UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JENNY CAROLINA ROSERO HENAO

**Digestão anaeróbia de resíduo de caixa de gordura de laticínio e
bagaço de cana de açúcar pré-tratado com CO₂ sub e supercrítico**

JENNY CAROLINA ROSERO HENAO

**Digestão anaeróbia de resíduo de caixa de gordura de laticínio
e bagaço de cana de açúcar pré-tratado com CO₂ sub e
supercrítico**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à
Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dra. Giovana
Tommaso

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R795d Rosero Henao, Jenny Carolina
Digestão anaeróbia de resíduo de caixa de gordura
de laticínio e bagaço de cana de açúcar pré-tratado
com CO₂ sub e supercrítico / Jenny Carolina Rosero
Henao; orientadora Giovana Tommaso. -- Pirassununga,
2017.
101 f.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos, Universidade
De São Paulo.
1. Digestão anaeróbia. 2. Bagaço de cana de açúcar
. 3. Resíduo de caixa de gordura. 4. Pré-tratamento
sub e supercrítico. 5. Tratamento de resíduos. I.
Tommaso, Giovana, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A minha família, porque por ela eu sou o que eu sou, porque é com seu apoio que eu consigo realizar meus sonhos e porque têm me dado um grande exemplo a seguir, amo vocês!

Ao amor de minha vida, Diego, pela companhia, o apoio, e a paciência neste projeto... Você me leva a dar o meu melhor cada dia. Com nosso amor tudo é possível.

À minha orientadora, Prof^a Giovana, pelo carinho, por sua receptividade e o apoio incondicional. Foi um prazer trabalhar com você e uma bênção ter você como orientadora, espero no futuro continuar trabalhando juntas.

A os professores e funcionários do Departamento de Engenharia de Alimentos e da pós graduação que contribuíram no meu aprendizagem, em especial aos professores Rogers e Alessandra pelo apoio na execução deste projeto.

A os técnicos de laboratório, Tatiana Sanches e Nilson Ferreira, muito obrigada pela ajuda e à amizade.

Aos amigos de laboratório que fizeram o trabalho mais agradável: Diana, Michael, Leonardo, Leticia e Beatriz.

Letícia, muito obrigada pelo trabalho e a dedicação a este projeto, não teria conseguido sem você.

Beatriz, obrigada por passar um pouco do seu conhecimento, sua amizade e companheirismo são muito valiosos.

Ao grupo de colombianos da FZEA que fazem esquecer um pouco da distância do país e da família.

Aos irmãos e irmãs que este projeto me obsequiou: Mariana, Andrea, Marcela, Juan, Julian, Carol, Carolino, Laura, Cristian, German. Meu carinho e agradecimento sempre!

Às tantas pessoas que fizeram parte desta etapa de minha vida e deram sua amizade, companhia, sorrisos e apoio... sempre estarão no meu coração!

"Genius is one percent inspiration and ninety-nine percent perspiration"

Thomas A. Edison

... Let's make every drop count

RESUMO

ROSETO HENAO, JENNY CAROLINA. **Digestão anaeróbia de resíduo de caixa de gordura de laticínio e bagaço de cana de açúcar pré-tratado com CO₂ sub e supercrítico.** 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

A indústria de laticínios no Brasil gerou no 2014 em torno de 88,5 bilhões de litros de efluente, o resíduo gorduroso (RG) separado no tratamento deste efluente, atualmente carece de tratamento. A digestão anaeróbia (DA) é uma opção de tratamento a partir da qual é possível, entre outras coisas, obter biogás, fonte renovável de energia, que representa uma importante alternativa para compor a matriz energética do país. No entanto, resíduos lipídicos, além de gerar lodos de difícil manejo, descompõem-se em ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) que inibem os microrganismos metanogênicos. Como estratégia para tratar efetivamente este resíduo, avaliou-se um sistema de co-digestão anaeróbia empregando RG advindo da caixa de gordura de um laticínio, e, bagaço de cana de açúcar (BCA) pré-tratado em condições sub e supercríticas de CO₂: (i) 40°C / 70 bar (ii) 60°C / 200 bar e (iii) 80°C / 200 bar, com e sem adição de NaOH, respectivamente. Dos pré-tratamentos avaliados, destaca-se o pré-tratamento com CO₂ a 60°C e 200bar pelo qual foi possível remover 8,07% de lignina. A produção metanogênica advinda da digestão anaeróbia de bagaço de cana de açúcar foi aumentada em todos os casos nos quais o material foi pré-tratado com CO₂ sub e supercrítico, com exceção do caso no qual se utilizou elevada temperatura e NaOH como modificador de polaridade. Os resíduos advindos da caixa de gordura apresentaram elevado potencial metanogênico na faixa de concentração de substrato estudada, sem que nenhuma inibição fosse verificada. A co-digestão de resíduos gordurosos e bagaço de cana, pré-tratados ou não, não apresentou vantagem com relação à mono-digestão dos materiais.

Palavras chave: co-digestão anaeróbia; lipídeos; bagaço de cana; pré-tratamento supercrítico.

ABSTRACT

ROSETO HENAO, JENNY CAROLINA. **Anaerobic digestion of dairy grease trap residue and sugarcane bagasse pre-treated with sub and supercritical CO₂**. 2017. 101 f. M.Sc Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

The dairy industry in Brazil generated in 2014 around 88.5 billion liters of effluent, the fatty residue, separated in the treatment of this effluent, currently lacks treatment. Anaerobic digestion is a treatment option from which it is possible, among other things, to obtain biogas, a renewable source of energy, which represents an important alternative to fix the country's energy matrix. However, lipid residues form sludges that are difficult to manage and decompose into long chain fatty acids (LCFAs) that are inhibitory to methanogenic microorganisms. As a strategy to effectively treat this residue, we evaluated an anaerobic co-digestion system employing fatty residues from a fat box of a dairy plant, and sugarcane bagasse pre-treated under sub and supercritical CO₂ conditions: (i) 40°C / 70 bar (ii) 60°C / 200 bar and (iii) 80°C / 200 bar, with and without addition of NaOH respectively. Of this pre-treatments, stood out the one with CO₂ at 60°C and 200 bar by which was achieved the removal of 8.07% of lignin. The methanogenic production from the anaerobic digestion of sugarcane bagasse was increased in all cases in which the material was pre-treated with sub and supercritical CO₂, with the exception to the cases in which high temperatures and NaOH were combined. The residues from the dairy fat box showed high methanogenic potential in the concentration range evaluated and no inhibition was verified. The co-digestion of the greasy residues and the sugarcane bagasse with and without pre-treatment, did not present advantage in compare to the mono-digestion of the materials.

Keywords: anaerobic co-digestion; Lipids; sugarcane bagasse; Supercritical pre-treatment

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Método convencional para o tratamento de efluentes de laticínios ...	22
Figura 2. Etapas da Digestão Anaeróbia de Substratos Orgânicos	27
Figura 3. Principais Produtos Produtivos no Brasil no 2013.....	37
Figura 4. Estrutura de Materiais lignocelulósicos.	37
Figura 5. Estrutura da Celulose.....	38
Figura 6. Estrutura da Hemicelulose	39
Figura 7. Diagrama de fases pressão-temperatura de um fluido típico mostrando a região de fluido supercrítico	43
Figura 8. Diagrama de fluxo do processo experimental	50
Figura 9. Caixa de gordura do laticínio Tavoraro.....	51
Figura 10. Bagaço de cana de açúcar.....	52
Figura 11. Extrator supercrítico Thar-SFC.....	52
Figura 12. Esquema de dispositivo de pré-tratamento supercrítico.....	53
Figura 13. Recipiente para teste de biodegradação anaeróbia.	57
Figura 14. Cromatografo de gasoso GC-2014	60
Figura 15. Micrografia eletrônica de Varredura (MEV) do BCA <i>in natura</i> e pré-tratado com CO ₂ puro.....	69
Figura 16. Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos pré-tratamentos com adição de NaOH.....	70
Figura 17. Porcentagem de adsorção de manteiga vs. tempo em BCA <i>in natura</i>	71
Figura 18. Porcentagem de adsorção de manteiga vs. tempo em BCA-T3.	72
Figura 19. Micrografia do inóculo adaptado com formação semelhante a feixe de <i>Methanosaeta sp.</i>	74

Figura 20. Micrografia do inóculo adaptado com arranjo de cocos semelhantes à <i>Methanosarcina sp.</i>	75
Figura 21. Micrografia de inóculo adaptado com formações semelhantes a bactérias redutoras de enxofre	75
Figura 22. Produção metanogênica acumulada do BCA <i>in natura</i> e pré-tratado	76
Figura 23. Cinética da biodigestão anaeróbia de BCA <i>in natura</i> e pré-tratado	79
Figura 24. Produção metanogênica acumulada da biodigestão de resíduo gorduroso	80
Figura 25. Cinética da digestão anaeróbia de resíduo gorduroso	81
Figura 26. Velocidades máximas de produção metanogênica.	82
Figura 27. Produção metanogênica acumulada no ensaio de co-digestão anaeróbia.	83
Figura 28. Cinética da produção de metano no ensaio de co-digestão anaeróbia	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características Físico-químicas do Efluente de Laticínio	21
Tabela 2. Vantagens da DA na degradação de matéria orgânica	25
Tabela 3. Desvantagens da DA na degradação de matéria orgânica	26
Tabela 4. Composição de AGCL de produtos relacionados.....	31
Tabela 5. Efeito de diferentes pré-tratamentos sobre algumas características dos materiais lignocelulósicos.....	42
Tabela 6. Condições estabelecidas para o pré-tratamento do BCA.....	54
Tabela 7. Composição de efluente sintético empregado para adaptação do inóculo	55
Tabela 8. Composição da solução de macronutrientes.....	56
Tabela 9. Composição da solução de micronutrientes.....	56
Tabela 10. Composição do ensaio de Biodigestão de BCA	58
Tabela 11. Composição do ensaio de Biodigestão de Resíduo gorduroso	58
Tabela 12. Composição do ensaio de Co-digestão.....	59
Tabela 13. Parâmetros de configuração do cromatografo de gases	61
Tabela 14. Características físico-químicas do resíduo gorduroso empregado no ensaio de mono-digestao	64
Tabela 15. Características físico-químicas do resíduo gorduroso empregado na co-digestao.....	65
Tabela 16. Caracterização Físico-química do BCA <i>in natura</i> e pré-tratado.	66
Tabela 17. Composição lignocelulósica do BCA <i>in natura</i> e pré-tratado.....	67
Tabela 18. Parâmetros cinéticos da adsorção de manteiga em BCA <i>in natura</i>	72
Tabela 19. Parâmetros cinéticos da adsorção de manteiga em BCA pré-tratado com CO ₂ a 60°C e 200 bar	73
Tabela 20. Comparativo BPM no T3 frente BMP reportadas na literatura	78

Tabela 21. Parâmetros cinéticos da biodigestão anaeróbia de BCA in natura e pré-tratado.....	79
Tabela 22. Parâmetros cinéticos da biodigestão anaeróbia do residuo gorduroso	81
Tabela 23. Parâmetros cinéticos do ensaio de co-digestão anaeróbia	85

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCL	Ácidos Graxos de Cadeia Longa
AGV	Ácidos Graxos voláteis
AME	Atividade Metanogênica Específica
BCA	Bagaço de Cana de Açúcar
BMP	Biochemical Methane Potential ou Potencial Bioquímico de Produção de Metano
C/N	Relação Carbono/Nitrogênio
Co-DA	Co-digestão Anaeróbia
CS	Constante de Saturação
DA	Digestão Anaeróbia
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio
DI	Diâmetro Interno
DQO	Demanda Química de Oxigênio
E1G	Etanol de Primeira Geração
E2G	Etanol de Segunda Geração
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations ou Organização de Agricultura e Alimentos das Nações Unidas
FID	Flame Ionization Detector ou Detector de Ionização de Chama
FSC	Fluidos Supercríticos
LBA	Laboratório de Biotecnologia Ambiental
L-DA	Digestão Anaeróbia Líquida
OECD	Organização para o Desenvolvimento e a Cooperação Econômica
RG	Resíduo Gorduroso
SS	Sólidos Suspensos

SS-DA	Digestão Anaeróbia Solida
ST	Sólidos Totais
STV	Sólidos Totais Voláteis
SC-CO ₂	CO ₂ supercrítico
TPS	Temperatura e Pressão Standard
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket ou reator de leito de lodo anaeróbio de fluxo ascendente

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. Geral.....	18
2.2. Específicos.	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1. A Indústria de Laticínios	19
3.2. Efluentes de Lactinios	20
3.2.1. Sistema de Tratamento de efluentes	21
3.3. Digestão Anaeróbia	25
3.4. Processos Inibitórios.....	28
3.4.1. Matéria Nitrogenada:	29
3.4.2. Ácidos Graxos de Cadeia Longa (AGCL)	29
3.4.3. Ácidos Graxos Voláteis (AGV).....	31
3.4.4. Elementos metálicos.....	32
3.4.5. Temperatura e pH.....	32
3.5. Co-digestão Anaeróbia.	33
3.6. Resíduos Lignocelulósicos	35
3.6.1. Celulose.....	38
3.6.2. Hemicelulose	38
3.6.3. Lignina	39
3.7. Pré-tratamento de Materiais Lignocelulósicos	40
3.7.1. Pré-tratamento com Fluidos Supercriticos (FSC)	41
3.8. Adsorção	44
3.9. Resíduos como fonte de Energia	46

4. HIPÓTESE	48
5. MATERIAIS E MÉTODOS	49
5.1. Desenho Experimental	49
5.2. Material de Estudo.....	51
5.2.1. Resíduo Gorduroso	51
5.2.2. Bagaço de cana de açúcar (BCA)	51
5.3. Pré-tratamento do Bagaço de cana de açúcar.	52
5.4. Ensaio de determinação do potencial metanogênico (BMP)	54
5.4.1. Inóculo	54
5.4.2. Configuração dos ensaios	57
5.4.3. Análise do biogás	60
5.4.4. Monitoramento do processo	62
5.4.5. Estimativa de parâmetros cinéticos	62
5.5. Análises Físico-químicas.	63
5.5.1. Ensaio de Adsorção de manteiga em BCA.....	63
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
6.1. Caracterização dos substratos	64
6.1.1. Resíduo Gorduroso	64
6.1.2. Bagaço de cana de açúcar	65
6.1.3. Ensaio de adsorção de manteiga em BCA	71
6.2. Caracterização do Inoculo.....	74
6.3. Biodigestão do BCA.....	76
6.4. Biodigestão do resíduo gorduroso (RG)	80
6.5. Co-digestão de BCA e RG.....	83
7. CONCLUSÕES	87
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

1. INTRODUÇÃO

Entre as indústrias de alimentos, a indústria de laticínios é considerada uma das mais poluentes devido a seu elevado consumo de água e alta geração de efluente (ANDRADE; MOTTA; AMARAL, 2013).

Estes efluentes possuem além de detergentes e agentes de higienização (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011), altas concentrações de matéria orgânica (lipídios, carboidratos e proteínas) (VILLA; APOLINÁRIO; NOGUEIRA, 2007) e devem ser adequadamente tratados antes de serem dispostos em ambientes aquáticos, onde podem reduzir drasticamente a concentração de oxigênio dissolvido e colocar em risco os ecossistemas (VILLA; APOLINÁRIO; NOGUEIRA, 2007).

No sistema de tratamento destas águas residuárias, os lipídios em estado livre são separados por meio de caixas de gordura e sistemas de flotação (MENDES AGUIAR et al., 2005) e posteriormente, na maioria dos casos, são dispostos em aterros sanitários (CHIVANGA BARROS; WUST; MEIER, 2008) onde podem gerar problemas de maus odores e contaminação do solo.

A digestão anaeróbia (DA) tem sido identificada como o método mais recomendado para o tratamento do efluente de laticínio, em função do seu elevado teor de matéria orgânica. Este método de tratamento apresenta as seguintes vantagens: menor exigência de energia, menor demanda de área e possibilidade de aproveitamento de biogás (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011).

No entanto, resíduos com elevado teor de lipídeos geram dificuldades na DA, pois estes componentes tendem a adsorver na biomassa (ALVES et al., 2009) e, por conta da baixa solubilidade e disponibilidade, formam lodos com diferentes características físicas e reduzida atividade hidrolítica (MENDES AGUIAR et al., 2005). Além disso, sua degradação libera ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) que inibem, ainda que temporariamente, os microrganismos acetogênicos e metanogênicos (PEREIRA et al., 2002). Dadas as devidas condições, no entanto, o consórcio metanogênico é capaz de

degradar lipídeos e é por isso que lipídeos removidos em caixas de gordura podem ser vistos como grave desperdício devido ao seu elevado potencial energético que, de acordo com Alves et al. (2009), é superior aos oferecidos por resíduos proteicos ou com alta concentração de carboidratos.

Materiais lignocelulósicos têm sido usados com diferentes objetivos, todavia de forma exitosa, para tratar de forma efetiva sistemas com elevada carga de lipídios e AGCL. Palatsi et al. (2009), por exemplo, empregou fibras como aditivo adsorvente, conseguindo recuperar processos inibidos em menor tempo do que quando foram empregados outros métodos como a diluição da carga de inibidores. Por outro lado, Angelidaki e Ahring (1997), empregaram resíduos com elevado conteúdo de fibras lignocelulósicas em co-digestão com efluente da indústria de óleo, aproveitando suas características físico-químicas e favorecendo o balanço do sistema. Porém, o emprego destes materiais para favorecer sinergias positivas em sistemas anaeróbios, requer a aplicação de pré-tratamentos para modificar sua matriz celular e favorecer sua degradabilidade.

Assim, considerando que o emprego de materiais lignocelulósicos em sistemas de co-digestão poderia ter uma dupla funcionalidade: (i) estimular o crescimento microbiano por conta do aporte de açúcares ao meio e (ii) ajudar a controlar processos inibitórios pela adsorção dos AGCL e estabilização de parâmetros do processo; propõe-se neste trabalho avaliar a produção de biogás de resíduos gordurosos de laticínio em co-digestão anaeróbia com fibras lignocelulósicas *in natura* e pré-tratadas com CO₂.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral.

O objetivo geral deste trabalho foi estudar a co-digestão anaeróbia de resíduo de caixa de gordura e bagaço de cana de açúcar pré-tratado com fluidos subcríticos e supercríticos visando a produção de biogás.

2.2. Específicos.

Para atingir o objetivo geral foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Analisar o efeito dos pré-tratamentos na morfologia do bagaço de cana (BCA);
- Estudar individualmente o grau de biodegradabilidade da gordura de leite e do bagaço pré-tratado e *in natura*;
- Avaliar sistemas de co-digestão de resíduo gorduroso e BCA pré-tratado procurando respostas sinérgicas em relação a produção de biogás.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A Indústria de Laticínios

De acordo com a Organização de Agricultura e Alimentos das Nações Unidas - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO (2017), a produção de leite no mundo tem aumentado ao longo dos últimos anos. Em 2014, 801,65 milhões de toneladas de leite foram processadas. Desta produção, o Brasil tem aportado 35,4 milhões (4,4%), destacando-se como o quarto produtor no mundo (FAO, 2017).

No Brasil, no transcurso dos últimos anos, o sector de laticínios tem-se posicionado dentre dos quatro principais setores que compreendem a indústria de alimentos, tendo a responsabilidade por cerca do 10% do faturamento total desta indústria (RODRIGUES CARVALHO, 2010).

Recentemente, este sector tem manifestado um decréscimo de produção de aproximadamente 0,5% por conta do cenário econômico interno. No entanto, projeções econômicas da Organização para o Desenvolvimento e a Cooperação Econômica (OECD) em conjunto com a FAO, indicam que entre 2016 e 2024 o país poderia aumentar sua produção de derivados em até 25% (FAGUNDES, 2016).

Com a latente possibilidade de crescimento na produção de leite e demais produtos lácteos, ressalta-se uma grave problemática: o aumento na quantidade de efluentes e resíduos gerados. Estima-se que por cada litro de leite beneficiado são gerados cerca de 2.5 L de efluente (VILLA; APOLINÁRIO; NOGUEIRA, 2007); por conseguinte, é possível estimar a geração de mais de 88 bilhões de litros de efluente por ano. Existem aproximadamente vinte e seis tipos de derivados lácteos para os quais esta relação pode ser muito maior.

Sendo esta uma mercadoria com um papel vital no desenvolvimento econômico e social do país, considera-se de enorme importância orientar recursos para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis para o tratamento

do seus efluentes, como aquelas que contribuam fornecendo parte do recurso energético necessário para os processos produtivos do mesmo laticínio.

3.2. Efluentes de Laticínios

Os efluentes da indústria de laticínios são gerados principalmente nas operações de limpeza e lavagem das plantas de processamento (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011). Assim, como é sintetizado na Tabela 1, estes efluentes são caracterizados por grandes variações nos valores de pH, altos níveis de nitrogênio e fósforo, grandes flutuações de temperatura e concentrações elevadas de matéria orgânica e nutrientes (TOMMASO et al., 2012), incluindo proteínas, gorduras e lactose, além de resíduos de produtos químicos usados para limpeza (THASSITOU; ARVANITOYANNIS, 2001).

Devido à sua composição, estas águas possuem alta demanda bioquímica (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011); Quando descartadas sem tratamento, tais efluentes podem ocasionar a depleção das concentrações de oxigênio nas águas receptoras e a eutrofização por conta dos elevados níveis de fósforo e nitrogênio (ARVANITOYANNIS; GIAKOUNDIS, 2006; DANALEWICH et al., 1998).

Uma indústria láctea pode desenvolver o processamento de diferentes tipos de produtos (leite, manteiga, queijo, iogurte, leite condensado, entre outros), por tanto, é importante ressaltar que o volume e as características dos despejos produzidos variam dentro de amplas margens, dependendo não só do tipo de produto gerado, mais também da escala de operação e dos processos de fabricação empregados (TOMMASO et al., 2012). Além disso, é importante considerar a presença ou ausência de métodos de produção mais limpa, que também influenciam amplamente as características do efluente (MENDES AGUIAR et al., 2005)

Deste modo, o descarte de leite, creme ou soro de leite nos processos de limpeza pode levar a efluentes com elevadas quantidades de lipídeos e consequentemente elevada DQO (BRIÃO; GRANHEN TAVARES, 2007), em quanto o nitrogênio vai se gerar principalmente das proteínas do leite e da ureia

(KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011). O pH, que está ligado com a alcalinidade, vai depender do tipo de detergentes e seus aditivos, os mais empregados são o hidróxido de sódio e os ácidos nítricos e fosfóricos (THASSITOU; ARVANITOYANNIS, 2001).

Tabela 1. Características Físico-químicas do Efluente de Laticínio

Variável	Valor
pH	4,7–11
Alcalinidade	150-970 mg CaCO ₃ /L
Sólidos totais (ST)	2,7- 53 g/L
Sólidos suspensos (SST)	0,024 – 12,5 g/L
Sólidos suspensos voláteis (SSV)	0,225 – 12,1 g/L
Nitrogênio total	14–830 mg/L
Fósforo total	9-280 mg/L
Lipídios totais	0,9 – 4,68 g/L
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	40,00–48,00 mg/L
Demanda química de oxigênio (DQO)	80,00–95,00 mg/L

Fonte: Adaptado de Demeriel, Yenigun e Onay (2005); Kim, Han e Shin (2004a); Kushwaha, Srivastava e Mall (2011); Mendes Aguiar et al. (2005)

3.2.1. Sistema de Tratamento de efluentes

Os sistemas convencionais para o tratamento de efluentes de laticínio combinam tratamentos físicos e biológicos para a remoção da matéria orgânica, e, em alguns casos, tratamentos químicos para a remoção de nutrientes (ANDRADE; MOTTA; AMARAL, 2013). Estes tratamentos podem ser classificados como preliminares, primários, secundários e terciários, ver Figura 1.

Figura 1. Método convencional para o tratamento de efluentes de laticínios

Fonte: Própria

A série de tratamentos classificados como preliminares e primários, no caso prático, podem ser considerados como um mesmo grupo. Estes, incluem uma série de operações físicas que abrangem a remoção de sólidos de dimensões grandes, sólidos em suspensão, areias e gorduras, empregando dispositivos como grades, peneiras, caixas de areia, caixas de gordura e/ou sistemas de flotação (MENDES AGUIAR et al., 2005). Os resíduos retidos nestes dispositivos podem ser removidos de forma manual ou mecânica, porém, recomenda-se que isto seja feito prontamente pois a solubilização destes resíduos pode aumentar a concentração da DQO no efluente (HEMMING¹, 1981 apud BRITZ; VAN SCHALKWYK; HUNG, 2006).

As caixas de gordura, são empregadas para reter lipídeos em estado livre (MACHADO; SILVA; FREIRE, 2001). Este dispositivo é composto por uma série de células por onde flui o efluente e é retida a gordura, que usualmente flutua na parte superior (BRITZ; VAN SCHALKWYK; HUNG, 2006). Em geral, são de fácil

¹ HEMMING, M. L. The treatment of dairy wastes. In: HERZKA, A.; G, B. R. (Eds.). **Food Industry Wastes: Disposal and Recovery**. London: Applied Science Publishers, 1981. p. 246

instalação e manejo, precisando, todavia, de frequente monitoramento e limpeza. Estes equipamentos podem apresentar mau funcionamento a temperaturas superiores a 35°C e pH acima de 8,0 por conta de fenômenos como a saponificação ou emulsificação, em cujo caso devem ser utilizados produtos químicos para facilitar a separação (MENDES AGUIAR et al., 2005).

Os sistemas de flotação forçada, também usados para separar gorduras, óleos e graxa, são recomendados quando estes compostos não são passíveis de separação eficiente (TOMMASO et al., 2012). A separação neste caso é feita por meio de bolhas de ar que fluem através do efluente e se aderem às partículas de graxa e à matéria suspensa remanescente, levando estes compostos para cima para sua posterior remoção (BRITZ; VAN SCHALKWYK; HUNG, 2006).

Apesar dos custos operacionais elevados e a geração de lodo químico, os sistemas de flotação forçada são mais eficientes na remoção de gordura (MENDES AGUIAR et al., 2005). Após remoção, este resíduo é geralmente disposto em aterros sanitários, onde, sem os devidos controles, pode contaminar o solo e ainda recursos hídricos (PINTO DE OLIVEIRA et al., 2014), além de gerar mau cheiro.

É importante ressaltar que a efetividade dos processos que compõem o tratamento preliminar é de grande importância para o cuidado e proteção dos equipamentos que compõem o sistema, como as bombas, válvulas, tubulações e demais (NIELSEN, 1995) .

O tratamento secundário consiste em processos destinados a remover a matéria orgânica dissolvida ou finamente particulada presente no efluente. Estes processos podem ser físico-químicos, biológicos ou uma combinação dos dois (TOMMASO et al., 2012).

Os processos físico-químicos podem atingir uma ampla remoção de compostos por meio da formação de precipitados de proteínas ou gorduras (ARVANITOYANNIS; GIAKOUNDIS, 2006), mas, a pouca capacidade de remoção de sólidos pequenos e da DQO, somada com o elevado custo dos reagentes, fazem que sejam preferidos os métodos biológicos

(ARVANITOYANNIS; GIAKOUNDIS, 2006; MENDES AGUIAR et al., 2005; VIDAL et al., 2000).

Os processos biológicos podem ser aeróbios ou anaeróbios, sendo algumas vezes usados sistemas que utilizam a combinação dos dois (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011). Como foi apresentado por Mendes Aguiar et al. (2005), estes sistemas promovem a remoção da matéria orgânica reduzindo a DBO do resíduo a ser tratado, e, degradando, na medida possível, os compostos químicos orgânicos recalcitrantes.

Nos sistemas aeróbios, como: lodos ativados, lagoas aeradas, filtros biológicos e bio-discos; a estabilização dos despejos é realizada por microrganismos aeróbios e facultativos (KUSHWAHA; SRIVASTAVA; MALL, 2011), sendo necessárias grandes quantidades de energia ou uma grande área para seu funcionamento (VIDAL et al., 2000).

Nos processos anaeróbios, a decomposição da matéria orgânica é realizada na ausência de oxigênio molecular, resultando na obtenção de compostos como o dióxido de carbono e metano, importante fonte renovável de energia. Para tanto, tem sido desenvolvidos reatores em batelada, reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB - do inglês, upflow anaerobic sludge blanket), filtros anaeróbios, entre outros (VIDAL et al., 2000)

É importante comentar que somente a utilização de reatores anaeróbios não proporciona eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes suficiente para o atendimento dos padrões de emissão de efluentes, por este motivo, recomenda-se a aplicação de sistemas anaeróbios seguidos por processos aeróbios para o tratamento de águas residuárias (TOMMASO et al., 2012).

Em síntese, cada tecnologia tem suas vantagens e desvantagens. Assim, o planejamento do tratamento secundário vai depender das características do efluente, sendo que este só será satisfatório se esse conhecimento for combinado com eficiente e cuidadosa operação do sistema selecionado, favorecendo a manutenção da atividade microbiana e do equilíbrio das populações envolvidas (MENDES AGUIAR et al., 2005).

3.3. Digestão Anaeróbia

A Digestão Anaeróbia (DA) é um processo biológico no qual a degradação e estabilização de materiais orgânicos é feita por meio de um diverso grupo de microrganismos em ambiente sem oxigênio (LI; PARK; ZHU, 2011). Deste processo pode-se obter biomassa e uma mistura de gases chamada biogás que é composta por dióxido de carbono, metano, vapor de água, traços de gás sulfídrico e amônia, em proporções de 50–75%, 25–50%, 1–5%, 0–5,000 ppm e 0–500 ppm, respectivamente (BRAUN, 2007; KELLEHER et al., 2002).

Este método pode-se empregar para o tratamento de um substrato único (mono-digestão) ou múltiplos substratos (co-digestão) (XIE et al., 2016). As vantagens e desvantagens deste processo em relação a outros métodos de degradação de matéria orgânica como os tratamentos aeróbios ou químicos, são listados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 2. Vantagens da DA na degradação de matéria orgânica

Produção de baixas quantidades de lodo.
Demanda de pequenas áreas para sua montagem.
Não precisa aeração, fato que permite economizar grande quantidade de energia.
Emissões mínimas de odor quando fechados.
Permite a geração de biogás, fonte de energia renovável.
Dependendo do substrato, o lodo produzido é estável e pode ser empregado como fertilizante.
Viável para aplicações em grande e pequena escala

Fonte: Adapto de Appels et al. (2011a), Appels et al. (2011b), Kushwaha, Srivastava e Mall (2011) e Ward et al. (2008)

Os processos de DA podem ser classificados com base no seu conteúdo de sólidos totais (ST) como líquidos ou sólidos, sendo que aqueles com teor de ST superior a 15% são definidos como digestão anaeróbia sólida (SS-DA), enquanto teores inferiores são catalogados como digestão anaeróbia líquida (L-DA) (RAPPORT et al., 2008).

Tabela 3. Desvantagens da DA na degradação de matéria orgânica

Longos tempos de retenção hidráulica

Sensibilidade dos microrganismos a diversas inibições

Fonte: Adaptado de Apples et al. (2008), Appels (2011b) e Park et al. (2005)

No caso da L-DA procura-se manter uma relação DQO:Nitrogênio:Fosforo de 100:1:0,2 respectivamente, com o intuito de favorecer o crescimento dos microrganismos, enquanto na SS-DA e em sistemas de co-digestão a relação mais importante é a existente entre a concentração de carbono e a de nitrogênio (C/N) (RAPPORT et al., 2008).

Em geral, a DA se desenvolve em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (PARK et al., 2005), ver Figura 2.

Na etapa da hidrólise, materiais de elevado peso molecular e substratos complexos são hidrolisados em pequenas subunidades de substratos orgânicos solúveis (ZHANG et al., 2014). Desta forma, os hidratos de carbono, lipídeos e proteínas são degradados a glucose, ácidos graxos e aminoácidos, respetivamente, por meio de enzimas extracelulares (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

Na acidogênese, os monômeros obtidos na etapa anterior são convertidos em ácidos graxos voláteis (AGV), como os ácidos acético, propiônico e butírico (SALMINEN; RINTALA, 2002). Também são produzidos, em menor quantidade, outros subprodutos como o hidrogênio (H₂), dióxido de carbono (CO₂) e álcool (LI; PARK; ZHU, 2011). Os microrganismos responsáveis desta etapa são as bactérias fermentativas, que segundo Aquino e Chernicharo (2005), obtém o maior benefício energético no processo, conseguindo-se reproduzir num curto tempo e numa maior taxa.

Na terceira etapa, as bactérias acetogênicas, também chamadas sintróficas, transformam os AGV em acetato, H₂ e CO₂ (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). Estas reações são facilmente inibidas ainda por baixas concentrações acumuladas de hidrogênio e de acetato, dependendo por tanto da transformação

rápida destes compostos a metano (CH_4) e CO_2 , transformação que acontece na etapa final denominada metanogênese (GERARDI, 2003). Segundo Aquino e Chernicharo (2005), a conversão de propionato e butirato para acetato só é possível em função da interação entre os microrganismos acetogênicos e metanogênicos, pois estas são conversões normalmente desfavoráveis em termos termodinâmicos, necessitando da remoção constante do H_2 e CO_2 no meio. Em síntese, a transformação de ácidos e a formação de metano ocorre simultaneamente, e a estabilidade do processo dependente da manutenção de um equilíbrio bioquímico delicado entre os microrganismos envolvidos (KROEKER et al., 1979).

Figura 2. Etapas da Digestão Anaeróbia de Substratos Orgânicos

Fonte: ZHANG et al. (2014)

Na metanogênese, interatuam microrganismos hidrogenotróficos responsáveis pela remoção de H_2 , junto com microrganismos acetoclásticos que removem acetato, e, portanto DQO; além de bactérias redutoras de sulfato competem com os microrganismos metanogênicos por substrato (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

Na DA, a velocidade de degradação de resíduos orgânicos depende, num primeiro momento, da capacidade das enzimas de hidrolisar substratos complexos e, posteriormente, da manutenção do equilíbrio bioquímico e da taxa de crescimento dos microrganismos metanogênicos (VEEKEN; HAMELERS, 1999).

Dos quatro grupos microbianos, os metanogênicos acetoclásticos apresentam a taxa de crescimento mais baixa e são considerados, em conjunto com os outros organismos do seu grupo, como os mais sensíveis a fatores ambientais e compostos inibidores (ZHENG et al., 2014).

3.4. Processos Inibitórios

Nos sistemas anaeróbios podem-se apresentar inibições tanto por desequilíbrio de nutrientes (Na, K, etc.) e oligoelementos (Zn, Fe, etc.), quanto por falhas no controle dos parâmetros do processo (temperatura e pH) (ZHANG et al., 2014). Os processos inibitórios são geralmente detectados pelo acúmulo de ácidos orgânicos e o consequente decaimento na taxa de produção de biogás, enquanto a toxicidade é indicada pela depreciação total da atividade metanogênica (KROEGER et al., 1979).

Assim, considera-se que as inibições geram mudanças adversas na população microbiana ou inibições do crescimento bacteriano (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008) e a toxicidade a morte dos microrganismos.

O efeito inibitório ou tóxico de uma substância depende de diversos mecanismos como o antagonismo, sinergismo e adaptação, que podem ocasionar grandes diferenças no complexo processo da DA (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008). O antagonismo refere-se a capacidade de um composto de aliviar o efeito inibitório de outro. O sinergismo é o efeito oposto, isto é, o aumento do efeito nocivo de um composto na presença ainda que de pequenas quantidades de outro (CHEN et al., 2014). A adaptação consiste na exposição do consórcio microbiano a quantidades crescentes de compostos inibitórios que caracterizam um substrato específico, com o objetivo de incrementar a tolerância aos mesmos (SILVESTRE et al., 2011).

É possível encontrar informação muito variável na literatura com respeito à forma e grau de inibição de diversas substâncias, portanto, o controle dos processos inibitórios é ainda um desafio. Embora diferentes propostas tenham sido avaliadas pela comunidade científica, uma das propostas que maior peso tem ganhado é a incorporação de variados substratos com o objetivo de gerar antagonismos ou diluir substâncias nocivas.

Alguns dos compostos que podem ter efeito inibitório e estão frequentemente presentes em digestores estabilizando resíduos da agroindústria serão abordados a continuação.

3.4.1. Matéria Nitrogenada:

Em meio anaeróbio, as proteínas e demais substratos orgânicos ricos em de nitrogênio, são degradados na forma de íon amônio (NH_4^+) e amônia livre (NH_3) (ZHANG et al., 2014). Estes compostos, mesmo sendo necessários para o crescimento microbiano e para a manutenção de um pH saudável no sistema anaeróbio, têm grande poder inibitório quando apresentam altas concentrações (YENIGÜN; DEMIREL, 2013).

Segundo Yenigün e Demirel (2013), concentrações maiores do que 1700 mg/L de nitrogênio total são altamente inibitórias para biomassas microbianas não adaptadas, sendo que a amônia livre é considerada a mais contraproducente, por sua capacidade de permear a membrana celular dos microrganismos e perturbar o equilíbrio de minerais (GALLERT; WINTER, 1997).

Diferentes estudos indicam que entre os microrganismos anaeróbios, os metanogênicos acetoclásticos são os menos tolerantes e os mais propensos a deixar de crescer devido à presença desse composto (CALLI et al., 2005).

3.4.2. Ácidos Graxos de Cadeia Longa (AGCL)

Os ácidos graxos são cadeias de átomos de carbono associadas por suas extremidades a moléculas de hidrogênio e grupos ácidos (CHEN et al., 2014). Cadeias com mais de 12 carbonos são classificadas como AGCL e são produto da hidrólise enzimática dos lipídios (HAGOS et al., 2016).

Na DA estes compostos são normalmente degradados por meio do processo de β -oxidação (equação 1), gerando acetato e H_2 , que por sua vez são convertidos em metano (KIM; HAN; SHIN, 2004b). No entanto, estes compostos, ainda em concentrações baixas, ocasionam graves problemas.

Eq. 1

O mecanismo por meio do qual estes compostos afetam o processo da DA ainda está em discussão, existindo atualmente três teorias:

- Inibição das arqueias metanogênicas: consiste na redução da tensão superficial da célula, gerando uma alteração irreversível na parede ou membrana (LONG et al., 2012), afetando negativamente as arqueias metanogênicas, principalmente as acetoclásticas por conta de particularidades da composição de sua membrana (APPELS et al., 2008);
- Obstrução nos processos metabólicos de transporte: os AGCL são adsorvidos sobre a parede celular dos microrganismos afetando processos metabólicos de transporte, alimentação e liberação de compostos (CHEN et al., 2014), e
- Flotação e lavagem da biomassa: decorre do processo de adsorção dos AGCL sobre a biomassa microbiana, e aumenta o efeito da flotação que caracteriza os compostos hidrofóbicos, junto com a perda da biomassa por lavagem, sendo que a esta última ocorre exclusivamente em reatores contínuos (HWU et al., 1998; LONG et al., 2012)

É importante destacar que o efeito nocivo destes compostos depende do tipo de microrganismo, das características da biomassa microbiana e do comprimento da cadeia de carbono e sua saturação ($C=C$) (SALMINEN; RINTALA, 2002).

A Tabela 4 apresenta a composição de AGCL de algumas matérias primas e efluentes relacionados com este trabalho, geralmente aqueles os insaturados (18 carbonos) são os mais inibitórios (SALMINEN; RINTALA, 2002).

Tabela 4. Composição de AGCL de produtos relacionados

Produto	AGCL (%)						
	Laurico (C12:0)	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Palmitoleico (C16:1)	Esteárico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoleico (C18:2)
Leite integral	7.0	6.0	21.0	2.0	6.0	39.0	13.0
Efluente de laticínio			27.0		7.0	37.0	13.0

Fonte: Adaptado de Alves et al., (2009)

3.4.3. Ácidos Graxos Voláteis (AGV)

São intermediários importantes na DA, sendo produzidos e utilizados como fontes de carbono nos reatores (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014)(KWIETNIEWSKA; TYS, 2014); quando se acumulam todavia, ocasionam um dos processos inibitórios mais complexos no processo de DA.

Estes compostos se acumulam devido a desequilíbrios gerados por variações de temperatura, sobrecarga orgânica e/ou presença de compostos tóxicos (MECHICHI; SAYADI, 2005), que afetam os microrganismos metanogênicos, impossibilitando a remoção de hidrogênio e por tanto, de vários dos ácidos orgânicos produzidos (APPELS et al., 2008). Assim, seu acúmulo é um indicativo do desacoplamento cinético entre os organismos produtores e os consumidores de ácido (AHRING; SANDBERG; ANGELIDAKI, 1995). Em grandes quantidades geram efeito inibitório indireto pela acidificação do meio até níveis onde os microrganismos do consórcio são inibidos (GOLUEKE; OSWALD; GOTAAS, 1957).

Adicionalmente, estes ácidos graxos podem fluir livremente através da membrana celular onde se dissociam e causam a interrupção da homeostase por diminuição do pH (APPELS et al., 2008). Dos ácidos produzidos na etapa da acidogênese, o propionato e butirato são os mais inibitórios (WARD et al., 2008).

3.4.4. Elementos metálicos.

São classificados como íons de metais leves (Na, K, Mg, Ca, Al) e íons de metais pesados (Cr, Co, Cu, Zn, Ni, etc), e desempenham um papel importante em vários processos metabólicos (ZHANG et al., 2014). Concretamente, são necessários para na ativação e funcionamento de muitas enzimas e coenzimas (CHEN et al., 2014), tendo repercussão no crescimento microbiano, na síntese enzimática de compostos de elevado peso molecular e no processo bioquímico de produção de metano (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008; FACCHIN et al., 2013; SCHATTAUER et al., 2011). Contudo, os dois grupos tem um potencial altamente inibitório e tóxico quando presentes em concentrações muito altas, sendo que os metais pesados não são biodegradáveis e tendem a acumular-se em maior medida do que os metais leves (APPELS et al., 2008; KWIETNIEWSKA; TYS, 2014).

O mecanismo de inibição destes compostos varia desde a competição por compostos, a adesão e alteração da membrana celular, alteração de funções enzimáticas, formação de precipitados e sinergismo (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008). De acordo com Workentine et al. (2007), a toxicidade dos metais pesados sobre os microrganismos depende de suas características físico-químicas e do ambiente no que estão presentes.

3.4.5. Temperatura e pH

A temperatura e o pH são parâmetros que tem relação direta com diversos processos inibitórios, podendo ser a causa ou o efeito. Referente ao pH, a maioria dos microrganismos da DA preferem valores neutros, embora, cada um requeira um valor específico para seu ótimo crescimento, sendo que os metanogênicos são extremamente sensíveis às flutuações (HAGOS et al., 2016). Desta forma, enquanto valores ácidos podem afetar o crescimento de alguns microrganismos, meios muito alcalinos podem levar à desintegração dos grânulos microbianos e a subsequente falha do processo (WARD et al., 2008). O pH é um indicador de um meio saudável.

O efeito da temperatura na DA é duplo, pois pode alterar as características físico-químicas do substrato alimentado e, além, influenciar a cinética de crescimento dos microrganismos e por tanto a dinâmica do consórcio anaeróbio (APPELS et al., 2008). Os sistemas anaeróbios podem se desenvolver a temperaturas psicrófilas (25°C), mesófilas (aprox. 35°C) ou termófilas (aprox. 55°C) (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). A estrutura dos microrganismos varia de uma condição para outra e, ainda pequenas mudanças resultam na redução temporária da taxa de biogás, este efeito é superado quando a população particular de cada condição aumenta (WARD et al., 2008). Segundo Hagos et al. (2016), um aumento de temperatura tem efeito positivo no metabolismo dos microrganismos e acelera a digestão, todavia, dificuldades de controle e o custo energético fazem com que os processos termofílicos sejam pouco aplicados. Este parâmetro tem também um efeito significativo sobre a pressão parcial do H₂ e influencia a cinética dos metabolismos sintróficos (APPELS et al., 2008).

3.5. Co-digestão Anaeróbia.

A co-digestão anaeróbia (Co-DA) é o processo no qual dois ou mais substratos são fornecidos ao consórcio anaeróbio, procurando, dessa forma, aumentar a eficiência do processo por meio do uso de substratos com características complementares (ASTALS et al., 2014). A digestão simultânea de vários substratos pode permitir (ANGELIDAKI; AHRING, 1997; ASTALS et al., 2011; KHALID et al., 2011):

- obter teores de umidade necessários;
- outorgar estabilidade aos processos;
- acelerar a biodegradação de resíduos orgânicos sólidos;
- aumentar o rendimento de metano produzido, e
- aumentar a viabilidade econômica dos tratamentos.

Para atingir estes benefícios deve-se realizar escolha de substratos de forma que sejam favorecidas interações positivas como o equilíbrio dos macro e micronutrientes e a relação C/N (MATA-ALVAREZ et al., 2011).

Assim, por meio da diluição de um material com outro mais líquido, por exemplo, podem-se atingir teores de umidade que além de facilitar a manipulação, podem também ajudar a reduzir a concentração de compostos inibitórios, outorgando estabilidade ao processo (ANGELIDAKI; AHRING, 1997). Além disso, nutrientes adicionais serão aportados ao sistema, acelerando a biodegradação de resíduos orgânicos sólidos (bio-estimulação), gerando ainda um melhor rendimento de biogás (KHALID et al., 2011). Este biogás poderá apresentar maior conteúdo de metano se houver um aumento da matéria orgânica no meio (ASTALS; NOLLA-ARDEVOL; MATA-ALVAREZ, 2013). Finalmente, a melhora da viabilidade econômica na Co-DA decorre da soma de todos os benefícios já listados, somados com a possibilidade de compartilhamento dos equipamentos, gerando menor custo por volume tratado (ANGELIDAKI; AHRING, 1997; MATA-ALVAREZ; MACÉ; LLABRÉS, 2000).

Apesar das numerosas vantagens, existem também algumas limitações na aplicação da Co-DA como o risco de introduzir substâncias tóxicas ao meio, os elevados custos de transporte dos resíduos desde o ponto de geração até a planta de tratamento, o ajuste do sistema aos parâmetros e requisitos operacionais de ambos substratos, e a dificuldade de padronização das características dos resíduos (ASTALS et al., 2011).

A relação C/N tem uma particular importância nestes sistemas devido a que o nitrogênio faz parte do processo de produção da massa celular (KHALID et al., 2011). Segundo Angelidaki, Ellegaard e Ahring (2003), o valor adequado da relação C/N está entre 25-30. Neste contexto, a Co-DA de uma matéria-prima com baixa relação C/N junto com outra de elevada relação, pode ajustar a relação mais perto de idealidade (WARD et al., 2008). Adicionalmente, esta relação está ligada com a capacidade tampão dos resíduos, sendo que valores relativamente baixos da relação contribuem para a estabilização do pH (HAGOS et al., 2016)

Desta maneira, a Co-DA tem sido amplamente utilizada para melhorar a produção de biogás dos digestores, apresentando melhorias de até 400% na produção de biogás em comparação com sistemas de mono-digestão com os mesmos substratos (ASTALS; NOLLA-ARDEVOL; MATA-ALVAREZ, 2012).

Segundo Shah et al. (2015), isto tem relação com a capacidade da Co-DA de diversificar e criar sinergias entre as comunidades microbianas que são cruciais na metanogênese.

Recentemente, novas combinações de substratos tem sido propostas, com maior enfoque para o uso de fontes orgânicas complexas, pois materiais facilmente biodegradáveis já estão sendo utilizados em outros processos ou não estão disponíveis (MATA-ALVAREZ et al., 2014).

3.6. Resíduos Lignocelulósicos

Atividades comerciais, industriais e agrícolas geram grandes quantidades de resíduos que quando não são utilizados acabam se acumulando e se tornando agentes de contaminação. Os resíduos de culturas vegetais constituem um subproduto lignocelulósico de elevado potencial para ser utilizado na produção sustentável de bioenergia e biocombustíveis (ZHENG et al., 2014).

O emprego destes materiais como fonte de energia renovável é rentável devido a seu baixo custo e elevada disponibilidade, além ao se reduzir a dependência aos combustíveis fósseis é diminuída a produção de gases de efeito estufa (DEMIRBAS; PEHLIVAN; ALTUN, 2006; HAGOS et al., 2016; LYND et al., 2002).

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância no Brasil. No ano de 2013 destacou-se como o principal produto do país em volume de produção, gerando em torno de 24,9 milhões de ingressos (1000 Int. \$) a partir de 768 milhões de toneladas geradas (Figura 3)(FAO, 2017b). No mundo também é uma das culturas mais produzidas, depois do arroz e “outros cereais”, é a terceira mercadoria, sendo que no ano de 2014, 1.884 milhões de toneladas foram processadas, alcançando o Brasil como principal produtor, responsável por 752 milhões (FAO, 2017c).

Na produção de etanol, por cada tonelada de cana processada se produz cerca de 264 kg de bagaço (RAMIREZ, 2008). Este, geralmente é queimado para fornecer energia em forma de calor para operação das usinas (BRESSAN;

ALVES, 2013), sendo apenas uma parte empregada para a cogeração de energia em forma de álcool (NEVES; CONEJERO, 2007).

A queima do bagaço representa um desperdício do potencial energético deste produto, principalmente devido à ineficiência do processo, que depende de vários fatores como o teor de água. De acordo com Appels et al. (2011a), para obter um balanço energético positivo na queima, o teor de água deve ser menor que 60% e ainda neste caso, uma grande porcentagem da energia contida no produto vai ser consumida na evaporação dessa água. Outra ocorrência relacionada à queima é o desperdício de energia, pois quando é atingido um processo eficiente de queima é comum ter mais energia do que uma usina ou fábrica pode precisar para se auto sustentar, esse excedente de energia termina se perdendo por conta das complicações burocráticas e dos grandes investimentos requeridos para sua armazenagem e comercialização (BRESSAN; ALVES, 2013). Bressan e Alves (2013) estimam que uma usina com capacidade de produção de 2,0 milhões de toneladas de cana por ano e consumo de 24GWH/ano poderia vender até 300GWH/ano. Adicionalmente, a queima de biomassa tem um elevado índice de rejeição devido à liberação de compostos tóxicos (APPELS et al., 2011a).

O emprego deste material em processos de Co-DA poderia ser conveniente, visto que, em mistura com outros substratos o bagaço da cana poderia: estimular o crescimento microbiano por conta do seu aporte de açúcares no meio, balancear a relação C/N, e ajudar a controlar processos inibitórios por meio da adsorção de compostos problemáticos. Como foi demonstrado por Palatsi et al. (2009), materiais fibrosos podem competir com a biomassa microbiana em adsorver AGCL, evitando assim a inibição do sistema pela obstrução nos processos metabólicos de transporte dos microrganismos. Além disso, no que diz respeito à conversão de matéria vegetal em bioenergia, a DA é termodinamicamente mais eficiente comparada com a produção de etanol (SAMSON et al., 2008).

Figura 3. Principais Produtos Produtivos no Brasil no 2013

Fonte: FAO (2017b)

No entanto, a hidrólise microbiana de materiais lignocelulósicos é um processo complexo devido a suas características físico-químicas (MSHANDETE et al., 2006). Estes resíduos são constituídos principalmente por moléculas de celulose, hemicelulose e lignina (figura 4) (ZHENG et al., 2014), além de amido, cinzas, proteínas, óleos, e outros compostos secundários (SCHACHT; ZETZL; BRUNNER, 2008). Estes componentes são mantidos juntos por ligações covalentes, pontes intermoleculares, e forças de Van-der-Waals (SCHACHT; ZETZL; BRUNNER, 2008). A seguir serão descritos os principais componentes destes materiais.

Figura 4. Estrutura de Materiais lignocelulósicos.

Fonte: Adaptado de Yang et al. (2015)

3.6.1. Celulose

A celulose ($C_6H_{10}O_5$)_n é um polissacarídeo linear de celobiose, composto por 10,000–15,000 unidades de β-D-glucose, ligadas por pontes de hidrogénio e forças de Van-der-Waals (Figura 5) (SAWATDEENARUNAT et al., 2015; YANG et al., 2015; ZHENG et al., 2014). A configuração deste composto faz com que ele seja dificilmente digerível pela maioria dos animais, sendo necessárias enzimas especiais como as celulasas para hidrolisar as ligações covalentes, deste modo, só os ruminantes conseguem lhe digerir facilmente (SAWATDEENARUNAT et al., 2015).

A celulose representa o componente maioritário dos materiais lignocelulósicos com um teor de 35-50% (SANTOS et al., 2012).

Figura 5. Estrutura da Celulose

Fonte: <https://es.wikipedia.org/wiki/Celulosa>

3.6.2. Hemicelulose

A hemicelulose (Figura 6) é um polissacarídeo amorfo e aleatório, com ramificações heterogêneas de várias pentoses (xilose e arabinose), hexoses (manose, glicose e galactose) e ácidos de açúcares (ácido glucurónico, metilglucurónico e galacturónico). (ZHENG et al., 2014), presentes em diferentes concentrações dependendo do material (SCHACHT; ZETZL; BRUNNER, 2008). Na biomassa lignocelulósica, de 20-35% é hemicelulose (SANTOS et al., 2012). Nas gramíneas o componente maioritário é a xilose. Em comparação com a celulose e a lignina, a hemicelulose é o componente mais sensível termo quimicamente (AGBOR et al., 2011).

Os componentes que formam a hemicelulose apresentam diferentes graus de solubilidade, sendo este fator dependente da temperatura, do teor de

humidade e do pH (SCHACHT; ZETZL; BRUNNER, 2008). Em ordem decrescente de solubilidade encontra-se a manose, xilose, glicose, arabinose e galactose (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

Em geral, este polímero considerasse de fácil digestão devido a sua característica amorfa, não obstante, a rede que formada junto com a lignina em, aumenta a recalcitrância da célula de planta (YANG et al., 2015).

Figura 6. Estrutura da Hemicelulose

Fonte: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=19378315>

3.6.3. Lignina

É um polímero aromático complexo, grande e hidrofóbico conformado por três unidades de fenilpropano (*p*-coumaril, coniferil e álcool sinapílico) (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009; ZHENG et al., 2014), fato que outorga estabilidade às paredes celulares das plantas e torna-as resistente contra a água, a ação microbiana e o estresse oxidativo (AGBOR et al., 2011).

A lignina constitui de 10-25% do material lignocelulósico (SANTOS et al., 2012), e é considerada o componente mais recalcitrante da parede celular da planta. Este polímero é um dos principais obstáculos na utilização da biomassa lignocelulósica em processos de bio-conversão; quanto maior for o teor de lignina, maior será a resistência da biomassa à degradação química e biológica (ZHENG et al., 2014).

A composição deste polímero varia dependendo da sua origem e o método de extração ou isolamento utilizados, portanto, não existe uma estrutura química específica definida (SIFONTES; DOMINE, 2013)

O teor de lignina é maior na madeira macia do que na madeira dura e a maioria dos resíduos agrícolas (ZHENG et al., 2014).

3.7. Pré-tratamento de Materiais Lignocelulósicos

Como descrito previamente, são vários os fatores que limitam a hidrólise dos materiais lignocelulósicos, principalmente: o teor de lignina, a cristalinidade da celulose, seu grau de polimerização, o teor de umidade do material e a área superficial (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Por este motivo, diferentes métodos tem sido desenvolvidos para o pré-tratamento de estes materiais a fim de aumentar sua biodegradabilidade.

No foco da DA, estes pré-tratamentos tem como objetivo reduzir os obstáculos estruturais e de composição, expondo a celulose, hemicelulose e lignina aos microrganismos do consórcio e às enzimas por eles excretadas, aumentando a velocidade de degradação do composto e de produção de biogás (ZHENG et al., 2014).

Este objetivo pode ser abordado por meio do aumento da área superficial, alterando a cristalinidade da celulose, removendo a hemicelulose, ou a remoção/alteração da lignina (YANG et al., 2015). Todavia, é importante considerar que a eficiência global do pré-tratamento depende do bom equilíbrio entre baixa formação de inibidores e o aumento na digestibilidade do substrato (TALEBNIA; KARAKASHEV; ANGELIDAKI, 2010)

Atualmente, existem diversos métodos de tratamento, podendo também ser usados em combinação. Estes métodos podem ser classificados em: biológicos (fungos ou enzimas), físicos (trituração e extrusão), químicos (álcalis, ácidos, com ozônio, solventes orgânicos ou líquidos iônicos) e físico-químicos (água quente, explosão com vapor de SO₂, explosão com amônia, oxidação húmida, por micro-ondas, ultrassom e explosão com CO₂).

A escolha de um pré-tratamento deve ser feita com cuidado, uma vez que além de maximizar o potencial de metano da cultura alvo, também pode-se reduzir o tempo de incubação necessário para o completo aproveitamento (FRIGON; GUIOT, 2010). Os custos energéticos também devem ser levados em consideração (SHAH et al., 2015).

Atualmente, apesar da enorme informação sobre os efeitos de diferentes pré-tratamentos sobre a composição da biomassa, existe pouca informação balanceando o custo/benefício (ALVIRA et al., 2010).

Na Tabela 5, apresentam-se alguns pré-tratamentos e seus efeitos, deve-se notar que embora vários pré-tratamentos para materiais lignocelulósicos tenham sido desenvolvidos e extensivamente estudados durante as últimas décadas, a maioria destes tem visado a produção de bioetanol, faltando ainda avaliar seu efeito na produção de biogás (ZHENG et al., 2014).

3.7.1. Pré-tratamento com Fluidos Supercríticos (FSC)

Os fluidos supercríticos (Figura 7) são fluidos levados a seu estado gasoso e comprimidos a pressões acima do seu ponto crítico, o que lhe confere uma densidade semelhante a do líquido e uma difusividade e viscosidade característica dos gases (ZHENG; LIN; TSAO, 1998). Estas propriedades outorgam vantagens de transferência de massa superiores a dos solventes orgânicos convencionais. Estes fluidos, portanto, penetram diferentes matrizes mais facilmente, rompem estruturas celulares e extraem diferentes compostos de forma mais eficiente (SAHENA et al., 2009).

O tratamento com FSC consiste na introdução do material vegetal num recipiente de alta pressão que em seguida é aquecido até temperatura crítica do fluido escolhido. Posteriormente, o fluido é fornecido a condições de alta pressão e o sistema é mantido sob condições críticas durante um período de tempo determinado (AGBOR et al., 2011). O tratamento pode ser realizado em modo estático ou dinâmico.

Tabela 5. Efeito de diferentes pré-tratamentos sobre algumas características dos materiais lignocelulósicos

Pré-tratamento	Aumenta a área de superfície	Decristaliza a celulose	Solubiliza a hemicelulose	Solubiliza a lignina	Altera a estrutura da lignina	Forma furfural/HMF
Mecânico	+++	+++	-	-	-	-
Irradiação	++	+	+	-	-	+
Explosão de vapor	+++	-	+++	++	+++	+++
Água quente líquida	+++	Nd	+++	+	++	+
Explosão de vapor catalisado	++	-	++	++/+	++/+	++
Explosão com CO ₂	+++	Nd	+++	nd	Nd	nd
Ácido	+++	-	+++	++	+++	+++
Alcalino	+++	-	+	++/+	+++	+
Oxidativo	+++	Nd	-	++/+	+++	+
Líquidos iônicos	++	++	+	-	-	-
Ácido térmico	++	Nd	++	-	-	++
Térmico alcalino	++	Nd	++	+++/>++	+++	++
Oxidação térmica	++	Nd	+	++/+	++	+
Explosão de amônio	+++	+++	++	+++	+++	++
Pré-tratamento biológico	++	Nd	++	++	++	-

Nomenclatura: efeito elevado (+++), efeito moderado (++), efeito baixo (+), nenhum efeito (-), não determinado (nd)

Fonte: Adaptado de Alvira et al. (2010) e Zheng et al. (2014)

Esta técnica tem sido utilizada principalmente para extração de compostos, mas devido às suas vantagens agora também é considerada para propósitos não extrativos (ALVIRA et al., 2010).

Quando comparado com outros tratamentos, o tratamento com FSC pode apresentar um balanço custo/benefício melhor do que, por exemplo, a explosão com amônia e os tratamentos ácidos (SRINIVASAN; JU, 2010; ZHENG; LIN; TSAO, 1998), sendo além disso, uma tecnologia verde pois não requer o uso de reagentes de alto impacto ambiental (SHARIF et al., 2014).

Figura 7. Diagrama de fases pressão-temperatura de um fluido típico mostrando a região de fluido supercrítico

Fonte: GU (2013)

Diferentes pesquisas tem demonstrado que as baixas temperaturas de funcionamento dos FSC previnem a degradação de monossacáridos, a perda de celulose e hemicelulose e a formação de compostos inibitórios (ALVIRA et al., 2010; SANTOS; KAWASE; COELHO, 2011; SRINIVASAN; JU, 2010; ZHENG; LIN; TSAO, 1998).

É importante observar que a efetividade deste processo depende de vários parâmetros como o teor de umidade do material de interesse, a pressão e o tempo de tratamento (DAZA SERNA; ORREGO ALZATE; CARDONA ALZATE, 2015).

Entre os diferentes produtos usados para tratamentos com FSC, o CO₂ apresenta a menor temperatura e pressão crítica (31°C e 7,384 MPa) em comparação com amônia, metanol e água (GU, 2013). Isto, somado com o baixo custo do CO₂, o fato de não ser tóxico, não inflamável e facilmente recuperável após a extração (AGBOR et al., 2011; ALVIRA et al., 2010), faz que este material seja o composto mais usado nos tratamentos supercríticos.

Contudo, o CO₂ tem limitações devido à ausência de polaridade, fato pelo qual é frequente misturado com pequenas quantidades de co-solventes altamente polares a fim de aumentar seu poder de solvatação (SAUCEAU et al., 2004). Assim, os compostos de elevado peso molecular (compostos orgânicos não voláteis) podem ser solubilizados sem necessidade de aplicação de maiores temperaturas e pressões. Alguns dos modificadores empregados são o ácido acético, etanol e metanol (PASQUINI et al., 2005).

Na matriz lignocelulósica, o CO₂ supercrítico (SC-CO₂) rompe a estrutura celular, aumentando a área de superfície acessível e facilitando a hidrólise enzimática (ZHENG et al., 1995). Simultaneamente, o CO₂ em solução aquosa forma ácido carbônico, o que também ajuda na hidrólise dos polímeros (ALVIRA et al., 2010).

3.8. Adsorção

A adsorção define-se como a acumulação de uma substância entre uma interface de duas fases que pode ser sólido-líquida ou sólido-gasosa (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2010). Neste contexto, a substância acumulada denomina-se adsorbato e a superfície na qual acontece a adsorção denomina-se adsorvente (ALI; ASIM; KHAN, 2012).

Este processo, tem sido amplamente empregado para a remoção de contaminantes orgânicos da água por meio de materiais como a gel de sílica, a alumina ativada, os zeólitos e o carvão ativado (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2010). Assim, a adsorção destaca-se como uma tecnologia universal de baixo custo e fácil operação (ALI; ASIM; KHAN, 2012).

Atualmente, o emprego de resíduos agroindustriais para a remoção ou separação de solutos por meio da adsorção tem ganhado maior atenção no tratamento de efluentes assim como nas áreas petrolífera, de alimentos e na biotecnologia (CASSIANO et al., 2009). Isto, devido ao baixo custo, alta disponibilidade e à característica ecológica destes materiais (DIVBAND HAFSHEJANI et al., 2016).

Existem dois tipos de adsorção: física e química. Na primeira, o adsorbato é atraído à superfície do adsorvente por forças físicas que podem ser reversíveis como as forças Van der Waals (GUPTA; SUHAS, 2009), ou ligações de hidrogênio e interações estéricas, entre outras (ALI; ASIM; KHAN, 2012), que podem ser mais perduráveis. A adsorção química, envolve a transferência de elétrons entre as fases, desenvolvendo-se assim um enlace químico (ALI; ASIM; KHAN, 2012).

A capacidade de adsorção de um material mede quantidade de substância (líquida/gasosa) que é presa no sólido (ALI; ASIM; KHAN, 2012), e determina-se por meio de isotermas de adsorção (GUPTA; SUHAS, 2009). A isoterma é a relação entre a quantidade de adsorbato por unidade de adsorvente (q_e) e sua concentração de equilíbrio (C_e), empregam-se diferentes modelos para descrever esta funcionalidade como os modelos Freundlich e Langmuir (GUPTA; SUHAS, 2009).

A medida da adsorção em relação ao tempo define-se como a cinética de adsorção, pode-se distinguir quatro etapas na cinética: (i) *difusão externa* que é a difusão de moléculas da fase original para o espaço da interface, (ii) *difusão interna* que é quando as moléculas ingressam aos poros, (iii) *difusão superficial* que consiste na propagação das moléculas à fase superficial, e (iv) *adsorção/dessorção* (DĄBROWSKI, 2001). Para um processo de adsorção eficaz, a molécula do adsorbato e a superfície do adsorvente deve ter um tamanho de poro comparável (ALI; ASIM; KHAN, 2012).

Tem-se observado que adsorção está relacionada com a concentração de adsorvente, sendo que uma maior quantidade deste é refletida na área de superfície disponível (ALI; ASIM; KHAN, 2012). Também o aumento de

temperatura tem demonstrado um efeito positivo no processo de adsorção (DĄBROWSKI, 2001).

Segundo Brandão et al. (2010), características da biomassa como sua hidrofobicidade e alta porosidade, fazem deste material uma força capilar ideal para a adsorção de óleos.

3.9. Resíduos como fonte de Energia

No Brasil, segundo o Balanço Energético Nacional (EPE, 2014), em 2013, pelo segundo ano consecutivo houve redução da oferta de energia hidrelétrica com um decréscimo de 5,4% devido a condições hidrológicas desfavoráveis. Em função de tal decréscimo, foi necessário o uso de energias não renováveis, como o petróleo e seus derivados, para responder por 80% do incremento concomitante de 4,5% no total de energia demandada no país.

De acordo com a Agência Internacional de Energia, o consumo mundial de energia está previsto para crescer em torno de 56% entre os anos 2010 e 2040 (EIA, 2013). Para atender esta demanda é de grande importância desenvolver sistemas de produção de energia alternativos ao sistema baseado em combustíveis fósseis, considerado ineficiente devido ao esgotamento das reservas de petróleo e o impacto negativo de suas extrações sobre o meio ambiente (BALLESTEROS ZAPATA, 2014). Como foi observado por Lucon e Goldemberg (2009), essa pode ser uma importante oportunidade para reorganizar o sistema energético do país em bases mais sólidas e sustentáveis fundamentadas na eficiência, a maior participação de fontes renováveis e a descentralização.

Entre as fontes de energia renováveis, os resíduos orgânicos são matérias primas promissoras a partir das quais é possível gerar biogás por meio dos processos de digestão anaeróbia. De fato, existem fontes que reportam a geração de energia de até 300 kWh por tonelada de resíduos (EUROPEAN COMMISSION, 2005), e de acordo com Alves et al. (2009) aqueles com maior teor de lipídios possuem maiores potenciais.

Tecnologias de baixo investimento como os biodigestores oferecem a oportunidade de aumentar a segurança energética global por meio de sistemas descentralizados, outorgando além disso, autonomia e independência ao agronegócio e a economia familiar (BLEY JR. et al., 2009); fator que é particularmente relevante em países em desenvolvimento e comunidades rurais onde a oferta de energia é limitada ou mesmo não disponível, por conta do oneroso acesso e da dificuldade de sua manutenção (YAZDANIE; DENSING; WOKAUN, 2016).

4. HIPÓTESE

Com base na revisão bibliográfica, considera-se como hipótese que o pré-tratamento de BCA com CO₂ em condições sub e supercríticas alterará a estrutura deste material pela eliminação de lignina e aumento da porosidade, favorecendo a adsorção de lipídeos e aumentando sua biodegradabilidade. A presença do BCA propiciará altos rendimentos de metano.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Desenho Experimental

A Figura 8 apresenta o diagrama de fluxo do processo experimental, tendo este sido dividido em cinco etapas.

A primeira etapa consistiu no pré-tratamento dos substratos empregados. O BCA foi peneirado para seleção do tamanho de partícula de interesse e pré-tratado com CO₂ nas condições apresentadas no item 5.3. Nesta etapa, as amostras de resíduo gorduroso coletadas do laticínio foram limpas de folhas de árvore e animais, homogeneizadas e reservadas para as posteriores análises de caracterização.

Na segunda etapa, foram realizadas análises físico-químicas para caracterizar os substratos, incluindo o BCA *in natura* e tratado. Estas análises são discriminadas no item 5.5.

Posteriormente, realizaram-se ensaios individuais de biodigestão anaeróbia com cada substrato, com o objetivo de determinar o potencial metanogênico de cada um, assim como verificar a existência de processos inibitórios (item 5.4). Adicionalmente, foi realizado um ensaio de adsorção em BCA *in natura*. Com os dados obtidos nesta etapa foram estabelecidas as condições do ensaio de co-digestão executado na quarta etapa (item 5.4.2). Todos os testes de biodegradabilidade foram feitos em triplicata frente um branco.

A etapa final foi composta por análises físico-químicas dos resíduos obtidos em cada ensaio de biodegradabilidade.

Figura 8. Diagrama de fluxo do processo experimental

Fonte: própria.

5.2. Material de Estudo

5.2.1. Resíduo Gorduroso

O resíduo gorduroso empregado foi coletado da caixa de gordura do sistema de tratamento do laticínio Tavolaro (figura 9), localizado no município de Brotas no estado de São Paulo (Brasil). O resíduo coletado foi limpo por meio da remoção de folhas e animais, homogeneizado e conservado sob refrigeração (-18°C) até experimento.

Figura 9. Caixa de gordura do laticínio Tavolaro.

Fonte: Própria

5.2.2. Bagaço de cana de açúcar (BCA)

O Bagaço de cana de açúcar empregado foi coletado de uma empresa de processamento de açúcar e álcool localizada no estado de São Paulo (Brasil), e peneirado a um tamanho de partícula de 1cm (Figura 10).

Figura 10. Bagaço de cana de açúcar

Fonte: própria.

5.3. Pré-tratamento do Bagaço de cana de açúcar.

O pré-tratamento do BCA foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais (LTAPPN) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP), empregando um extrator supercrítico (Thar-SFC, Pittsburgh–EEUU) (Figura 11).

Figura 11. Extrator supercrítico Thar-SFC

Fonte: Própria

Este equipamento, consiste de uma unidade de condicionamento de CO₂ (banho termostatzado, Thermo-Scientific, Waltham – EEUU), uma bomba HPLC, um trocador de calor (Thar-P54, Pittsburgh – EEUU), uma câmara de reação, controladores de temperatura e pressão, e um recipiente coletor; Tudo operado via software desenvolvido por Thar Technologies Inc. (SuperChrom SFC Suite v. 5.9, Pittsburgh – EEUU)

Assim, como demonstra a Figura 12, na unidade de condicionamento (1) o CO₂ é resfriado a -2,3° C e bombeado em estado líquido com auxílio da bomba HPLC (2) até o trocador de calor (3) no qual é aquecido a uma temperatura 2° C inferior à temperatura de operação indicada na Tabela 6. Enquanto isso, na câmara de reação (4), o material é aquecido até a temperatura programada. Quando atingida a temperatura, o CO₂ é colocado em contato com o material e o sistema é mantido em funcionamento pelo período de tempo determinado, sendo que o fluxo de CO₂ pode ser programado em modo estático ou dinâmico. Finalmente, encontra-se o recipiente de coleta (6), é possível coletar compostos extraídos.

Figura 12. Esquema de dispositivo de pré-tratamento supercrítico

Fonte: Própria.

Neste trabalho, os tratamentos foram conduzidos em modo estático por 5 horas, mais 1 hora de fluxo dinâmico, simulando o estudo realizado por Melo et al., (2012). Aproximadamente 30 g de BCA foi introduzido na câmara de reação, seco ou molhado com solução diluída de NaOH (2 g/L) empregada como modificador da polaridade. O sistema foi programado segundo as condições estabelecidas na Tabela 6, destacando as condições subcríticas e supercríticas.

Tabela 6. Condições estabelecidas para o pré-tratamento do BCA

	Pré-tratamento	Pressão (bar)	T (°C)	Mod. De polaridade
T1	BCA <i>in natura</i>	-	-	-
T2	Sub-CO ₂	70	40	-
T3	Sup-CO ₂ -I	200	60	-
T4	Sup-CO ₂ -II	200	80	-
T5	Sub-CO ₂ +NaOH	70	40	NaOH
T6	Sup-CO ₂ -I+NaOH	200	60	NaOH
T7	Sup-CO ₂ -II+NaOH	200	80	NaOH

Após o tratamento, o material foi esfriado e armazenado em sacos plásticos a temperatura ambiente e livres de umidade até o momento de sua caracterização e uso. O BCA com banho de NaOH foi lavado com água destilada para diminuir seu pH a um valor próximo a 7.0 e posteriormente seco a temperatura ambiente.

5.4. Ensaios de determinação do potencial metanogênico (BMP)

5.4.1. Inóculo

O inóculo empregado nos ensaios de biodegradabilidade foi oriundo de um reator tipo UASB destinado ao tratamento de efluentes de matadouro. Antes de sua utilização nos ensaios, este inóculo foi adaptado para a degradação de efluentes de laticínio e materiais lignocelulósicos. O período de adaptação, que foi diferente para cada ensaio, é indicado no item 5.4.2. A adaptação do inóculo

foi realizada num reator anaeróbio, alimentado periodicamente com substrato à base de leite e celulose com 3,2 g/L de DQO. A composição do efluente sintético é apresentada na Tabela 7, enquanto as composições das soluções de macronutrientes e micronutrientes empregadas são descritas na Tabela 8 e 9, respectivamente.

Para a caracterização do inóculo, foram realizadas análises de microscopia ótica de luz comum e fluorescência e sólidos pelo método gravimétrico (APHA, 1998). Realizou-se também atividade metanogênica específica (AME) de acordo com a metodologia proposta por Aquino et al. (2007). Assim, o inóculo foi incubado a 37°C com meio rico em nutrientes até a estabilização da produção de metano (degaseificação), com o objetivo de garantir que produção endógena de metano não afetasse os resultados. Posteriormente, foi adicionada uma solução de ácidos graxos voláteis, composta por 1,2 g de acetato, butirato, propionato e ácido valérico e DQO de $6,963 \pm 0,120$ g/L. A produção de biogás foi medida a cada 3 horas até que a produção acumulada atingisse 50% da produção teórica. A composição do biogás produzido foi quantificado por cromatografia gasosa.

Tabela 7. Efluente sintético empregado na adaptação do inóculo

Composto	Quantidade
Leite em pó	2,00 g/L
Carboximetilcelulose (CMC)	1,00 g/L
Hidróxido de sódio (NaOH)	0,270 g/L
Cloreto de sódio (NaCl)	0,4 g/L
Bicarbonato de sódio	1,00 g/L
Solução de macronutrientes	1,80 mL/L
Solução de micronutrientes	1,00 mL/L
Ácido paracetico	0,0181 mL/L
Água oxigenada	0,0267 mL/L
Ácido nítrico	0,279 mL/L

Fonte: Adaptado de SANTOS (2016)

Tabela 8. Composição da solução de macronutrientes.

Reagentes	Quantidade
NH ₄ Cl	17,0 g
KH ₂ PO ₄	3,7 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	8,0 g
MgSO ₄ . 2H ₂ O	9,0 g
Água ultrapura	q.s.p 1000 mL

Fonte: Zehnder et al. (1980)

Tabela 9. Composição da solução de micronutrientes

Reagentes	Quantidade
FeCl ₂ .6H ₂ O	2,00 g
H ₃ BO ₃	0,05 g
ZnCl ₂	0,05 g
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,038 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,05 g
AlCl ₃ .6H ₂ O	0,09 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,00 g
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,092 g
Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	0,164 g
EDTA	1 g
Resazurina	0,2 g/L
HCl 37%	1 mL
Água Ultrapura	q.s.p 1000mL

Fonte: Zehnder et al. (1980)

5.4.2. Configuração dos ensaios

Todos os ensaios realizados foram configurados seguindo as recomendações de Angelidaki et al. (2009) (Figura 13). Para tanto, empregaram-se frascos de 120 mL. A biomassa foi degaseificada por período suficiente para que fosse verificada produção desprezível de biogás advinda dos frascos. Assim, adicionou-se a quantidade pretendida de biomassa a cada frasco e posteriormente injetou-se gás nitrogênio, para a garantia de anaerobiose.

Após a degaseificação da biomassa, procedeu-se à abertura dos frascos e adição dos demais componentes do ensaio (descritos nas Tabelas 10, 11 e 12). Os frascos foram fluxionados novamente com nitrogênio e fechados hermeticamente para garantir a ausência de oxigênio no meio (Figura 13). Estes frascos foram incubados a 37°C sob agitação numa mesa incubadora (TE-420, Tecnal, Piracicaba - Brasil).

Todos os ensaios foram realizados em triplicata frente um branco constituído pelos mesmos componentes, exceto a fonte de matéria orgânica.

Figura 13. Recipiente para teste de biodegradação anaeróbia.

Fonte: Adaptado de Angelidaki et al. (2009)

Tabela 10. Composição do ensaio de Biodigestão de BCA

Condição	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
BCA (g)	1	1	1	1	1	1	1
DQO adicionada (g)	0,857	0,948	0,903	1,025	0,833	0,966	0,935
g.DQO/g.STV	0,015	0,017	0,016	0,018	0,015	0,017	0,016
Inoculo (mL)	25	25	25	25	25	25	25
Tampão (mL)	20	20	20	20	20	20	20
Sol. macronutrientes (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sol. micronutrientes (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Período de adaptação do inóculo: 56 dias

Tabela 11. Composição do ensaio de Biodigestão de Resíduo gorduroso

Condição	G1	G2	G3	G4
Resíduo (g)	0,4	0,6	0,9	1,4
DQO adicionada (g)	0,058	0,087	0,130	0,202
g.DQO/g.STV	0,0010	0,0015	0,0023	0,0035
Biomassa (mL)	25	25	25	25
Tampão (mL)	20	20	20	20
Sol. macronutrientes (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2
Sol. micronutrientes (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1

Período de adaptação do inóculo: 56 dias

Os ensaios de co-digestão do BCA com o RG, foram desenvolvidos empregando o BCA denominado como T3, isto, por ter apresentado a maior produção de biogás nos ensaios de BMP. Empregou-se também o BCA *in natura* para deste jeito comparar o efeito do pre-tratamento do material frente um material não pré-tratado no sistema de co-digestão. Adicionou-se nestes ensaios

1,4 g de RG com DQO superior ao resíduo empregado no ensaio preliminar de mono-digestão. Além disso, avaliaram-se duas condições com quantidade de fibra menor (FG3 e FG4), considerando a quantidade de bagaço que, segundo os resultados obtidos no ensaio de adsorção (Item 5.4.1), era necessária para adsorver o teor de gordura contido no RG. O BCA e o RG foram misturados 60 minutos antes da inoculação, período determinado como o necessário para atingir uma boa adsorção de gordura no BCA segundo os resultados do ensaio acima mencionado. Destaca-se na Tabela 12 a composição deste ensaio. Simultaneamente aos ensaios de co-digestão, foram repetidos ensaios de mono-digestão com os substratos selecionados.

Assim, as seguintes misturas de substratos foram avaliadas:

- FG1: bagaço de cana *In natura* + resíduo gorduroso
- FG2: bagaço de cana pré-tratado (T3) + resíduo gorduroso
- FG3: bagaço de cana *In natura* + resíduo gorduroso
- FG4: bagaço de cana pré-tratado (T3) + resíduo gorduroso

Tabela 12. Composição do ensaio de Co-digestão

Condição	T1	T3	FG1	FG2	FG3	FG4	G5
BCA(g)	1	1	1	1	0,2	0,2	-
Resíduo gorduroso (g)	-	-	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
DQO adicionada (g)	0,857	0,903	1,135	1,181	0,450	0,458	0,278
g.DQO/g.STV	0,015	0,017	0,020	0,021	0,0078	0,008	0,005
Biomassa (mL)	25	25	25	25	25	25	25
Tampão (mL)	20	20	20	20	20	20	20
Sol. macronutrientes (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sol. micronutrientes (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Período de adaptação do inóculo: 90 dias aproximadamente

5.4.3. Análise do biogás

A produção de biogás ao longo dos processos foi mensurada por um transdutor de pressão Datalogger GN200. As pressões obtidas foram convertidas em volume de biogás por meio da equação 2, obtida da curva de calibração do equipamento.

$$y = 13,066 \frac{V_B}{HS} - 0,2549$$

Eq. 2

Sendo que:

y = Medida de Pressão obtida.

V_B = Volume de Biogás produzido

HS = Headspace

A curva do transdutor, foi obtida a partir da injeção de alíquotas de ar conhecidas, num frasco com volume de 120 mL e espaço livre (headspace – HS) de 20mL. As alíquotas de ar foram crescentes de 1 até 22 mL. As medidas foram realizadas em triplicata.

A composição do biogás foi analisada em cromatografo gasoso GC-2014, Figura 14 (Shimadzu, Kyoto – Japão), configurado como descrito na Tabela 13. Um padrão contendo CH_4 e CO_2 (50,032:49,968) foi injetado periodicamente como referência da identidade do composto.

Figura 14. Cromatografo de gasoso GC-2014

Fonte: própria

Tabela 13. Parâmetros de configuração do cromatografo de gases

Configuração do ensaio de BMP do BCA	
Injetor	DINJ a 100°C – Split
Detector	TCD
Gás de arrastre	He a 10 mL. min ⁻¹
Coluna	RESTEK ShinCarbon - micro empacotada
Caraterísticas da coluna	1m – 1mm DI – 1/16"
Configuração da coluna	40°C x 3 min + 60°C.min ⁻¹ até 150°C x 1 min.
Volume de injeção	0,5 mL
Correlação dos valores	Área do padrão de CH ₄
Configuração do ensaio de BMP do resíduo gorduroso	
Injetor	SPL a 100°C
Detector	FID a 120°C
Gás de arrastre	He a 2,52 mL. min ⁻¹
Coluna	ShinCarbon – micro empacotada
Caraterísticas da coluna	1 m – 1 mm DI
Configuração da coluna	100°C
Volume de injeção	0,2 mL
Correlação dos valores	Curva padrão de CH ₄
Configuração do ensaio de BMP do ensaio de Co-digestão	
Injetor	SPL a 100°C
Detector	FID a 150°C
Gás de arrastre	He a 10 mL. min ⁻¹
Coluna	Restek - microempacotada
Caraterísticas da coluna	1 m – 0,25 mm DI – 0,25 µm de espessura
Configuração da coluna	40°C x 4 min
Volume de injeção	0,2 mL
Correlação dos valores	Curva padrão de CH ₄

Todos os cálculos foram realizados para temperatura e pressão ambiente de 24°C e 1,002 atm. A conversão da área obtida por meio da análise cromatográfica para massa de CH₄ (mmol), foi feita através da correlação desses valores com as áreas do padrão ou com uma curva padrão de metano, segundo descrito na Tabela 13.

5.4.4. Monitoramento do processo

Os ensaios de biodigestão foram encerrados quando a taxa de produção de biogás tornou-se semelhante à verificada nos frascos brancos. Nesse momento, a mistura remanescente em cada frasco foi caracterizada de acordo com as técnicas descritas no item 5.5. a saber: DQO e Sólidos Suspensos (SS), de acordo com APHA (1998).

5.4.5. Estimativa de parâmetros cinéticos

O modelo cinético de produção de metano foi obtido a partir dos ensaios de biodigestão e ajustado pela equação de Gompertz modificada (Equação 3), isto, seguindo as recomendações de Chen et al. (2006). Desta forma, foi estimado o potencial de produção de metano, a taxa de produção de metano e a duração da fase de latência.

$$Pt_{CH_4} = P_{CH_4} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{k \cdot e}{P_{CH_4}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

Eq. 3

Em que, Pt_{CH_4} é a produção específica cumulativa de metano (mmol/SSV) no tempo t , P_{CH_4} o potencial específico de produção de metano (mmol/SSV), k a taxa específica de produção de metano, λ a duração da fase de latência (h) e e é 2,71828. O modelo foi ajustado através de método de Levenberg-Marquardt (Microsoft Origin 9.0).

5.5. Análises Físico-químicas.

O resíduo gorduroso foi caracterizado em relação aos seguintes parâmetros: teor de matéria orgânica (análise de Demanda Química de Oxigênio - DQO), teor de sólidos (totais, fixos e voláteis), gordura, proteínas e carboidratos. Análises realizadas de acordo com APHA (1998).

O Bagaço da cana pré-tratado e *in natura* foi caracterizado por análises de densidade aparente e real, porosidade e ângulo de contato. A composição físico-química do material foi determinada em relação a composição de celulose, lignina e hemicelulose (GOERING; VAN SOEST, 1970). Além, disso sua morfologia foi analisada em microscópio eletrônico de varredura com feixe 15kV (Hitachi, TM 3000, Tokyo, Japão). A composição de matéria orgânica foi realizada seguindo a metodologia da APHA com modificações de Yadavika et al. (2006) e o teor de sólidos (APHA, 1998)

5.5.1. Ensaio de Adsorção de manteiga em BCA

A adsorção de gordura no BCA *in natura* foi determinada segundo protocolo descrito por Brandão (2006), com adaptações.

Dessa forma, quantidades de 0,25, 0,5, 0,75, 1,0 e 1,2 g de BCA foram adicionadas a 30 mL de uma mistura de água e manteiga (10%) mantida a 41°C. A nova mistura submeteu-se a agitação a velocidade constante durante 3 horas. A cada intervalo de tempo estabelecido de 15, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, 3 frascos foram sacrificados e a mistura foi separada empregando-se peneiras. O BCA obtido foi secado à temperatura ambiente e pesado após 48 horas de secagem. Por diferença de peso, determinou-se o ganho de massa do bagaço e foi calculada a porcentagem de adsorção. Todas as medidas foram feitas em triplicata. Este ensaio foi repetido com o bagaço de cana pré-tratado que melhor produção de biogás apresentou (T3). Por fim, o modelo de Hill modificado (Eq. 4), foi ajustado para a correlação dos resultados, com auxílio do Origin 9.0™.

$$y = \frac{y_{max} \cdot x}{k^n + x}$$

Eq. 4

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caraterização dos substratos

6.1.1. Resíduo Gorduroso

As caraterísticas físico-químicas do resíduo gorduroso empregado nos ensaios de mono-digestão encontram-se apresentadas na Tabela 14. O resíduo coletado num segundo momento para o ensaio de co-digestão, apresentou aparência mais líquida, menor teor de sólidos e DQO, motivo pelo qual foi necessário centrifugar e eliminar água para torná-lo mais semelhante ao inicial. A composição desse novo resíduo está apresentada na Tabela 15.

Observa-se que os resíduos empregados neste trabalho apresentam parâmetros diferentes do resíduo avaliado por Pinto de Oliveira et al. (2014) para a conversão em biocombustíveis, caraterizado por uma DQO de $173,1 \pm 0,28$ mg/L, teor de gordura de 3,4%, $119,4 \pm 0,13$ mg/L de ST, $23,0 \pm 0,35$ mg/L de STF e $96,4 \pm 0,10$ mg/L de STV.

A diferença destes valores é considerada normal, uma vez que tais características são função do o tipo de produto processado, dos processos de limpeza empregados, dos próprios produtos, e da temperatura ambiente.

Tabela 14. Características físico-químicas do resíduo gorduroso empregado no ensaio de mono-digestao

Cor	Branca
Umidade	82,3%
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	$14,9 \pm 6,3$ mg.DQO/g
Sólidos Totais (ST)	$185,2 \pm 6,9$ mg/g
Sólidos Fixos (STF)	$27,5 \pm 1,6$ mg/g
Sólidos Voláteis (STV)	$157,6 \pm 5,3$ mg/g

Fonte: própria

Tabela 15. Características físico-químicas do resíduo gorduroso empregado na co-digestão

Cor	Branca
Umidade	87,6%
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	19,8 ± 25,1 mg.DQO/g
Gordura	4,2%
Carboidratos	2,1%
Proteína	3,5%
Sólidos Totais (ST)	151,4 ± 46,6 mg/g
Sólidos Fixos (STF)	22,6 ± 6,8 mg/g
Sólidos Voláteis (STV)	128,8 ± 39,8 mg/g

Fonte: própria

6.1.2. Bagaço de cana de açúcar

As características físico-químicas do BCA *in natura* e após cada um dos pré-tratamentos, são apresentadas na Tabela 16. Observa-se que o material empregado no trabalho apresentou teores de lignina, celulose e hemicelulose, inferiores os reportados por Chen, Tu e Sheen (2011) de 12.72, 52.45 e 25.97, respectivamente.

Comparando-se os resultados obtidos nas análises físico-químicas do material *in natura* e pré-tratado, não se consegue estabelecer com clareza a existência de alterações nos produtos dos pré-tratamentos avaliados. Porém, nas análises da composição lignocelulósica destes materiais, apresentadas na Tabela 17, sim foram observadas diferenças importantes.

Tabela 16. Caracterização Físico-química do BCA *in natura* e pré-tratado.

	BCA_{NAT} (T1)	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Umidade (%)	4,8	4,3	4,6	3,6	3,9	4,7	5,5
ρ real (g/cm ³)	1,480 ±0,033	1,146 ±0,022	1,206 ±0,065	1,378 ±0,085	1,063 ±0,066	1,391 ±0,037	1,456 ±0,048
ρ aparente (g/cm ³)	0,056 ±0,001	0,068 ±0,003	0,061 ±0,003	0,063 ±0,003	0,049 ±0,002	0,061 ±0,001	0,060 ±0,002
Porosidade Total (%)	96,219	94,042	94,962	95,422	95,423	95,647	95,891
Angulo de Contato	114,747 ±15,51	110,823 ±12,89	89,755 ±8,13	92,795 ±7,81	87,219 ±10,40	101,009 ±13,39	88,988 ±7,45
DQO (g.DQO/g amostra)	0,857 ±0,834	0,948 ±0,200	0,903 ±0,025	1,025 ±0,004	0,833 ±0,052	0,966 ±0,260	0,935 ±0,051
ST (mg/g amostra)	941,457 ±3,097	938,161 ±6,940	935,311 ±4,652	944,757 ±0,154	866,602 ±95,201	874,586 ±85,640	929,339 ±12,033
STF (mg/g amostra)	8,402 ±2,198	6,574 ±2,003	6,283 ±1,296	6,844 ±1,339	6,331 ±3,470	6,307 ±1,522	6,787 ±2,798
STV (mg/g amostra)	933,056 ±0,899	931,587 ±4,936	929,027 ±3,355	937,913 ±1,185	860,270 ±91,731	868,278 ±84,118	922,553 ±9,236

Valores médios ± Desv. Pad.

T1: BCA *in natura*; **T2:** BCA pré-tratado com CO₂ a 40°C&70bar; **T3:** BCA pré-tratado com CO₂ a 60°C&200bar; **T4:** BCA pré-tratado com CO₂ a 80°C&200bar; **T5:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 40°C&70bar; **T6:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 60°C&200bar; **T7:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 80°C&200bar.

Fonte: própria

Os pré-tratamentos tinham como objetivo, entre outras coisas, a diminuição do teor de lignina do material, para assim expor a celulose e a Hemicelulose, e aumentar assim sua degradabilidade. Dessa forma, observou-se a partir das análises da composição hemicelulósica, que a adição de NaOH como modificador da polaridade realizada nos casos denominados como T5, T6 e T7,

gerou um efeito negativo. Estes tratamentos apresentaram um aumento no teor de lignina devido possivelmente a uma exposição facilitada pela polaridade do NaOH, sendo esta solubilizada mais não arrastada ou eliminada. Ainda, observa-se que o NaOH consegue disponibilizar significativamente a hemicelulose, efeito que possivelmente é auxiliado pela temperatura, pois como foi comentado por Agbor et al. (2011), este é um composto altamente termo sensível.

Tabela 17. Composição lignocelulósica do BCA in natura e pré-tratado

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Lignina Ácida (%)	10,53	10,11	9,68	12,14	15,73	12,54	13,80
Celulose (%)	49,81	50,26	50,42	49,52	49,14	50,23	49,37
Hemicelulose (%)	25,71	25,62	27,22	29,44	28,09	28,68	29,63

T1: BCA *in natura*; **T2:** BCA pré-tratado com CO₂ a 40°C&70bar; **T3:** BCA pré-tratado com CO₂ a 60°C&200bar; **T4:** BCA pré-tratado com CO₂ a 80°C&200bar; **T5:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 40°C&70bar; **T6:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 60°C&200bar; **T7:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 80°C&200bar.

Fonte: própria

Estes resultados contrastam com publicações que atingiram porcentagens de remoção de lignina de 80,2% (COSTA et al., 2014), até 89,9% (SINDHU et al., 2014) também para o bagaço de cana, empregando pré-tratamentos alcalinos com NaOH, todavia, utilizando temperaturas superiores (184°C e 121°C, respetivamente) às avaliadas neste trabalho. Observa-se assim, que a efetividade do NaOH na remoção de lignina, depende da temperatura. Porém, a temperatura sozinha como único fator parece não tido efeito suficiente na remoção total deste composto, uma vez que em T4 (CO₂ puro a 80°C e 200 bar) a porcentagem de lignina também aumentou.

Além da temperatura, o tempo de pré-tratamento parece ser também um fator que influencia na remoção de lignina, mais ainda que a pressão, pois observou-se maior remoção de lignina nos pré-tratamentos T2 e T3, em comparação com o pré-tratamento avaliado por Gao et al. (2010) com CO₂ supercrítico a 110°C e 300bar por 30 min e 100% de umidade. Nestas condições,

embora a morfologia tenha sido alterada, não houve remoção de lignina. No entanto, faz-se necessário uma pesquisa mais ampla para determinar se esta variável gera um efeito realmente significativo, ou se a diferença se deveu às particularidades de cada material estudado.

As alterações na estrutura do BCA pré-tratado também podem ser observadas nas micrografias realizadas no material, apresentadas nas Figuras 15 e 16. Assim, enquanto nas micrografias obtidas do BCA *in natura* se verifica uma estrutura compacta e rígida, nas amostras pré-tratadas foi observada uma estrutura distorcida. Resultados similares foram reportados no BCA pré-tratado com ácido fórmico (SINDHU et al., 2010) e após pré-tratamento alcalino (SINDHU et al., 2014).

Em geral, o pré-tratamento realizado com CO₂ puro a 60°C e 200 bar (T3), foi o mais efetivo em referência à alteração da estrutura celular do BCA, conseguindo reduzir o teor de lignina em 8,07%.

Confirma-se também com os resultados obtidos, a existência de uma correlação entre o teor de lignina e celulose, sendo que a eliminação da primeira favoreceu a exposição da segunda. De acordo com Sindhu et al. (2014), o rompimento da estrutura da lignina debilita os enlaces desta com os carboidratos, fazendo com que aumente a área de superfície acessível, o que pode favorecer a exposição da celulose.

Nas imagens obtidas, pode-se observar a exposição da celulose, hemicelulose e lignina, em forma de espiral, grades e finos fios ou filmes. Segundo (YU et al., 2005) a celulose atua como estrutura nos feixes vasculares e as cadeias de celulose são de alta orientação.

Figura 15. Micrografia eletrônica de Varredura (MEV) do BCA *in natura* e pré-tratado com CO₂ puro

T1: BCA *in natura*; **T2:** BCA pré-tratado com CO₂ a 40°C&70bar; **T3:** BCA pré-tratado com CO₂ a 60°C&200bar; **T4:** BCA pré-tratado com CO₂ a 80°C&200bar; ampliados em x200 (A), x500 (B) e x1.5k (C). Fonte: própria

Figura 16. Micrografia eletrônica de varredura (MEV) dos pré-tratamentos com adição de NaOH

T5: BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 40°C&70bar; **T6:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 60°C&200bar; **T7:** BCA pré-tratado com CO₂ +NaOH a 80°C&200bar. Ampliados em x200 (A), x500 (B) e x1.5k (C). Fonte: própria

6.1.3. Ensaios de adsorção de manteiga em BCA

Na Figura 17, pode-se observar a cinética de adsorção obtida para o bagaço *in natura*, empregou-se o modelo de Hill modificado (com n fixo e igual a 1) para o ajuste dos resultados, obtendo-se os valores apresentados na Tabela 18. Observou-se um elevado coeficiente determinação (R^2) dos resultados ao modelo selecionado, exceto no caso da adição de 1,20 g de BCA, motivo pelo qual essa isoterma não foi modelada.

O maior porcentagem de adsorção de manteiga foi obtido com 0,75 g de BCA, atingindo um valor de 84,57%. No entanto, considerando-se que os valores do desvio padrão são semelhantes, assim como os valores das constantes de saturação (CS), que tendem a zero, verifica-se que com essa quantidade de BCA, a adsorção ocorre quase que instantaneamente.

Figura 17. Porcentagem de adsorção de manteiga vs. tempo em BCA *in natura*

Valores médios com ajustes cinéticos. (—)

Segundo a quantidade de BCA adicionado: 0,25 g (■), 0,50 g (●), 0,75 g

(▲), 1,00 g (▼) e 1,25 g (◆)

Fonte: própria

Tabela 18. Parâmetros cinéticos da adsorção de manteiga em BCA in natura

Quantidade de BCA	Proporção manteiga / BCA	% Ads. Máx	CS	R ²
0,25 g	10,636 g/g	40,529 ± 2,067	3,220 ± 2,229	0,939
0,50 g	5,318 g/g	72,776 ± 4,392	6,464 ± 3,220	0,927
0,75 g	3,545 g/g	84,574 ± 3,953	9,34E ⁻¹³ ± 1,583	0,947
1,00 g	2,659 g/g	77,747 ± 3,240	9,01E ⁻¹³ ± 1,583	0,957

Valores médios ± Desv.pad. CS: Constante de saturação

Fonte: própria

A Figura 18 e a Tabela 19 apresentam os resultados obtidos no teste de adsorção com o BCA-T3 (pré-tratado com CO₂ 60°C-200 bar). Escolheu-se esse material por ter apresentado a maior remoção de lignina e um ângulo de contato inferior a 90°. O ângulo de contato é a forma que toma um líquido quando entra em contato com um sólido e expressa a hidrofobicidade de um material, materiais adsorventes apresentam ângulos de contato inferiores a 90° (BRISOLARI, 2008).

Figura 18. Porcentagem de adsorção de manteiga vs. tempo em BCA-T3.

Valores médios com ajustes cinéticos. (—). Segundo a quantidade de BCA adicionado: 0,25 g (■), 0,50 g (●), 0,75 g (▲), 1,00 g (▼) e 1,25 g (◆)

Fonte: própria

Tabela 19. Parâmetros cinéticos da adsorção de manteiga em BCA-T3

Quantidade de BCA	Proporção manteiga / BCA	% Ads. Máx	CS	R ²
0,25 g	10,636 g/g	42,121 ± 3,222	1,511 ± 2,945	0,864
0,50 g	5,318 g/g	62,265 ± 6,343	2,108 ± 4,107	0,784
0,75 g	3,545 g/g	57,225 ± 4,745	1,42E ⁻¹² ± 2,808	0,851
1,00 g	2,659 g/g	83,456 ± 2,950	8,56E ⁻¹³ ± 1,197	0,969
1,20 g	2,127 g/g	54,884 ± 6,945	9,06E ⁻¹³ ± 4,286	0,701

Valores médios ± Desv.pad. CS: Constante de saturação

Fonte: própria

Comparando os dados obtidos nos dois ensaios, observa-se que a capacidade de adsorção de manteiga no BCA *in natura* é maior, precisando-se de uma maior quantidade de BCA pré-tratado para se atingir a porcentagem de adsorção máxima similar à obtida com o BCA *in natura*. O valor de CS sugere que a taxa de adsorção máxima é atingida mais rapidamente quando se utiliza BCA pré-tratado. Utilizando-se BCA pré-tratado, a quantidade ótima de adsorvente foi de 1g. Notou-se que um tempo de 60 minutos de contato foi suficiente para garantir a máxima adsorção.

Segundo Brandão et al. (2010), a cinética obtida mostra um comportamento comum em processos com forças de interação fortes entre o adsorbato e adsorvente, normalmente observado em sólidos com uma ampla gama de tamanhos e distribuição de poros.

Tanto no caso do BCA *in natura* como no BCA pré-tratado, observa-se um decaimento na taxa de adsorção depois de ter atingido a porcentagem de adsorção máxima, comportamento que também foi observado por Tahir et al. (2016). Além disso, observou-se que a isoterma de adsorção com 1,2g de material apresenta um comportamento diferente das demais quantidades avaliadas.

As inflexões observadas na isoterma com 1,2 g de material e nos pontos finais das demais isotermas podem ser explicadas pela formação inicial de monocamadas, ponto a partir do qual a adsorção passa a ser em multi-camadas

e a intensidade da interação adsorbato-adsorvente diminui, obtendo-se em resposta, menores porcentagens de adsorção (BRANDÃO et al., 2010).

6.2. Caraterização do Inoculo

O inóculo empregado após o período de adaptação apresentou uma aparência semi-granular com $70,2 \pm 4,7$ g/L de ST, $13,0 \pm 0,3$ g/L de STF e $57,2 \pm 4,8$ g/L de STV e AME de 1,13 g.DQO/ g.SSV.d.

Segundo Angelidaki et al. (2009), para substratos sólidos orgânicos um inoculo granular deve ter uma AME mínima de 0.3 g CH₄-COD/g VSS.d.

A análise microscópica permitiu inferir, com base na morfologia dos microrganismos observados, a presença de microrganismos semelhantes a *Methanosaetas sp.* (figura 19), *Methanosarcinas sp* (figura 20) e bactérias redutoras de enxofre (figura 21).

Figura 19. Micrografia do inóculo adaptado com formação semelhante a feixe de *Methanosaeta sp*

Fonte: Própria

Figura 20. Micrografia do inóculo adaptado com arranjo de cocos semelhantes à *Methanosarcina* sp.

Direita: contraste de fases; Esquerda: fluorescência

Fonte: Própria

Figura 21. Micrografia de inóculo adaptado com formações semelhantes a bactérias redutoras de enxofre

Fonte: Própria

A presença destes microrganismos, sugere que o equilíbrio bioquímico do consorcio é positivo. Especificamente as *Methanosaetas sp.* e *Methanosarcinas sp.*, indicam que a produção de metano nos ensaios de biodigestão está sendo guiada principalmente pela via acetogênica (ZEHNDER et al., 1980), o que não seria possível sem a remoção efetiva de H_2 . As bactérias redutoras de enxofre (BRS) mostram o desenvolvimento de microrganismos em função do fornecimento de um substrato com alto teor de proteínas, como de fato é o resíduo gorduroso.

6.3. Biodigestão do BCA

A produção metanogênica acumulada do BCA *in natura* e pré-tratado é apresentada na Figura 22. Todos os pré-tratamentos, com exceção a T7, superaram a produção de metano do BCA *in natura* de $23,5 \pm 0,12$ mmol de CH_4 , constatando que, alterações na morfologia destes materiais e o consequente aumento de sua área superficial aumentam a eficiência da hidrólise e favorecem a produção de metano.

Figura 22. Produção metanogênica acumulada do BCA *in natura* e pré-tratado

Valores médios $\pm$ Desv.pad. (—)

T1: BCA *in natura*; **T2:** BCA pré-tratado com CO_2 a $40^\circ C$ & 70bar; **T3:** BCA pré-tratado com CO_2 a $60^\circ C$ & 200bar; **T4:** BCA pré-tratado com CO_2 a $80^\circ C$ & 200bar; **T5:** BCA pré-tratado com CO_2 +NaOH a $40^\circ C$ & 70bar; **T6:** BCA pré-tratado com CO_2 +NaOH a $60^\circ C$ & 200bar; **T7:** BCA pré-tratado com CO_2 +NaOH a $80^\circ C$ & 200bar

Fonte: própria

A maior produção de metano, $29,0 \pm 0,61$ mmol, correspondeu ao BCA pré-tratado com CO₂ puro a 60°C e 200 bar (T3), superando em 23,4% a produção do BCA *in natura*. Este tratamento foi o que maior teor de lignina removeu, e expôs maior proporção de celulose. A lignina é considerada o composto mais recalcitrante nos materiais lignocelulósicos, outorgando impermeabilidade e rigidez, fazendo o material resistente aos microrganismos (AGBOR et al., 2011), portanto é de esperar que sua remoção favoreça a biodegradabilidade do BCA.

Ao contrastar a produção de metano acumulada obtida de cada material frente à sua composição em relação à Hemicelulose, não se observou uma relação clara, embora notou-se um efeito negativo na adição do NaOH.

De acordo com Yue et al. (2010) na DA de biomassa lignocelulósica, a hemicelulose é digerida antes da celulose e da lignina. Nos testes com CO₂ puro, observou-se que a produção de metano foi realmente maior quando o teor de hemicelulose era maior, isto pode ser motivado pelo consumo dos açúcares que compõem a hemicelulose. No entanto, a produção de metano obtida a partir dos materiais pré-tratados com adição de NaOH não seguiu a mesma relação, é importante lembrar que estes materiais apresentaram maior teor de hemicelulose. Neste contexto, surge a suspeita da presença de um efeito inibitório que pode ter sido potencializado pelo aumento da temperatura. De fato, diferentes pesquisas relataram a formação de compostos inibitórios, como o furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e compostos fenólicos, da degradação excessiva de hemicelulose e celulose (YANG et al., 2015). Além, condições alcalinas podem levar à formação de muitos compostos como ácidos carboxílicos da degradação de carboidratos, ácido acético formado pela saponificação dos grupos acetilo, bem como ácido sacarínico e fórmico da deterioração dos polissacarídeos (JÖNSSON; MARTÍN, 2016). Estes compostos podem ser inibitórios em altas concentrações ou podem apresentar baixas taxas de degradação.

A Tabela 20, compara a produção metanogênica específica do pré-tratamento T3 frente a valores reportados na literatura para bagaço de cana de açúcar. Estes valores destacam o potencial no pré-tratamento com CO₂ supercrítico.

Tabela 20. Comparativo BMP no T3 frente BMP reportadas na literatura

BMP do pre-tratamento T3	Estado do material	BMP reportado	Fonte
201,88 mL.CH ₄ /g.SV*	<i>In natura</i>	177 mL.CH ₄ /g.SV*	Nzila et al. (2010)
181,90 NL.CH ₄ /kg SV	Pré-tratamento ácido + enzimático	200 NL.CH ₄ /kg SV	Badshah et al. (2012)
168,99 NL.CH ₄ /kg.BCA	Pré-tratamento com Ca(OH) ₂	66,1 NL.CH ₄ /kg.BCA	Rabelo et al. (2011)
	Pré-tratamento com H ₂ O ₂	53,8 NL.CH ₄ /kg.BCA	
	Pré-tratamento H ₂ O ₂ + enzimático	71,2 NL.CH ₄ /kg.BCA	

*Valores a 30°C

Na Figura 23, são apresentados os ajustes do modelo de Gompertz modificado aos dados obtidos. A Tabela 21 mostra os parâmetros cinéticos inferidos. Destaca-se a partir dos coeficientes de definição, um elevado ajuste dos dados ao modelo usado.

Observa-se que T3 e T4, apresentaram as maiores velocidades máximas e, ainda apesar da fase lag (λ) nestes pré-tratamentos ser superior ao apresentado na digestão do BCA *in natura*, quando considerado o desvio padrão, nota-se que a diferença não é significativa. Nos demais pré-tratamentos a fase lag aumentou, sendo um indicativo de dificuldade do inóculo para se adaptar ao novo meio e degradar o substrato. Essa dificuldade foi, todavia, superada na maioria dos pré-tratamentos e altos rendimentos de metano foram atingidos. É importante ressaltar que a velocidade máxima de produção de metano (k) foi menor nos pré-tratamentos com adição de NaOH.

Calculando a produção metanogênica específica relativa ao substrato (Y_p/S), confirma-se a maior eficiência dos pré-tratamentos T3 e T4, assim como a existência de um efeito inibitório no T7.

Figura 23. Cinética da biodigestão anaeróbia de BCA in natura e pré-tratado

Valores médios com ajustes cinéticos (—), Branco (*)

Segundo o BCA: T1 (■), T2 g (●), T3 (▲), T4 (▼), T5 (◆), T6 (◀), T7 (▶)

Fonte: própria

Tabela 21. Parâmetros cinéticos da biodigestão anaeróbia de BCA in natura e pré-tratado

	Tipo de pre-tratamento	P _{máx} (mmol)	λ (h)	k (mmol/h)	R ²	Y _p /s*
T1	BCA <i>in natura</i>	22,299±0,873	281,51±20,68	0,02941	0,980	1,646
T2	CO ₂ 40°C & 70bar	23,011±0,823	335,02±20,18	0,02726	0,986	2,084
T3	CO ₂ 60°C & 200bar	27,432±0,886	303,78±16,88	0,03764	0,987	8,121
T4	CO ₂ 80°C & 200bar	26,777±1,048	291,30±20,63	0,03568	0,980	6,383
T5	CO ₂ +NaOH 40°C & 70bar	23,914±1,019	361,93±25,50	0,02541	0,983	3,613
T6	CO ₂ +NaOH 60°C & 200bar	24,253±0,989	346,87±23,62	0,02738	0,983	3,725
T7	CO ₂ +NaOH 80°C&200bar	21,723±1,119	323,57±31,06	0,02563	0,974	0,928

Valores médios ± Desv.pad. * Expressado em mmol.CH₄/g.STV_{substrato}

Fonte: própria

6.4. Biodigestão do resíduo gorduroso (RG)

A Figura 24, apresenta a produção metanogênica advinda da biodigestão do resíduo gorduroso. Na Figura 25 é mostrada a produção acumulada de CH_4 com o ajuste do modelo de Gompertz modificado. Os parâmetros cinéticos inferidos através do ajuste do modelo são apresentados na Tabela 22.

Observa-se que os valores de produção metanogênica apresentaram um comportamento crescente em referência à quantidade de substrato adicionado, não sendo observada nenhuma inibição, mas, com base na velocidade de produção de metano (k) e a produção metanogênica específica relativa ao substrato (Y_p/S), pode-se prever que uma maior quantidade de resíduo poderia gerar inibição. Tal fato é bem visualizado na Figura 26 que mostra uma tendência de saturação nas velocidades máximas de produção metanogênica, à medida que os valores das massas de substrato aumentaram.

Figura 24. Produção metanogênica acumulada da biodigestão de resíduo gorduroso

Valores médios $\pm$ Desv.pad. (—)

Segundo a quantidade de resíduo: 0,4 g (G1); 0,6 g (G2); 0,9 g (G3), 1,4 g (G4)

Fonte: própria

Figura 25. Cinética da digestão anaeróbia de resíduo gorduroso

Valores médios com ajustes cinéticos (—), Branco (*)
 (■) G1: 0,4 g de resíduo, (●) G2: 0,6 g de resíduo, (▲) G3: 0,9 g de resíduo,
 (▼) G4: 1,4 g de resíduo

Fonte: própria

Tabela 22. Parâmetros cinéticos da biodigestão anaeróbia do resíduo gorduroso

	Quantidade de resíduo	P _{máx} (mmol)	λ (h)	k (mmol/h)	R ²	Y _{p/s} *
G1	0,4 g	21,654±0,998	259,07±29,79	0,02738	0,979	0,145
G2	0,6 g	26,970±1,212	241,20±28,16	0,03699	0,978	0,158
G3	0,9 g	31,217±0,907	233,15±17,39	0,05030	0,991	0,133
G4	1,4 g	39,985±1,528	268,73±24,04	0,05603	0,985	0,122

Valores médios ± Desv.pad. * Expressado em mmol.CH₄/g.STV

Fonte: própria

Figura 26. Velocidades máximas de produção metanogênica.

A ausência de inibição nas condições avaliadas, pode-se explicar pela baixa DQO/L adicionada. Vidal et al. (2000) avaliaram a degradabilidade anaeróbia de efluentes sintéticos com diferentes conteúdos de gordura, proteína e carboidratos, encontrando inibições no processo quando as concentrações foram superiores a 5 g.DQO/L, sendo estas mais evidentes no efluente com maior teor de proteínas do que no efluente com elevado teor de lipídios, isto foi confirmado por elevadas concentrações de AGV, e baixo teor de glicerol e AGCL. Assim, entende-se que lipídeos podem ter efeito positivo ao retardar a liberação de AGV para o meio, evitando seu acúmulo, que ocorre com maior facilidade quando os substratos são compostos majoritariamente por carboidratos e proteínas. O trabalho desses autores atingiu uma produção específica de 1,75 L de CH₄TPP², na concentração de 5,5 g.DQO/L de efluente com elevado teor de lipídios e reportou que essa produção só foi alcançada por parte do efluente proteico quando a concentração foi elevada a 6,5 g.DQO/L. A produção específica equivalente ao G4 com adição de 4,46 g.DQO/L, foi de 0,60 L.CH₄TPP.

² Temperatura e pressão padrão

6.5. Co-digestão de BCA e RG.

Esta etapa teve uma duração menor que os ensaios prévios de 1721 e 2028 horas, para à biodegradação de BCA e RG, respectivamente. As BMP obtidas para cada condição avaliada são apresentadas na Figura 27.

Figura 27. Produção metanogênica acumulada no ensaio de co-digestão anaeróbia.

Valores médios com ajustes cinéticos (—), Branco (*)

T1: 1g. BCA *in natura*; **T3:** 1g BCA pré-tratado; **G5:** 1,4g de RG; **FG1:** 1g BCA *in natura* + 1,4g de RG; **FG2:** 1g BCA pré-tratado + 1,4g de RG; **FG3:** 0,2g BCA *in natura* + 1,4g de RG; **FG4:** 0,2g BCA pré-tratado + 1,4g de RG

Fonte: própria

É importante lembrar que as quantidades de BCA definidas para os testes denominados como FG3 e FG4, foram determinadas considerando a quantidade de fibra necessária para adsorver o teor de gordura do RG. Assim, estimou-se que se 1,0 g de BCA adsorveu 3,0 g de gordura, 0,196 g BCA seriam suficientes para adsorver 0,0588 g de gordura contidos em 1,4 g de resíduo. Igualmente, em todos os casos de co-digestão, os substratos foram previamente misturados por um período de 60 min.

Na Figura 28 é apresentado o ajuste dos resultados ao modelo de Gompertz modificado e na Tabela 23 os parâmetros cinéticos inferidos.

Neste ensaio, a produção metanogênica advinda da biodegradação do BCA *in natura*, foi superior ao obtido nos ensaios prévios, o que evidenciou uma maior capacidade do inóculo de degradar esse material. Esta hipótese se reforça ao comparar os valores de fase lag (λ) e da velocidade de produção de metano (k), com os obtidos previamente, que para este ensaio tiveram um comportamento mais positivo, diminuição de λ e aumento de k . Além disso, destaca-se que neste ensaio a produção metanogênica relativa a quantidade de substrato aumentou. Este fato pode ser explicado pelo maior tempo de adaptação da biomassa ao substrato fornecido (65 dias nos ensaios de monodigestão iniciais contra 90 dias nos ensaios desta etapa). Uma vez que a biodigestão de materiais sólidos é principalmente limitada pela etapa da hidrólise (VEEKEN; HAMELERS, 1999), com base nos resultados, pode-se confirmar mais uma vez que a adaptação do inóculo foi efetiva para estimular o desenvolvimento de enzimas hidrolíticas.

Figura 28. Cinética da produção de metano no ensaio de co-digestão anaeróbia

Valores médios com ajustes cinéticos (—), Branco (*)

(■) F1: 1g. BCA *in natura*; (●) T3: 1g BCA pré-tratado; (▲) FG1: 1g BCA *in natura* + 1,4g de RG; (▼) FG2: 1g BCA pré-tratado + 1,4g de RG; (◆) FG3: 0,2g BCA *in natura* + 1,4g de RG; (◄) FG4: 0,2g BCA pré-tratado + 1,4g de RG; (►) G5: 1,4g de RG

Fonte: própria

Tabela 23. Parâmetros cinéticos do ensaio de co-digestão anaeróbia

	Tipo de pré-tratamento	P _{máx} (mmol)	λ (h)	k (mmol/h)	R ²	Y _p /s*
T1	BCA <i>in natura</i>	30,374±1,26	251,34±14,61	0,051	0,989	13,622
T3	BCA pré-tratado	30,852±1,38	259,15±15,92	0,050	0,989	13,966
G5	1,4 g. de RG	35,602±1,31	202,15±12,92	0,065	0,988	0,184
FG1	1g. BCA <i>in natura</i> + 1,4g RG	37,694±1,16	207,54±10,50	0,075	0,992	0,200
FG2	1g BCA pré-tratado + 1,4g RG	37,228±0,89	231,81±8,21	0,070	0,995	0,189
FG3	0,2 g. BCA <i>in natura</i> + 1,4g RG	33,201±1,27	222,34±13,48	0,058	0,989	0,158
FG4	0,2 g. BCA pré-tratado + 1,4g RG	32,675±1,15	214,82±12,24	0,060	0,990	0,157

Valores médios ± Desv.pad. * Expressado em mmol.CH₄/g.DQO

Fonte: própria

Observou-se que a produção metanogênica do BCA *in natura* neste ensaio foi superior à do BCA pré-tratado. É importante comentar, todavia, que em função da duração deste ensaio ter sido inferior ao anterior, é possível que tal panorama fosse diferente com a continuidade do teste. Adicionalmente, seria interessante realizar novas análises no BCA pré-tratado para determinar se houve alguma mudança na sua composição no período compreendido entre os ensaios.

A pesar de que a mistura dos substratos avaliados permitiu obter velocidades máximas de produção de metano superiores às encontradas na digestão individual de cada resíduo, não foi observada diferença significativa entre o emprego de BCA *in natura* ou pré-tratado no contexto da co-digestão.

Considerando a produção de metano acumulada, a mistura de 1,0 g de BCA pré-tratado com 1,4 g de RG aumentou o rendimento de metano em até 7,44% frente à mono-digestão do RG. As mesmas proporções de BCA *in natura* e RG tiveram aumentos de rendimentos de 7,74%. Todavia, quando considera-

se a somatória obtida nos ensaios de mono-digestão, conclui-se que no período de tempo ensaiado, a co-digestão não mostrou vantagem. A produção obtida na co-digestão dos resíduos, FG1 e FG2, foi 57 % e 56 % das somatórias das produções obtidas nos ensaios de mono-digestão.

Efeitos sinérgicos por conta do emprego de materiais lignocelulósicos em processos de co-digestão de efluentes de difícil manejo tem sido reportados. Angelidaki e Ahring (1997) observou que por conta da elevada alcalinidade de dejetos bovinos ricos em fibras celulósicas puderam prevenir a acidificação no meio de digestão, e, Nielsen e Ahring (2006), manifestaram que a adição de palha digerida pode minimizar a adsorção de AGCL nos microrganismos do consórcio anaeróbio, aliviando seu efeito inibitório. Adicionalmente, Lehtomäki, Huttunen e Rintala (2007) relataram que materiais lignocelulósicos podem favorecer o equilíbrio de nutrientes e a razão C/N nos processos anaeróbios de digestão de dejetos bovinos.

Finalmente, observa-se também a partir dos resultados, que a co-digestão gerou aumento de produção de até 27,5% e 29% frente a mono-digestão de BCA pré-tratado e *in natura*, respectivamente. Assim, o aumento da produção de metano obtido a partir da mistura de substratos, pode ser mais por conta da adição de lipídios ao bagaço de cana, que do bagaço de cana ao resíduo com alto teor de lipídios. Observando a velocidade de produção de metano se reforça esta teoria. Efeitos de estimulação por parte de compostos lipídicos tem sido reportados em estudos de laboratório e em escala piloto, em que a adição de resíduos advindos de coletores de gordura aumentou o potencial de produção de gás de diferentes matérias primas (LONG et al., 2012).

7. CONCLUSÕES

A co-digestão de resíduos gordurosos utilizados no presente trabalho e bagaço de cana, pré-tratados ou não, não apresentou vantagem frente à mono-digestão dos materiais.

O pré-tratamento com fluidos supercríticos tem potencial para reduzir obstáculos estruturais de composição e aumentar a biodegradabilidade de materiais lignocelulósicos, embora, se requer mais pesquisa para aumentar sua efetividade avaliando com maior amplitude variáveis de temperatura, pressão, tempo e co-solventes, além de pesquisa para entender seus efeitos de longo prazo sobre estruturas vegetais.

A adição de NaOH como modificador de polaridade não representou vantagem para a digestão anaeróbia do bagaço de cana tratado com CO₂ sub e supercrítico.

A produção metanogênica advinda da digestão anaeróbia do bagaço de cana de açúcar foi aumentada em todos os casos nos quais o material foi pré-tratado com CO₂ sub e supercrítico, com exceção do caso no qual utilizou-se elevada temperatura e NaOH como modificador de polaridade.

Os resíduos advindos da caixa de gordura de laticínios apresentaram elevado potencial metanogênico e na faixa de concentração de substrato ensaiada, nenhuma inibição foi verificada.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, V. B. et al. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675–685, 2011.

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

ALI, I.; ASIM, M.; KHAN, T. A. Low cost adsorbents for the removal of organic pollutants from wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 113, p. 170–183, 2012.

ALVES, M. M. et al. Waste lipids to energy: How to optimize methane production from long-chain fatty acids (LCFA). **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 5, p. 538–550, 2009.

ALVIRA, P. et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4851–4861, 2010.

ANDRADE, L. H.; MOTTA, G. E.; AMARAL, M. C. S. Treatment of dairy wastewater with a membrane bioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 4, p. 759–770, 2013.

ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science & Technology**, v. 59, n. 5, p. 927, 2009.

ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K. Codigestion of olive oil mill wastewaters with manure , household waste or sewage sludge. **Biodegradation**, n. 8, p. 221–226, 1997.

ANGELIDAKI, I.; ELLEGAARD, L.; AHRING, B. K. Applications of the Anaerobic Digestion Process. In: AHRING, B. K. (Ed.). . **Biomethanation II**. New York: Springer Berlin Heidelberg, 2003. p. 1–35.

ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assesment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Reviews in environmental science and bio/technology**, v. 3, p. 117–129, 2004.

APHA. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**, 20th ed. 20th. ed. Washington DC.: American Public Health Association, 1998.

APPELS, L. et al. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, n. 6, p. 755–781, 2008.

APPELS, L. et al. Anaerobic digestion in global bio-energy production : Potential and research challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 9, p. 4295–4301, 2011a.

APPELS, L. et al. Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4124–4130, 2011b.

AQUINO, S.; CHERNICHARO, C. Acúmulo de Ácidos Graxos Voláteis (AGVS) Em Reatores Under Stress Conditions : Causes and Control Strategies. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.

AQUINO, S. F. et al. Metodologias Para Determinação Da atividade Metanogênica Especifica. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.

ARVANITOYANNIS, I. S.; GIAKOUNDIS, A. **Current strategies for dairy waste management: a review**. Critical reviews in food science and nutrition. **Anais...**jan. 2006Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16891210>>. Acesso em: 10 out. 2014

ASTALS, S. et al. Co-digestion of pig manure and glycerine: Experimental and modelling study. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 4, p. 1091–1096, 2011.

ASTALS, S. et al. Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 421–427, 2014.

ASTALS, S.; NOLLA-ARDEVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate.

Bioresource Technology, v. 110, p. 63–70, 2012.

ASTALS, S.; NOLLA-ARDEVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Thermophilic co-digestion of pig manure and crude glycerol: Process performance and digestate stability. **Journal of Biotechnology**, v. 166, n. 3, p. 97–104, 2013.

BADSHAH, M. et al. Use of an Automatic Methane Potential Test System for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 262–269, 2012.

BALLESTEROS ZAPATA, E. E. Crisis energética: en busca de edificaciones eficientes y amigables. **Cap&Cua**, v. 11, n. 1, p. 39–46, 2014.

BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment-A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 157, n. 2–3, p. 277–296, 2010.

BLEY JR., C. et al. **Agroenergia da biomassa residual: perspectivas energéticas, socioeconômicas e ambientais**. 2ª edição ed. Foz do Iguaçu, Brasília: Itaipu Binacional, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, TechnoPolitik Editora, 2009.

BRANDÃO, P. **Avaliação do uso do bagaço de cana como adsorvente para a remoção de contaminantes, derivados do petróleo, de efluentes**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2006.

BRANDÃO, P. C. et al. Removal of petroleum hydrocarbons from aqueous solution using sugarcane bagasse as adsorbent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1–3, p. 1106–1112, 2010.

BRAUN, R. Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. In: RANALLI, P. (Ed.). **Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 335–416.

BRESSAN, Â.; ALVES, R. **PERFIL DO SETOR DO AÇÚCAR E DO ÁLCOOL NO BRASIL**. 1. ed. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento - Conab, 2013. v. 5

BRIÃO, V. B.; GRANHEN TAVARES, C. R. EFFLUENT GENERATION BY THE DAIRY INDUSTRY: PREVENTIVE ATTITUDES AND OPPORTUNITIES. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 24, n. 4, p. 487–497, 2007.

BRISOLARI, A. **Estudo da molhabilidade em madeiras tropicais ou de reflorestamento por medidas de ângulo de contato e de permeabilidade**. [s.l: s.n.].

BRITZ, T. J.; VAN SCHALKWYK, C.; HUNG, Y.-T. Treatment of Dairy Processing Wastewaters. In: WANG, L. K. et al. (Eds.). **Waste treatment in the food processing industry**. 2. ed. [s.l.] Taylor & Francis, 2006. p. 1–28.

CALLI, B. et al. Methanogenic diversity in anaerobic bioreactors under extremely high ammonia levels. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 4, p. 448–455, 2005.

CASSIANO, T. et al. **Estudo Da Cinética De Adsorção De Hidrocarbonetos Derivados Do Petróleo Utilizando Bagaço De Cana-De-Açúcar “ in Natura ”** E. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. **Anais...**Uberlândia, Minas Gerais.: Universidade Federal de Uberlândia, 2009

CHEN, J. L. et al. **Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review****Biotechnology Advances**Elsevier Inc., , 2014.

CHEN, W. H. et al. Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 2170 – 2178, 2006.

CHEN, W. H.; TU, Y. J.; SHEEN, H. K. Disruption of sugarcane bagasse lignocellulosic structure by means of dilute sulfuric acid pretreatment with microwave-assisted heating. **Applied Energy**, v. 88, n. 8, p. 2726–2734, 2011.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4044–64, jul. 2008.

CHIVANGA BARROS, A. A.; WUST, E.; MEIER, H. F. **ESTUDO DA**

VIABILIDADE TÉCNICO-CIENTÍFICA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE RESÍDUOS GORDUROSOS.

COSTA, A. G. et al. The use of thermochemical pretreatments to improve the anaerobic biodegradability and biochemical methane potential of the sugarcane bagasse. **Chemical Engineering Journal**, v. 248, p. 363–372, 2014.

DĄBROWSKI, A. Adsorption - From theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 93, n. 1–3, p. 135–224, 2001.

DANALEWICH, J. R. et al. Characterization of dairy waste streams, current treatment practices, and potential for biological nutrient removal. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3555–3568, 1998.

DAZA SERNA, L. V.; ORREGO ALZATE, C. E.; CARDONA ALZATE, C. A. Supercritical fluids as a green technology for the pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 113–120, 2015.

DEMIRBAS, A.; PEHLIVAN, E.; ALTUN, T. Potential evolution of Turkish agricultural residues as bio-gas, bio-char and bio-oil sources. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 5, p. 613–620, 2006.

DEMIREL, B.; YENIGUN, O.; ONAY, T. T. Anaerobic treatment of dairy wastewaters : a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2583–2595, 2005.

DIVBAND HAFSHEJANI, L. et al. Removal of nitrate from aqueous solution by modified sugarcane bagasse biochar. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 101–111, 2016.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGETICA -EPE. **Balanço energético nacional 2014: relatório síntese, ano base 2013** Empresa de Pesquisa Energética. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <[https://ben.epe.gov.br/downloads/S?ntese do Relat?rio Final_2014_Web.pdf](https://ben.epe.gov.br/downloads/S?ntese%20do%20Relat%20rio%20Final_2014_Web.pdf)>.

EUROPEAN COMMISSION. **Integrated pollution prevention and control: Reference document on best available techniques in the slaughterhouses and animal by-products industries** EUROPEAN COMMISSION, , 2005.

FACCHIN, V. et al. Effect of trace element supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of foodwaste in batch trials: The influence of inoculum origin.

Biochemical Engineering Journal, v. 70, p. 71–77, 2013.

FAGUNDES, M. H. **LEITE E DERIVADOS**. Brasília: [s.n.].

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS -
FAO. **Total World Production of Milk in 2014**. Disponível em:
<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>>. Acesso em: 14 mar. 2017a.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS -
FAO. **Commodities by Country: Brazil**. Disponível em:
<http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country>. Acesso
em: 25 abr. 2017b.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS -
FAO. **Total World Production of Sugar Cane in 2014**. Disponível em:
<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 25 abr. 2017c.

FRIGON, J. C.; GUIOT, S. R. Biomethane production from starch and
lignocellulosic crops: A comparative review. **Biofuels, Bioproducts and
Biorefining**, v. 4, n. 4, p. 447–458, 2010.

GALLERT, C.; WINTER, J. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of
source-sorted organic wastes: Effect of ammonia on glucose degradation and
methane production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 48, n. 3, p.
405–410, 1997.

GAO, M. et al. Effect of SC-CO₂ pretreatment in increasing rice straw biomass
conversion. **Biosystems Engineering**, v. 106, n. 4, p. 470–475, ago. 2010.

GERARDI, M. H. **The Microbiology of Anaerobic Digesters**. Hoboken, New
Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis. In: **Agricultural
handbook no. 379**. Washington, DC: [s.n.]. p. 1–20.

GOLUEKE, C. G.; OSWALD, W. J.; GOTAAS, H. B. Anaerobic digestion of Algae.
Applied microbiology, v. 5, n. 1, p. 47–55, 1957.

GU, T. Pretreatment of lignocellulosic biomass using supercritical carbon
dioxide as green solvent. In: GU, T. (Ed.). **Green Biomass Pretreatment for
Biofuels Production**. 1. ed. Netherlands: Springer, 2013. p. 107–125.

GUPTA, V. K.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal - A review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 8, p. 2313–2342, 2009.

HAGOS, K. et al. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. March, p. 0–1, 2016.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10–18, 2009.

HWU, C. S. et al. Biosorption of long-chain fatty acids in UASB treatment process. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1571–1579, 1998.

JÖNSSON, L. J.; MARTÍN, C. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 103–112, 2016.

KELLEHER, B. P. et al. Advances in poultry litter disposal technology--a review. **Bioresource technology**, v. 83, n. 1, p. 27–36, 2002.

KHALID, A. et al. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, n. 8, p. 1737–1744, 2011.

KIM, S. H.; HAN, S. K.; SHIN, H. S. Kinetics of LCFA Inhibition on Acetoclastic Methanogenesis, Propionate Degradation and β -Oxidation. **Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 39, n. 4, p. 1025–37., 2004a.

KIM, S. H.; HAN, S. K.; SHIN, H. S. Two-phase anaerobic treatment system for fat-containing wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 79, n. 1, p. 63–71, 2004b.

KROEKER, E. J. et al. Anaerobic treatment process stability. **Journal WPCF**, v. 51, n. 4, p. 718–727, 1979.

KUSHWAHA, J. P.; SRIVASTAVA, V. C.; MALL, I. D. An overview of various technologies for the treatment of dairy wastewaters. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 51, n. 5, p. 442–52, maio 2011.

KWIETNIEWSKA, E.; TYS, J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 491–500, jun. 2014.

LEHTOMÄKI, A.; HUTTUNEN, S.; RINTALA, J. A. Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 51, n. 3, p. 591–609, 2007.

LI, Y.; PARK, S. Y.; ZHU, J. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 1, p. 821–826, 2011.

LONG, J. H. et al. Anaerobic co-digestion of fat, oil, and grease (FOG): A review of gas production and process limitations. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 90, n. 3, p. 231–245, 2012.

LUCON, O.; GOLDEMBERG, J. Crise financeira, energia e sustentabilidade no Brasil. **Estudos Avançados**, v. 23, n. 65, p. 121–130, 2009.

LYND, L. R. et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. v. 66, n. 3, p. 506–577, 2002.

MACHADO, R.; SILVA, P.; FREIRE, V. Controle ambiental em indústrias de laticínios. **Brasil Alimentos**, n. 1, p. 34–36, 2001.

MATA-ALVAREZ, J. et al. Codigestion of solid wastes: a review of its uses and perspectives including modeling. **Critical reviews in biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 99–111, 2011.

MATA-ALVAREZ, J. et al. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412–427, ago. 2014.

MATA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S.; LLABRÉS, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresource technology**, v. 74, 2000.

- MECHICHI, T.; SAYADI, S. Evaluating process imbalance of anaerobic digestion of olive mill wastewaters. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 139–145, 2005.
- MENDES AGUIAR, A. et al. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Quim. Nova**, v. 28, n. 2, p. 296–305, 2005.
- MSHANDETE, A. et al. Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. **Renewable Energy**, v. 31, n. 14, p. 2385–2392, 2006.
- NEVES, M. F.; CONEJERO, M. A. Sistema agroindustrial da cana: cenários e agenda estratégica. **Economia Aplicada**, v. 11, n. 4, p. 587–604, 2007.
- NIELSEN, H. B.; AHRING, B. K. Responses of the Biogas Process to Pulses of Oleate in Reactors Treating Mixtures of Cattle and Pig Manure. **Biotechnology and Bioengineering**, p. 96–105, 2006.
- NIELSEN, V. C. Treatment and Disposal of Processing Wastes. In: MEAD, G. C. (Ed.). **Processing of Poultry**. 1. ed. Boston, MA: Springer US, 1995. p. 361–411.
- NZILA, C. et al. Biowaste energy potential in Kenya. **Renewable Energy**, v. 35, n. 12, p. 2698–2704, 2010.
- PALATSI, J. et al. Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids on anaerobic thermophilic biogas reactors. **Bioresource technology**, v. 100, n. 20, p. 4588–96, out. 2009.
- PARK, C. et al. Upgrading of anaerobic digestion by incorporating two different hydrolysis processes. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 100, n. 2, p. 164–167, 2005.
- PASQUINI, D. et al. Sugar cane bagasse pulping using supercritical CO₂ associated with co-solvent 1-butanol/water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, n. 2, p. 125–131, 2005.
- PEREIRA, M. A. et al. Anaerobic degradation of oleic acid by suspended and granular sludge: identification of palmitic acid as a key intermediate. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 139–144, 2002.

PINTO DE OLIVEIRA, J. et al. Caracterização físico-química de resíduos oleosos do saneamento e dos óleos e graxas extraídos visando a conversão em biocombustíveis. **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 597–602, 2014.

RABELO, S. C. et al. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 17, p. 7887–7895, 2011.

RAMIREZ, M. A. **Cultivos para la producción sostenible de biocombustibles: Una alternativa para la generación de empleos e ingresos. Módulo V: Caña de Azúcar.** Tegucigalpa, Honduras Servicio Holandés de Cooperación al Desarrollo SNV, , 2008.

RAPPORT, J. et al. **Current Anaerobic Digestion Technologies Used for Treatment of Municipal Organic Solid Waste.** California: [s.n.].

RODRIGUES CARVALHO, G. **Circular Técnica 102: A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro.** Juiz de Fora, MG: [s.n.].

SAHENA, F. et al. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 240–253, 2009.

SALMINEN, E.; RINTALA, J. Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste - a review. **Bioresource technology**, v. 83, n. 1, p. 13–26, 2002.

SAMSON, R. et al. Developing Energy Crops for Thermal Applications: Optimizing Fuel Quality, Energy Security and GHG Mitigation. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Biofuels, Solar and Wind as Renewable Energy Systems.** 1. ed. Netherlands: Springer Netherlands, 2008. p. 513.

SANTOS, A. L. F.; KAWASE, K. Y. F.; COELHO, G. L. V. Enzymatic saccharification of lignocellulosic materials after treatment with supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 3, p. 277–282, 2011.

SANTOS, C. C. (LUCAS K. **Tratamento de efluente de laticínio em reator anaeróbio compartimentado.** [s.l.] Universidade de São Paulo, 13 jun. 2016.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004–1010, 2012.

SAUCEAU, M. et al. Solubility of eflucimibe in supercritical carbon dioxide with or without a co-solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 31, n. 2, p. 133–140, 2004.

SAWATDEENARUNAT, C. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 178–186, 2015.

SCHACHT, C.; ZETZL, C.; BRUNNER, G. From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 3, p. 299–321, 2008.

SCHATTAUER, A. et al. Abundance of trace elements in demonstration biogas plants. **Biosystems Engineering**, v. 108, n. 1, p. 57–65, 2011.

SHAH, F. A. et al. **Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015.

SHARIF, K. M. et al. Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. **Journal of Food Engineering**, v. 124, p. 105–116, 2014.

SIFONTES, C. & DOMINE, M. E. Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. **Avances en Ciencias e Ingeniería**, v. 4, n. 4, p. 15–46, 2013.

SILVESTRE, G. et al. Biomass adaptation over anaerobic co-digestion of sewage sludge and trapped grease waste. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 13, p. 6830–6836, 2011.

SINDHU, R. et al. Formic acid as a potential pretreatment agent for the conversion of sugarcane bagasse to bioethanol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 8, p. 2313–2323, 2010.

SINDHU, R. et al. Physicochemical characterization of alkali pretreated sugarcane tops and optimization of enzymatic saccharification using response surface methodology. **Renewable Energy**, v. 62, p. 362–368, 2014.

SOUZA MELO, S. et al. **Innovación del pre-tratamiento del bagazo de caña de azúcar utilizando CO₂ sub y supercrítico y solución diluída de NaOH como modificador de polaridad**. VIII Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Latinoamérica y del Caribe; IX Congreso de la Asociación Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar. **Anais...**Santiago de Cali: Tecnicaña, 2012

SRINIVASAN, N.; JU, L.-K. Pretreatment of guayule biomass using supercritical carbon dioxide-based method. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 24, p. 9785–9791, 2010.

TAHIR, H. et al. Application of natural and modified sugar cane bagasse for the removal of dye from aqueous solution. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, p. S115–S121, 2016.

TALEBNIA, F.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4744–4753, 2010.

THASSITOU, P. K.; ARVANITOYANNIS, I. S. Bioremediation : a novel approach to food waste management. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 2001, p. 185–196, 2001.

TOMMASO, G. et al. Clean Strategies for the management of residues in dairy industries. In: MCELHATTON, A.; DO AMARAL SOBRAL, P. J. (Eds.). . **Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment**. New York, NY: Springer New York, 2012. p. 381–411.

US DEPARMENT OF ENERGY. **EIA projects world energy consumption will increase 56% by 2040**. Disponível em: <<http://www.eia.gov/todayinenergy/detail.cfm?id=12251#>>. Acesso em: 1 abr. 2015.

VEEKEN, A.; HAMELERS, B. Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components. **Bioresource Technology**, v. 69, n. 3, p. 249–254, 1999.

VIDAL, G. et al. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 3, p. 231–239, 2000.

VILLA, R. D.; APOLINÁRIO, M. R.; NOGUEIRA, F. P. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1799–1803, 2007.

WARD, A. J. et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 7928–7940, 2008.

WORKENTINE, M. L. et al. Pseudomonas fluorescens' view of the periodic table. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 238–50, 26 set. 2007.

XIE, S. et al. Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 498–512, 2016.

YADVIKA et al. A modified method for estimation of chemical oxygen demand for samples having high suspended solids. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 5, p. 721–726, 2006.

YANG, L. et al. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 824–834, 2015.

YAZDANIE, M.; DENSING, M.; WOKAUN, A. The role of decentralized generation and storage technologies in future energy systems planning for a rural agglomeration in Switzerland. **Energy Policy**, v. 96, p. 432–445, 2016.

YENIGÜN, O.; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 5–6, p. 901–911, 2013.

YU, H. et al. Study on morphology and orientation of cellulose in the vascular bundle of wheat straw. **Polymer**, v. 46, n. 15, p. 5689–5694, 2005.

YUE, Z. et al. A sustainable pathway of cellulosic ethanol production integrating anaerobic digestion with biorefining. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 105, n. 6, p. 1031–1039, 2010.

ZEHNDER, A. J. B. et al. Characterization of an acetate-decarboxylating, non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. **Archives of Microbiology**, v. 124, n. 1, p. 1–11, 1980.

ZHANG, C. et al. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 383–392, out. 2014.

ZHENG, Y. et al. Supercritical carbon dioxide explosion as a pretreatment for cellulose hydrolysis. **Biotechnology Letters**, v. 17, n. 8, p. 845–850, ago. 1995.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, n. 1, p. 35–53, 2014.

ZHENG, Y.; LIN, H. M.; TSAO, G. T. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. **Biotechnology Progress**, v. 14, n. 6, p. 890–896, 1998.