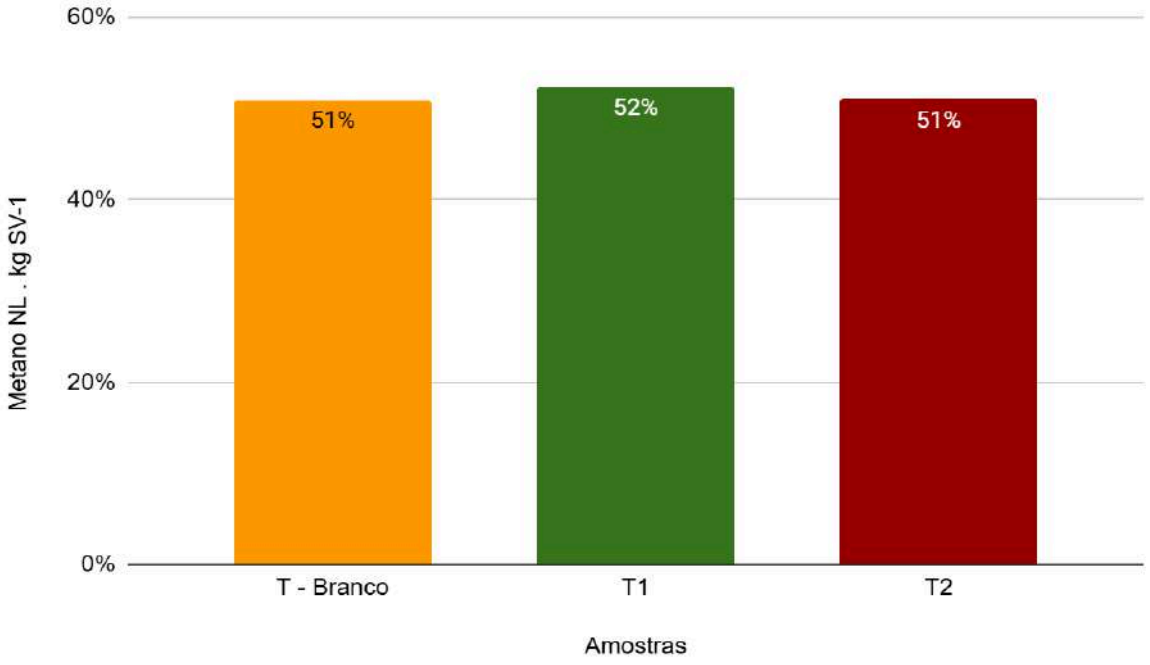
predominância na produção de metano da amostra T2 em relação a quase todos os pontos da curva (Gráfico 5). Contudo, em volume acumulado, a amostra T1 apresentou um maior teor de metano dentro do total de biogás produzido pelas amostras de 52%, enquanto a amostra T2 se igualou ao branco nesse parâmetro (Gráfico 6).

Gráfico 5. Curva Cinética da produção de Metano das amostras tratadas X Branco.



Fonte: A autora.

Gráfico 6. Produção acumulada de Metano das amostras tratadas X Branco.



Fonte: A autora.

Tal comportamento pode ser justificado por uma maior seletividade na

conversão da matéria orgânica em metano, em função do tratamento efetuado a 80°C, que pode ter eliminado uma parcela dos microrganismos fermentativos, auxiliando assim na redução da produção de AGV's. Dessa forma, a matéria orgânica disponível pode ter sido seletivamente convertida em metano.

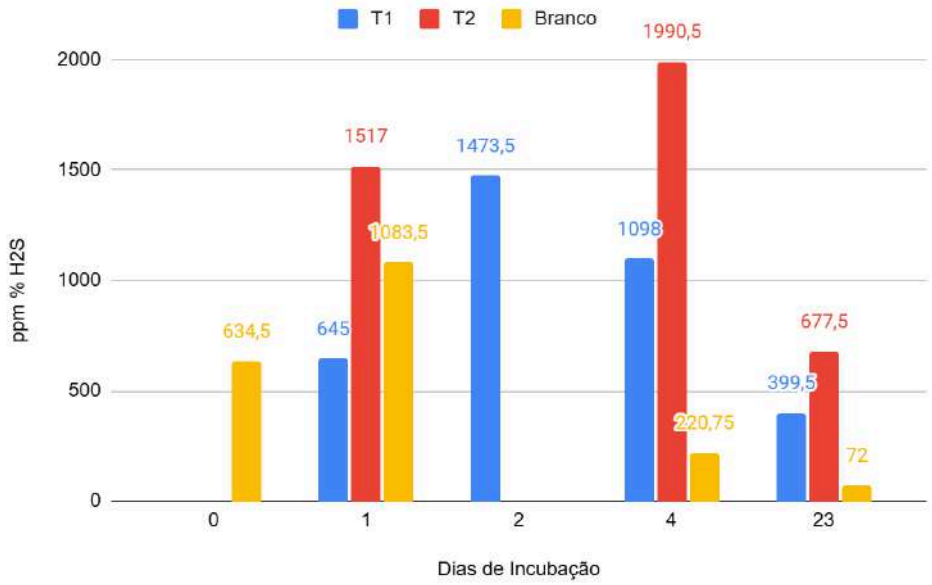
Uma outra hipótese são os teores dos demais gases produzidos ao longo do processo de biodigestão, como o teor de CO_2, havendo a possibilidade deste ter sido reduzido devido ao tratamento efetuado nesta amostra, que pode ter induzido a precipitação de carbonatos, reduzindo assim a incidência gasosa desse composto, propiciando uma maior produção de metano (Cremonez *et al.*, 2020; Asensio-Ramos *et al.*, 2024; Da Rosa Pin *et al.*, 2020).

Ademais, como o tratamento na amostra T1 foi mais brando em relação a T2, nesse caso a microbiota metanogênica pode ter sido mais resiliente a tais condições em relação às comunidades fermentativas, resultando assim em um metabolismo mais orientado à produção de metano.

5.2.7. Qualidade do Biogás

A respeito desse parâmetro optou-se por analisar os teores de sulfeto de hidrogênio, em função da sua toxicidade ao processo de biodigestão anaeróbia e consequente inibição do processo fermentativo (Kunz, 2022). Nesse sentido, observou-se nos dias de leitura os teores de H_2S produzidos (Gráfico 7).

Gráfico 7: Produção de Sulfeto de Hidrogênio entre as amostras tratadas.



Legenda: Dado de H_2S da amostra T2 do 2°dia não pode ser reportado por se tratar de um outlier. A ausência de dados entre os dias 4 e 23 se deu em função da falta de leitura nesses dias, devido à necessidade de haver acúmulo do volume de gás para que ele seja medido pelo aparelho.
Fonte: A autora.

As amostras tratadas apresentaram níveis elevados desse gás, com a T1 exibindo um aumento de 36% em relação ao branco, enquanto a T2 mostrou um incremento de 83,7%. Esses resultados indicam que, à medida que o permeado foi submetido a temperaturas mais elevadas, o teor de H_2S aumentou de maneira proporcional ao longo do processo de produção de biogás. A amostra T1 atingiu um pico de 1473,5 ppm, enquanto a T2 registrou um pico de 1990,5 ppm. No entanto, no segundo dia referente à amostra T2, não foi possível obter uma leitura confiável por se tratar de um *outlier* e, por esse motivo, o dado deste dia não pôde ser reportado.

Considerando o padrão de comportamento da produção de gás observado nas demais amostras, é provável que o pico de H_2S tenha ocorrido justamente nesse dia, sugerindo que a produção desse gás foi ainda maior do que os valores mensurados indicam. Referente ao período entre os dias 4 e 23, os dados não puderam ser reportados devido à ausência de volume de gás suficiente para a análise de sua composição, uma exigência de funcionamento do aparelho utilizado.

Considerando a composição base do permeado de soro de leite, que contém aminoácidos sulfurados como metionina e cisteína, é possível que esses compostos tenham sofrido decomposição orgânica mediada pelo calor durante os tratamentos. De acordo com Oduro, Choi e Ryu (2011), a degradação térmica de aminoácidos

como metionina e cisteína tende a aumentar com a temperatura e na presença de oxigênio e açúcares redutores, resultando na liberação de íons sulfeto e enxofre livre.

O pH também é um fator relevante, tendo em vista que faixas de pH mais alcalinas tendem a reduzir a volatilização desse gás (Kunz, 2022). Nesse contexto, o fato desse parâmetro ter ficado em uma faixa mais básica pode ter influenciado na produção de H_2S. Contudo, as proporções de inóculo frente a de substrato utilizadas, de acordo com o que regem a VDI 4630 e a DIN 38414-8, o inóculo pode ter atuado de maneira tamponante frente aos permeados de soro tratados e com o pH ajustado para a faixa básica, como observado por Silva (2015), onde o pH fora da faixa da neutralidade não se mostrou desfavorável para que a biodigestão anaeróbia ocorresse de forma satisfatória.

Wang, Wang e Luan (2023) acrescentam que temperaturas acima de 19.56°C/min iniciam a degradação de aminoácidos como metionina, devido a reações com de Maillard, oxidação e dessulfuração. Isso vai de encontro com as evidências analisadas ao longo desse estudo, embasando assim a possibilidade de a liberação de compostos sulfurados no meio facilitar o desvio da rota da metanogênese para a sulfetogênese, justificando assim o perfil de produção desse gás.

Lamothe *et al.* (2025) também elucida que as altas temperaturas em que o permeado de soro de leite foi submetido, atuaram de maneira direta no aumento dos níveis de compostos voláteis sulfurados, tais como dimetil dissulfeto (DMDS) e dimetil trisulfeto (DMTS), em relação à amostra pasteurizada à 63,5°C por 30 minutos, de modo que a pasteurização não trouxe mudanças significativas nos níveis de tais compostos, o que reforça os dados obtidos a partir da biodigestão dos permeados tratados à 80°C e 95°C.

As condições experimentais aqui conduzidas ocorreram em batelada, o que explica o padrão observado nos teores de H_2S, com um início, um pico e um declínio nas três amostras. Em um cenário de alimentação contínua de reatores, os teores desse gás seriam ainda mais expressivos, devido a acumulação deste ao longo do tempo, que causaria problemas não só para o processo metabólico, mas também para o mantenimento de estruturas comuns dentro da indústria do biogás, como biorreatores e válvulas de gás, por conta do seu alto poder corrosivo de estruturas metálicas. Esse acúmulo poderia inviabilizar a utilização do biogás gerado por essa

via em larga escala, destacando a necessidade de abordagens e estratégias para mitigar a sua produção em processos contínuos.

Além das questões operacionais, o H_2S é prejudicial ao homem e ao meio ambiente, pois pode causar irritações nos olhos, nariz, tonturas, diarreias, irritações no sistema respiratório e danos neurológicos (ATSDR, 2017), o que afeta a saúde do trabalhador, gerando um nível considerável de insalubridade. Quanto ao meio ambiente, os impactos estão relacionados à geração de chuva ácida e odor nas vizinhanças industriais.

Diante de tais problemáticas, a mitigação da geração de H_2S necessita de mais investidas, pois tal panorama representa um desafio significativo, tanto para a eficiência do processo quanto para a durabilidade dos equipamentos. Uma das abordagens comuns é a suplementação do sistema com componentes de ferro, como adição de limonita que se comportou como um adsorvente de enxofre, por meio de mecanismos como adsorção, precipitação de FeS e oxidação de Fe III (Zhou *et al.*, 2016). Por um outro viés, Prasertcharoensuk *et al.* (2022) sugerem a utilização de óxidos metálicos para a oxidação seletiva de H_2S, tais como óxidos de vanádio e ferro, e catalisadores baseados em carbono.

Já Wellinger & Lindberg (1999) acrescentam que a introdução de pequenas quantidades de oxigênio no biodigestor, pode favorecer a conversão do H_2S em enxofre elemental por microrganismos oxidantes, pois a microaeração regula o potencial de oxidação-redução (ORP), mantendo-o em torno de -250 mV.

A técnica demonstrou uma remoção de H_2S superior a 95% em escala piloto, sem prejudicar a produção de metano, além de ser de baixo custo e facilmente integrada a plantas de biogás existentes (Rolewicz-Kalinska *et al.*, 2021). Quanto aos desafios operacionais, como a distribuição desigual de oxigênio e o risco de super-aeração, podem ser minimizados com um design adequado e monitoramento do ORP (Vu *et al.*, 2022).

Por outro lado, estudos sobre consórcios microbianos também não devem ser negligenciados. Um balanço otimizado entre microrganismos metanogênicos e bactérias redutoras de sulfato pode ser fundamental para mitigar o desvio da rota metabólica da sulfetogênese para a metanogênese, otimizando assim a produção de biogás e de metano (Dias, 2015). Em acréscimo, a adição do permeado de soro de leite bovino em fases pré-definidas em função do funcionamento das rotas metabólicas também podem ser uma possibilidade viável, como observado por Dias

(2015) nos ensaios com vinhaça.

CONCLUSÃO

A avaliação da viabilidade da produção de biogás por meio da digestão anaeróbia de permeado de soro de leite bovino pré-tratado e dejetos animais mostrou-se promissora para a geração de biogás, com teores de metano superiores a 50%, reforçando seu papel como uma fonte oportuna de energia renovável.

Os tratamentos térmicos aplicados, especialmente nas temperaturas de 80°C e 95°C, mostraram-se eficazes na redução da microbiota natural do permeado. As produções acumuladas a partir dessas amostras apresentaram percentuais de aumento de produção em relação ao branco, onde T1 (80°C) apresentou um aumento de 0,54% na produção total de biogás e 6,95% na produção de metano em relação ao branco. Quanto a amostra T2 (95°C), obteve-se um aumento de 4,48% na produção de biogás e 11,5% na de metano, indicando que o pré-tratamento térmico pode ser uma estratégia viável para melhorar os teores da produção de biogás e metano.

Contudo, com o aumento do biogás, o H_2S aumentou na mesma medida com um acréscimo de 36% na amostra a 80°C e de 83,7% na a 95°C, o que indica que apesar de ter ocorrido um aumento na produção geral de biogás, não houve um acréscimo em sua qualidade, representando um desafio para a viabilidade da geração de biogás a partir do permeado de soro de leite bovino.

Dessa forma, para amplificar a eficiência e viabilidade econômica, são necessárias pesquisas adicionais a respeito da mitigação dessa questão, podendo ser realizada por meio de estratégias como a adsorção com compostos de ferro ou a oxidação seletiva de H_2S, que devem ser exploradas em estudos futuros para otimizar a produção de biogás.

Do mesmo modo, pesquisas adicionais sobre codigestão com outros substratos, ajuste de parâmetros operacionais (como temperatura, pH e relação C/N), inserção de oxigênio em digestores e consórcios microbianos adaptados a essas condições também são pertinentes, pois a utilização desses resíduos para produção de combustíveis renováveis, em específico o biogás, atua de maneira expressiva na promoção de energia limpa, assim como também avança em direção a uma economia circular, transformando resíduos em recursos valiosos.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 14903:2014 - Resíduos sólidos - Determinação do potencial de geração de biogás por digestão anaeróbica de resíduos sólidos urbanos. Rio de Janeiro: ABNT, 2014.

Água Potável e Saneamento. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - *IPEA*. Disponível em: https://www.ipea.gov.br/ods/ods6.html. Acesso em 02 de outubro de 2024.

ALBUQUERQUE, M. G. *et al*. IMPACTOS SOCIOAMBIENTAIS DOS DEJETOS DA PECUÁRIA NO ÂMBITO RURAL: UMA REVISÃO DE LITERATURA. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*. Investigación, desarrollo y práctica, v. 15, n. 1, p. 517, 2022.

ALBUQUERQUE, J.; RATUSZNEI, S.; RODRIGUES, J. Produção de biometano por codigestão termofílica de vinhaça de cana-de-açúcar e soro de leite em um AnSBBR: efeitos da composição, carga orgânica, estratégia de alimentação e temperatura. Journal of Environmental Management, v. 251, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109606. Acesso em: 06 de março de 2025.

AMARAL, André Cestonaro do. Distribuição de espécies metálicas na fração sólido-líquido de efluente da suinocultura submetido a biodigestão anaeróbia. 2013. 74 f. Dissertação (Mestrado em Química) - *Universidade Estadual do Centro Oeste*, Guarapuava, 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater: Method 4500-H+ - Hydrogen ion concentration (pH). 23. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2017.

ASENSIO-RAMOS, M.; MELIÁN, G.; PADRÓN, E.; HERNÁNDEZ, P.; PÉREZ, N.; CANO, J. Avaliação do método de gás traçador para avaliar o potencial energético do biogás de granjas avícolas nas Ilhas Canárias. *Sustentabilidade*, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/su16104168. Acesso em: 7 mar. 2025.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 14903:2014 - Resíduos sólidos - Determinação do potencial de geração de biogás por digestão anaeróbica de resíduos sólidos urbanos. Rio de Janeiro: ABNT, 2014.

AZZOLINI, J. C.; FABRO, L. F. MONITORAMENTO DA EFICIÊNCIA DO SISTEMA DE TRATAMENTO DE EFLUENTES DE UM LATICÍNIO DA REGIÃO MEIO-OESTE DE SANTA CATARINA. *Unoesc & Ciência - ACET*, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 43-60, jan./jun. 2013.

BACKUS, B. D.; CLANTON, C. J.; GOODRICH, P. R.; MORRIS, H. A. Carbon-to-nitrogen ratio and hydraulic retention time effect on the anaerobic digestion of cheese whey. Transactions of the ASABE, v. 31, n. 4, p. 1274-1282, 1988.

BEM. Judite Sason de. ESTADO E ECONOMIA NA AMÉRICA LATINA: A CONSTRUÇÃO DO PENSAMENTO NEO-ESTRUTURALISTA CEPALINO. *UFRGS.* 2005.

BERNÁRDEZ, L. A.; RAMOS, C.; ANDRADE LIMA, L. R.; ALMEIDA, P. Redução microbiológica de sulfato: cinética para baixa concentração de sulfato. In:

ENCONTRO NACIONAL DE TRATAMENTO DE MINÉRIOS E METALURGIA EXTRATIVA (ENTMME), 24., 2011, Salvador. Anais... Salvador: ENTMME, 2011.

BIELUCZYK, W. *et al.* Greenhouse gas fluxes in brazilian climate-smart agricultural and livestock systems: A systematic and critical overview. *Journal of cleaner production*, v. 464, n. 142782, p. 142782, 2024.

Biometano tem a menor pegada de carbono entre diversos energéticos disponíveis. *Research Centre for Greenhouse Gas Innovation - RCGGI*. 2017. Disponível em: <https://sites.usp.br/rcgi/br/biometano-tem-a-menor-pegada-de-carbono-entre-diversos-energeticos-disponiveis/>. Acesso em: 15 de outubro de 2024.

BISHOFF, D.; ALSAYED, A.; HOSEN, S.; MENON, P.; ELDYASTI, A. Efeito da DQO no crescimento metanotrófico e na digestibilidade anaeróbica de seu lodo como mais um passo para integração em ETAR. *Journal of Environmental Management*, v. 290, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112543. Acesso em: 06 de março de 2025.

BOOHER, L. Aspectos químicos da riboflavina. JAMA, v. 110, p. 1105-1111, 1938. Disponível em: https://doi.org/10.1001/JAMA.1938.62790140008009. Acesso em: 06 de março de 2025.

BRAGA, Erika de Almeida Sampaio et al. Nota técnica a respeito da Identificação do tipo de acidez responsável pela agressividade de águas subterrâneas. *Associação Brasileira de Águas Subterrâneas* (ABBA). 2021.

BRASIL. Instituto Ambiental do Paraná (IAP). Resolução CEMA 070/09 - Anexo 7: Condições e Padrões para o Lançamento de Efluentes Líquidos Industriais. 2009. Disponível em: https://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-09/anexo_7_cema_70-09_padroes_para_o_lancamento_de_efluentes_liquidos.pdf?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 26 mar. 2025.

BRITO, L. T. de L.; MELO, R. F. de; GIONGO, V. (Ed.). Impactos ambientais causados pela agricultura no Semiárido brasileiro. Petrolina: *Embrapa Semiárido*, 2010.

BRULE, G.; REAL DEL SOL, E.; FAUQUANT, J.; FIAUD, C. Mineral salts stability in aqueous phase of milk: influence of heat treatments. *Journal of Dairy Science*, v. 61, n. 9, p. 1225-1232, 1978. ISSN 0022-0302. Disponível em: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83710-2. Acesso em: 31 de março de 2025.

BRUNO, I. P.; FURLAN, L. A. C.; ARAÚJO, A. G. de. Lixiviação de nitrato e manejo do solo: tendências de pesquisa globais vs. brasileiras para 2001-2011 e 2012-2022. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 53, p. e76778, 2023. Disponível em: https://revistas.ufg.br/pat/article/view/76778. Acesso em: 3 fev. 2025.

BYARO, M.; MAFWOLO, G.; MAYAYA, H. Keeping an eye on environmental quality in Tanzania as trade, industrialization, income, and urbanization continue to grow. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 39, p. 59002-59012, ago. 2022. DOI: 10.1007/s11356-022-19705-x.

CARLEIAL, L. M. F.; CRUZ, B. O.; MOTA, J. A.; MILANEZ, B.; LUEDEMANN, G.; OLIVEIRA FILHO, J. D. de; SILVA, J. H. G. da. Pesquisa do pagamento por serviços

ambientais urbanos para gestão de resíduos sólidos. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – *IPEA*, Brasília, 2010.

Censo Agropecuário 2017. *IBGE*. Disponível em:https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017/resultados-definitivos#caracteristicas-produtores. Acesso em: 03 de outubro de 2024.

CLIMATE WATCH. GHG emissions. Disponível em: https://www.climatewatchdata.org/ghg-emissions?end_year=2021&start_year=1990. Acesso em: 22 mar. 2025.

Comparativo entre o biometano e outros combustíveis renováveis. *Cibiogás*. 2024. Disponívelem:<https://cibiogas.org/blog/comparativo-entre-o-biometano-e-outros-combustiveis-renovaveis/>. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Concept: What Is a Circular Economy? A Framework for an Economy That Is Restorative and Regenerative by Design. *Ellen Macarthur Foundation***.** N.d. Disponível em: https://www.ellenmacarthurfoundation.org/circulareconomy/concept. Acesso em 26 de setembro de 2024.

COSTA JR, N. B.; BALDISSERA, T. C.; PINTO, C. E.; GARAGORRY, F. C.; MORAES, A.; CARVALHO, P. C. F. Public policies for low carbon emission agriculture foster beef cattle production in southern Brazil. *Land Use Policy,* v. 80, p. 269-273, 2019.

CREMONEZ, P.; SAMPAIO, S.; TELEKEN, J.; MEIER, T.; FRIGO, E.; DE ROSSI, E.; DA SILVA, E.; ROSA, D. Efeito das concentrações de substrato na produção de metano e hidrogênio biogás por digestão anaeróbia de um polímero à base de amido de mandioca. *Culturas e Produtos Industriais*, v. 151, p. 112471, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112471. Acesso em: 7 mar. 2025.

DA ROSA PIN, Bruno Vaconcelos Aproveitamento energético do biogás proveniente da digestão anaeróbia de águas residuárias de café no sul de Minas Gerais, Brasil. *Energia Renovável*, v. 146, p. 2084-2094, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2019.08.004. Acesso em: 7 mar. 2025.

DAHIYA, Shikha; MOHAN, S. Venkata. Synergy of selective buffering, intermittent pH control and bioreactor configuration on acidogenic volatile fatty acid production from food waste. Chemosphere, v. 302, p. 134755, 2022. ISSN 0045-6535. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134755. Acesso em: [data de acesso].

DAS, Sougat; BASU, Tithi; MAJUMDAR, Saptarshi. Electrostatic-Dominated Conformational Fluctuations and Transition States of Phase Separation in Charge-Balanced Protein Polymer. *ACS Macro Lett*. 2024, 13, 1, 34–39. Disponível em:<https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.3c00625>. Acesso em 04 de março de 2025.

Declaração de saúde pública para sulfeto de hidrogênio. Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças - ATSDR. 2017. Disponível em:<https://wwwn.cdc.gov/TSP/PHS/PHS.aspx?phsid=387&toxid=67#>. Acesso em: 6 de março de 2025.

DELANEY, R. Composição, propriedades e usos de concentrados de proteína de soro de leite. International Journal of Dairy Technology, v. 29, p. 91-101, 1976. Disponível em: https://doi.org/10.1111/J.1471-0307.1976.TB00406.X. Acesso em: 06 de março de 2025.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG (DIN). DIN 38414-8: 2006-08 - German standard methods for the examination of water, wastewater and sludge - Part 8: Determination of the content of volatile solids in sludge and sediment (in German). Berlin: Deutsches Institut für Normung, 2006.

DIAS, Marcela França. Análise da comunidade microbiana em sistema de tratamento de biogás com elevadas concentrações de sulfeto. 2015. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

DUMITRAŞCU, L.; URSACHE, F. M.; APRODU, I.; STĂNCIUC, N. The effect of calcium and magnesium on the interaction between β-lactoglobulin and carotenoids from sea buckthorn berries. *Luminescence*, v. 34, n. 7, p. 739-748, nov. 2019. DOI: 10.1002/bio.3668.

EDWIGES, Thiago. Biodigestão anaeróbia de resíduos vegetais provenientes de central de abastecimento. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017.

ESLABÃO, Andrieza de Aquino. Licenciamento ambiental de unidades geradoras de biogás a partir de dejetos da pecuária no Estado de Santa Catarina. 2022. 157 f. Dissertação (Mestrado em Energia e Sustentabilidade) - Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá.

FAGBOHUNGBE, Michael O.; ONYERI, Chidinma A.; SEMPLE, Kirk T. Co-fermentation of whey permeates and cattle slurry using a partitioned up-flow anaerobic digestion tank. Energy, v. 185, p. 567-572, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.07.051. Acesso em: 06 de março de 2025.

FEDOROVYCH, D.; TSYRULNYK, A.; RUCHALA, J.; SOBCHUK, S.; DMYTRUK, K.; FAYURA, L.; SIBIRNY, A. Construção dos produtores avançados de mononucleotídeos de flavina na levedura flavinogênica Candida famata. *Levedura*, v. 40, p. 360-366, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1002/yea.3843. Acesso em: 06 de março de 2025.

FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; McSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. Dairy *Chemistry and Biochemistry*. 2. ed. Cham: Springer, 2015.

FRANCISQUINI, Júlia d'Almeida; MARTINS, Evandro; SILVA, Paulo Henrique Fonseca; SCHUCK, Pierre; PERRONE, Ítalo Tuler; CARVALHO, Antônio Fernandes. Reação de Maillard: uma revisão. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 72, n. 1, p. 48-57, jan./mar. 2017.

FUESS, L. T. Biodigestão anaeróbia termofílica de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração. 2017. 248 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

GATIBONI, L. C. *et al*. Soil phosphorus thresholds in evaluating risk of environmental transfer to surface waters in Santa Catarina, Brazil. *Revista brasileira de ciência do solo*, v. 39, n. 4, p. 1225–1234, 2015.

GUERI, Matheus Vitor Diniz *et al*. PARÂMETROS OPERACIONAIS DO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ALIMENTARES: UMA REVISÃO.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. *BIOFIX Scientific Journal* v. 3 n. 1 p. 17-25 2018. DOI: dx.doi.org/10.5380/biofix.v3i1.55837.

HAO, Liping; LÜ, Fan; LI, Lei; WU, Qing; SHAO, Liming; HE, Pinjing. Self-adaption of methane-producing communities to pH disturbance at different acetate concentrations by shifting pathways and population interaction. Bioresource Technology, v. 140, p. 319-327, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.113. Acesso em: 06 de março de 2025.

HE, J.; ZHANG, Y.; WU, X.; YANG, Y.; XU, X.; ZHENG, B.; DENG, W.; SHAO, Z.; LU, L.; WANG, L.; ZHOU, H. A study on the relationship between metabolism of Cyanobacteria and chemical oxygen demand in Dianchi Lake, China. *Water Environment Research*, v. 91, n. 12, p. 1650-1660, dez. 2019. DOI: 10.1002/wer.1171. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31232497/. Acesso em: 23 fev. 2025.

HOCAOGLU, S.; ORHON, D. Destino de orgânicos residuais solúveis em biorreator de membrana. Journal of Membrane Science, v. 364, p. 65-74, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1016/J.MEMSCI.2010.07.050. Acesso em: 07 de março de 2025.

HUTTON, Guy; VARUGHESE, Mili. The Costs of Meeting the 2030 Sustainable Development Goal Targets on Drinking Water, Sanitation, and Hygiene. *World Bank Group's Water Global Practice*. 2016.

IEA – INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. Medium-term gas report 2023. Paris: *IEA*, 2023. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/medium-term-gas-report-2023>. Acesso em: 15 out. 2024.

ILTCHENCO, S. et al. Whey protein concentration by ultrafiltration and study of functional properties. *Ciência Rural*, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20170807. Acesso em: 07 de março de 2025.

INGRASSIA, Estefanía B.; FIORENTINI, Emiliano F.; DOTTO, Guilherme L.; ESCUDERO, Leticia Belén. When the use of derived wastes and effluents treatment is part of a responsible industrial production: A review. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, v. 201, 2024. ISSN 0255-2701. doi: https://doi.org/10.1016/j.cep.2024.109826.

INDUCHOODAN, T. G.; HAQ, Izharul; KALAMDHAD, Ajay S. Factors affecting anaerobic digestion for biogas production: a review. In: HUSSAIN, Chaudhery; HAIT, Subrata (ed.). *Advanced Organic Waste Management. Elsevier*, 2022. p. 223-233. ISBN 9780323857925. Disponível em: https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85792-5.00020-4. Acesso em: 02 de fevereiro de 2025.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). Germany 2020 energy policy review. Paris: IEA, 2020.INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). Germany 2020 energy policy review. Paris: IEA, 2020.

KAPOOR, Rimika; GHOSH, Pooja; KUMAR, Madan; SENGUPTA, Subhanjan; GUPTA, Asmita; KUMAR, Smita S.; VIJAY, Vandit; KUMAR, Vivek; VIJAY, Virendra Kumar; PANT, Deepak. Valorization of agricultural waste for biogas based circular economy in India: a research outlook. *Bioresource Technology*, v. 304, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123036. Acesso em: 25 de março de 2025.

KOVÁCS, E.; WIRTH, R.; MARÓTI, G.; BAGI, Z.; RÁKHELY, G.; KOVÁCS, K. Produção de biogás a partir de biomassa rica em proteínas: fermentação anaeróbica em batelada alimentada de caseína e sangue de porco e mudanças associadas na composição da comunidade microbiana. *PLoS ONE*, v. 8, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077265. Acesso em: 06 de março de 2025.

KUMAR, V.; KUMAR, P.; KUMAR, P.; SINGH, J. Anaerobic digestion of Azolla pinnata biomass grown in integrated industrial effluent for enhanced biogas production and COD reduction: Optimization and kinetics studies. *Environmental Technology and Innovation*, v. 17, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100627. Acesso em: 06 de março de 2025..

KUNZ, et al. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. 2° Edição. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2022. 211 p.

LAMOTHE, Sophie; BRITTEN, Michel; GENTÈS, Marie-Claude. Effects of heat treatments on the stability, antioxidant activity and volatiles of milk and whey ultrafiltration permeates. *International Dairy Journal*, v. 160, 2025, p. 106079. ISSN 0958-6946. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106079. Acesso em: 30 de março de 2025.

LIMA, Heleno Quevedo de. Diaconia - Biodigestor sertanejo - Entrevista com Ita Porto. *Energia e Biogás*, 04 nov. 2024. Disponível em: https://biogaseenergia.com.br/diaconia-biodigestor-sertanejo-entrevista-com-ita-porto . Acesso em: 16 fev. 2025.

LINS, L. P. et al. O aproveitamento energético do biogás como ferramenta para os objetivos do desenvolvimento sustentável. *Interações* (Campo Grande), v. 23, n. 4, p. 1275–1286, 2022.

MACHADO, Gleysson. Biodigestão Anaeróbia. *Portal do Biogás*. 2023. Disponível em: https://portaldobiogas.com/biodigestao-anaerobia/?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 18 de fevereiro de 2025.

MARCUCCI, Sílvio M. P.; ROSA, Robison A.; LENZI, Giane G.; BALTHAZAR, José M.; FUZIKI, Maria E. K.; TUSSET, Angelo M. Panorama do Biogás: Perspectivas Global e Brasileira com Ênfase no Estado do Paraná. *Sustentabilidade*, v. 17, n. 1, p. 321, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/su17010321. Acesso em: 31 de março de 2025.

MARTINS, Cláudia Renata Fernandes; FERREIRA, José Antônio Pinto de Sá; SIQUEIRA, Luiz Fernando de Góes; FERREIRA, Luís Alberto Peregrino; BAZZO, Maria Luísa; FRANCHINI, Miriam; BERRO, Oscar Jorge; VALLE, Sílvio. Técnica de Coloração de Gram. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, 1997. 63 p. (Série TELELAB).

MATHERI, Anthony Njuguna; SETHUNYA, Vuiswa Lucia; BELAID, Mohamed; MUZENDA, Edison. Analysis of the biogas productivity from dry anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 81, parte 2, p. 2328-2334, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.041. Acesso em: [inserir data de acesso].

METCALF & EDDY. Wastewater engineering - *Treatment and resource recovery*. 5° Edição. Nova Iorque - USA. McGraw-Hill Education, 2014.

MICHEL, Benôit. *et al.* PARTIÇÃO DE PROTEÍNAS DE SORO DE LEITE EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS BASEADOS EM LÍQUIDOS IÔNICOS. *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 9, 1148-1152, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150123. Acesso em: 04 de março de 2025.

MICHAILIDOU, I. et al. Melhorando a produção de biogás: uma avaliação dos efeitos da pasteurização em substratos de aves, suínos, esterco bovino e resíduos alimentares. *Sustainability*, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/su16167130. Acesso em: 07 de março de 2025.

NAZARENO, Julianne Cutrim; MORAIS, Paula Benevides; SOUSA, Diego Neves de.

Diagnóstico da situação dos resíduos sólidos nos assentamentos rurais da região de

Palmas (TO). Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental, v. 13, n. 1, p. 1-19,

2024.

NDC - Ambição climática do Brasil. *Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima.* Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/mudanca-do-clima/NDC>. Acesso em: 7 oct. 2024.

NEIJENHUJSE, Hans; HUPPERTZ, Thom. Heat-induced changes in milk salts: A review. *International Dairy Journal*, v. 126, 2022, p. 105220. ISSN 0958-6946. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105220. Acesso em: 30 de março de 2025..

OLIVEIRA, L. G., SOUZA, J. T., FRANCISCO, A. C., Tratamento de dejetos suínos: oportunidades de conversão de energia. *Revista Gestão Industrial.* Ponta Grossa, PR, Brasil, v. 13, n. 3, p. 22-36, 2017.

ODURO, Frieda A.; CHOI, Nam-Do; RYU, Hong-Soo. Effects of cooking conditions on the protein quality of chub mackerel *Scomber japonicus*. *Fish Aquatic Science*, v. 14, n. 4, p. 257-265, 2011.

Panorama do biogás 2023. Centro Internacional de Energias Renováveis – *CIBiogás*, 2023.

PEÑA-GUZMÁN, C. *et al*. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of environmental management,* v. 237, p. 408–423, 2019.

Pesquisa da Epagri visa reduzir emissão de gases do efeito estufa na pecuária catarinense – *Epagri*. Disponível em: <https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2022/06/29/pesquisa-da-epagri-visa-reduzir-emissao-de-gases-do-efeito-estufa-na-pecuaria-catarinense/>. Acesso em: 6 de outubro de 2024.

PETIT, J.; HERBIG, A. L.; MOREAU, A.; DELAPLACE, G. Influence of calcium on β-lactoglobulin denaturation kinetics: Implications in unfolding and aggregation mechanisms. *Journal of Dairy Science*, v. 94, n. 12, p. 5794-5810, dez. 2011. DOI: 10.3168/jds.2011-4470.

PLANO NACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS. Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Qualidade Ambiental. 2022. Disponível em: <https://portal-api.sinir.gov.br/wp-content/uploads/2022/07/Planares-B.pdf>. Acesso em: 8 oct. 2024.

POTENZA, Renata Fragoso et al. Análise das emissões de gases de efeito estufa – E suas implicações para as metas climáticas do Brasil. [S.l.]: Observatório do Clima, 2023.

PPM - Pesquisa da Pecuária Municipal. *IBGE*. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 13 oct. 2024.

PRABHU, A. Vijin; SIVARAM, A. R.; PRABHU, N.; SUNDARAMAHALINGAM, A. A study of enhancing the biogas production in anaerobic digestion. *Materials Today: Proceedings*, v. 45, parte 9, p. 7994-7999, 2021. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785320407278. DOI: https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.1009. Acesso em: 25 jan. 2025.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. Journal of Environmental Management, v. 110, p. 48-68, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018. Acesso em: 06 de março de 2025.

PRASERTCHAROENSUK, P.; PROMTONGKAEW, A.; TAWATCHAI, M.; MARQUEZ, V.; JONGSOMJIT, B.; TAHIR, M.; PRASERTHDAM, S.; PRASERTHDAM, P. A review on sensitivity of operating parameters on biogas catalysts for selective oxidation of hydrogen sulfide to elemental sulfur. *Chemosphere*, v. 301, p. 134579, ago. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134579. Acesso em: 06 de março de 2025.

Produção média nacional de petróleo e gás bate recorde em 2023. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/canais_atendimento/imprensa/noticias-comunicados/producao-media-nacional-de-petroleo-e-gas-bate-recorde-em-2023>. Acesso em: 15 oct. 2024.

ROCHA, M. T. Aquecimento global e o mercado de carbono: uma aplicação do modelo cert. 2003. 214 f. Tese (Doutorado em Economia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

RODRIGUES, M. et al. Determinants of greenhouse gas emissions by Brazilian agricultural sector. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 96, n. suppl 1, p. e20240345, 2024.

ROLEWICZ-KALIŃSKA, A.; LELIŃCZYK-SERAFIN, K.; MANCZARSKI, P. Volatile organic compounds, ammonia and hydrogen sulphide removal using a two-stage membrane biofiltration process. Chemical Engineering Research and Design, v. 165, p. 69–80, 2021.

RODRIGUEZ, Diego J.; SERRANO, Hector Alexander; DELGADO, Anna; NOLASCO, Daniel; SALTIE, Gustavo. From Waste to Resource: Shifting paradigms for smarter wastewater interventions in Latin America and the Caribbean. *World Bank Water Global Practice*. Washington. 2020.

SANTOS, Natália; SILVA, Laís Hernandes da; SANTOS, Alana Melo dos. TRATAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS: UMA REVISÃO. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes,* Juiz de Fora, v. 77, n. 3, p. 168-176, jul/set, 2022. DOI: 10.14295/2238-6416.v77i3.889.

SAUVÉ, S.; DESROSIERS, M. A review of what is an emerging contaminant. *Chemistry Central Journal*, v. 8, p. 15, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-15. Acesso em: 1 out. 2024.

SCHNEIDER, V. E.; PERESIN, D.; TRETIN, A. C.; BORTOLIN, T. A.; SAMBUICHI, R. H. R. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas. *IPEA*. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/7687/1/RP_Diagn%C3%B3stico_2012.pdf>. Acesso em 08de outubro de 2024.

SCHNEIDER, V. E.; PERESIN, D.; TRETIN, A. C.; BORTOLIN, T. A.; SAMBUICHI, R. H. R. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas. IPEA. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/7687/1/RP_Diagn%C3%B3stico_2012.pdf>. Acesso em 08de outubro de 2024.

SHINDELL, D.; SMITH, C. J. Climate and air-quality benefits of a realistic phase-out of fossil fuels. Nature, v. 573, n. 7774, p. 408-411, 2019. DOI: 10.1038/s41586-019-1554-z.

Sinergia Científica. Ágar Leite. Disponível em: <https://www.sinergiacientifica.com.br/produto/agar-contagem-de-leite-em-placa/>. Acesso em 04 de março de 2025.

SILVA, F. C. M. DA. Tratamento dos dejetos suínos utilizando Lagoa de Alta Taxa de Degradação em batelada. 1996.

SILVA, Guilherme. *Avaliação da Produção de Biogás e Geração de Metano a partir de Resíduo de Leite*. Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico em Química) - Centro Universitário Univates, Lajeado, 2015.

SILVA, J. A. R. DA *et al*. Tratamento de dejetos no Brasil: comparativo entre as técnicas de compostagem e biodigestores anaeróbios. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, v. 13, n. 2, p. 797–817, 2020.

SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro da. Cálculos de consumo e digestibilidade de alimentos e nutrientes para ruminantes. *Revista Universitária Brasileira*, 2023, 1 (3), pp.71-88.

SOARES, Caroline M. T.; FEIDEN, Armin; TAVARES, Sidnei G.. Fatores que influenciam o processo de digestão anaeróbia na produção de biogás. *Nativa*, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 1-7, jun. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/2318-7670.v05nespa10.>. Acesso em: 25/01/2025.

SUAREZ, J. A.; BEATON, P. A.; FAXAS, R.; LUENGO, C. A. The state and prospects of renewable energy in Cuba. Energy Sources, Part B: Economics, Planning, and Policy, v. 11, n. 2, p. 111-117, 2016. DOI: 10.1080/15567249.2015.1007434.

SOUZA, J. S. O impacto ambiental atribuído à pecuária. Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. *Revista CRMV- PR*. 2010. Disponível em:<https://crmv-pr.org.br/artigosView/64_O-impacto-ambiental-atribuido-a-pecuaria.html>. Acesso em 08 de outubro de 2024.

SOUZA, J. S. O impacto ambiental atribuído à pecuária. Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Revista CRMV- PR. 2010. Disponível

em:<https://crmv-pr.org.br/artigosView/64_O-impacto-ambiental-atribuido-a-pecuaria.html>. Acesso em 08 de outubro de 2024.

SOUZA, Marília Cristina Oliveira; ROCHA, Bruno Alves; ADEYEMI, Joseph A.; NADAL, Martí; DOMINGO, José Luis; BARBOSA, Fernando. Legacy and emerging pollutants in Latin America: A critical review of occurrence and levels in environmental and food samples. *Science of The Total Environment*, v. 848, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157774. Acesso em: 01 out. 2024.

STIVAL, L., ERRERA, M., AISSE, M. (2017) Avaliação do desempenho de uma unidade de biodigestão em escala real tratando dejetos da suinocultura. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*. v.6, n.5, p. 983-994. 2017.

SZCZERBA, H. et al. Um novo biocatalisador, Enterobacter aerogenes LU2, para produção eficiente de ácido succínico usando permeado de soro de leite como uma fonte de carbono econômica. Biotechnology for Biofuels, v. 13, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s13068-020-01739-3. Acesso em: 06 de março de 2025.

TAUŠ, P.; KUDELAS, D.; TAUŠOVÁ, M.; GABÁNIOVÁ, Ľ. Abordagem estatística para avaliar a adequação de substratos para uma planta de biogás. *Sustentabilidade*, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/su12219044. Acesso em: 6 de março de 2025.

TIAN, Y. et al. O papel do estado conformacional da β-conglicinina com pH deslocado nas propriedades interfaciais óleo/água e capacidades emulsificantes. Food Hydrocolloids, v. 108, p. 105990, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105990. Acesso em: 6 de março de 2025.

Top 100 2024: os maiores produtores de leite do Brasil. *MilkPoint*. 2024. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/top100/2024/>. Acesso em: 9 oct. 2024.

TREATMENT PLANT OPERATOR. Beyond net zero. 2020. Disponível em: <https://www.tpomag.com/editorial/2012/12/beyond_net_zero?ref=registered>. Acesso em: 9 oct. 2024.

TREVISAN, Aurea Juliana Bombo. Formação de produtos da reação de Maillard em carne bovina. Tese de Doutorado.USP. 2015.

TROMBETTA, L. J.; TURCHETTO, R.; ROSA, G. M. da; VOLPI, G. B.; BARROS, S.; SILVA, V. R. da. Resíduos orgânicos e suas implicações com o carbono orgânico e microbiota do solo e seus potenciais poderes poluentes / Organic waste and its implications with the organic carbon and soil microbiot and its potential polluting powers. *Brazilian Journal of Development*, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 43996–44005, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n7-134. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12777. Acesso em: 4 out. 2024.

TSAI, David, *et al*. Análise das emissões de gases de efeito estufa e suas implicações para as metas climáticas do Brasil. Brasília: Observatório do Clima, 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Overview of greenhouse gases*. 2015. Disponível em: https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases. Acesso em: 06 out. 2024.

VASCONCELOS, H. Ranking dos Maiores Laticínios do Brasil 2023. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/ranking-dos-maiores-laticinios-do-brasil-2023-236768/?acao=eafd510d-0816-4f26-a106-bf95f5b98669>. Acesso em: 9 oct. 2024.

VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE (VDI). VDI 4630: 2016 - Bioenergie - Begriffe und Definitionen der Biomassenutzung [Bioenergia - Termos e definições do uso de biomassa]. Düsseldorf: Verein Deutscher Ingenieure, 2016.

Você conhece os Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis? *Instituto Carlos Roberto Hansen*, 18 Feb. 2021. Disponível em: <https://icrh.com.br/voce-conhece-os-objetivos-de-desenvolvimentos-sustentaveis/>. Acesso em: 13 oct. 2024.

VU, Hang P.; NGUYEN, Luong N.; WANG, Qilin; NGO, Hao H.; LIU, Qiang; ZHANG, Xiaolei; NGHIEM, Long D. Hydrogen sulphide management in anaerobic digestion: A critical review on input control, process regulation, and post-treatment. *Bioresource Technology*, v. 346, p. 126634, 2022. ISSN 0960-8524. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126634. Acesso em: 24 de fev. 2025.

WANG, Gaojun; LI, Qian; LI, Yu; XING, Yao; YAO, Gaofei; LIU, Yanzheng; CHEN, Rong; WANG, Xiaochang C. Redox-active biochar facilitates potential electron transfer between syntrophic partners to enhance anaerobic digestion under high organic loading rate. Bioresource Technology, v. 298, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122524. Acesso em: 06 de março de 2025.

WANG, W.; NEMA, S.; TEAGARDEN, D. Protein aggregation—Pathways and influencing factors. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 390, n. 2, p. 89-99, 2010. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.02.025.

WANG, T. et al. Ligação de compostos de aroma selecionados à proteína miofibrilar, proteína sarcoplasmática e colágeno durante o tratamento térmico: papel das mudanças conformacionais e degradação de proteínas. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c02618. Acesso em: 06 de março de 2025.

WANG, Yajing; WANG, Yifen; LUAN, Donglei. Thermal degradation characteristics of amino acids in rainbow trout fillets during traditional high temperature short time processing and microwave processing. Journal of Food Measurement and Characterization, v. 17, p. 1940–1952, 2023. DOI: 10.1007/s11694-022-01730-6.

Wastewater: From Waste to Resource - The Case of Santiago, *WATER GLOBAL PRACTICE*. Chile. World Bank Group. 2019.

WELLINGER, A.; LINDBERG, A. Biogas upgrading and utilization. IEA Bioenergy Task, p. 3–19, 1999.

WÓJCIK-AUGUSTYN, A.; JOHANSSON, A. J.; BOROWSKI, T. Reaction mechanism catalyzed by the dissimilatory adenosine 5'-phosphosulfate reductase: adenosine 5'-monophosphate inhibitor and key role of arginine 317 in switching the course of catalysis. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, v. 1862, n. 1, p. 148333, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2020.148333. Acesso em: 22 fev. 2025.

WU, Di; PENG, Xuya; LI, Lei; YANG, Pingjin; PENG, Yun; LIU, Hengyi; WANG, Xiaoming. Commercial biogas plants: Review on operational parameters and guide

for performance optimization. *Fuel*, v. 303, 2021. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236121011613. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121282. Acesso em: 25 jan. 2025.

XU, Y.; NASSANI, A. A.; QAZI ABRO, M. M.; NASEEM, I.; ZAMAN, K. FinTech revolution in mineral management: exploring the nexus between technology adoption and sustainable resource utilization in an industry 4.0 context. *Heliyon*, v. 10, n. 3, e24641, 19 jan. 2024. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e24641. PMID: 38314283; PMCID: PMC10837511.

YADAV, V. S.; MAJUMDAR, A. Mitigating the barriers of industrial symbiosis for waste management: an integrated decision-making framework for the textile and clothing industry. *Waste Management Research*, v. 42, n. 7, p. 544-555, jul. 2024. DOI: 10.1177/0734242X231197367. Epub 20 set. 2023. PMID: 37728112.

YADAV, Nilesh Kumar; SINGH, Amit Kumar. Factors affecting biogas production during anaerobic digestion – a review. *International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT)*, v. 6, n. 2, Apr. 2018. ISSN 2320-2882.

YADAV, J.; YAN, S.; PILLI, S.; KUMAR, L.; TYAGI, R.; SURAMPALLI, R. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, v. 33, n. 6 Pt 1, p. 756-774, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002. Acesso em: 06 de março de 2025.

YAN, L. et al. Hydrogen sulfide formation control and microbial competition in batch anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater sludge: Effect of initial sludge pH. Bioresource Technology, [s.l.], 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.011. Acesso em: 27 de março de 2025.

YANG, X. et al. Effects of the German Renewable Energy Sources Act and environmental, social and economic factors on biogas plant adoption and agricultural land use change. Energy Sustainability Society, v. 11, n. 6, 2021. DOI: 10.1186/s13705-021-00282-9.

ZAMBONI, Isabella Grando. Digestão anaeróbia de bagaço de cana-de-açúcar em batelada para produção de biogás. 2021. Dissertação (Mestrado) – *Universidade de São Paulo*, São Paulo, 2021.

ZAYED, G.; WINTER, J. Inhibition of methane production from whey by heavy metals – protective effect of sulfide. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 53, n. 6, p. 726–731, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s002530000336. Acesso em: 06 de março de 2025.

ZEMPULSKI, D. A. et al. Produção de ácidos graxos voláteis por fermentação anaeróbia de manipueira e de permeado de soro de queijo. *ENGEVISTA*, v. 16, n. 4, p. 431-447, dez. 2014.

ZHOU, Q.; JIANG, X.; LI, X.; JIANG, W. The control of H_2S in biogas using iron ores as in situ desulfurizers during anaerobic digestion process. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 100, n. 18, p. 8179-8189, set. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00253-016-7612-7. Acesso em: 6 de março de 2025.