



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
INFRAESTRUTUA E TERRITÓRIO (ILATIT)**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE CAMA DE FRANGO
E EFLUENTE DE SUINOCULTURA**

JULIANA GAIO SOMER

Foz do Iguaçu-PR
2021



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE INFRAESTRUTUA E
TERRITÓRIO (ILATIT)**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE CAMA DE FRANGO
E EFLUENTE DE SUINOCULTURA**

JULIANA GAIO SOMER

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Energia e Sustentabilidade, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Energia e Sustentabilidade.

Orientadora: Dra. Marcela Boroski
Co-orientador: Dr. Michel R. Z. Passarini.

Foz do Iguaçu-PR
2021

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

S694

Somer, Juliana Gaio.

Produção de biogás a partir da codigestão de cama de frango e efluente de suinocultura / Juliana Gaio

Somer. - Foz do Iguaçu-PR, 2021.

56 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Infraestrutura e Território. Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade. Foz do Iguaçu-PR, 2021.

Orientador: Marcela Boroski.

Coorientador: Michel Rodrigo Z. Passarini.

1. Enriquecimento microbiano de inóculo. 2. Metano. 3. Reatores anaeróbios. 4. Tratamento de efluente. 5. Digestão anaeróbia. I. Boroski, Marcela. II. Passarini, Michel Rodrigo Z. III. Título.

CDU 620.952

JULIANA GAIO SOMER

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE CAMA DE FRANGO
E EFLUENTE DE SUINOCULTURA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Energia e Sustentabilidade, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Energia e Sustentabilidade.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marcela Boroski
Orientadora – PPGIES, UNILA

Prof. Dr. Michel Rodrigo Z. Passarini
Co-orientador – PPGIES, UNILA

Profa. Dra. Janine Padilha Botton
UNILA

Dr. Ricardo Muller
Membro

Dr. Breno Carneiro Pinheiro
Membro

Foz do Iguaçu, 20 de dezembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois tudo é para a glória dEle.

Ao meu Marcelo, pelo companheirismo, apoio e amor incondicional.

À pequena Liz, pela alegria incomparável que dá aos meus dias, pela companhia durante as aulas e por aceitar a atenção dividida.

Aos meus pais, pela base e pelo porto sempre seguro.

Aos amigos, pela certeza que tenho de que vocês são “mais chegados que irmãos”.

À Jana, Júlia e Verônica, pelo apoio e amor que dedicam à Liz, especialmente nos dias mais intensos do mestrado.

À equipe técnica, especialmente Franciele, Tiago, Camila, Rafaela, Daiane, Geovani, Suzan e Paula, por toda a ajuda com a parte experimental.

Ao Alexandre, pelo apoio com os gráficos de superfície e à professora Aline Tocci, que gentilmente auxiliou no desenho do planejamento experimental.

Aos colegas e profissionais, inúmeros, que contribuíram com minha formação pessoal e profissional ao longo dessa jornada.

Ao CIBiogás, representado pelos diretores Rafael, Felipe e Michelli, pelo apoio institucional para que eu pudesse cursar e desenvolver as atividades do curso de mestrado mesmo durante minhas atividades profissionais.

Aos professores, Dra. Marcela e Dr. Michel, por todo o apoio prestado no desenvolvimento deste trabalho.

Obrigada!

*O temor do Senhor é o princípio do
conhecimento, mas os insensatos desprezam a
sabedoria e a disciplina.*
Provérbios, 1:7.

RESUMO

Há um crescente interesse mundial pela produção de energias renováveis, especialmente nos países comprometidos com causas ambientais. No Brasil existem 675 plantas de biogás, das quais 79% têm como fonte de substrato o setor agropecuário (1). Quando considerado o perfil produtivo mundial de proteína animal (suínos e aves de corte), o Brasil é o quarto colocado (2; 3), o que representa um grande impacto na quantidade de dejetos que podem ser gerados e tratados via digestão anaeróbia, que origina o biogás como produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes proporções de codigestões entre efluente da suinocultura e cama de frango, com foco na maior produção de biogás e metano, além de analisar o efeito do enriquecimento microbiano do inóculo na produção de biogás. O ensaio de potencial de produção de biogás foi conduzido com o planejamento experimental Doehlert, com variação dos percentuais de codigestão: efluente de suinocultura com adição de cama de frango nos percentuais: 0%, 10%, 20%, 30% e 40% (m/m). Após preparadas as codigestões, houve uma separação das frações (sólida e líquida) e a líquida foi utilizada nos ensaios. A outra variável foi a quantidade de inóculo adicionado (ISR), nos níveis de 2; 1,25 e 0,5. O maior rendimento foi obtido nas codigestões em que foi adicionado entre 10% e 30% de cama de frango ao efluente de suinocultura e na maior proporção de inóculo. Sob as melhores condições experimentais, o enriquecimento do inóculo foi realizado com microrganismos isolados do próprio inóculo e o incremento na produção de biogás chegou a 34%, quando comparado com o uso de inóculo padrão. Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a viabilidade técnica da codigestão do efluente de suinocultura com a cama de frango para incremento na produção de biogás, adicionalmente ao ganho ambiental de destino adequado aos dejetos dos animais.

Palavras-chave: enriquecimento microbiano de inóculo; metano; reatores anaeróbios; tratamento de efluente; digestão anaeróbia.

RESUMEN

Existe un creciente interés mundial por la producción de energías renovables, especialmente en países comprometidos con causas ambientales. En Brasil existen 675 plantas de biogás, de las cuales el 79% tiene como fuente de sustrato el sector agrícola (1). Al considerar el perfil de producción mundial de proteína animal (carne de cerdo y aves), Brasil ocupa el cuarto lugar (2; 3), lo que representa un gran impacto en la cantidad de residuos que se pueden generar y tratar mediante digestión anaeróbica, que origina biogás como un producto. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes proporciones de codigestión entre efluente porcino y cama de pollo, enfocándose en una mayor producción de biogás y metano, además de analizar el efecto del enriquecimiento microbiano del inóculo sobre la producción de biogás. El ensayo de potencial de producción de biogás se realizó con la planificación experimental Doehlert, con variación de los porcentajes de codigestión: efluente porcino con adición de cama de pollo en los porcentajes: 0%, 10%, 20%, 30% y 40% (m/m). Después de preparar las codigestiones, hubo una separación de fracciones (sólido y líquido) y el líquido se utilizó en las pruebas. La otra variable fue la cantidad de inóculo agregado, en los niveles de 2, 1,25 y 0,5. El mayor rendimiento se obtuvo en las codigestiones en las que se adicionó al efluente porcino entre un 10% y un 30% de cama de pollo y en mayor proporción de inóculo. En las mejores condiciones experimentales, el enriquecimiento del inóculo se realizó con microorganismos aislados del propio inóculo y el aumento en la producción de biogás alcanzó 34%, en comparación con el uso del inóculo estándar. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la factibilidad técnica de codigerir efluentes porcinos y cama de pollo para incrementar la producción de biogás, además de la ganancia ambiental del destino adecuado de los desechos animales.

Palabras clave: enriquecimiento de inóculo microbiano; metano; reactores anaeróbicos; tratamiento de aguas residuales; digestión anaeróbica.

ABSTRACT

There is a growing global interest in the production of renewable energy, especially in countries committed to environmental causes. In Brazil there are 675 biogas plants, of which 79% have the agricultural sector as a source of substrate (1). When considering the world production profile of animal protein (swine and poultry), Brazil is in fourth place (2; 3), which represents a great impact on the amount of waste that can be generated and treated via anaerobic digestion, which originates biogas as a product. The objective of this work was to evaluate different proportions of co-digestion between swine effluent and chicken litter, focusing on greater production of biogas and methane, in addition to analyzing the effect of microbial enrichment of the inoculum on biogas production. The biogas production potential test was carried out with the Doehlert experimental planning, with variation of the percentages of co-digestion: swine effluent with addition of chicken litter in the percentages: 0%, 10%, 20%, 30% and 40% (m/m). After preparing the codigestions, there was a separation of fractions (solid and liquid) and the liquid was used in the tests. The other variable was the amount of inoculum added, at the levels of 2, 1,25 and 0,5. The highest yield was obtained in the co-digestions in which between 10% and 30% of chicken litter was added to the swine effluent and in the highest proportion of inoculum. Under the best experimental conditions, the inoculum enrichment was carried out with microorganisms isolated from the inoculum and the increase in biogas production reached 34%, when compared to the use of standard inoculum. The results obtained in this work show the technical feasibility of co-digesting swine effluent with chicken litter to increase biogas production, in addition to the environmental gain of adequate destination for animal waste.

Keywords: microbial inoculum enrichment; methane; anaerobic reactors; wastewater treatment; anaerobic digestion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ranking dos países produtores mundiais de frango.	17
Figura 2: Produção de proteína animal no Brasil, por estados.....	18
Figura 3: a) Cama de frango em uso e b) após a remoção do aviário.	19
Figura 4: a) Efluente de suinocultura (ES) e b) cama de frango (CF).	28
Figura 5: Fração sólida após a separação.	29
Figura 6: Desenho esquemático de um conjunto de fermentação.	31
Figura 7: Superfície de resposta do modelo quadrático para biogás	41
Figura 8: Superfície de resposta do modelo quadrático para biogás	42
Figura 9: Gráfico comparativo da cinética de produção de biogás nas frações líquidas das codigestões.	44
Figura 10: Gráfico comparativo da produção de metano nas frações líquidas das codigestões	45
Figura 11: Perfil cinético das amostras.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Planejamento das variáveis codificadas utilizadas na matriz Doehlert .	27
Tabela 2: Variáveis decodificadas obtidas na matriz Doehlert e número de repetições.....	27
Tabela 3: Detalhamento dos ensaios realizados e metodologias empregadas	30
Tabela 4 : Resultados da caracterização físico-química nas amostras	34
Tabela 5 : Resultados da caracterização físico-química nas codigestões.....	36
Tabela 6 : Resultados da caracterização físico-química nas frações líquidas das codigestões	36
Tabela 7: Produção de biogás e metano (NL. kgSV ⁻¹) obtidos como resposta do planejamento experimental sob diferentes proporções de inóculo.....	38
Tabela 8: Análise de variância – ANOVA (Modelo quadrático) - Biogás	39
Tabela 9: Análise de variância – ANOVA (Modelo quadrático) - Metano	39
Tabela 10: Caracterização das amostras e resultados do PBM	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos graxos voláteis
C	Carbono
CF	Cama de frango
CIBiogás	Centro Internacional de Energias Renováveis
CSTR	<i>Continuous stirred tank reactor</i>
DQO	Demanda química de oxigênio
ES	Efluente de suinocultura
ISR	<i>Inoculum substrate ratio</i>
N	Nitrogênio total
PBM	Potencial bioquímico de metano
SF	Sólidos fixos
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 BIOGÁS	16
2.2 BIOMASSA E BIOGÁS PROVENIENTES DA PRODUÇÃO DE SUÍNOS E AVES DE CORTE	16
2.3 CODIGESTÃO NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	20
2.4 EFEITO DO INÓCULO NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	22
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 GERAL.....	24
3.2 ESPECÍFICOS.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 AMOSTRAGEM.....	25
4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	26
4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS	28
4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS.....	29
4.5 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO.....	31
4.6 ENRIQUECIMENTO MICROBIANO DO INÓCULO.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 ESTUDO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOGÁS	34
5.1.1 Caracterização físico-química das amostras.....	34
5.1.2 Caracterização físico-química das codigestões	35
5.1.3 Caracterização físico-química das frações líquidas obtidas a partir da separação de fases das codigestões	36
5.1.4 Potencial bioquímico de metano	38
5.2 ENRIQUECIMENTO MICROBIANO DO INÓCULO.....	46
6 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o interesse mundial na geração de energias renováveis é crescente. As fontes de energia provenientes do sol, da água, do vento e da biomassa têm sido exploradas, em especial nos países que assinaram e se comprometeram em cumprir o proposto na Agenda 2030 (4).

O Brasil, um dos 193 países signatários da Agenda 2030 e com expressiva produção agropecuária, precisa vencer alguns desafios do ponto de vista dos resíduos gerados. A elevada produção animal resulta em grandes volumes de dejetos concentrados em uma região relativamente pequena, e por consequência, potenciais poluidores do meio ambiente. Assim, o manuseio adequado desse tipo de material torna-se necessário para que os nutrientes presentes nos efluentes seja aproveitado e valorado de maneira correta (5–7). Uma possibilidade é produzir biogás com esses resíduos.

A produção de biogás vai além de uma solução associada à questão ambiental dos resíduos, pois há uma urgência na diversificação da matriz energética. Esta necessidade foi reforçada pela crise hídrica brasileira – mais severa desde que há registro hidrológico, em 1930, que traz consigo a crise de energia, pois 62% da capacidade energética instalada no Brasil provém das hidrelétricas (8), no entanto, o setor ainda necessita de amadurecimento.

O crescimento do setor de biogás para geração de energia elétrica é bastante expressivo ao longo da última década. O número de plantas produtoras de biogás com essa finalidade saltou de 39, no ano de 2010 para expressivas 638, em 2020 (1).

O desenvolvimento de rotas tecnológicas para otimizar a produção de biogás com os substratos disponíveis é um caminho que pode ser mais explorado. Essa é a abordagem deste trabalho: melhorar a produção de biogás a partir de dois substratos bastante disponíveis na região sul do Brasil: o efluente de suinocultura e a cama de frango.

Nas pesquisas realizadas, prévias e durante a execução deste trabalho, não foram localizados trabalhos científicos que abordem e explorem a

utilização de cama de frango codigerida com efluente de suinocultura para produção de biogás, o que motiva e justifica o desenvolvimento de estudos nessa área. Na abordagem de aplicação prática desse estudo, é razoável um caminho no qual os biodigestores normalmente utilizados sejam adequados para a biodigestão dessa codigestão.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BIOGÁS

O biogás é um produto da biodigestão anaeróbia, que envolve um rico, complexo e simbiótico consórcio de microrganismos. Esse processo é frequentemente dividido em quatro fases, nomeadas hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (9).

Na primeira etapa – hidrólise, ocorre a degradação dos materiais de alto peso molecular em substâncias mais simples e solúveis. Para os materiais de difícil degradação, tais como de origem lignocelulósica, esta etapa pode ser bem lenta. Na acidogênese, os microrganismos anaeróbios e facultativos degradam as substâncias obtidas na etapa anterior e ocorre a formação, principalmente, de ácidos orgânicos de cadeia curta e álcoois. Na etapa de acetogênese é necessária uma relação sintrófica dos microrganismos, para transformação dos ácidos de cadeia longa em ácidos fórmico e acético. Paralelamente, ocorre a formação de hidrogênio e dióxido de carbono, os quais são utilizados para produção do acetato. Por fim, na metanogênese, ocorre a formação de metano e dióxido de carbono, sob ação das arqueas metanogênicas (9).

O biogás é uma fonte de energia limpa (10) que pode ser produzida em pequena, média ou grande escalas e inclusive de maneira descentralizada a partir de resíduos orgânicos. Na região sul do Brasil é frequente a produção de biogás a partir de resíduos de origem agropecuária, resultado da produção adensada de animais (11), tais como aves e suínos (3; 12).

2.2 BIOMASSA E BIOGÁS PROVENIENTES DA PRODUÇÃO DE SUÍNOS E AVES DE CORTE

Dentre as energias obtidas a partir da biomassa, destaca-se o biogás, que pode ser utilizado como energia térmica, elétrica ou como combustível veicular (13). No Brasil, em um mapeamento em 2020, foram registradas 675 plantas de biogás, das quais 79% têm como fonte de substrato o setor agropecuário

(14).

Na suinocultura, dados do censo agropecuário de 2017 indicam que no país haviam rebanhos com um montante de 40 milhões de animais, os quais estavam alojados em 1,4 milhão de propriedades (15). Tais números têm posicionado o Brasil no quarto lugar do ranking mundial de produção e exportação da carne suína (2; 3).

Na avicultura de corte, o Brasil é o quarto produtor mundial, atrás da China, Indonésia e Estados Unidos (2), conforme indicado na Figura 1 . Porém, no quesito exportação, o Brasil ocupa o primeiro lugar. O país responde por 13,4% da carne de frango produzida no mundo (3), em um mercado que cresceu 24% nos últimos dez anos (12).

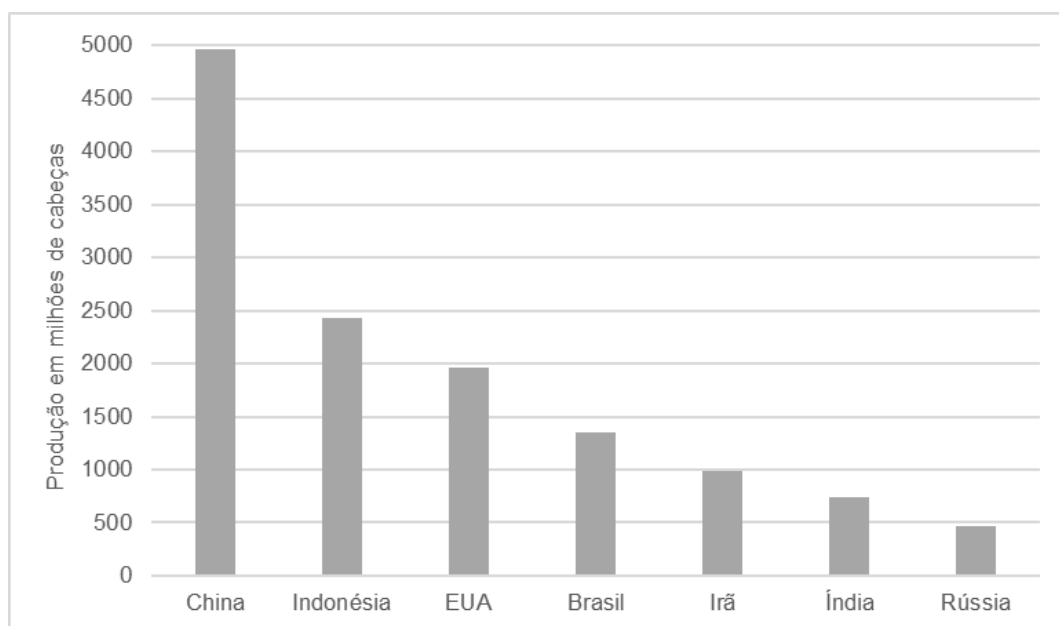


Figura 1: Ranking dos países produtores mundiais de frango – média entre 2009 e 2019.

Fonte: Adaptado de FAO, 2021 (2).

A maior parte da produção nacional desta proteína animal – cerca de 70%, fica concentrada na região sul (16), e na Figura 2 é demonstrada a contribuição de cada estado, onde fica evidente o grande volume de resíduos que é gerado nessa região, para produção dos animais.

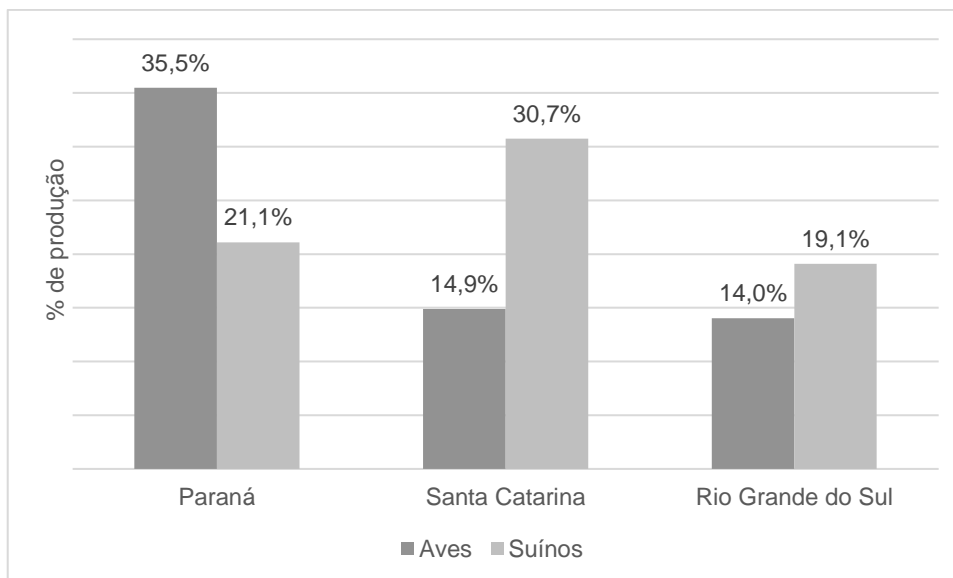


Figura 2: Produção de proteína animal no Brasil, por estados.

Fonte: Adaptado de ABPA, 2021 (16).

O efluente de suinocultura é o material obtido da mistura de fezes, urina, cerdas e resíduos de ração dos animais e água, proveniente do desperdício dos bebedouros e da higienização do local onde os suínos ficam alojados (17). É um material com alta carga orgânica e dentre as soluções tecnológicas para aproveitamento do efluente de suinocultura e redução das emissões de gases poluentes, as mais conhecidas são a compostagem, a separação de fases dos dejetos e a biodigestão anaeróbia (6).

Durante a produção de aves de corte é utilizada a cama de frango que posteriormente é considerada um tipo de resíduo. Esta cama de frango é um material composto pelas excretas das aves e por material inerte, que tem a finalidade principal de absorver a umidade proveniente das excretas (18). Na Figura 3, é possível visualizar a cama de frango, ainda em uso, no aviário de frangos de corte.

Os materiais inertes mais utilizados na cama de frango são a maravalha de madeira, palha de arroz ou casca de amendoim. A cama de frango é reutilizada para a criação de vários lotes de aves e o principal fator que limita o número de reutilizações diz respeito às condições sanitárias do material (19), uma vez que não há uma legislação específica que limite o reuso (20). O acúmulo das excretas dos animais torna esse material rico em nutrientes, tais como nitrogênio

(N), fósforo (P) e potássio (K). Tais características favorecem o aproveitamento da CF como fertilizante para o solo (21).



Figura 3: a) Cama de frango em uso e b) após a remoção do aviário.

Fontes: a) Agrocere, 2021(22) e b) A autora.

A cama de frango é um material orgânico rico em nitrogênio amoniacal e este composto químico é um potente inibidor nos processos de biodigestão anaeróbia (23; 24), e por consequência, um desafio a ser vencido (25). Associa-se também a presença de material lignocelulósico – proveniente do material inerte que compõe a cama de frango, o que dificulta a sua degradação (26).

Ao passo que a rota tecnológica para a biodigestão do efluente de suinocultura é muito bem estabelecida (10; 27; 28), para a cama de frango isso ainda não é realidade, pois no Brasil geralmente é realizada em sistema de lagoas cobertas, pelo baixo custo e fácil operação desse modelo de biodigestor (29). Além das características já citadas da cama de frango, o teor de sólidos totais – em torno de 80% (18; 19) é um limitador para uso das lagoas cobertas.

Por isso, buscar alternativas para o uso da cama de frango na biodigestão anaeróbia é necessário, uma vez que a energia que pode ser obtida a partir desse material é de grande relevância para o setor produtivo. Todavia, as possíveis soluções precisam ser compatíveis com tecnologias de biodigestão consolidadas, para que seja possível aplicação em escala. Nesse contexto, se valer da codigestão da cama de frango com outro substrato é um caminho que aparenta

ser promissor.

2.3 CODIGESTÃO NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Existem evidências de que nos sistemas de biodigestão, as características do substrato utilizado impactam na quantidade e qualidade do biogás produzido. O ideal é que o material utilizado para alimentar o biodigestor tenha uma boa combinação de carbono, nitrogênio e minerais (30), além de uma microbiota variada e ativa (24; 31). Em geral, as codigestões tendem a otimizar o processo de biodigestão (32; 33).

A codigestão ainda é uma alternativa adequada para diluir eventuais materiais tóxicos, melhorar a estabilidade do processo de biodigestão, para equilibrar as características de substratos e a presença dos micro e macronutrientes essenciais no processo de biodigestão, com a finalidade de obter características mais apropriadas para maior produção de biogás (33–35). Ao analisar as publicações científicas dos últimos dez anos que abordaram os temas “codigestão” e “biogás” simultaneamente, observa-se que houve um incremento na ordem de 680% (36). Isso demonstra a aplicabilidade e relevância do assunto na produção de biogás (33).

Neste contexto, a possibilidade de codigerir o efluente de suinocultura com cama de frango para utilização na biodigestão anaeróbia se mostra como um cenário plausível, pois o efluente de suinocultura é um material disponível durante todo o processo produtivo dos suínos (17) e a cama de frango é um material sazonal, com possibilidades de transporte e de fácil estocagem.

Do ponto de vista ambiental, a partir do uso desses materiais em codigestão, haverá a redução da carga orgânica, redução da emissão de gases de efeito estufa, além de existir a possibilidade de produzir combustível – metano, com a fração biodegradável desses materiais (33; 37; 38). Ou seja, é uma rota possível, viável e promissora como tecnologia energética.

Para bons resultados na codigestão e produção de biogás deve haver amplo conhecimento das características de cada substrato e do sistema, tais como concentrações adicionadas de cada substrato, temperatura de operação do biodigestor, pH, e biodisponibilidade do material (24; 32; 39).

Embora existam pesquisas para atenuar o efeito inibitório da amônia na biodigestão anaeróbia, característica em alguns tipos de substratos, tais como a cama de frango, pesquisadores (39) expõem que em geral os estudos são para promover um balanço ótimo da relação carbono e nitrogênio (C: N), essencial para a ação dos microrganismos na biodigestão. No entanto, sem o foco direto que tais combinações têm sobre o rendimento de biogás e metano.

Equilibrar a relação carbono: nitrogênio (C:N) é necessário para a adequada atividade dos microrganismos (35; 39; 40). Já foi estudada a correlação entre substratos, com distintas relações C:N, como cama de frango, resíduos de alimentos e palha de trigo, com variação das cargas orgânicas, com objetivo de determinar o ponto de equilíbrio do sistema (34). Dessa forma, os dados obtidos em laboratório poderiam subsidiar tecnicamente a implantação da codigestão em plantas com biodigestores em escala plena.

Apesar da contribuição da cama de frango no equilíbrio C:N, a presença do material lignocelulósico apresenta-se como uma desvantagem à sua utilização. É um material com baixa taxa de degradação, que por consequência, exige tempos de retenção hidráulicos mais altos que o normalmente utilizados, tais como: 50, 40 e 36 dias, respectivamente (24; 41; 42), o que pode tornar o projeto economicamente inviável. Uma alternativa para o aproveitamento desse material seria a utilização de pré-tratamento ou optar por caminhos que possibilitem vencer esses desafios (40).

O pré-tratamento é uma das estratégias para vencer barreiras físicas e químicas dos substratos, de tal forma que a celulose esteja mais acessível para os microrganismos responsáveis pela etapa de hidrólise (43).

Ao codigerir os substratos efluente de suinocultura e cama de frango há a opção de separação das frações sólida e líquida, com uso de equipamentos comerciais, como uma extrusora, e posterior uso da fração líquida para medir o potencial de produção de biogás. A estratégia da utilização apenas da fração líquida está relacionada com sua aplicabilidade no biodigestor modelo lagoa coberta, o qual é amplamente utilizado para biodigestão no Brasil. Nesse modelo de biodigestor, a taxa de sólidos totais (ST) para operação é na ordem de 3% (9). Com isso, a fração sólida ainda fica disponível para uso como fertilizante no solo, porém, essa etapa não compõe o escopo deste trabalho.

A proposta da codigestão seguida da separação das fases corrobora com pesquisas que citam a necessidade de ampliar a eficiência de sistemas de biodigestão, com alternativas para o uso de materiais lignocelulósicos e incremento da biodisponibilidade de substratos (5; 33; 41). Do ponto de vista da aplicação prática da pesquisa, abre a possibilidade de ampliar a produção de energia em uma propriedade rural que já dispõe de um biodigestor para tratamento dos efluentes, sem que haja necessidade de investimentos em novas tecnologias para esse fim.

2.4 EFEITO DO INÓCULO NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

O termo inóculo é utilizado para definir a biomassa microbiana anaeróbia que é utilizada nos ensaios de potencial de produção de biogás. Por essa razão, um inóculo é considerado de boa qualidade quando há variedade de microrganismos essenciais para o processo de biodigestão anaeróbia e ausência de agentes inibitórios (44; 45).

Por um lado, altas taxas de matéria orgânica adicionadas a volumes muito baixos de inóculo podem ocasionar o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV), o que impacta na estabilização do processo (46). Por outro lado, biodigestores que operam com altos volumes de inóculo em função da carga orgânica adicionada tendem a produzir baixo volume de metano por cada metro cúbico do biodigestor (47; 48), ou seja, têm baixo rendimento energético. Nenhuma dessas situações é bem-vinda na biodigestão anaeróbia e por isso a importância do estudo detalhado sobre essa variação.

Muito embora possam existir dados disponíveis sobre a variação da relação de inóculo em função do substrato – ISR (*Inoculum substrate ratio*) para determinados tipos de amostras (46–48), ao utilizar a codigestão de duas ou mais delas essa análise deve ser refeita, para evidenciar possíveis inibições em tratamentos que aparentavam ser adequados (39).

Os estudos da comunidade microbiana, ou microbiota, de reatores anaeróbicos são relativamente recentes (49). Os resultados não deixam dúvida da relevância do conhecimento microbiológico para melhor compreender e aumentar

o rendimento na produção de biogás e metano (50; 51).

Para o aproveitamento de biomassa proveniente de biorrefinarias de segunda geração, identificou-se o potencial uso do microrganismo *Rhodococcus opacus* PD630, especialmente pela sua natural tolerância aos compostos tóxicos presentes na lignina, além do seu papel na conversão dos derivados da lignocelulose em lipídeos (52). Já na caracterização de amostras de águas residuárias de cervejaria utilizadas na produção de biogás, foram isolados e caracterizados microrganismos, com a finalidade de correlacionar sua presença com o montante de biogás produzido (51). Em ambos os casos, foram satisfatórios os resultados das análises entre os microrganismos existentes e a produção de biogás.

Assim, um caminho possível para melhorar as condições da biodigestão anaeróbia a partir do viés microbiológico é promover a bioaugmentação ou enriquecimento do inóculo. Isso é possível com cultivo de microrganismos originários do próprio inóculo ou ainda de alguma outra fonte, como o rúmen animal (50). Os principais ganhos podem ser provenientes do aumento na concentração da microbiota em geral, para maior consumo da matéria orgânica disponível ou ainda pela adição de microrganismos específicos, desejáveis no processo da biodigestão anaeróbia (49; 50; 53).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Utilizar a codigestão do efluente de suinocultura com cama de frango, como forma de ampliar as possibilidades de produção de biogás.

3.2 ESPECÍFICOS

-Avaliar a proporção mais adequada de uso da cama de frango na codigestão com o efluente de suinocultura, com foco em elevar a produção de biogás e metano;

-Estudar o efeito da concentração de inóculo na produção de biogás;

-Avaliar a influência do enriquecimento microbiano do inóculo na produção de biogás.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

A amostragem da cama de frango (CF) foi realizada em uma propriedade rural, no município de Santa Terezinha de Itaipu - PR (25° 31' 43.068" S, 54° 23' 38.148" W). A CF utilizada na primeira etapa deste estudo estava no trigésimo lote de utilização e foi substituída após a saída desse lote de frangos, ou seja, foi a última utilização do material com o fim de ser cama no aviário, o que compreendeu um período de aproximadamente três anos, o ciclo completo de uso. A base da cama era de maravalha (raspagens ou aparas de madeiras). O material foi coletado em doze pontos dentro do barracão (extremidades, próximo aos comedouros, bebedouros e linha central), em profundidade que alcançou a base de alvenaria – cerca de 10 cm.

O material foi homogeneizado e quarteado. Do quarteamento, tomou-se cerca de 5 kg de amostra, dos quais foi retirada a quantidade utilizada neste estudo. A coleta foi realizada em dezembro de 2019. Com essa amostra foram realizados os ensaios de caracterização físico-química e do potencial bioquímico de metano (PBM).

Uma segunda amostra de CF foi coletada em uma propriedade rural no município de Medianeira – PR (25° 14' 40.7" S, 54° 04' 02.5"W). A cama utilizada estava no oitavo lote de utilização e a base era composta por maravalha, com características similares à primeira coleta. Toda a técnica de amostragem foi similar à primeira coleta. A amostragem foi realizada em julho de 2021. Esta amostra foi destinada ao estudo de enriquecimento do inóculo.

O efluente de suinocultura (ES) foi coletado em uma propriedade rural, no município de São Miguel do Iguaçu – PR (25° 29' 50.135" S, 54° 13' 28.592" W). A propriedade tem capacidade para abrigar cerca de cinco mil suínos, em fase de terminação. No local, há instalado um sistema de biodigestão modelo lagoa coberta, para o qual é enviado o efluente proveniente de todos os barracões onde os animais estão alojados. Aproximadamente 20 litros do efluente foram coletados na caixa de passagem, localizada imediatamente antes da entrada do

biodigestor.

Para a segunda etapa da pesquisa – estudo do enriquecimento do inóculo, o ES foi coletado no mesmo local que na primeira etapa, porém, aproximadamente 5 litros de amostra.

Todas as amostras foram acondicionadas em embalagens (a CF em saco plástico e o ES em galão) e acomodados em caixa térmica a 4 °C, para o transporte até o Laboratório de biogás do Centro Internacional de Energias Renováveis – Biogás (CIBiogás-ER), localizado no Parque Tecnológico de Itaipu, em Foz do Iguaçu, Paraná. As amostras foram armazenadas a 4 °C até o início dos ensaios, conforme indicado na metodologia adotada (54).

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os ensaios de PBM foram conduzidos de acordo com o planejamento experimental Doehlert ou matriz Doehlert. Este planejamento foi escolhido pela vantagem de apresentar redução do risco de perda na relação não linear entre os intervalos estudados e a possibilidade de estimativa e verificação, caso haja falta de ajuste no modelo (55). Cada ensaio previsto no planejamento foi realizado em triplicata.

Foram estabelecidas duas variáveis para avaliar o rendimento da produção de biogás e metano: i) percentual de CF adicionado ao ES (codigestões) e ii) a quantidade de inóculo adicionada, em função da massa das amostras (ISR).

A variação das concentrações nas misturas foi proposta com base em ensaios previamente realizados para verificar a possibilidade de homogeneização, de tal forma que essas codigestões possam ser executadas em uma propriedade rural em que há sistema de biodigestão, ou interesse na implantação.

Os cálculos da modelagem experimental foram realizados com base nas planilhas elaboradas por Teófilo e Ferreira (55), em modelos linear e quadrático. Foram selecionadas duas variáveis para modelar o experimento: a concentração de CF adicionada ao ES e o ISR. As codigestões foram avaliadas em cinco níveis: (i) ES puro; ES com CF nas concentrações de (ii) 10, (iii) 20, (iv) 30 e

(v) 40% (m/m) (Tabela 1). As relações ISR foram avaliadas em três níveis: 2; 1,25 e 0,5, ou seja, quanto mais baixo o ISR, menor foi a quantidade de inóculo utilizada, (Tabela 1).

No teste linear da matriz Doehlert, as respostas obtidas da produção de biogás e metano foram submetidas ao teste de ANOVA. Também foi utilizado o teste de comparação de médias, teste Tukey, com 95% de confiança, sendo significativo um p-valor < 0,05 para verificar as diferenças significativas. Os cálculos foram realizados no Microsoft Excel (versão 2110).

Tabela 1: Planejamento das variáveis codificadas utilizadas na matriz Doehlert

Níveis variável 1					
% de CF (m/m)*	-1	-0,5	0	0,5	1
	0	10	20	30	40
Níveis variável 2					
ISR**	-1	0		1	
	2	1,25		0,5	

*% de CF adicionada ao ES. ***Inoculum substrato ratio*.

CF: cama de frango; ES: Efluente de suinocultura.

Na Tabela 2 estão indicadas as variáveis decodificadas e o número de repetições dos experimentos, obtidas a partir da matriz Doehlert.

Tabela 2: Variáveis decodificadas obtidas na matriz Doehlert e número de repetições

Tratamentos (variáveis)	Número de repetições		
	ISR 1:2	ISR 1:1,25	ISR 1:0,5
ES	-	1	-
ES + CF 10%	1	-	1
ES + CF 20%	-	7	-
ES + CF 30%	1	-	1
ES + CF 40%	-	1	-

ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango.

4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

O preparo da codigestão consistiu em misturar o ES com a CF, em concentrações variadas, as quais foram homogeneizadas com bastão de vidro e/ou espátula metálica e após tempo de contato de aproximadamente 5 minutos foram peneiradas, para separação das frações sólida e líquida.

As misturas foram preparadas em béqueres de vidro, com proporções medidas em massa. Todas as amostras foram preparadas para compor 1 kg de mistura, das quais a pesagem foi realizada em balança semianalítica (M214A, Shimadzu). O peneiramento foi realizado com uma peneira de aço inoxidável com malha de aproximadamente 10 mesh.

As frações líquidas obtidas após o peneiramento eram de aspecto líquido e foram se tornando mais densas, conforme houve o incremento da CF. Essas foram as amostras utilizadas nos ensaios realizados, conforme o planejamento experimental. As frações sólidas tinham aspecto pastoso. Nas Figura 4 e Figura 5 é possível observar as características visuais das amostras.

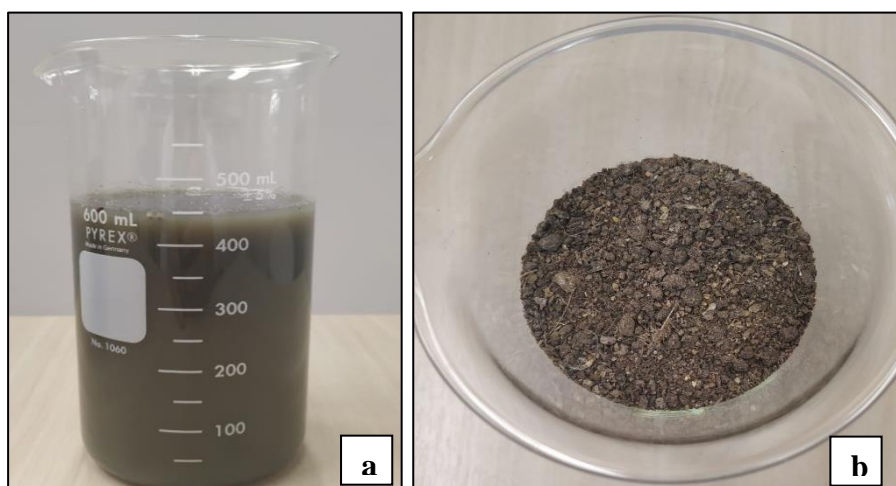


Figura 4: a) Efluente de suinocultura (ES) e b) cama de frango (CF).

Fonte: A autora.



Figura 5: Fração sólida após a separação.

Fonte: A autora.

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS

As amostras de CF, ES, as codigestões e as frações líquidas das codigestões foram analisados no Laboratório de biogás do CIBiogás, o qual é acreditado na norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025:2017 e especializado em ensaios de potencial de produção de biogás. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Na amostra de ES, os ensaios de caracterização realizados foram: sólidos totais, fixos e voláteis; pH; condutividade; alcalinidade; demanda química de oxigênio (DQO); nitrogênio total; carboidratos; lipídeos e proteínas. Na amostra de CF, os ensaios realizados foram: sólidos totais, fixos e voláteis.

Nas codigestões, a caracterização foi quanto ao teor de sólidos totais, fixos e voláteis. Após a separação das fases, as frações líquidas foram caracterizadas por meio dos ensaios de sólidos totais, fixos e voláteis; pH; condutividade; alcalinidade; DQO e nitrogênio total. As frações sólidas não foram caracterizadas, por não comporem o escopo deste trabalho.

Para as amostras utilizadas na etapa experimental de enriquecimento do inóculo – ES, CF e fração líquida da codigestão, foi realizada a caracterização quanto ao teor de sólidos totais, fixos e voláteis.

Os ensaios de caracterização físico-química seguiram as metodologias descritas em APHA (54). Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico. Os ensaios de sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF) e sólidos voláteis (SV) foram executados com a técnica gravimétrica (método 2540). A determinação de pH foi realizada por medida direta, no equipamento pHmetro (827, Metrohm) – (método 4500 – H⁺). A alcalinidade foi determinada pelo método titulométrico (2320B). As análises realizadas em espectrofotômetro (Pharo 300, Merck) foram: demanda química de oxigênio – DQO (método 5220 D – refluxo fechado) e nitrogênio total (método colorimétrico - 4500 NH₃ F – Phenate).

Os ensaios de carboidratos totais e gorduras totais foram realizados de acordo com as metodologias propostas pelo IAL (56) e proteína, conforme MAPA (57). O resumo das amostras ensaiadas e as metodologias utilizadas estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Detalhamento dos ensaios realizados e metodologias empregadas

Ensaio	Amostra	Método/ técnica	Equipamento
Sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF) e sólidos voláteis (SV)	ES, CF, codigestões e frações líquidas das codigestões	Gravimetria (APHA - método 2540)	Não aplicável
pH		Medida direta	pHmetro 827 da marca Metrohm
Alcalinidade		Titulometria (APHA - método 2320B)	Titrimo Plus da marca Metrohm
Demanda química de oxigênio - DQO	ES e frações líquidas das codigestões	APHA - método 5220 D (refluxo fechado)	
Nitrogênio total		Método colorimétrico (APHA método 4500 NH ₃ F – Phenate)	Pharo 300, Merck
Carboidratos totais			
Gorduras totais	ES	IAL (56)	
Proteínas		MAPA (57)	

ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango.

4.5 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

Os ensaios de PBM foram realizados nas configurações obtidas por meio do planejamento experimental Doehlert e conduzidos em acordo com a metodologia da VDI 4630, técnica que utiliza eudiômetros, a qual já foi descrita por outros autores, tais como como Amaral et al., e Edwiges et al., (29; 43). Nessa técnica, as massas das amostras e a massa do inóculo foram colocadas em digestores de vidro, com capacidade de 250 mL, os quais foram conectados em tubos de vidro graduados (0-500) mL, que são denominados eudiômetros, conforme desenho esquemático da Figura 6.

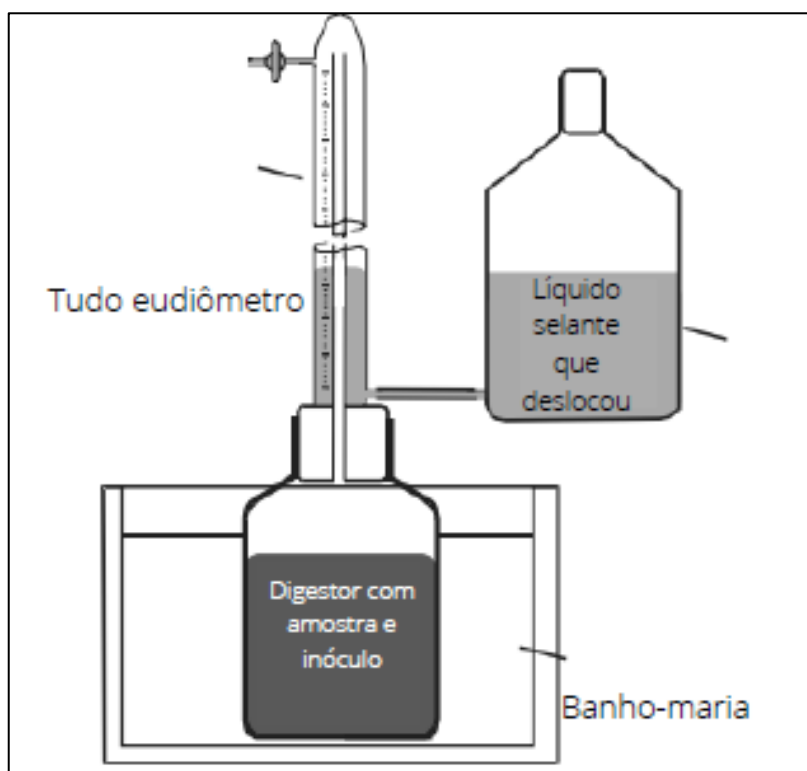


Figura 6: Desenho esquemático de um conjunto de fermentação.

Fonte: Adaptado da VDI 4630 (2016).

O volume de gás produzido diariamente foi monitorado por meio da coluna de líquido selante (44) que deslocou no tubo eudiométrico. O inóculo utilizado nos testes foi obtido de um biodigestor de mistura completa que opera há cerca de 8 anos, composto principalmente por efluentes de suinocultura, bovinocultura e resíduos sólidos urbanos. Como dieta padrão e contínua, o inóculo recebeu carga

orgânica diária de 0,5 kg de sólidos voláteis por metro cúbico do biodigestor e uma semana antes do início do experimento a alimentação foi interrompida (45).

Os experimentos foram conduzidos em temperatura mesofílica (37 ± 2) °C e tiveram duração total de 35 dias. Durante os ensaios, além da quantidade de biogás produzida foi monitorada a qualidade do gás, em relação ao teor de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂), com uso de monitor portátil da marca Geotech, modelo GA5000, por meio de sensores infravermelho e eletroquímicos. De acordo com a metodologia adotada, o metano produzido foi calculado com base nos sólidos voláteis das amostras (produção específica), seco (descontada a umidade do vapor d'água) e normalizado nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), conforme estabelecido na VDI 4630 (44).

4.6 ENRIQUECIMENTO MICROBIANO DO INÓCULO

O enriquecimento microbiano do inóculo foi realizado a partir da adição de cultivos isolados dos microrganismos, obtidos do próprio inóculo. As bactérias isoladas selecionadas (CMC1 - *Rhodococcus* sp., L3 - *Lysinibacillus capsici*, D1 - *Vagococcus acidifermentans*, OL2 - *Niallia circulans*, RBBR1 - *Priestia* sp., C3 - *Robertmurraya siralis*, NA1- *Luteimonas* sp., D3 - *Proteiniclasticum* sp., D2 - *Bacillus* sp. e AM1 - *Bacillus* sp.) (dados não publicados), foram cultivadas para crescimento em meios de cultivo NB (caldo nutriente) em placas de Petri e estufa a 37°C durante 24 horas.

Após o crescimento das colônias bacterianas foi transferida uma colônia de cada bactéria para erlenmeyers de 50 mL, nos quais continham 30 mL de meio de cultivo NA (ágar nutriente) líquido.

Os erlenmeyers foram colocados em agitadores tipo shaker (CIF 6000) a 150 rpm e 37°C por 24 horas, para crescimento das bactérias. Após o crescimento observado, foi ajustada a densidade óptica das bactérias para 0,1 nm, com leitura em espectrofotômetro a 600 nm e este foi o material utilizado para enriquecer o inóculo padrão.

Para utilização do inóculo enriquecido no ensaio de PBM seguiu-se a mesma metodologia descrita no subitem 4.5 desta seção. A norma VDI 4630

(44) preconiza que deve ser utilizado um padrão positivo em cada remessa de ensaios, como forma de evidenciar se o desempenho do inóculo atende padrões de degradabilidade.

O padrão utilizado, o qual também é previsto na citada norma, foi a celulose micro cristalina, a qual, por estequiometria, tem potencial de produzir até 745 NL.kgSV^{-1} de biogás. Na mesma norma há a indicação de que experimentos nos quais há recuperação de valores acima de 80% do potencial máximo de produção do padrão podem ser considerados satisfatórios, ou seja, nos experimentos em que a produção de biogás a partir da celulose é de no mínimo 596 NL.kgSV^{-1} .

Para fins comparativos, foram realizados experimentos com dois tipos de tratamento: inóculo padrão e inóculo enriquecido. Com ambos os inóculos, foram ensaiadas a celulose micro cristalina (padrão positivo) e a amostra (fração líquida da codigestão de ES + 20% de CF). Quanto ao volume de inóculo, o total utilizado em cada digestor foi 200 mL. Para que este volume fosse mantido com o inóculo enriquecido, neste caso, utilizou-se 180 mL do inóculo padrão acrescido de 20 mL do caldo enriquecido de microrganismos. O ISR utilizado nesta série de experimentos foi 2, para ambos os inóculos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOGÁS

5.1.1 Caracterização físico-química das amostras

Os resultados obtidos nos ensaios físico-químicos realizados nas amostras de CF e no ES (individualmente) estão apresentados na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Tabela 4 : Resultados da caracterização físico-química nas amostras

	ES	CF
ST (%)	1,03	71,30
SV (%) em base seca	59,53	73,17
SF (%) em base seca	40,47	26,83
pH	7,0	-
Alcalinidade (mg de CaCO ₃ / L)	4.720	-
DQO (mg de O ₂ / L)	17.861	-
Nitrogênio total (mg de N/L)	1.200	-
Carboidratos %	< 2,5	14,89
Lipídeos %	0,15	0,82
Proteínas %	1,19	20,01

ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; SF: Sólidos fixos; DQO: Demanda química de oxigênio.

Na caracterização físico-química das amostras foi possível observar vários fatores relevantes para a operação de sistemas de biodigestão. A começar pelo teor de ST da amostra de suinocultura, na ordem de 1% (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), muito similar ao medido por outros autores (38; 58). Este parâmetro é associado à técnica de manejo adotada nas propriedades rurais ou mesmo pelo modelo de biodigestor implantado. Quanto aos SV, os valores

medidos e apresentados na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** são um pouco inferiores aos relatados por Duan e Dechrugsa, 82% e 73%, respectivamente. Todavia, ambos os autores trabalharam com dejetos dos suínos (ST em torno de 30%) e não com o efluente (mistura majoritária de dejetos com água de lavagem das granjas).

No caso do ES utilizado neste trabalho, o biodigestor utilizado para a biodigestão da amostra é modelo lagoa coberta, bastante comum no Brasil, mas que opera com taxa de ST na ordem de 3% (9). Para a CF, a caracterização de ST da **Erro! Fonte de referência não encontrada.** é um pouco inferior ao relatado por outros autores, que indicam ST acima de 80% (18; 19). Essa diferença pode ser associada ao número de lotes alojados ou ainda ao tipo de material inerte utilizado como cama.

O valor de pH, na faixa neutra, corrobora com medições feitas em dejetos suínos (35) e ES (59), ambos próximos de 7,0. Para o ensaio de DQO, o valor medido na amostra de ES foi superior ao medido em estudo feito por Wang (60), que foi 3.000 mg de O₂/L, mas semelhante ao medido por outros autores - 16.800 e 21.000 mg de O₂/L, respectivamente (38; 61). Pelo fato de DQO representar a matéria orgânica disponível em determinado volume de efluente, o sistema de manejo e a quantidade de água utilizada no manejo dos animais tem profunda influência nesse resultado (9). A alcalinidade e nitrogênio total foram caracterizados como forma de avaliar suas variações nas codigestões, as quais serão discutidas na sequência.

5.1.2 Caracterização físico-química das codigestões

Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** são apresentados os resultados obtidos nas codigestões de ES com CF. Nas amostras codigeridas, foi possível observar um incremento linear na taxa de ST, que foi de 8,05% (codigestão com 10% de CF) até 29,13% (com 40% de CF), diretamente proporcional à adição de CF (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Isso significa que foi possível elevar os ST da amostra de ES, inicialmente com 1,03%, para 29,13%, conforme adição da CF.

Ao comparar o ES (Tabela 4) com a codigestão com 10% de CF

(menor adição - **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), há um aumento de o ito vezes nos ST da amostra. Ou seja, é um indicador de que a adição de CF, ainda que em proporção baixa, promove uma considerável alteração na característica do material que poderá ser utilizado na produção de biogás.

Tabela 5 : Resultados da caracterização físico-química nas codigestões

Amostra	ST (%)	SV (%) em base seca	SF (%) em base seca
ES + CF 10%	8,05	71,60	28,40
ES + CF 20%	15,08	72,42	27,58
ES + CF 30%	22,11	72,73	27,27
ES + CF 40%	29,13	72,88	27,12

ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; SF: Sólidos fixos.

5.1.3 Caracterização físico-química das frações líquidas obtidas a partir da separação de fases das codigestões

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos nas frações líquidas das codigestões de ES com CF.

Tabela 6 : Resultados da caracterização físico-química nas frações líquidas das codigestões

Amostra	ST (%)	SV (%) em base seca	SF (%) em base seca	pH	Alcalinidade (mg de CaCO ₃ . L ⁻¹)	DQO (mg de O ₂ . L ⁻¹)	Nitrogênio total (mg de N . L ⁻¹)
ES + CF 10% Fração líquida	4,30	65,46	34,54	6,9	5.972	49.304	1.250
ES + CF 20% Fração líquida	7,83	66,12	33,88	6,8	11.455	78.444	2.000
ES + CF 30% Fração líquida	15,53	67,78	32,22	6,9	23.682	139.917	2.700
ES + CF 40% Fração líquida	25,24	70,73	29,27	6,8	-	263.617	5.517

ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; SF: Sólidos fixos; DQO: Demanda química de oxigênio.

Após a separação das fases, foi possível obter uma amostra com até 25% de ST (fração líquida ES + CF 40%). Embora aqui seja visível a possibilidade de alcançar variados teores de ST com a codigestão de substratos, é importante ressaltar que esse teor alcançado é alto para as tecnologias convencionais de biodigestores empregados na produção de biogás, os quais têm bom desempenho com taxas de ST de até 3% (lagoa coberta) ou CSTR (*continuous stirred tank reactor*), com taxa de sólidos totais na ordem de 10% até 15% (9; 62).

Quanto ao teor de SV, foi possível observar nas codigestões que houve excelente aproveitamento da fração orgânica presente na CF (Tabela 6). Isso é evidenciado pela pequena diferença no percentual de sólidos voláteis das amostras codigeridas (Tabela 5) quando comparadas com os resultados das frações líquidas.

Como exemplo, pode ser observada a amostra ES + CF 10%, com SV de 71,60%, ao passo que na fração líquida dessa mesma combinação foi possível medir 65,46% dos SV. Ou seja, a recuperação dos SV após a separação de fases foi na ordem de 91% e chegou a 97%, na mistura de ES + CF 40%. Por sua vez, os SF apresentaram resultados inversamente proporcionais aos SV, uma vez que ambos se somam para obter os ST, na forma de base seca, conforme apresentado.

Os resultados de pH se mantiveram estáveis e estão todos na faixa considerada ótima para boa atividade dos microrganismos anaeróbios do processo de biodigestão – por volta de 7,0 (40), e semelhante à relatada por outros autores, na faixa entre 6,5 e 7,5, em sistemas de digestão anaeróbia em geral (9; 24; 37; 63).

No ensaio de alcalinidade os valores medidos foram crescentes, conforme houve adição de CF. Essa característica era esperada, porque é comum a presença de óxido de cálcio (CaO) em CF, pela sua utilização como inibidor para desenvolvimento de alguns parasitas indesejáveis (64) e, por consequência, houve reflexo no teor de carbonatos medidos na alcalinidade.

Quanto à DQO, que também foi crescente com a adição dos percentuais de CF, a correlação acompanha o que foi discutido para o teor de SV: que a matéria orgânica da CF foi transferida, no processo de codigestão e separação das fases, para a fração líquida. Destaca-se que, para a fração líquida

da codigestão de ES com CF 40% (Tabela 6) não foi possível realizar o ensaio de alcalinidade, pela alta taxa de ST, o que inviabilizou a aplicação do método.

O parâmetro de N também apresentou características de incremento, conforme foi crescente a adição de CF, o que corrobora o pesquisado por outro autor (34), da utilização desse material para balanço da relação C: N.

5.1.4 Potencial Bioquímico de Metano

O ensaio de PBM foi executado nas frações líquidas das codigestões previstas no planejamento experimental matriz Doehlert. Considerou-se ainda a utilização incremental para que fosse visível a resposta na produção de biogás, em função da adição de CF no ES. O detalhamento total da matriz Doehlert bem como as respostas obtidas são apresentados na Tabela 7. Foram consideradas como respostas do planejamento experimental o biogás e o metano, que se refere à fração energética presente no biogás. Ao todo, foram realizados 13 experimentos (Tabela 7).

Tabela 7: Produção de biogás e metano (NL. kgSV⁻¹) obtidos como resposta do planejamento experimental sob diferentes proporções de inóculo

Fração líquida	ISR 1:2		ISR 1:1,25		ISR 1:0,5	
	Biogás	Metano	Biogás	Metano	Biogás	Metano
ES	-	-	593	402	-	-
ES + CF 10%	350	233	-	-	435	286
ES + CF 20%	-	-	405	268	-	-
ES + CF 20%	-	-	386	255	-	-
ES + CF 20%	-	-	445	284	-	-
ES + CF 20%	-	-	358	235	-	-
ES + CF 20%	-	-	394	263	-	-
ES + CF 20%	-	-	406	260	-	-
ES + CF 20%	-	-	395	258	-	-
ES + CF 30%	355	219	-	-	353	211
ES + CF 40%	-	-	400	228	-	-

Os resultados da produção de biogás e metano, apresentados na Tabela 7, foram submetidos ao teste ANOVA, para a validação do modelo experimental do planejamento matriz Doehlert.

Por apresentar um ajuste adequado, o modelo quadrático foi escolhido e com resultados satisfatórios (regressão significativa e falta de ajuste não significativa), conforme dados das Tabela 8 e Tabela 9, para biogás e metano, respectivamente.

Tabela 8: Análise de variância – ANOVA (Modelo quadrático) - Biogás

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc	p
Regressão	42270,3451	5	8454,07	12 - SG	0
Resíduos	4934,36459	7	704,909		
F. Ajuste	2242,666667	1	2242,67	5	0,07
Erro Puro	2691,69792	6	448,616		
Total	47204,7097	12			
% variação explicada					90
% máx. de variação explicável					94

Em que: FV: Fonte de Variação; SQ: Soma Quadrática; nGL: Número de Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática; Fcalc: valor de F calculado; p : nível de significância; SG: Valor Significativo.

Tabela 9: Análise de variância – ANOVA (Modelo quadrático) - Metano

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc	p
Regressão	25434,888	5	5086,978	14,21 - SG	0
Resíduos	2505,881	7	357,983		
F. Ajuste	1204,1667	1	1204,167	5,55	0,06
Erro Puro	1301,7143	6	216,9524		
Total	27940,769	12			
% variação explicada					91
% máx. de variação explicável					95

Em que: FV: Fonte de Variação; SQ: Soma Quadrática; nGL: Número de Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática; Fcalc: valor de F calculado; p : nível de significância; SG: Valor Significativo.

O uso dos resultados do planejamento experimental pôde ser considerado adequado, pois o percentual de variação explicada foi de 90% e o percentual máximo explicável de 94%, para o parâmetro biogás e 91% de variação explicada e 95% de percentual máximo explicável para o parâmetro metano. Ou seja, como os percentuais de variação explicada são bastante próximos aos

percentuais máximos explicáveis, há uma indicação de que o modelo experimental está bem ajustado e que os resultados estão adequados para uso.

As superfícies de resposta (Figura 7 e Figura 8) foram construídas com base nos dados da Tabela 7, após a validação estatística. Na imagem da Figura 7 é possível analisar a interação entre as diferentes frações líquidas das codigestões com o ISR, para a produção de biogás. Observa-se que a zona mais favorável da superfície é a de coloração vermelha, que indica a maior produção de biogás, na qual estão os resultados das frações líquidas com 10% a 30% de CF e ISR 1:2.

A imagem apresentada na Figura 7 evidencia que ambas as variáveis - % de CF e ISR, tiveram influência no resultado. Quando observada a produção de biogás específica, ou seja, por quilograma de SV adicionados ao experimento, o melhor resultado foi obtido com o maior ISR, no qual há maior volume de inóculo em relação à quantidade de substrato, similar ao encontrado na pesquisa de Dechrugsa et al. (27).

A análise da superfície também evidencia que a CF contribuiu com o incremento na produção de biogás, mas que esse incremento não foi na mesma razão em que ela foi adicionada. Ou seja, é possível estabelecer um ponto ótimo de codigestão, mas com uso controlado da CF.

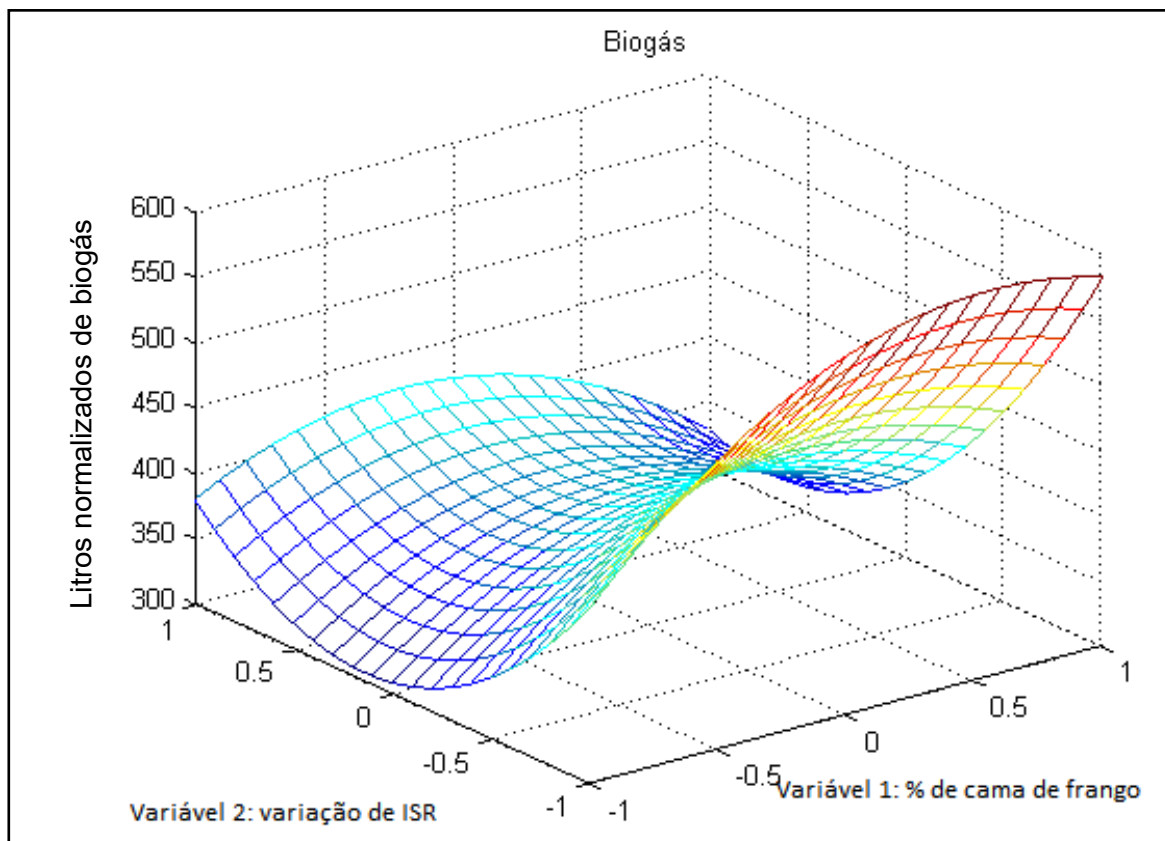


Figura 7: Superfície de resposta do modelo quadrático para biogás

Fonte: A autora.

Todavia, mesmo com baixo ISR, 1:0,5, houve boa resposta na produção de biogás quando o incremento de CF foi menor. Isso pode estar associado ao fato de as frações terem sido previamente separadas e testou-se apenas a parte líquida, o que favoreceu o processo de biodigestão.

De modo similar, os resultados com melhor teor de metano foram obtidos com maior quantidade de inóculo e nos percentuais de adição de CF entre 10% e 30% (Figura 8). Isso demonstra que a quantidade de CF adicionada e a quantidade de inóculo (ISR) não foram fatores determinantes para que houvesse maior produção percentual de metano, em função do volume total de biogás.

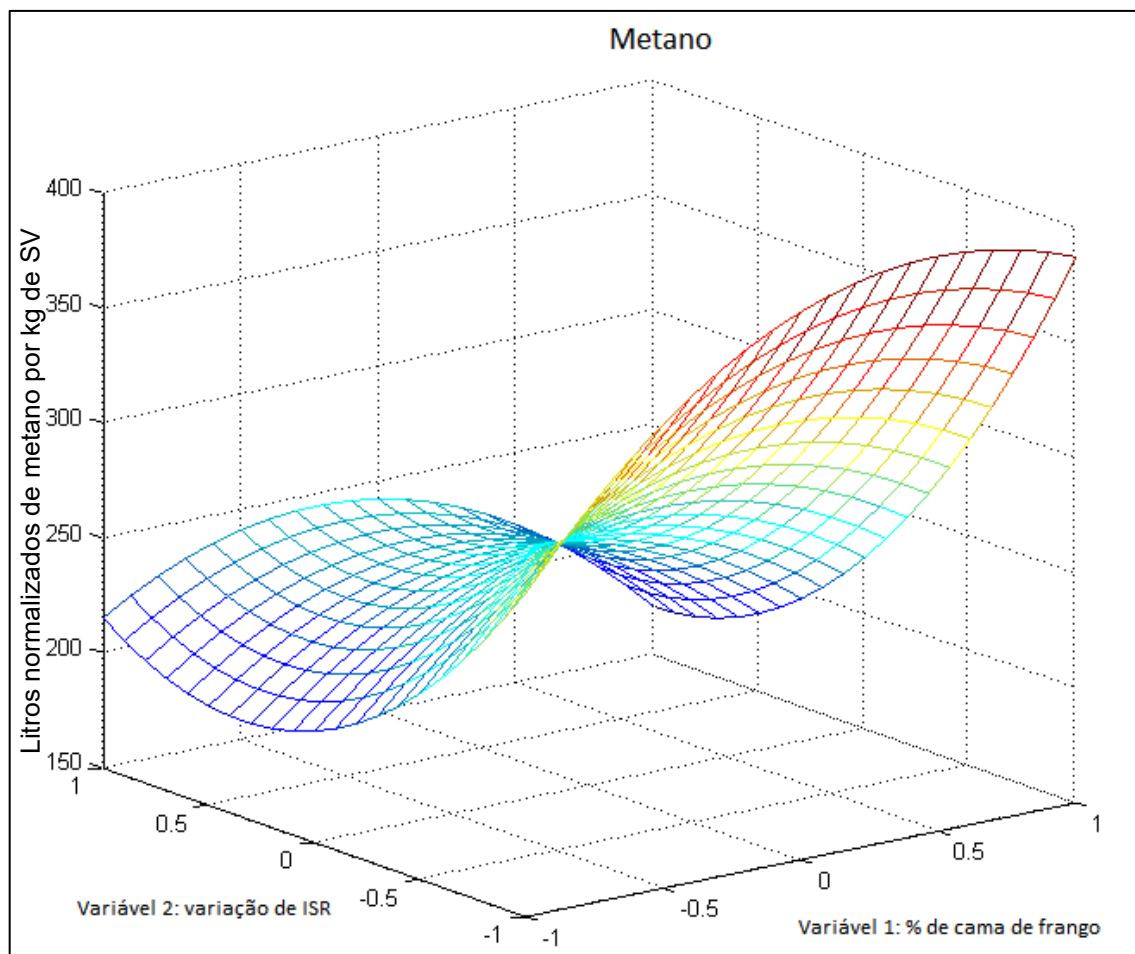


Figura 8: Superfície de resposta do modelo quadrático para biogás

Fonte: A autora.

Dentro da faixa das frações líquidas das codigestões que houve as melhores respostas para produção de biogás e metano é onde estão os teores de ST que são admissíveis em biodigestores modelos lagoa coberta e CSTR. Mais precisamente, as frações líquidas das codigestões ES+CF 10% (com 4,3% de ST), ES+CF 20% (com 7,8% de ST) e ES + CF 30% (com 15,53% de ST) satisfazem os requisitos para uso dos biodigestores citados (9; 58). Ao optar pela fração líquida da codigestão ES+CF 40%, a qual também apresentou bom rendimento na produção de biogás depara-se uma barreira tecnológica, pois a taxa de sólidos totais de 25,24% é acima do aceito como ideal para um reator modelo CSTR, que é na ordem de 10% até 15% (9; 62).

A amostra de ES pura foi a que apresentou o melhor rendimento de biogás e metano específico, com 593 NL.kgSV^{-1} e 402 NL.kgSV^{-1} ,

respectivamente. Por ser essa a amostra de mais fácil degradação, com menor taxa de ST foi um resultado dentro do esperado e muito similar ao já encontrado em estudo semelhante (59), que com ISR 1:1 obteve 554 NL.kgSV⁻¹ de biogás e 382 NL.kgSV⁻¹ de metano.

A acidificação das amostras, pelo acúmulo de AGV provenientes do processo de biodigestão (27), que é associada às baixas relações de ISR, não foi constatada nestes experimentos. Por outro lado, em pesquisas com variação de ISR (59), relatou-se retardo no início da produção de biogás nas amostras com menor quantidade de inóculo, o que também foi observado nessa pesquisa. Na Figura

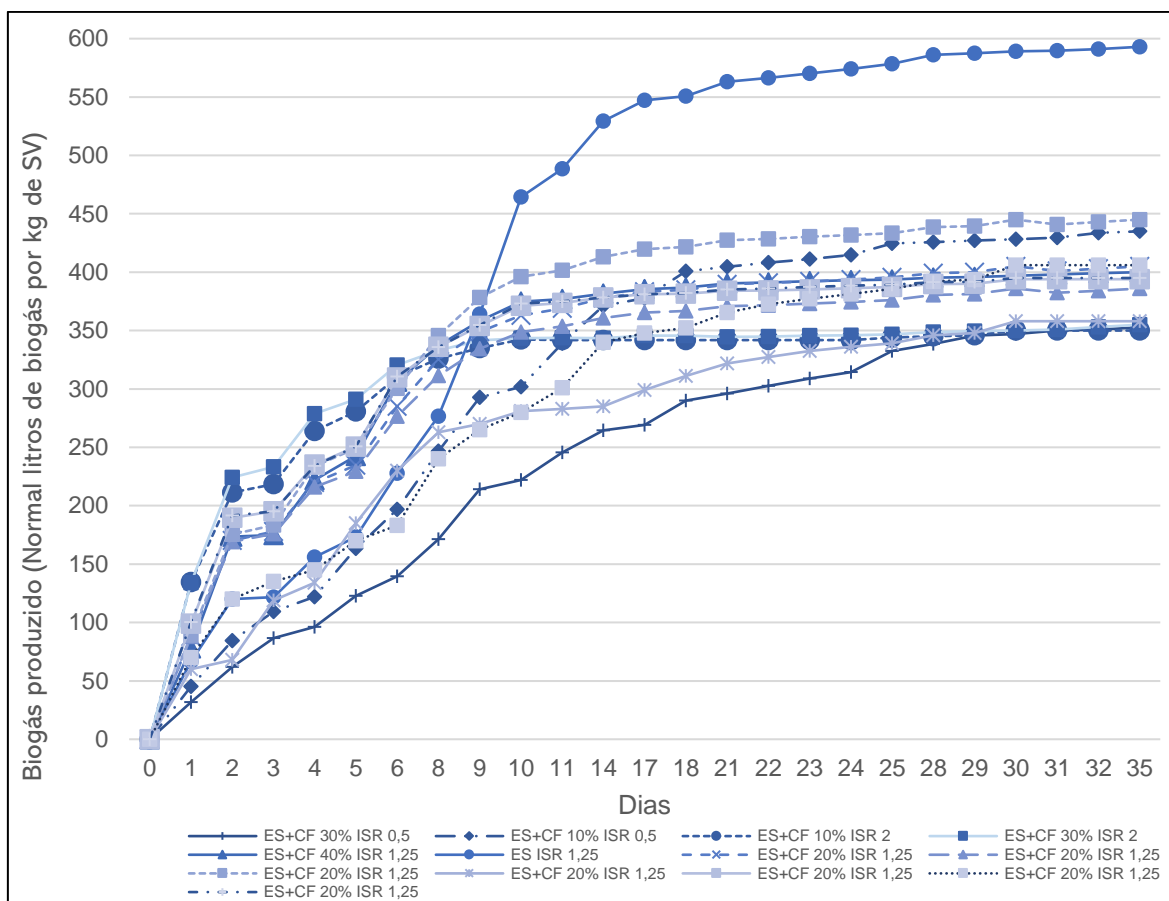
9ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ISR: inoculum substrate ratio.

é possível identificar o efeito do uso do inóculo, uma vez que já no primeiro dia de experimento houve uma crescente na curva cinética.

Conforme apresentado na ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ISR: inoculum substrate ratio.

, fica evidente que a fração líquida da codigestão ES+CF 30%, com ISR 0,5 levou maior tempo para alcançar o potencial de produção de biogás, quando comparada às demais amostras. Esse tipo de comportamento, porém, não foi observado na fração líquida da codigestão ES+CF 10, também com ISR 0,5. Possivelmente, neste caso, porque a taxa de ST era menor (4,3% - Tabela 6) e por isso, ainda que usado menor quantidade de inóculo, não houve prejuízos à biodigestão. Um possível retardo na ação de microrganismos, relatado por outros autores e associado à amônia presente na cama de frango não foi observado nos ensaios realizados.

A partir das curvas cinéticas apresentadas na Figura 9 também é possível extrair informações para aplicação destas no projeto e dimensionamento de um biodigestor, uma vez que está identificado qual o tempo que cada amostra alcança o pico de produção de biogás.



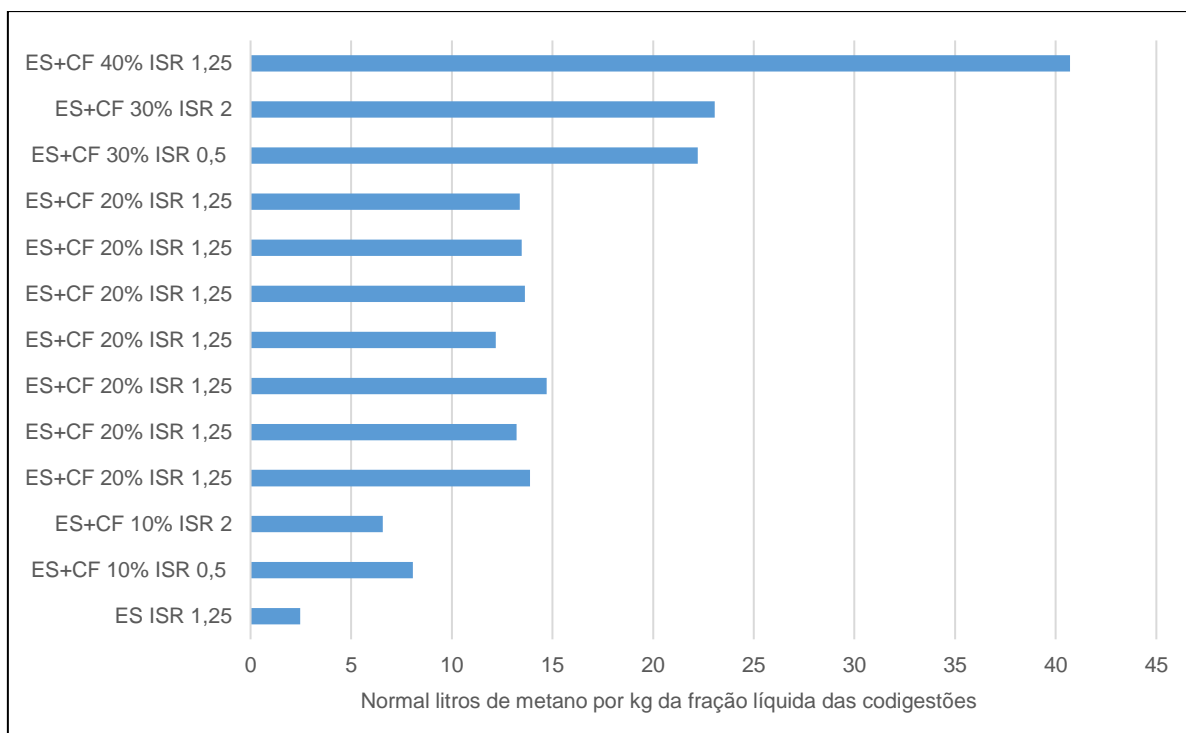
ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ISR: *inoculum substrate ratio*.

Figura 9: Gráfico comparativo da cinética de produção de biogás nas frações líquidas das codigestões.

Fonte: A autora.

Na Figura 10 são apresentados os resultados da estimativa da produção de metano por kg de amostra adicionada ao biodigestor. Fica evidente que apesar de o ES (ES ISR 1,25) ter apresentado a maior produção específica, ou seja, por quilograma de SV (Tabela 7), foi essa que teve o menor rendimento quando analisada na sua condição em que está disponível na granja. Isso é explicado pelo baixo teor de sólidos totais (1,03% - Tabela 4) contidos na amostra, ou seja, alta quantidade de água.

Ainda é possível concluir que, quando analisada a produção por quilograma de amostra na forma que ela está disponível nas granjas ou plantas produtoras de biogás, o rendimento de metano foi crescente conforme houve incremento da cama de frango, ou seja, quanto maior a taxa de ST, maior a produção de metano por quilograma das amostras analisadas.



ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; ISR: *inoculum substrate ratio*.

Figura 10: Gráfico comparativo da produção de metano nas frações líquidas das codigestões

Fonte: A autora.

Todavia, a utilização das frações líquidas das codigestões com 30% e 40% de CF esbarra, uma vez mais, no fator tecnológico do biodigestor, pois conforme já citado, nessas amostras o teor de ST é superior ao adequado para o bom funcionamento dos equipamentos de modelo lagoa coberta e CSTR (9; 58; 62).

Um possível retardo na ação de microrganismos, relatado por outros autores e associado à amônia presente na cama de frango não foi observado nos ensaios realizados.

Com a análise dos dados apresentados, fica evidente que há a possibilidade de aplicação em escala real, para produção de biogás o uso das codigestões de ES com CF, seguida da separação de fases com uso de equipamentos comerciais e utilização da fração líquida, obtida na separação, tanto em biodigestores modelo lagoa coberta quanto nos de modelo CSTR. Para o primeiro modelo de biodigestor citado, os melhores resultados foram obtidos na mistura com 10% de CF, e para o segundo modelo, nas misturas com 10% de ST

até 30% de ST. Na escolha de rota tecnológica para uso em CSTR, um estudo de viabilidade econômica é indicado, para avaliação de qual concentração de CF traz o melhor custo x benefício.

5.2 ENRIQUECIMENTO MICROBIANO DO INÓCULO

A Tabela 10 apresenta os resultados de enriquecimento do inóculo. Os resultados obtidos nos padrões positivos, com ambos os inóculos, atenderam ao critério de recuperação estabelecido pela metodologia utilizada, pois nas duas amostras a produção de biogás foi superior a 596 NL.kgSV⁻¹.

Tabela 10: Caracterização das amostras e resultados do PBM

Amostra	ST (%)	SV (%) em base seca	SF (%) em base seca	Biogás NL.kg de SV ⁻¹	Metano NL.kg de SV ⁻¹
ES	3,33	67,60	32,40	-	-
CF	86,16	61,96	38,04	-	-
IP	3,16	66,34	36,66	-	-
IE	3,00	62,94	37,06	-	-
CC (IP)	96,00	99,9	0,1	698	330
CC (IE)	96,00	99,9	0,1	705	287
ES + CF 20% *fração líquida (IP)	9,54	54,23	45,77	355	232
ES + CF 20% *fração líquida (IE)	9,54	54,23	45,77	537	353

ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; SF: sólidos fixos; ES: Efluente de suinocultura; CF: Cama de frango; IP: Inóculo padrão; IE: inóculo enriquecido; CC: celulose cristalina.

Os resultados de caracterização das amostras de ES e CF, apresentadas na Tabela 10 diferem dos resultados medidos na primeira etapa do experimento (Tabela 4). A principal diferença está no teor de ST do ES de 3,3% nesta etapa e 1% na etapa anterior. Esta diferença pode estar associada à fase do

lote dos animais alojados ou ainda à condição de manejo no dia das amostragens. A mesma situação é observada para a CF, de 71,3% e 86,1%, respectivamente. Todavia, apesar desta diferença observada, em ambos os casos os resultados são condizentes com os medidos por outros autores (10; 18; 19; 65; 66).

Quanto ao teor de ST dos inóculos, os dados apresentados na Tabela 10 indicam que houve pouca diferença entre o inóculo padrão e o inóculo enriquecido. Ou seja, apesar da adição do caldo enriquecido com microrganismos, tal volume não teve influência na taxa de ST.

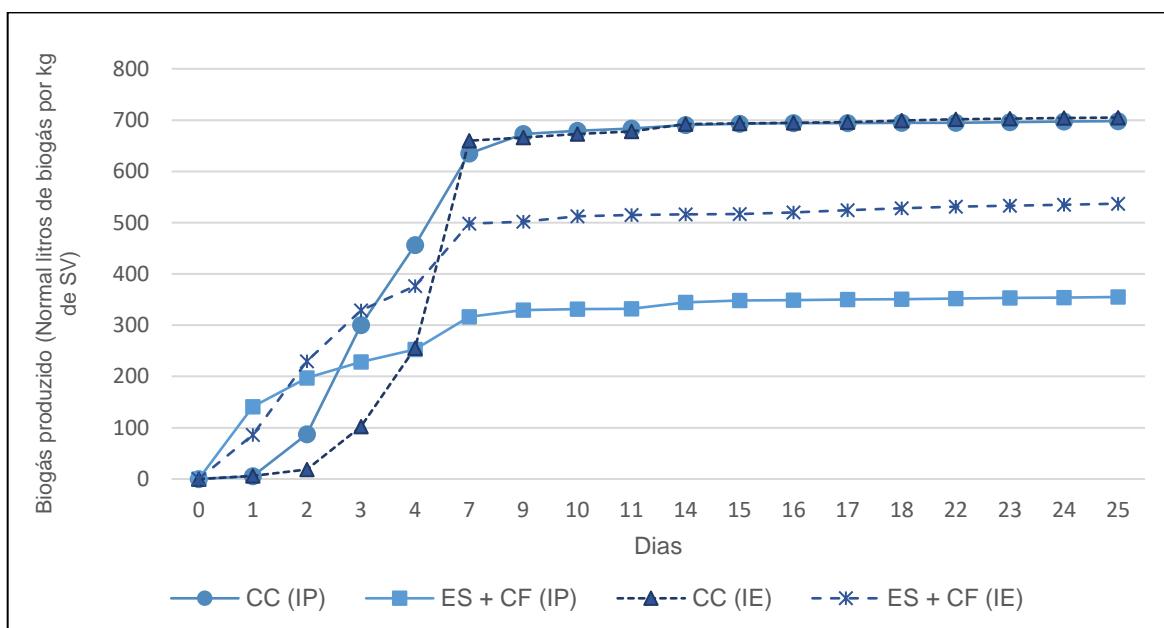
Na amostra da fração líquida da codigestão (ES + CF 20%), houve um acentuado incremento na produção de biogás, quando utilizado o inóculo enriquecido, na ordem de 34%, com 355 NL.kgSV⁻¹ para a amostra com inóculo padrão e 537 NL.kgSV⁻¹ para a amostra com inóculo enriquecido (Tabela 10). Quanto ao metano, quando analisado o percentual em função do total de biogás produzido, o teor foi de 65%, em ambos os casos. Este resultado é similar ao observado em estudo com enriquecimento do lodo com rúmen animal (50).

Quanto às bactérias isoladas e utilizadas no enriquecimento do inóculo, em pesquisas da microbiota de reatores, algumas delas são relatadas por outros autores, tais como: *Rhodococcus sp*, na conversão de produtos lignocelulósicos em lipídeos – estes de mais fácil degradação (52); *Vagococcus acidifermentans*, na produção de ácidos a partir de fontes de carbono pouco complexas (67); *Lysinibacillus sp* e *Proteinoclasticum sp* foram identificados em significativa concentração em um reator anaeróbio do tratamento de águas residuárias de cervejaria e em um reator com substratos variados, respectivamente (51; 68).

Na Figura 11 são apresentados os perfis cinéticos, da amostra e do padrão de referência (celulose micro cristalina), com ambos os inóculos. Apesar da maior produção de biogás, não foi observada nenhuma alteração relevante na cinética de degradação, quando comparadas as amostras com ambos os inóculos. O pico de produção de biogás foi alcançado em tempos similares. Ou seja, o ganho proveniente do enriquecimento do inóculo foi, de fato, na maior produção de biogás e não em aceleração do processo de biodigestão anaeróbia.

Há uma diferença nos perfis de degradação na etapa inicial do experimento, com um leve retardo no início da produção de biogás a partir da

celulose, com ambos os inóculos, mas a partir do terceiro dia isso não ocorre mais e o processo de degradação seguiu normalmente. Assim, é possível concluir que embora o inóculo padrão não tenha sido caracterizado quanto à sua microbiota, fica evidente que o enriquecimento microbiano foi satisfatório para favorecer o consumo de matéria orgânica mais complexa, já que para a celulose micro cristalina não houve diferença no volume de biogás produzido.



IP: Inóculo padrão; IE: inóculo enriquecido; CC: celulose cristalina; ES: efluente de suinocultura; CF: cama de frango.

Figura 11: Perfil cinético das amostras

Fonte: A autora.

Embora o enriquecimento microbiano tenha apresentado bons resultados na produção de biogás da amostra ensaiada, é importante destacar que o processo de biodigestão anaeróbia é simbiótico e harmonioso. Assim, a evolução das pesquisas na área de microbiologia aplicada à biodigestão anaeróbia é necessária para posterior aplicação em escala real.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi possível observar a viabilidade técnica do uso da fração líquida da codigestão de efluente de suinocultura com cama de frango para incremento na produção de biogás. A separação de fases proposta neste trabalho mostrou-se um processo válido para o melhor aproveitamento dos substratos na produção de biogás e com ela obteve-se teores de sólidos totais compatíveis com a capacidade de operação de biodigestores modelos lagoa coberta e CSTR.

Estabeleceu-se uma região favorável à obtenção dos melhores rendimentos, que está na fração líquida das codigestões com 10% a 30% (m/m) de cama de frango adicionada ao efluente de suinocultura. A estabilidade do inóculo utilizado foi um fator importante para redução dos efeitos da variação do ISR.

Os resultados obtidos com inóculo enriquecido demonstraram um aumento na produção de biogás, comparados aos não enriquecidos. No entanto, é uma alternativa que ainda carece de mais estudos e desenvolvimento para aplicação na prática, mas que mostra possibilidades de maior produção de biogás com a mesma quantidade de substrato. A seleção de determinados microrganismos para esse fim também pode ser uma rota promissora para a microbiologia aplicada à digestão anaeróbia.

São recomendados estudos adicionais sobre as características da cama de frango que foi utilizada na codigestão, para sua utilização agronômica após o aproveitamento na biodigestão anaeróbia, de tal forma que possa ser calculada a viabilidade econômica de um projeto nestes moldes.

REFERÊNCIAS

1. BIOGASDATA. **Microsoft Power BI**. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoibjQxYjg4NjgtMTI0NC00NTk2LTk5O TQtMjFkNWxZjM1ZTk5liwidCI6ImMzOTg3ZmI3LTQ5ODMtNDA2Ny1iMT Q2LTc3MGU5MWE4NGViNSJ9>. Acesso em: 8 maio. 2021.
2. **FAOSTAT**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 14 nov. 2021.
3. ABPA. **Annual Report of the Brazilian Association of Animal Protein**. Associação Brasileira de Proteína Animal. São Paulo, SP, 2020. Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>.
4. EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA - EPE. **FONTES DE ENERGIA**. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/fontes-de-energia>. Acesso em: 4 out. 2021.
5. NESHAT, S. A.; MOHAMMADI, M.; NAJAFPOUR, G. D.; LAHIJANI, P. **Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltda, 2017.
6. OLIVEIRA, P. A. V. de; SAVIOTTI, B.; PAZINATO, C.; COSER, F.; LEITÃO, F. Suinocultura de baixa emissão de carbono. p. 96, 2016.
7. **Plataforma Agenda 2030**. Disponível em: <http://www.agenda2030.org.br/ods/6/>. Acesso em: 29 set. 2021.
8. EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA - EPE. **Escassez hídrica e o fornecimento de energia elétrica no Brasil**. Disponível em: <http://www.ons.org.br/paginas/energia-agora/reservatorios>.
9. KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. do. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1. ed. Concórdia, SC: Sbera; Embrapa Suínos e Aves, 2019.
10. DUAN, N.; ZHANG, D.; LIN, C.; ZHANG, Y.; ZHAO, L.; LIU, H.; et al. Effect of organic loading rate on anaerobic digestion of pig manure: Methane production, mass flow, reactor scale and heating scenarios. **Journal of Environmental Management**, v. 231, p. 646–52, 1 fev. 2019.

11. WINQUIST, E.; RIKKONEN, P.; PYYSIÄINEN, J.; VARHO, V. Is biogas an energy or a sustainability product? - Business opportunities in the Finnish biogas branch. **Journal of Cleaner Production**, v. 233, p. 1344–54, 1 out. 2019.
12. ABPA. **Annual Report of the Brazilian Association of Animal Protein**. Associação Brasileira de Proteína Animal. São Paulo, SP, 2018. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>.
13. CLODNIȚCHI, R.; NEDELICU, A. C. Key elements of an entrepreneurial (business) model in the biogas sector. Insights from Romania. **Proceedings of the International Conference on Business Excellence**, v. 12, n. 1, p. 209–28, 2018.
14. CIBIOGAS. Nota Técnica: N° 001/2021 – Panorama do Biogás no Brasil 2020. p. 79–91, 2021. Disponível em: <https://cibiogas.org/wp-content/uploads/2021/04/PANORAMA-DO-BIOGÁS-NO-BRASIL-2020-v.8.0-1.pdf>.
15. VISCARDI, B. **Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária**. Out - dez 2018. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2018_4tri.pdf
16. ABPA. **Annual Report of the Brazilian Association of Animal Protein**. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf.
17. OLIVEIRA, P. A. V. de; SAVIOTTI, B.; PAZINATO, C.; COSER, F.; LEITÃO, F.; SOUZA, J. C. P. V. B.; et al. Gestão da Água. p. 96, 2016.
18. CÉSAR JULIO PASCALE, P. **Uso da cama de frango na produção de biogás**. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1016020/1/CI T41.pdf>.
19. STAUB, L.; SOUZA, T. V; TON, A. P. S. Staub et al. Manejos para reutilização da cama aviária Manejos para reutilização da cama aviária Management for reuse of avian bed. **Scientific Electronic Archives Issue ID: Sci. Elec. Arch**, v. 10, n. 5, p. 163–76, 2017. Disponível em: <http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&o>

- p=view&path%5B%5D=362&path%5B%5D=pdf.
20. SANTIAGO, G. S.; PASSARINI, J. F.; CERQUEIRA, J. A.; CUNHA, H. V. F. da. Avaliação da reutilização de cama de frango sobre a condenação de carcaças por colibacilose. **Pubvet**, v. 13, n. 8, p. 1–6, 2019.
 21. BAYRAKDAR, A.; MOLAEY, R.; SÜRMELE, R. Ö.; SAHINKAYA, E.; ÇALLI, B. Biogas production from chicken manure: Co-digestion with spent poppy straw. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 119, p. 205–10, 1 abr. 2017.
 22. **Manejo da cama do aviário – Como, quando e por quê - Blog da Agroceres Multimix**. Disponível em: <https://agroceresmultimix.com.br/blog/cama/>. Acesso em: 10 maio. 2021.
 23. SUN, C.; CAO, W.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S.; LIU, R. Biogas production from undiluted chicken manure and maize silage: a study of ammonia inhibition in high solids anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.082>.
 24. ŚWIĄTEK, M.; LEWICKI, A.; SZYMANOWSKA, D.; KUBIAK, P. The effect of introduction of chicken manure on the biodiversity and performance of an anaerobic digester. **Electronic Journal of Biotechnology**, 2019.
 25. BAYRAKDAR, A.; MOLAEY, R.; ONDER, R.; SAHINKAYA, E. International Biodeterioration & Biodegradation Biogas production from chicken manure: Co-digestion with spent poppy straw. 2016.
 26. BOZAN, M.; AKYOL, Ç.; INCE, O.; AYDIN, S.; INCE, B. Application of next-generation sequencing methods for microbial monitoring of anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 18, p. 6849–64, 2017.
 27. DECHRUGSA, S.; KANTACHOTE, D.; CHAIPRAPAT, S. Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 101–8, 2013.
 28. POSTAWA, K.; SZCZYGIEŁ, J.; WRZESIŃSKA-JĘDRUSIAK, E.; KLIMEK, K.; KUŁAŻYŃSKI, M. The pump-mixed anaerobic digestion of pig slurry: new technology and mathematical modeling. **Waste Management**, v. 123, p. 111–9, 15 mar. 2021.

29. AMARAL, A. C. do; KUNZ, A.; RADIS STEINMETZ, R. L.; SCUSSIATO, L. A.; TÁPPARO, D. C.; GASPARETO, T. C. Influence of solid-liquid separation strategy on biogas yield from a stratified swine production system. **Journal of Environmental Management**, v. 168, p. 229–35, 1 mar. 2016.
30. HASAN, C.; MARDER, M.; HICKMANN, E. V.; FELDKIRCHER, T.; BÜCKER, F.; KONRAD, O. Biogas generation related to carbon removal from anaerobic co-digestion of sludge, blood, and swine manure combined in different proportions: Production of biogas by anaerobic co-digestion. **Environmental Quality Management**, v. 28, n. 1, p. 115–22, 2018.
31. LAVERGNE, C.; BOVIO-WINKLER, P.; ETCHEBEHERE, C.; GARCÍA-GEN, S. Towards centralized biogas plants: Co-digestion of sewage sludge and pig manure maintains process performance and active microbiome diversity. **Bioresource Technology**, v. 297, 1 fev. 2020.
32. FUCHS, W.; WANG, X.; GABAUER, W.; ORTNER, M.; LI, Z. Tackling ammonia inhibition for efficient biogas production from chicken manure: Status and technical trends in Europe and China. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 97, n. July 2018, p. 186–99, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.08.038>.
33. HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 1485–96, 2017.
34. ZAHAN, Z.; GEORGIU, S.; MUSTER, T.; OTHMAN, M. Z. Semi-continuous anaerobic co-digestion of chicken litter with agricultural and food wastes: A case study on the effect of carbon / nitrogen ratio, substrates mixing ratio and organic loading. **Bioresource Technology**, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.010>.
35. XU, R.; ZHANG, K.; LIU, P.; KHAN, A.; XIONG, J.; TIAN, F.; et al. A critical review on the interaction of substrate nutrient balance and microbial community structure and function in anaerobic co-digestion. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1119–27, 1 jan. 2018.
36. WEB OF SCIENCE. **Analisar resultados**. Disponível em: <https://www-webofscience.ez350.periodicos.capes.gov.br/wos/woscc/analyze-results/da4be07f-8fcc-4330-8591-fc546677c11e-0bf0247a>. Acesso em: 8

- out. 2021.
37. DALKILIC, K.; UGURLU, A. Biogas production from chicken manure at different organic loading rates in a mesophilic-thermophilic two stage anaerobic system. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 120, n. 3, p. 315–22, 1 set. 2015.
 38. HAN, G.; SHIN, S. G.; CHO, K.; LEE, J.; KIM, W.; HWANG, S. Temporal variation in bacterial and methanogenic communities of three full-scale anaerobic digesters treating swine wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 1217–26, 2019.
 39. RAHMAN, A.; MØLLER, H. B.; KUMER, C.; ALAM, M.; WAHID, R.; FENG, L. Energy for Sustainable Development Optimal ratio for anaerobic co-digestion of poultry droppings and lignocellulosic-rich substrates for enhanced biogas production. **Energy for Sustainable Development**, v. 39, p. 59–66, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.esd.2017.04.004>.
 40. HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Elsevier Ltda, 2017.
 41. PATINVOH, R. J.; OSADOLOR, O. A.; CHANDOLIAS, K.; SÁRVÁRI HORVÁTH, I.; TAHERZADEH, M. J. Innovative pretreatment strategies for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 13–24, 1 jan. 2017.
 42. SCHUMACHER, B.; WEDWITSCHKA, H.; WEINRICH, S.; MÜHLENBERG, J.; GALLEGOS, D.; OEHMICHEN, K.; et al. The influence of pressure swing conditioning pre-treatment of chicken manure on nitrogen content and methane yield. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1554–65, 1 dez. 2019.
 43. EDWIGES, T.; BASTOS, J. A.; ALINO, J. H.; D'AVILA, L. L.; FRARE, L. M.; SOMER, J. G. Comparison of various pretreatment techniques to enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 6, p. 103495, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103495>.
 44. VDI 4630. **Fermentation of organic materials. Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests.** [s.l.] Deutscher, Verein Substratcharakterisierung, Ingenieure, 2016.
 45. STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; DA SILVA, M. L. B.; KUNZ, A.; DO

- AMARAL, A. C.; TÁPPARO, D. C.; et al. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 21–8, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.031>.
46. DIXON, P. J.; ERGAS, S. J.; MIHELICIC, J. R.; HOBBS, S. R. Effect of Substrate to Inoculum Ratio on Bioenergy Recovery from Food Waste, Yard Waste, and Biosolids by High Solids Anaerobic Digestion. **https://home.liebertpub.com/ees**, v. 36, n. 12, p. 1459–65, 6 dez. 2019. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ees.2019.0078>. Acesso em: 8 out. 2021.
47. MOTA-PANIZIO, R.; HERMOSO-ORZÁEZ, M. J.; CARMO-CALADO, L.; LOURINHO, G.; BRITO, P. S. D. de. Biochemical Methane Potential of Cork Boiling Wastewater at Different Inoculum to Substrate Ratios. **Applied Sciences** 2021, v. 11, n. 7, p. 3064, 30 mar. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/7/3064/htm>. Acesso em: 8 out. 2021.
48. LATIFI, P.; KARRABI, M.; DANESH, S. Anaerobic co-digestion of poultry slaughterhouse wastes with sewage sludge in batch-mode bioreactors (effect of inoculum-substrate ratio and total solids). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, n. March, p. 288–96, 2019.
49. RETTENMAIER, R.; DUERR, C.; NEUHAUS, K.; LIEBL, W.; ZVERLOV, V. V. Comparison of sampling techniques and different media for the enrichment and isolation of cellulolytic organisms from biogas fermenters. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 481–7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.05.002>.
50. OZBAYRAM, E. G.; AKYOL, Ç.; INCE, B.; KARAKOÇ, C.; INCE, O. Rumen bacteria at work: bioaugmentation strategies to enhance biogas production from cow manure. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 2, p. 491–502, 1 fev. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez350.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1111/jam.13668>. Acesso em: 8 out. 2021.
51. SYLVIA, I. M.; DUNCAN, O. M.; AYUB, N. G.; URBANUS, N. M.; INGRID, N. W. Isolation and characterization of methanogenic bacteria from brewery wastewater in Kenya. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 47, p.

- 2687–97, 2016.
52. ANTHONY, W. E.; CARR, R. R.; DELORENZO, D. M.; CAMPBELL, T. P.; SHANG, Z.; FOSTON, M.; et al. Development of *Rhodococcus opacus* as a chassis for lignin valorization and bioproduction of high-value compounds. **Biotechnology for Biofuels**, v. 12, n. 1, p. 1–14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1535-3>.
 53. SHEN, J.; ZHAO, C.; LIU, Y.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C. Biogas production from anaerobic co-digestion of durian shell with chicken, dairy, and pig manures. **Energy Conversion and Management**, v. 198, p. 110535, 15 out. 2019.
 54. APHA. **American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23st. ed. Washington: American Water Works Association, 2017.
 55. TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–50, 2006.
 56. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** (SESP, Ed.). São Paulo, SP, 2008.
 57. MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 20. **Diário Oficial da União**, v. 142, p. 56, 1999. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=27/07/1999&jornal=1&pagina=22&totalArquivos=56>.
 58. ARIAS, D. E.; VELUCHAMY, C.; HABASH, M. B.; GILROYED, B. H. Biogas production, waste stabilization efficiency, and hygienization potential of a mesophilic anaerobic plug flow reactor processing swine manure and corn stover. **Journal of Environmental Management**, v. 284, p. 112027, 15 abr. 2021.
 59. CÓRDOBA, V.; FERNÁNDEZ, M.; SANTALLA, E. The effect of substrate/inoculum ratio on the kinetics of methane production in swine wastewater anaerobic digestion. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 22, p. 21308–17, 2018.
 60. WANG, X.; LI, J.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; SHEN, J.; KANG, J. The

- performance of aerobic granular sludge for simulated swine wastewater treatment and the removal mechanism of tetracycline. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, n. December 2020, 2021.
61. XIA, Y.; MASSÉ, D. I.; MCALLISTER, T. A.; BEAULIEU, C.; UNGERFELD, E. Anaerobic digestion of chicken feather with swine manure or slaughterhouse sludge for biogas production. **Waste Management**, v. 32, n. 3, p. 404–9, 2012.
62. MAITI; BINDER. Biogas Tool. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–99, 1981.
63. BOTTON, J. P.; FURTADO, A. C.; ALMEIDA, H. C. **Fundamentos de Biodigestão Anaeróbia: Conceitos e processos**. 1. ed. Curitiba PR: Brazil Publishing, 2020.
64. WOLF, J.; GOUVEA, A. de; SILVA, E. R. L. da; POTRICH, M.; APPEL, A. Physical methods and hydrated lime for management of lesser mealworm. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 161–6, 2014.
65. RITIGALA, T.; CHEN, Y.; ZHENG, J.; DEMISSIE, H.; ZHENG, L.; YU, D.; et al. Comparison of an integrated short-cut biological nitrogen removal process with magnetic coagulation treating swine wastewater and food waste digestate. **Bioresource Technology**, v. 329, n. January, p. 124904, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124904>.
66. LIU, R.; CHEN, X.; ZHANG, K.; HAN, Y.; TONG, Y.; WANG, J.; et al. Effect of mixing ratio and total solids content on temperature-phased anaerobic codigestion of rice straw and pig manure: Biohythane production and microbial structure. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126173, 2021.
67. WANG, L.; CUI, Y. S.; KWON, C. S.; LEE, S. T.; LEE, J. S.; IM, W. T. *Vagococcus acidifermentans* sp. nov., isolated from an acidogenic fermentation bioreactor. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 1123–6, 2011.
68. XU, J.; BU, F.; ZHU, W.; LUO, G.; XIE, L. Microbial consortiums of hydrogenotrophic methanogenic mixed cultures in lab-scale ex-situ biogas upgrading systems under different conditions of temperature, pH and CO₂. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, p. 9–12, 2020.